



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ BAKIRK¼Y DR.SADI KONUK
SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ**

İÇ HASTALIKLARI KLİNİğİ

**DEMİR EKSİKLİğİ ANEMİSİ OLAN HASTALARDA
LENFOSİT ALT GRUP ANALİZİ İLE İMMÜN YANITIN
DEğERLENDİRİLMESİ**

Dr. Firuze Midi Kursat

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2021



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ BAKIRKÖY DR.SADI KONUK
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

**DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ OLAN HASTALARDA
LENFOSİT ALT GRUP ANALİZİ İLE İMMÜN YANITIN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Firuze Midi Kursat

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İtir Şirinoğlu Demiriz

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2021

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım hocalarım Prof.Dr.Abdülbaki Kumbasar, Prof.Dr.Aliye Soylu, Prof.Dr.Cemal Bes, Prof.Dr.Mürvet Yılmaz, Doç.Dr.Deniz Tural, Doç.Dr.Fehmi Hindilerden, Doç.Dr.Hakan Koçoğlu, Doç.Dr.Mehmet Hurşitoğlu, Doç.Dr.Mehmet Yürüyen, Doç.Dr.Meral Mert, Doç.Dr.Nilüfer Alpay Kanıtez, Doç.Dr.Selda Çelik, Doç.Dr.Sema Çiftçi Doğanşen, Doç.Dr.Serkan İpek ve Doç.Dr.Yıldız Okuturlar'a,

Asistanlığım ve tez çalışmam süresi boyunca desteğini, ilgisini ve sevgisini gördüğüm çok değerli tez danışmanım ve hocam Doç.Dr.Itır Şirinoğlu Demiriz'e,

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden bu yana ilgisini esirgemeyen, akademik deneyimlerimi kazanmamda etken olan, asistanlığımın her aşamasında bilgisine başvurduğum sevgili hocam Yrd.Doç.Dr.Betül Erişmiş'e

Birlikte çalışmaktan ve kıymetli tecrübelerini paylaşmaktan mutluluk duyduğum Dr.İsmet Bahtiyar, Dr.Osman Serdal Çakmak, Dr.Deniz Yılmaz, Dr.Emre Osmanbaşoğlu, Dr.Hülya Çetin Çiğdem, Dr.Gülçin Şahingöz Erdal, Dr.Faruk Karandere, ve birlikte çalıştığım tüm değerli uzmanlarıma,

Asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım başta eşkıdemlerim olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Her koşulda yanımda yer alan, arkadaştan öte ailem olan Sevilay Nergiz Yalçın, Dinçhan Demircioğlu, Cemre Şahin Cansever'e

Beni bugünlere getiren, hiçbir zaman hakkını ödeyemeyeceğim, hayattaki en büyük şansım canım annem Sevinç Parlak'a,

Tezimin, asistanlığımın ve hayatımın her alanında en büyük desteğim, ruheşim Dr.Hakan Kursat'a

Varlığı ile dünyamızı renklendiren, mutluluk kaynağımız, biricik kızım Nil Kursat'a

Sonsuz teşekkürlerimle...

Dr. Firuze Midi Kursat

2021,İstanbul

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ.....	2
2.1.1.Tanım	2
2.1.2.Tarihçe	2
2.1.3.Epidemiyoloji	3
2.1.4.Etyoloji ve Risk Faktörleri	4
2.1.5.Demir Emilimi ve Metabolizması	7
2.1.6.Demir Eksikliği Gelişimi	9
2.1.7.Klinik	11
2.1.8.Tanı	12
2.1.9.Tedavi	13
2.2.İMMÜN SİSTEM	16
2.2.1. Giriş	15
2.2.2.Doğal (nonspesifik) immün sistem	16
2.2.3.Edinilmiş(adaptif) immün sistem	17
2.2.4.Lenfoid seri hücreleri	18
2.2.4.1. T lenfositler	19

2.2.4.2. B lenfositler	22
2.2.4.3. NK Hücreler	24
2.3.İMMÜN SİSTEM VE DEMİR EKSİKLİĞİ	27
3. MATERİYAL VE METOD	28
3.1. Hasta seçimi	28
3.2. Etik kurul onayı ve bütçe	30
3.3. Örneklerin toplanması	31
3.4. Flow sitometri	31
3.5. İstatiksel analiz	32
4.BULGULAR	32
5.TARTIŞMA	51
6.KAYNAKLAR	56
7.EKLER	66
EK-1: Bilgilendirilmiş gönüllü olur formu	66
EK-2: Etik kurul onay formu	67
EK-3: Tez konusu onay formu	69
8. ÖZGEÇMİŞ	71

KISALTMALAR

ADCC: Antibody-dependent cellular cytotoxicity

APC: Antijen sunan hücre

BASO: Bazofil

BMP-6: Bone morphogenetic protein 6

CD: Cluster of differentiation

CLRs: C-type lectin reseptörler

DMT-1: Divalent metal taşıyıcı 1

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü (*World Health Organization*)

DCYTB: Duodenal sitokrom b

EO: Eozinofil

ESA: Eritropoez uyarıcı ajanlar

GHO: *Global Health Observatory*

HCT: Hematokrit

HGB: Hemoglobin

HIF-2 α : Hipoxia-inducible factor-2 alfa

ILCs: Innate lymphoid cells

IRIDA: Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia

LFA: Lenfosit fonksiyonuyla ilişkili antijen

LYM: Lenfosit

MALT: Mukoza ile ilişkili lenfoid doku

MCH: Mean corpuscular hemoglobin

MCV: Mean Corpuscular Volume

MHC: Major histocompatibility complex

MON: Monosit

NCAM-I :Nöral hücre adezyon molekülü

NEU: Nötrofil

NLR: Nötrofil/lenfosit oranı

NLRs: NOD-like reseptörler

PLT: Platelet

PPKH:Pluripotent kök hücre

PRRs: Patern tanıma reseptörleri

RBC: Red blood cell

RDW: Red Cell Distribution Width

RIG: Retinoic acid–inducible gene

RLRs: RIG-1-like reseptörler

SLC11A2: Solute Carrier Family 11 Member 2

TLRs :Toll-like reseptörler

TMPRSS6: Transmembrane Serine Protease 6

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

WBC: White Blood Cell

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: DE semptom ve bulguları

Tablo 2: Periferik kandaki lenfosit alt gruplarının yüzdeleri

Tablo 3: Lenfosit yüzey reseptörleri

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunun demografik verilerine yönelik sıklık dağılım tablosu

Tablo 5: Hasta ve kontrol grubunun son 1 yılda enfeksiyon geçirme durum ve sıklığı dağılım tablosu

Tablo 6: DEA hastaların tedavi öncesi ve kontrol grubu arasında hemogram ve demir parametrelerinin grup farklılığı sınaması

Tablo 7: DEA hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası arasında hemogram ve demir parametrelerinin grup farklılığı sınaması

Tablo 8: Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelere yönelik grup farklılığı sınaması

Tablo 9: Tedavi öncesi hasta grubu ve kontrol grubu arasında lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelere yönelik grup farklılığı sınaması

Tablo 10: Tedavi sonrası hasta grubu ve kontrol grubu arasında lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelere yönelik grup farklılığı sınaması

Tablo 11: HGB ile CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 Oranı, CD19, NK sayı ve yüzde değerlerine yönelik korelasyon analizi

Tablo 12: Ferritin ile CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 Oranı, CD19, NK hücre sayı ve yüzde değerlerine yönelik korelasyon analizi

Tablo 13: Tedavi şekli açısından tedavi sonrası grubuna yönelik grup farklılığı sınaması

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu hemoglobin düzeyleri

karşılaştırılması

Şekil 2: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu ferritin düzeyleri

karşılaştırılması

Şekil 3: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu TSAT düzeyleri

karşılaştırılması

Şekil 4: Tedavi öncesi ve sonrası NK yüzde değerlerinin karşılaştırılması

Şekil 5: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu lenfosit alt grup düzeyleri

karşılaştırma grafiği

ÖZET

Amaç: Demir eksikliği anemisi (DEA) tüm dünyada temel bir halk sağlığı sorunudur. En yaygın görülen önlenabilir beslenme eksikliğidir. Demir ve immün sistemin yakın bir ilişki içinde olduğu tespit edilmiştir. Demir, DNA sentezinde yer alan enzimler için kritik bir elementtir ve lenfosit aktivasyonunun proliferatif fazı, demir gerektiren bir fazdır bu nedenle DEA sırasında bu işlev zayıflayabilir. İn vitro ve in vivo laboratuvar çalışmaları, demir eksikliği ile lenfosit alt tipleri proliferasyonun bozulması arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir. DEA enfeksiyonlara yatkınlığı artırabilir. Çalışmamızda DEA hastalarının lenfosit alt gruplarını tedavi öncesi değerlendirmeyi, tedavi sonrası ve kontrol grubu değerleri ile karşılaştırmayı amaçladık. Sonuçların etkisini klinik özelliklerle de analiz ettik.

Gereç ve Yöntem: 30 DEA ve yaş uyumlu 15 sağlıklı kadının dahil edildiği bu prospektif çalışmada, demir eksikliği anemisi olan menopoz öncesi kadınlarda lenfosit alt gruplarının sayılarını ve yüzdelerini araştırdık. Alınan kan örnekleri temel lenfosit alt gruplarının mutlak sayı ve yüzdelerini belirlemek için akım sitometri yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol gruplarının CD3+ T lenfosit, CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit, CD19+ B lenfosit, NK hücre sayı ve yüzdeleri karşılaştırıldı.

Bulgular: NK hücre sayı ve yüzdeleri kıyaslandığında tedavi öncesi ve tedavi sonrası grupların arasında anlamlı farklılık saptandı (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,000$). Gruplar arasında CD3+ T lenfosit, CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit, CD19+ B lenfosit sayıları ve yüzdeleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Demir indeksleri (serum ferritin, TDBK ve transferrin saturasyonu) veya hemogram parametreleri ile herhangi bir lenfosit alt grubu arasında korelasyon saptanmadı.

Sonuç: NK hücreleri, virüsle enfekte ve tümör gelişen hücrelere karşı savunmada kritik bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, DEA'nın NK hücrelerinde azalmaya neden olması bu hastalarda enfeksiyona yatkınlık riskinin arttırabileceği yönünde yorumlanabilir.

Anahtar Kelimeler: Lenfosit alt grupları, NK hücreler, demir eksikliği, anemi, immün sistem

ABSTRACT

Aim: Iron-deficiency anaemia (IDA) is a major worldwide public health problem. It is the most common preventable nutritional deficiency. Iron and immunity are found to be in a close relationship. Iron is a critical element for enzymes involved in DNA synthesis, and the proliferative phase of lymphocyte activation is an iron-demanding phase and it can be weakened during IDA. In vitro and in vivo laboratory studies indicate a link between iron deficiency and impaired lymphocyte subtypes proliferation. IDA can increase predisposition to infections. In our study, we aimed to evaluate the lymphocyte subgroups of IDA patients before treatment, to compare them with the values of the post-treatment levels and with control group levels. We also analyzed the effect of the results with clinical features.

Materials and Methods: In this prospective study, we investigated counts and percentage of lymphocyte subsets in pre-menopausal women with IDA; 30 IDA and 15 age-matched healthy women cases were enrolled. Blood samples were evaluated using flow cytometry to determine the absolute and relative numbers of selected basic lymphocyte subgroups. The counts and percentages of CD3⁺ T lymphocyte, CD4⁺ T lymphocyte, CD8⁺ T lymphocyte, CD19⁺ B lymphocyte, NK cells of the pre-treatment, post-treatment and control groups were compared.

Results: The results showed significant differences between before and post-treatment groups in counts and percentage of NK cells ($p=0,002$, $p=0,000$, respectively). No significant difference between the groups in terms of CD3⁺ T lymphocyte, CD4⁺ T lymphocyte, CD8⁺ T lymphocyte, CD19⁺ B lymphocyte numbers and percentages were detected. There was no significant correlation between iron indices (serum ferritin, TIBC, and transferrin saturation) or hemogram parameters and any of lymphocyte subgroups.

Conclusion: NK cells play a critical role in defense against virus-infected and tumour-developing cells. Therefore, the fact that IDA causes a decrease in NK cells can be interpreted as increasing the risk of infection susceptibility.

Keywords: Blood lymphocyte subsets, NK cells, Iron deficiency, anemia, immun system

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Demir, tüm canlı hücrelerin işlevinde anahtar rolü olan yaşam için vazgeçilmez bir elementtir. Memeli metabolizmasındaki en önemli rolü, hemoglobinin bir parçası olarak O₂ taşımaktır. Aynı zamanda, mitokondrideki sitokrom sistemi de dahil olmak üzere birçok hayati enzim fonksiyonu için gereklidir. Demir olmadan hücreler elektron taşıma ve enerji metabolizması kapasitelerini kaybeder. Eritroid hücrelerde hemoglobin sentezi bozulur, bu durum da anemiye ve dokulara O₂ iletiminin azalmasına neden olur¹.

Anemi, dokulara oksijen taşımak için yeterli hemoglobinin olmadığı patolojik durumdur. Dünya nüfusunun dörtte birinden fazlasında görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Tüm dünyada aneminin en sık nedeni demir eksikliğidir. Bu nedenle, demir eksikliğinin önlenmesi ve tedavisi önemli bir halk sağlığı hedefidir²⁻³.

Demir eksikliği anemisi(DEA)'nin yaygın başvuru nedenleri; halsizlik, huzursuzluk, çarpıntı, yorgunluk, baş ağrısı, gelişme geriliği olmakla birlikte, hastalık seyrinde nöromuskuler sistem fonksiyonlarında bozukluk, kardiyak yetmezlik, davranış bozuklukları, kognitif fonksiyonlarda bozukluk, iskemi, nörolojik sekeller, pseudotümör serebri gibi mortalite ve morbiditesi daha yüksek olan klinik sonuçlar da gelişebilmektedir¹. İmmün sistem işlev kusurları ise DEA hastalarında görülebilen bulgulardan olup, diğer etkilerine göre daha az bilinmektedir.

Demirin vücut savunmasında önemi büyük olup, bağışıklık sisteminin düzgün gelişimi ve işleyişi için mutlaka gereklidir⁴⁻¹¹. Demirin vücuda yetersiz alımı, yetersiz bir immün cevaba sebep olur. Birçok çalışma demirin immün sistemin temel bir unsuru olduğunu ortaya çıkarmış olsa da demir eksikliğinin bağışıklık fonksiyonu üzerindeki etkisine ilişkin daha fazla klinik veriye ihtiyaç vardır. Biz de çalışmamızda DEA olan hastaların tedavi öncesi periferik kan lenfosit alt grup mutlak sayılarını ve yüzdelerini akım sitometri yöntemi ile ölçerek, tedavi sonrası ve kontrol grubu değerleri ile kıyaslamayı, sonuçları diğer laboratuvar ve klinik ile ilişkilendirmeyi amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ

2.1.1.Tanım

Hemoglobinin, 15 yaşın üstü erkekte 13 g/dL'nin, 15 yaşın üstü ve gebe olmayan kadında 12 g/dL'nin, gebelerde ise 11 g/dL'nin altında olması anemi olarak tanımlanır¹².

Demir eksikliğinde (DE) iki basamak vardır:

- i. DE; vücudun toplam demirinin azalmasıdır. Anemi henüz yoktur.
- ii. DEA; demir eksikliğinin ilerleyerek eritropoezi azaltması sonucu anemi gelişmesi durumudur.

DEA, kronik bir hastalık veya hemoglobinopati yoksa eritrositlerde mikrositoz, hipokromi ve düşük serum ferritini ile doğrulanmalıdır¹².

2.1.2.Tarihçe

Tarih öncesi döneme ait insan iskelet kalıntılarındaki, kafatasının kompakt dış kemikli katmanlarında “*Porotik hiperostoz*” diye adlandırılan ve DE ile ilişkilendirilen küçük delikler saptanmıştır. Bu sayede eski çağlardan bu yana insanların DE'den etkilendiği bilinmektedir. Tarihi Roma öncesi döneme dayanan *Bath (Aqua Sulis)* ve *Llandrindod Wells (Balnes Siluria- Silüriyenlerin hamamları)* gibi birçok İngiliz kaplıca kenti şöhretlerini *chalybeate* kaynaklarına borçludur. *Chalybeate* sularının içerdiği demir tuzları değerlendirildiğinde, bu kaplıcaların iyileştirici şöhretlerine önemli ölçüde katkıda bulunmuş olabileceğini anlıyoruz¹³⁻¹⁷.

Demirin tedavideki yerinin bu kadar eski olmasına rağmen DE ile ilişkilendirilen hastalığın ilk tanımı 1554'de Johannes Lange tarafından “*chlorosis*” adı altında yapıldı. Bu tanımın ardından demirin hemoglobin oluşumundaki ve kırmızı hücre fonksiyonundaki rolünün anlaşılması yüzyıllar aldı. Swammerdam'ın (1637–80) 1658'de bir kurbağanın kanında çok küçük kürecikler görmesini, 4 yıl sonra Malpighi'nin (1628-94) benzer bulguları ve Anthony van Leeuwenhoeck'in (1632-1723) kandaki hücrelerin ayrıntılarını açıklamaları izledi. Richard Lower'ın

(1631-91) kırmızı hücrelerin havanın nitrojen olmayan bir bileşenini taşıdığı hipotezinden yaklaşık 200 yıl sonra, Alman biyokimyacı Felix Hoppe-Seyler (1825–1895) absorpsiyon spektrometresi ile hemoglobinin hematin ve protein kompleksi olduğunu gösteren bir çalışma yaptı. Sir George Stokes (1819–1903), bu çalışmayı iki farklı hemoglobin formunu ve oksijen uygulanmasına yanıt olarak aralarındaki değişiklikleri göstermek için geliştirdi. Son olarak, Paul Ehrlich'in (1854–1915) kan filmlerini lekelemek için anilin boyaları geliştiren öncü çalışması, kan hücresi morfolojisinin incelenmesini ve modern hematolojinin doğuşunu mümkün kılmıştır¹³⁻¹⁵.

Yirminci yüzyıldan önce, demir biyokimyasındaki gelişmelerin çoğu, hematolojik gelişmeleri tamamlamak yerine paralel ilerliyordu. 1713'te Lemery ve Geoffroy ve 1747'de Menghini kanı küle çevirdi ve mıknatıs taşı tarafından çekilen dolayısıyla demir olduğu varsayılan kalıntı parçacıkları keşfetti. 1832'de Blaud, ilk defa ferröz sülfat + potasyum karbonat hapları piyasaya sürdü. 1930'ların başında Helen Mackay (1891-1965) DE ile hipokromik anemileri bir araya getirilerek DEA'yı tanımlandı¹³⁻¹⁵.

2.1.3.Epidemiyoloji

Anemi, dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinde görülür¹⁸. DSÖ'nün çeşitli raporlarına göre dünyada 2 milyardan fazla kişi anemiktir². Bunların %80'i gelişmekte olan ülkelerde görülür. 2016 GHO verilerine göre anemi prevalansı; ülkemizde okul öncesi çocuklarda %28,04, üreme çağındaki kadınlarda, %30,87 ve gebelerde %34,41 iken; dünyada ise ortalama sırasıyla %41,7, %32,8 ve %40,1'dir².

Aneminin en sık nedeni DEA'dır^{2,18}. DE, dünya nüfusunun büyük bir bölümünü, özellikle doğurgan çağıdaki kadınlar ve çocuklar ile düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşayan bireyleri etkilemektedir. DE'nin mutlak prevalansı incelenen popülasyona bağlıdır. Dünyada DE görülme sıklığının coğrafik olarak dağılımı: Asya %40, Afrika %29, Batı Pasifik %13, Doğu Akdeniz %11, Amerika %4, Avrupa %3'tür¹⁹⁻²⁰.

Popülasyondan bağımsız olarak kadınların erkeklerden daha fazla etkilendiği görülmüştür. Doğurganlık çağındaki kadınlarda DE ve DEA'nın daha

fazla görülmesi menstrual kanama ve doğumla ilişkilendirilmektedir. 1990'dan 2010'a küresel anemi yükünün sistematik bir analizine göre yaklaşık beş kadından birinde DEA görülmektedir. Yine gebeliğin erken dönemlerinde DE aslında henüz anemik olmayan kadınlarda çok yaygındır, bu da bu kadınların gebe kalmadan önce muhtemelen DE olduğunu düşündürmektedir²¹⁻²².

DEA yaşlı yetişkinlerde genel popülasyondan daha fazla görülür²³. Bu yaş grubunda komorbiditeler nedeniyle diğer anemi türleri sıklığı da artar. Bu nedenle yaşlı yetişkinlerde görülen anemilerin yalnızca yaklaşık %30'u DEA'dır^{23,24}.

DE görülme sıklığında ırksal eşitsizlikler de mevcuttur. ABD'de HEIRS çalışmasında 60.000'den fazla kadının analizi sonucunda, DE prevalansında etnik gruplara göre anlamlı farklılıklar saptanmıştır²¹. Çalışma sonuçlarına göre DE dağılımı hispanik kadınlarda %5,1, siyahi kadınlarda %4,3, asyalı kadınlarda %2,1, beyaz kadınlarda %2,0 olarak bulunmuştur.

DEA'nın genetik formlarının yaygınlığına ilişkin çalışmalar henüz kısıtlı olsa da IRIDA (Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia Demir tedavisine dirençli demir eksikliği anemisi)'nin görülen DEA vakalarının % 1'inden azını temsil ettiği düşünülmektedir²⁵.

Kan donörleri, donör olmayanlara göre tipik olarak daha düşük demir depolarına sahiptir, ancak bu nadiren DEA'ya dönüşür²⁶. Bir dizi Kuzey Amerika ve Avrupa ülkesinden çeşitli kan donör serileri ile yapılan çalışmalarda, subklinik DE oranı yüzde 5 ila 15 aralığında bulunmuştur²⁷⁻²⁹.

Bunlar dışında vegan beslenme, malabsorpsiyon sendromları da yüksek gelirli ülkelerin DEA açısından yüksek riskli kategorileridir^{18,22,25}.

2.1.4. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

DE'nin başlıca nedenleri diyet ile alımın azalması, emilimin azalması ve kan kaybıdır. Kaynak zengini ülkelerde yaşayan yetişkin insanlarda, diyetle alım neredeyse her zaman yeterlidir. DE saptanan hastalarda mutlaka etiyojinin belirlenmesi gerekir.

a.Yetersiz alım

Diyet ile alım azlığına bağlı nedenler: Yetersiz beslenme, vejeteryan diyet, fitat, polifenol, tannat, fosfat ve kalsiyum içeriği yüksek olan gıdaların fazla alımı.

Azalmış demir emilimi nedenleri: Malabsorpsiyon, çölyak hastalığı, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, otoimmün gastrit, atrofik gastrit, duodenal rezeksiyon / gastrik bypass ameliyatı, inflamatuvar bağırsak hastalığı.

Artmış ihtiyaca bağlı nedenler: Gebelik, laktasyon, çocukluk dönemi, ESA kullanımı(kronik böbrek hastalığında, kemoterapiye bağlı anemide).

b.Artmış kayıp

Kaynak zengini ülkelerdeki DE'nin başlıca nedeni açık veya gizli kan kaybıdır³⁰⁻³⁵. Menstrual kan kayıpları günde yaklaşık 1 mg demir kaybına neden olur. Hamilelik sırasında tipik demir kaybının; hamilelik, doğum ve emzirme için toplam yaklaşık 1000 mg olduğu tahmin edilmektedir.

Hemodiyaliz sırasında tipik demir kaybı yılda 2 g'a kadar çıkabilir, bu kaybın takviye olmaksızın DE'ye yol açma olasılığı yüksektir.

Demir eksikliğinin gizli bir gastrointestinal tümörden kaynaklanma olasılığı birkaç vaka serisinde incelenmiştir. 2012 yılında DEA olan 621 hastadan oluşan bir seride, endoskopi yapılan 310 kişinin 51'inde (%16) kanser ve yüksek riskli adenomlar tespit edildi³⁶. 2005 yılında endoskopi yapılan kronik demir eksikliği olan 148 yetişkinin (medyan yaş 66) 18 (%12)'inde malign tümör bulundu³⁷. Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi ve Epidemiyolojik Takip Çalışması (NHANES I)'nın 2002 raporunda, 9024 yetişkinin takibinde, 18 yeni gastrointestinal malignite tespit edildi³⁸. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, DE, erkeklerde ve postmenopozal kadınlarda gastrointestinal kanser için güçlü bir haberci iken, premenopozal kadınlarda prediktör olmadığı görüldü. İki yıllık takip sonrası gastrointestinal kanser tespit oranları aşağıdaki gibi bulundu:

•Demir eksikliği olan menopoz öncesi kadınlar: 0/442

•Demir eksikliği olan erkekler ve postmenopozal kadınlar: 5/274 (%2)
(DEA: 3/51 (6%), DE: 2/223 (1%))

•Demir eksikliği olmayan erkekler ve menopoz sonrası kadınlar: 11/5733 (%0,2)

Bu bulgular, özellikle erkeklerde ve menopoz sonrası kadınlarda kan kaybının nedeninin belirlenmesinin önemini güçlendirmektedir. Bu kapsamlı çalışmadan yola çıkarak, altta yatan malignite riskini önlemek amacıyla çalışmamıza yalnız doğurgan çağıdaki kadınları dahil ettik.

DE'ye neden olabilecek diğer kan kaybı nedenleri şunlardır:

- Travmatik kanama
- Hematemez veya melena
- Hemoptizi
- Hematüri
- Sık kan bağışı
- Teşhis amaçlı aşırı kan testi yapılması
- Gastrointestinal veya genitoüriner sistem kaynaklı okült kanama
- Egzersizle ilişkili gastrointestinal kanama
- Gastrointestinal parazitler

c.Nadir nedenler

- İdiyopatik pulmoner veya üriner hemosideroz
- Kalıtsal hemorajik telenjektazi
- Pıhtılaşma bozuklukları, trombosit disfonksiyonu
- IRIDA (TMPRSS6 mutasyonu)
- SLC11A2 mutasyonu

2.1.5.Demir Emilimi ve Metabolizması

Demir emilimi

Demir emilimi büyük ölçüde duodenumda ve proksimal ince bağırsakta gerçekleşir. Bu emilim sıkı bir denetim altındadır, çünkü emildikten sonra demirin vücuttan atılmasının fizyolojik bir yolu yoktur.

Gastrointestinal mukoza, diyetteki demir emiliminin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. Emilim şekli demirin formuna göre değişkenlik gösterir. Hem demirini içeren diyet kaynakları (balık, kümes hayvanları ve kırmızı et), hem olmayan demiri içeren diyet kaynaklarına(sebze) göre daha yüksek biyoyararlanıma sahiptir (% 30'a karşılık, %e 10'dan az). Batılı ülkelerdeki günlük diyetin % 30'unu oluşturan Hem demiri, kendi taşıma sistemi yoluyla derhal emilir. Bağırsaktan Hem demiri emiliminin moleküler mekanizmaları net değildir. Batılı olmayan ülkelerin diyetindeki demirin neredeyse tamamını oluşturan non-Hem demir ise, zayıf bir şekilde emilir ve % 10'dan azı mukozal hücrelere alınır. Askorbik asit ve et; tahıllar, ekmekler, meyveler ve sebzeler gibi hayvansal olmayan demir kaynaklarının emilimini artırırken, tannatlar (çaylar), fosfat bakımından zengin kepekli yiyecekler ve fitatlar demir emilimini engeller³⁹⁻⁴².

Gıdalardaki demir belirgin bir şekilde ferriktir (Fe^{+3}), pH 3'ün üzerinde çok az çözünür ve bu nedenle zayıf bir şekilde emilir. Buna karşılık ferröz demir (Fe^{+2}) duodenumda görülen 7-8 pH'da bile daha kolay çözünürdür. DMT-1 duodenal demir taşıyıcısıdır. Ferröz demir, enterosit hücrelerine mukozal taraftan DMT-1 ile kolayca alınır. Ferrik demir ise öncelikle bir demir redüktaz olan DCYTB tarafından ferröz demire indirgenir. Membran boyunca taşıma yine DMT-1 tarafından gerçekleştirilir.

Demir bağırsak hücresinin içine girdikten sonra, ferritin olarak depolanabilir veya bazolateral yüzeyden salınmak üzere hücre boyunca taşınabilir. Bu salınım bazolateral yüzeyde membrana gömülü demir taşıyıcısı olan ferroportin aracılığıyla gerçekleşir. Ferröz demir, bazolateral yüzeyde bulunan bir ferooksidaz olan hephaestin ile ferrik forma oksitlenir ardından transferrine yüklenerek kana salınır⁴³⁻

48.

Demir Dengesinin Düzenlenmesi

Vücutta demir eksikliğini ve aşırı demir yüklenmesini önlemek için demir dengesinin sıkı bir şekilde kontrol edilmesi şarttır. Gastrointestinal sistemden demir emilimi, yaşam sürelerinin sonunda kırmızı hücrelerden demirin geri dönüşümü, monosit-makrofaj sisteminden demir depolarının salınması ile dolaşımda yükselen demir düzeyi, vücuttan demir kaybı ile denge halindedir⁴⁹. Bu denge bir dizi spesifik proteinin etkileşimi sayesinde demir emilimi, geri dönüşümü ve kaybı arasındaki düzenle sağlanır.

Sistemik demir regülasyonunda yer alan 3 ana hücre grubu; DMT-1 yoluyla diyetten non-Hem demiri emen enterositler, demir konsantrasyonuna göre hepsidin üreten hepatositler ve yaşlanmış kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobinin parçalanması sonucu oluşan demiri dolaşıma salan makrofajlardır.

Vücuttaki demir dengesi, aşağıdaki bir dizi kritik proteinin biyolojisine dayanır⁴⁹⁻⁵². Ferroportin, demiri anneden fetüse nakleden, emilen demiri enterositlerden dolaşıma aktararak ve makrofajların yaşlanmış ve hasarlı kırmızı hücreleri yıkarak edindiği demiri tekrar dolaşıma sokmasını sağlayan, ana demir salınım proteini. Ferroportin yoluyla demir döngüsünün en önemli kontrolü post-translasyoneldir, çünkü ferroportin proteini ve aktivitesi, hepsidin etkileşimi yoluyla baskılanır. Ferroportin, Fe^{+2} 'yi, Fe^{+3} 'e oksitleyen ferroksohidrazlarla (enterositlerde hephaestin, makrofaj ve hepatositlerde ise seruloplazmin) iş birliği yaparak tüm bu hücrelerden demiri dolaşıma aktarır (16).

HIF-2 α , enterosit apikal yüzey taşıyıcısı olan DMT-1 için; hepsidin ise bazolateral yüzeyin taşıyıcısı olan ferroportin için en önemli düzenleyicilerdir.

HIF-2 α , demir eksikliği, anemi ve hipoksi mevcutiyyetinde demir emilimini arttırmak için düşük hepsidin ile iş birliği yapan temel bir demir emilim aracıdır. HIF-2 α , intestinal mukozanın hipoksik ortamında demir emilimini arttıran anahtar proteinler olan DMT-1, DCYTB ve ferroportin genlerinin ekspresyonunu artırır. Hipoksida, hepsidinin baskılanması, ferroportinin hücrelerden demiri serbestleştirmesine izin verir^{43,47,53,54}.

Demir depoları azaldığında, demir emilimi ve geri dönüşümü artar. Demirin enterositler tarafından emilmesi, DCYTB tarafından kolaylaştırılır. Hepsidin sentezi baskılanır. Ferroportin, demiri makrofajlardan ve enterositlerden dolaşıma salar.

Aşırı demir yüklemesinde ise demir emilimi ve geri dönüşümü azalır. Hepsidin sentezi, artan karaciğer demiri ile indüklenen BMP6 tarafından uyarılır. Dolaşıma salınan hepsidin, ferroportini bağlar, bunun sonucunda da dolaşıma demir salınımını engeller.

Eritroblastlar tarafından üretilen ve eritropoietin tarafından uyarılan eritroferon, eritropoez artışına yanıt olarak hepsidini azaltan, bir hormondur. Eritropoez düzeyinin artması hepsidinin baskılanmasına neden olarak demir emiliminin artmasına dolaylı katkı sağlar. Bu nedenle demir emilimi, beta talasemi, diseritropoietik ve sideroblastik anemi veya miyelodisplastik sendrom varyantları gibi inefektif eritropoeze neden olan bozukluklarda artar.

2.1.6.Demir Eksikliği Gelişimi

Demir eksikliğinin gelişimi ve ilerleme hızı, bireyin temel demir depolarının yanı sıra demir kaybının derecesi, süresi ve hızına bağlıdır.

Normal vücut demir içeriği bireyin yaş, cinsiyet ve sabit durumdaki demir dengesi ile ilişkilidir. Erkeklerde 50 mg/kg, doğurgan çağıdaki kadınlarda ortalama 35 mg/kg olmak üzere bir yetişkinin normal vücut demir içeriği toplam 3-4 gramdır.

Vücut demirinin çoğu hem şeklidir (özellikle hemoglobin ve myoglobin). Çok az miktarda demir peroksidaz, katalaz ve ribonükleotid redüktaz gibi enzimlerin yapısına girip elektron transferinde kullanılır. Bir kısım demir, akonitaz gibi sülfür içeren enzimlerin yapısında bulunur. Non-Hem demirinin çoğu makrofaj ve hepatositlerde hemosiderin veya ferritin olarak depolanır. Yetişkin erkeklerde depo demir yaklaşık 10 mg/kg'dır ve çoğunlukla karaciğer, dalak ve kemik iliğinde monosit-makrofaj sisteminde bulunur. Yetişkin kadınlar, menstrual kanama, gebelik, doğum, emzirme ve demir alımının miktarına bağlı olarak daha az depo demire sahiptir. Vücutta demirin en çok bulunduğu yerler aşağıda listelenmiştir^{25,45,55};

- Eritrositler - 2 g
- Demir içeren proteinler (örn. Miyogloblin, sitokromlar, katalaz) - yaklaşık 400 mg
- Ferritin veya hemosiderin formundaki depo demir - erkekte 0,8-1 g; kadında 0,4-0,5 g
- Transferrine bağlı plazma demiri - 3 ila 7 mg

DE, birkaç aşamada ortaya çıkar. Bu aşamalar, önce demir depolarının ve ardından hemoglobin sentezi için kullanılan demirin tükenme derecesi ile tanımlanır. Sonunda, negatif demir dengesi devam ederse, demir eksikliği olan kırmızı kan hücrelerinin üretimi ile birlikte hipokromik mikrositer anemi meydana gelir.

İlk aşamada demir depoları kansızlığa neden olmadan tamamen tüketilebilir. Bu depolar tükendiğinde, normal hemoglobin sentezi için kırmızı kan hücrelerinin günlük dönüşümünden kaynaklanan "labil" demir havuzunda hala yeterli miktarda demir bulunur, ancak bireyde daha fazla demir kaybı olması durumunda anemi gelişimine karşı savunmasız hale gelmiş olur. Aşırı derecede düşük serum ferritin seviyesine sahip, ancak anemisi olmayan bazı kişiler, bu aşamada yorgunluk semptomlarına sahip olabilir veya egzersiz toleransında azalma gösterebilir. Daha fazla demir kaybı, başlangıçta normal bir mutlak retikülosit sayısı ile birlikte olan normositik anemiye neden olur.

Daha derin eksiklik, hipokromik ve mikrositik eritrositler ve klasik anemi bulguları ile sonuçlanır. DE durumunda retikülosit üretimi artırılmaz ve retikülosit sayısı anemiye rağmen düşük olur. Demir eksikliğine yanıt olarak, normal fizyolojik değişiklikler ile, böbrek fonksiyonunun normal olması ve kişinin hepsidin üretimini baskılayan inflamatuvar bir duruma sahip olmaması koşuluyla, artan eritropoietin üretimi ve azalmış hepsidin üretimi dahil olmak üzere bir dizi telafi edici mekanizma çalışmaya başlar.

Mutlak ve Fonksiyonel Demir Eksikliği

a.Mutlak demir eksikliği : Mutlak demir eksikliği, kemik iliği, karaciğer ve dalak dahil olmak üzere monosit-makrofaj sisteminde depolama demirinin bulunmaması (veya ciddi şekilde azalması) anlamına gelir.

b.Fonksiyonel demir eksikliği (Demir kısıtlı eritropoez) : Bazı bireyler normal hematopoez için zar zor yeterli demir depolarına sahiptir, ancak demir yeterince RBC üretimi için tek başına yeterli değildir^{34,55}. İki ana kategori / mekanizma vardır:

•**Kronik hastalık anemisi / inflamasyon anemisi**: En yaygın mekanizma, iltihaplanma ve artan hepsidin üretimiyle meydana gelen, makrofajlardan tekrar dolaşıma demir salınmasının engellenmesidir. Yaygın nedenler arasında enfeksiyonlar, kanserler, bariatrik cerrahi veya diyabet gibi kronik tıbbi durumlar bulunur.

•**Eritropoez uyarıcı ajanlar (ESA)**: Fonksiyonel demir eksikliğinin bir başka mekanizması, böbrek yetmezliği veya kanser ve kemoterapiye bağlı anemisi olan kişilerde eritropoez uyarıcı ajanlarla (eritropoietin veya darbepoetin gibi) tedavidir. Bu durumlarda, demir depoları mevcut olabilir, ancak bunların dolaşıma salınması, artan eritropoietik hızı desteklemek için yeterince hızlı olmayabilir; bu durum demir sınırlı eritropoez olarak da adlandırılır.

2.1.7.Klinik

DE olan erişkinlerde olağan başvuru semptomları öncelikle anemiden kaynaklanmaktadır. Aynı semptomlar, ciddi şekilde azalmış demir depoları olan ancak henüz anemik olmayan hastalarda da mevcut olabilir. Tipik semptomlar Tablo 1’de verilmiştir³⁵. Hastalarda bu semptomların hepsi veya birkaçı çeşitli derecelerde mevcut olabilir ya da DE tespit ve tedavi edilene kadar hasta tarafından farkedilmeyebilir. Pek çok hasta başarılı demir replasmanından sonra geriye dönük değerlendirmesinde yorgunluk, halsizlik, egzersiz intoleransı veya pikası olduğunu fark eder.

DE olan bireylerde fizik muayene normal olabilir veya aşağıdaki bulgulardan biri veya birkaçı bulunabilir^{35,56-59}. DE olan hastalarda saptanabilecek bulgular Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: DE semptom ve bulguları

Semptomlar	Bulgular
• Yorgunluk • Pika (Pagofaji) • Baş ağrısı • Egzersiz intoleransı • Egzersiz dispnesi • Güçsüzlük • Çarpıntı • Huzursuz bacak sendromu	• Özellikle avuç içlerinde ve mukozalarda görülen solukluk • Kuru veya pürüzlü cilt • Atrofik glossit • Angular Keilitis • Tırnak ve saçlarda kolay kırılma, • Koilonişya • Özofagial web (Plummer-Vinson veya Patterson-Kelly sendromu) • Alopesi • Taşikardi • Takipne • Kardiyak üfürüm • Hemodinamik instabilite

2.1.8.Tanı

Kronik bir hastalık veya hemoglobinopatisi olmayan anemik hastaya, eritrosit mikrositozu, hipokromisi ve düşük serum ferritini ile DEA tanısı konabilir¹². Demir eksikliğinin serum göstergeleri düşük ferritin, düşük demir, artmış total demir bağlama kapasitesi(TDBK), artmış eritrosit protoporfirini ve artmış transferrin bağlayan reseptörlerdir. Serum ferritini demir eksikliğini gösteren en güçlü laboratuvar bulgusudur. Tanı için sınır değeri 12-15 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu değer eşlik eden hastalık yoksa geçerlidir. Eğer eşlik eden kronik hastalık varsa sınır değer 50 mg/L’dir¹².

DEA tanısı için başlangıç testleri:

1-Hemogram: Anemi saptanan hastalarda; MCV 80 fL'nin ve MCH 27 pg'nin altında olması DEA'yı kuvvetle düşündürür.

Periferik yaymada, mikrositoz, hipokromi, anizositoz ve poikilositoz görülebilir. Kalem hücreleri ve daha nadiren hedef hücreleri saptanabilir.

2-Serum ferritini: Demir eksikliğini gösteren en güçlü laboratuvar bulgusudur. Ancak kronik hastalık veya malignite varsa güvenilmezdir. Artmış ferritin değeri DE'yi dışlamaz. Kemik iliği demirinin yokluğunu öngören ferritin konsantrasyonu tartışmalıdır. Bazı çalışmalar 12- 15 ng/mL'lik bir seviyeyi kullanırken (% 99 spesifik, ancak sadece % 57 duyarlı), diğer çalışmalar ise kemik iliği korelasyonları ve uluslararası kılavuzlar tarafından desteklenen 30 ng/mL sınır değerini kullanır⁶⁰⁻⁶⁴. 30 ng/mL'de hassasiyet ve özgüllük sırasıyla yüzde 92 ve yüzde 98 olarak tahmin edilmektedir. Bizim çalışmamızda da bu değer kullanılmıştır.

Klinik bulgular ve hemogram DEA düşündürüyorken, ferritin düzeyi normal veya yüksek ise aşağıdaki testlerin yapılması önerilir:

1. Serum demiri

2. TDBK

3. Transferrin satürasyonu(TSAT) ($\text{serum demiri} \div \text{TDBK} \times 100$): Demir eksikliği olan kişilerde yüzde 10'un altındaki değerler yaygındır ancak bilinen bir inflamasyon durumu varsa yüzde 19'un altında bir değer tanı için yeterli olabilir⁶⁰⁻⁶⁴.

Düşük serum demiri, yüksek TDBK ve TSAT'nin %15'ten küçük olması DEA tanısını destekleyicidir.

2.1.9.Tedavi

Demir eksikliğinin tedavisi, altta yatan nedenin bulunması ve tedavi edilmesi ile hastanın ihtiyaçlarını karşılayan bir demir replasman ürününün seçilmesini içerir. Tedavinin temel amaçları; hemogloblin düzeyini ve eritrosit indekslerini normalleştirmek ve demir depolarını yerine koymaktır.

Semptomların ağırlığına bakılmaksızın, DEA ve DE olan tüm hastalar tedavi edilmelidir⁶⁵. Eksikliğin altında yatan neden ele alınmadıkça ve demir depoları

yeterli miktarda doldurulmadıkça aneminin ilerlemesi, daha fazla organ hasarı ve iskemi riski vardır. Hastanın komorbiditesi olup olmaması, aneminin şiddeti ve altta yatan hastalığa göre bireysel tedaviler uygulanmalıdır. Eğer hastanın klinik durumu gerektiriyorsa kan transfüzyonu yapılması düşünülebilir. Ek hastalığı olmayan yeni tanıli hastada oral demir tedavisi daha güvenli ve ucuz olduğu için intravenöz demir tedavisine tercih edilmelidir.

a.Oral demir tedavisi: Ferröz veya ferrik formdaki tuz ya da kompleksleri içeren ilaçlar kullanılabilir. Bu demir kompleksleri demir sülfat, demir fumarat ve demir glukonat olabilir. Yetişkinlerde günlük doz genellikle 180 mg elementer demir şeklindedir. Tedavi edici dozlar bulguların şiddetine, ferritin düzeyine, hastanın yaşına ve gastrointestinal yan etkilere bağlı olarak 100-200 mg arasında değişebilir. Demire tahammülsüzlük çok sıktır; oral demir preparatları bulantı, kusma, hazımsızlık, kabızlık, ishal veya koyu renk dışkıya neden olabilir⁶⁶. Bu yan etkileri azaltmak için seçilebilecek klasik uygulamalar, demir preparatını düşük dozla başlamak ve 4-5 gün içinde giderek dozu artırmak; bölünmüş dozlarda, en düşük dozda veya gıdalarla vermektir^{12,67-70}. Bununla birlikte, artan kanıtlar, gün aşırı dozlamamanın genellikle daha az yan etkiyle, günlük dozlamaya eşdeğer veya daha iyi demir emilimi ile sonuçlandığını göstermektedir^{71,72}.

DEA’da oral demir tedavisi ile hemoglobin 2-4 hafta içinde 1-2 g/dL artar. Uygun demir dozları verildiğinde anemi 2-4 ay içinde düzelir. Hemoglobin normalleştikten sonra demir depolarını doldurmak için 3 ay daha demir tedavisine devam edilmelidir.

b.İntravenöz demir tedavisi: Ancak aşağıda belirtilen durumlarda parenteral demir tedavisi önerilebilir:

- Hastanın oral demir tedavisine uyumu ya da tahammülü olmaması,
- Aneminin ağır olması,
- Kan kaybının devam etmesi,
- Gastrointestinal hastalığın alevlenmesi,
- Demir emilim bozukluğunun olması,
- Hemodiyaliz hastaları,

- Fonksiyonel demir eksikliği

Demir süktroz, demir glukonat, demir dekstran, ferrik karboksimaltoz İV yolla verilebilir. Ülkemizde en sık tercih edilen ajanların kullanım şekli şöyledir:

Ferrik karboksimaltoz: Ağırlık>50 kg ise, 7 veya daha fazla gün arayla verilen 2 doz 750 mg; ağırlık <50 kg: 7 veya daha fazla gün arayla verilen 2 doz 15 mg / kg

Demir süktroz: 200 ila 300 mg'lık çoklu dozlar [Verilecek toplam demir dozu (mg)=ağırlık (kg) x (normal - hasta HGB farkı) x 2,4 + 500]

İntravenöz demir tedavisinin yan etkileri erken dönemde; hipotansiyon, kas krampları, diyare, ürtiker, ateş, bulantı, kusma, hipertansiyon, göğüs ağrısı, anafilaksidir. Geç dönem yan etkileri ise; lenfadenopati, miyalji, artralji ve ateş olabilir.

c.Düşük dozda idame: Anemi düzeldikten ve demir depoları normal düzeye ulaştıktan sonra, ek demir ihtiyacı devam ediyorsa düşük dozda demir idamesi verilebilir (menoraji, büyüme dönemi). DE olup anemisi olmayan hastalara da aynı tedavi uygulaması düşünülebilir¹².

d.Eritrosit transfüzyonu: Aktif kanaması olup hemodinamik olarak stabil olmayan hastalarda veya ağır DEA'ya bağlı organ iskemisine ait bulgu/belirti gösteren hastalarda eritrosit transfüzyonu uygulanabilir.

e.Kullanmadığımız yollar (İM, transdermal): Oral ve IV demir dışındaki uygulama yollarını kullanmıyoruz. Kas içi (İM) demir preparatları mevcuttur ve demir seviyesini yükseltir, ancak bu uygulama yolu ağırlıdır, uygulama yerinde renk değişikliğine neden olur ve değişken emilimi vardır⁷³. İM demir uygulamasını takiben sarkom geliştiğini bildiren yayınlar mevcuttur^{74,75}. Transdermal demir dağıtım sistemleri, hayvan modellerinde incelenmektedir⁷⁶. İnsanlarda transdermal yolun etkili veya güvenli olduğuna dair klinik kanıt yoktur.

2.2.İMMÜN SİSTEM

2.2.1. Giriş

İnsanlar mikroorganizmalarla dolu bir çevrede yaşar. Bu nedenle oldukça etkili konak savunma mekanizmalarına ihtiyaç duyar. Bu savunma mekanizmalarının tamamı immün sistemi oluşturur. İmmün sistemin iki ana kolu vardır: doğal immün sistem ve edinilmiş(adaptif) immün sistem.

2.2.2.Doğal (nonspesifik) immün sistem

Organizma için yabancı olan enfeksiyon etkenleri dakikalar ve saatler içerisinde ilk savunma hattı olan nonspesifik savunma mekanizmaları ile karşılaşır. Bu bağışıklık şekli ilk kez Medzhitov ve Janeway tarafından, doğumdan itibaren mevcut olup, mikroorganizmalara maruz kalındığında adapte edilmeyen hızlı immün yanıtlar sistemi olarak tanımlandı⁷⁷⁻⁷⁹. Böyle bir sistemin önemi, çoğu bakterinin çoğalma hızının 20-30 dakika iken, antikor ve T hücreleri ile spesifik adaptif bağışıklık tepkisi gelişmesinin günler-haftalar sürdüğü dikkate alınarak takdir edilebilir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, mikroplara maruz kalma ile ilk adaptif tepkiler arasındaki süre boyunca konağı korur¹.Doğal immünite bileşenleri aşağıda listelenmiştir.

- Anatomik ve fizyolojik bariyerler: Cilt ve mukozalar gibi anatomik bariyerler ve vücut sıcaklığı, mide asidi, mukus ve içeriğindeki koruyucu faktörler, organizmanın pH özellikleri gibi fizyolojik bariyerler enfeksiyon etkenleri için doğal ilk savunma hattını oluştururlar.

- Mikrobiyom: Vücutta yaşayan bakteri, mantar ve virüslerin toplamı olan mikrobiyom, konakçı savunma mekanizmalarını etkilediğinden doğal bağışıklık sisteminin bir bileşeni olarak düşünülebilir. Konağı, patojen aşırı büyümesine karşı korur; inflamasyon ile immün homeostaz arasındaki dengeyi düzenler⁸⁰⁻⁸².

- Patern tanıma reseptörleri (PRRs): Toll-like reseptörler (TLRs), C-type lectin reseptörler (CLRs), retinoic acid–inducible gene (RIG)-1-like reseptörler (RLRs) ve NOD-like reseptörler (NLRs).

- Antimikrobiai peptidler: α -Defensinler, β -defensinler, cathelin, protegrin, granulyisin, histatin, sekratuvar lökoproteaz inhibitörleri ve probiyotikler.

- Hücreler: Makrofajlar, dentritik hücreler, NK hücreleri, NK-T hücreleri, nötrofiller, eozinofiller, mast hücreleri, bazofiller ve epitel hücreleri.

- Kompleman komponentleri: Klasik ve alternatif kompleman yolağı, kompleman komponentlerini bağlayan proteinler.

- Sitokinler: Konakçı savunması ve enflamasyona aracılık eden ve adaptif immün sistemi tetikleyen yönlendiren ve düzenleyen otokrin, parakrin ve endokrin sitokinler.

- Doğal inflamatuvar yanıtı düzenleyen merkezi bir sinyal sistemi olan inflamazom.

2.2.3.Edinilmiş(adaptif) immün sistem

Adaptif bağışıklık sadece omurgalılarda bulunur. Yabancı bir antijene veya patojene antijen spesifik tepkilerle karakterizdir. Temel özelliklerinden biri, antijenle ilk teması takiben daha sonraki antijen maruziyetinin daha hızlı ve güçlü immün yanıtlara yol açmasıdır.

Hücrese ve hümorel olmak üzere iki ana koldan oluşur oluşur. Hücrese bağışıklığın başlıca efektör hücreleri T lenfositler, hümorel bağışıklığın ana efektörleri ise B lenfositlerdir. Hem B hem de T lenfositler ortak bir kök hücreden türer.

Hücrese kazanılmış immün sistem: Antijene özgü hücre aracılı bağışıklığın ana etkileri T lenfositler aracılığı ile gerçekleşir.

T lenfositler, hücre içinde replike olan patojenlerle enfekte olmuş hücrelerin (örneğin virüsler, mikobakteriler ve bazı bakteriler) ve anormal farklılaşma sergileyen hücrelerin (örneğin neoplazmalar) ortadan kaldırılmasını sağlar. B lenfositlerden antikor üretimine yardımcıdır. Ayrıca allojenik hücreleri yok eder (greft reddi). Hücrese otoimmün yanıtta, ilaçlara karşı ve kontakt dermatitte gelişen tip IV alerjik reaksiyonda anahtar rol oynar. Dahası, T lenfositler, doğal bağışıklığın

fagositik hücrelerini, mantarlar gibi diğer patojen türlerini öldürmede daha etkili hale getirmek üzere aktive eder¹.

Hümmoral kazanılmış immün sistem: Antikorların aracılık ettiği immünolojik tepkilerdir. B lenfositler antijenle karşılaştığında antikor üretir. Bu antikorlar aktive olup, proliferasyon ve farklılaşmaya uğrayarak antijene yanıt verir. B lenfosit antijenleri; timikten bağımsız (TI) ve timik bağımlı (TD) antijenler olarak kategorize edilebilir. TD B lenfosit antijenleri, antikor oluşturmak için T lenfosit yardımına ihtiyaç duyar. B lenfositlerin aktive olması ve hafıza veya plazma hücrelerine farklılaşmaya başlaması için birden fazla sinyal gerekir. Bu aktive edici sinyaller alınmazsa, B lenfosit, antijene anergi ile yanıt verebilir. İkincil lenfoid dokulardaki germinal merkezler, TD antijenlerine karşı hümmoral immün yanıtın rafine edildiği alanlardır. Bu alanlarda; B lenfositler, reseptörlerini, antijen afinitesini en üst düzeye çıkarmak için değiştirir ve çeşitli fonksiyonlara sahip antikorlar üretmek için farklılaşırlar. Oluşturulan plazma hücreleri ve bellek B hücreleri, uzun süreli bağışıklık sağlar ve sonraki antijen maruziyetlerinde hızlı geri çağırma ile immünolojik yanıtlar sağlar¹.

2.2.4.Lenfoid seri hücreleri

Bağışıklık yanıt hücreleri de diğer tüm insan hücreleri gibi kemik iliğindeki pluripotent kök hücreden(PPKH) gelişirler. PPKH primer lenfoid organlarda myeloid veya lenfoid seri öncülleri olmak üzere iki ayrı yönelime farklılaşarak unipotent kök hücreleri meydana getirir. Lenfoid seri hücreleri ışık mikroskobu altındaki görüntülerine göre başlıca iki ana gruba ayrılabilir: Büyük granüler lenfositler(NK hücre) ve küçük lenfositler(T ve B lenfosit). Büyük granüler lenfositler ~10 mikrometre boyutlarında, nükleuslarına göre daha geniş sitoplazmaya sahip hücrelerdir. Küçük lenfositler, ~7mikrometre çapında, dar sitoplazmalı, yoğun kromatinli nükleusları olan hücrelerdir¹.

Periferik kandaki T lenfositler, B lenfositler ve doğal öldürücü (Natural killer-NK) hücrelerin tüm lenfositlere oranları Tablo 2’de, yüzey reseptörleri Tablo 3’te verilmiştir¹.

Tablo 2: Periferik kandaki lenfosit alt gruplarının yüzdeleri

Lenfosit	Oran(%)
T lenfosit(CD3+)	60-80
•Yardımcı T lenfositler (CD4+)	•60-70
• Sitotoksik T hücreleri (CD8+)	•30-40
B lenfosit(CD20+)	10-20
NK hücre(CD56+)	5-10

Tablo 3: Lenfosit yüzey reseptörleri

	CD2	CD3(+THR)	CD4/CD8	CD16/CD56	CD19-22
T lenfosit	+	+	+	-	-
B lenfosit	-	-	-	-	+
NK hücre	+	-	-	+	-

2.2.4.1. T lenfositler

T lenfositler, lenfoid seriden köken alan, olgunlaşması timusta tamamlanarak periferik kana geçen, antijene özgü hücre aracılı bağışıklığın (CMI) ana efektör hücreleridir. Periferik kan lenfosit havuzunun yüzde 60 ila 80'ini oluştururlar.

Timusta olgunlaşmasının akabinde periferik kana geçen T lenfositler, dalak (Periarteriolar lymphoid sheath-PALS), lenf düğümleri (parakortikal bölge), Peyer plakları, tonsiller ve sekonder lenfoid organ görevi gören diğer mukoza ile ilişkili lenfoid dokulara (MALT) giderek kendilerine ait bölgelere yerleşirler.

T lenfositler, hücrel bağışıklıktaki majör etkilerinin yanında, humoral bağışıklığın efektör mekanizmaların düzenlenmesinde de kritik öneme sahiptir. Protein ve glikoprotein antijenlerinin çoğunluğuna karşı gelişen antikor tepkileri, T lenfosit yardımını gerektirir.

T lenfositler, virüsler, mikobakteriler ve bazı bakteriler gibi hücre içinde çoğalan patojenlerle enfekte olmuş hücrelerin ve neoplazmlar gibi anormal farklılaşma sergileyen hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Ek olarak, hücresel otoimmün tepkilerde, tip IV alerjik reaksiyonlarda ve greft reddinde de rol oynarlar.

T lenfositler, yardımcı T lenfositler (CD4+) ve sitotoksik T lenfositler (CD8+) olmak üzere 2 ana alt gruptan oluşur. Her iki tipin yüzeylerinde CD2, CD3, CD5 ve CD7 de bulunur.

CD4+ Yardımcı T Lenfositler: Neredeyse tüm çekirdekli hücreler, sitoplazmik molekülleri işledikten sonra, bunları MHC sınıf I molekülleri ile birlikte yüzeylerinde sunarken yalnızca APC'ler CD4+ T lenfositlerinin aktivasyonu için gerekli olan MHC sınıf II moleküllerini ifade eder ve gerekli uyarıcı sinyalleri gösterir. Ayrıca B lenfositler de APC'ler gibi MHC sınıf II moleküllerini eksprese eder. Bu ekspresyon humoral bağışıklığın tam teşekküllü çalışabilmesini sağlayan T lenfosit yardımını almak için gereklidir.

APC'ler ayrıca MHC sınıf I molekülleri yoluyla fagosit edilmiş antijenleri de CD4+ T lenfositlere sunabilir¹. APC (özellikle dentritik hücre) tarafından aktive edilen CD4+ T lenfositler, salgılanan sitokinlerin profiline bağlı olarak farklı fonksiyonel kategorilere ayrılır. Antijenlerin vücuda girme yolu (örneğin deri, bağırsak vb.), antijenin şekli (inert moleküller, canlı mikroorganizmalar) ve antijen miktarı, bu fonksiyonel T lenfosit alt kümelerine farklılaşmayı etkileyen önemli faktörlerdir. Bunlar, efektör aktivitelerle ilişkili olanlar (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22 ve foliküler yardımcı T hücreleri [Tfh]) ve düzenleyici aktiviteleri olanlar (doğal düzenleyici T hücresi [nTreg], uyarılmış düzenleyici T hücresi [iTreg], Th3) olarak gruplandırılabilir⁸⁴. En kapsamlı şekilde incelenmiş olanlar T yardımcı tip 1 (Th1) ve T yardımcı tip 2 (Th2)'dir. IL-12 ve interferon (IFN) gama, Th1 hücre gelişimini, IL-4 ise Th2 gelişimini yönlendiren sitokinlerdir. Bu yardımcı T hücre alt popülasyonları, yüzey belirteçlerine göre kolayca ayırt edilemediğinden genellikle sitokin üretimleriyle tanımlanırlar.

Th1: Opsonize edici antikorların (örn., IgG1) üretimini, hücresel sitotoksitenin indüklenmesini ve makrofaj aktivasyonunu destekler. Th1 hücreleri, IFN-gama ve IL-2 salgılar, ancak IL-4 salgılamaz. Makrofajları aktive ederek

mikobakteriler ve virüsler gibi hücre içi mikroorganizmaların yok edilmesine yardımcı olurlar. Th1 hücreleri ayrıca sitotoksik T hücre gelişimini ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarını da destekler. Bu nedenle, Th1 hücreleri proinflamatuardır ve bazı otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir.

Th2: IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 üretir ancak IL-2 veya IFN-gama üretmez. IL-4 ve IL-13 salgılamaları immünoglobulin E (IgE) sentezinin desteklenmesinde önemlidirler. IL-5 üretimi yoluyla eozinofil gelişimini uyarırlar. Parazitik istilalara, özellikle helmintlere karşı bağışıklığa aracılık ederler, alerji ve astım gelişiminde önemlidirler^{85,86}.

Th9: Bu hücrelerin antitümör bağışıklığında, alerji ve otoimmün hastalıkların gelişiminde rolü vardır⁸⁷. Ayrıca parazitlere karşı dirençte önemli oldukları düşünülür. Astım ve diğer alerjik hastalıklarda rol oynayabilirler.

Th17: Proinflamatuvar sitokinlerin (IL-17F, IL-22, IL-26) ve kemokinlerin (CCL20) üretimini indükleyen, nötrofilleri bir araya toplayan, IL-17A salgılar⁸⁸. Th17 hücrelerinin bakteri ve mantarlar da dahil olmak üzere çok sayıda hücre dışı patojene erken yanıtta etkilidir. Kronik enfeksiyon, alerji ve otoimmünitede kronik inflamatuvar yanıtları yönlendirmede önemli bir rol oynar⁸⁹.

Th22: Mukozal bağışıklıkta koruyucu bir role sahip olabilir. Psöriyazis, astım ve atopik dermatit ile ilişkilidir.

Tfh: Yüksek afiniteli antikor üretimi için B hücrelerine yardım sağlamada önemli bir role sahiptir.

Treg: Periferik toleransın oluşturulması ve sürdürülmesi için mutlaka gereklidir. Bağışıklık tepkisinin negatif düzenlenmesinde temel bir rol oynarlar. Treg hücreleri tipik olarak toplam CD4 popülasyonunun yüzde 1 ila 2'sini oluşturur, ancak genel olarak, APC ve efektör T hücreleri arasındaki aktivitenin temas inhibisyonu ile efektör CD4+ T hücresi etkilerinin baskılanmasından veya doğrudan sitotoksitenin baskılanmasından kritik olarak sorumludur.

CD8+ Sitotoksik T Lenfositler(CTL): Çoğunluğu MHC sınıf I için CD8 koreseptörünü eksprese eden sitotoksik T lenfositleri de CD4+ hücreler gibi lenfoid dokulardaki profesyonel APC'ler tarafından aktive edilir. Ancak, saf bir CD8+ T

hücresini tam teşekküllü bir efektör (sitotoksik) T hücresi haline getirmeden önce, APC'nin önce antijene özgü bir CD4+ T hücresi ile temas yoluyla etkinleştirilmesi gerekir⁹⁰. Ayrıca viral tehdit karşısında, primer CD8+ T hücre yanıtı sağlamak amacıyla doğrudan CD4+ T hücresi yardımı da gerekli olabilir^{90,91}. Sitotoksik T hücreler lenfoid dokularda efektör fonksiyon kazandıktan sonra, periferde dolaşarak enfekte olmuş hücreleri öldürmeyi amaçlar.

Somatik hücrelerin büyük çoğunluğu MHC sınıf I moleküllerini eksprese eder ve CD8+ sitotoksik T hücrelerinin hedefleri olarak hizmet edebilir. Lizisteki ilk adım, TCR'ye özgü antijenleri sunan sitotoksik ve hedef hücreler arasındaki ve immünolojik sinapsı oluşturacak olan membran temasıdır. Çoğu sitotoksik T lenfositleri, CD8 molekülü ile alfa-beta TCR heterodimerini eksprese eder ve MHC sınıf I ile bağlantılı peptit antijenlerini tanır. Bu temas, TCR/CD8-MHC sınıf I etkileşiminin yanı sıra birkaç T hücresi/hedef hücre adezyon molekülü etkileşimi (örneğin, CD58 ile CD2, CD54 ile CD11a/CD18 ve diğerleri) tarafından sağlanır^{92,93}.

Sitotoksikite, iki ana mekanizma yoluyla meydana gelir: perforin, granzimler gibi sitotoksik molekülleri içeren granüllerin ekzositozu veya CTL'ler üzerindeki Fas ligandının (FasL) hedef hücreler üzerinde eksprese edilen Fas ile etkileşimi.

Bu sitotoksik mekanizmalara ek olarak, CTL'ler, IFN-gama ve TNF gibi, hedef hücrelere doğrudan zarar verebilen veya mikrobiyal replikasyonu engelleyebilen çeşitli sitokinler de salgılar^{92,93}. Ayrıca makrofajlar gibi diğer inflamatuvar efektör hücreleri bir araya toplar ve modüle ederler. Tek bir CTL, kendisi zarar görmeden birkaç hedef hücreyi parçalayabilir.

2.2.4.2. B lenfositler

B lenfositler, kemik iliğinde lenfoid seriden gelişen, edinilmiş humoral immünitinin temel unsuru olan antikorların üretiminden sorumlu hücrelerdir. İlk defa 1960'larda kuşlarda tespit edilmiştir. 'B' kısaltması, kuşlarda bu hücrelerin

olgunlaştığı organ olan ve memelilerde bulunmayan *Bursa Fabricius*'tan gelmektedir. Kandaki lenfositlerin %5-15'ini oluşturur^{1,94}.

Kemik iliğinden çıktıktan sonra B lenfositler, başlıca dalak ve lenf düğümleri olmak üzere tonsiller, Peyer plakları ve MALT gibi diğer ikincil lenfoid organlara göç eder¹. Neredeyse tüm olgun B lenfositler immünoglobulin reseptörleri, CD19 ve CD20 yüzey antijenleri eksprese eder, ancak diğer yüzey belirteçlerinin ekspresyonuna dayalı olarak alt gruplara ayrılabilir. CD19 ve CD20, akım sitometrisinin rutin klinik uygulamalarında B hücrelerini saymak için en sık kullanılan belirteçlerdir^{1,94}.

Ana görevleri antikor üretim ve sekresyonudur. Antikorlar humoral immün yanıtın efektör molekülleridir. Sistemik olarak vücudun her yerine ulaşabilirler. Her bir immünoglobülin (Ig) molekülü, birbirlerine disülfid bağları ile bağlanan 2 ağır ve 2 hafif zincirden oluşur. Ig sınıfını belirleyen 5 farklı tipte ağır zincir bulunmaktadır (α , γ , δ , ϵ ve μ). Ağır zincir tiplerine göre adlandırılan (IgA, IgG, IgD, IgE ve IgM) her bir Ig sınıfının farklı fonksiyonları bulunur. Antijen bağlama özgülüğü Ig molekülünün Fab kısmı tarafından, hücre yüzeyine bağlanma görevi ise Fc kısmı tarafından gerçekleştirilir. Antikorlar polisakkarid ve lipid antijen barındıran ekstraselüler mikroorganizmalara ve onların toksinlerine yönelik primer immün defans mekanizmasını oluşturur. Mikroorganizmaları ve toksinlerini nötralize eder, opsonin gibi davranarak mikroorganizma fagositozunu artırır, kompleman aktivasyonuna yol açar ve antikor bağımlı hücrel sitotoksitede rol oynarlar^{1,95-97}.

B hücresi gelişiminin ilk adımları steril fetal ortam başlasa da olgun B hücrelerinin farklılaşması ve antikor üretimi için, antijenik ve antijenik olmayan uyaranlar tarafından sağlanan aktivasyon sinyalleri gerekir. Matür naif B hücreleri antijeni tanıyabilir ancak antikor sekresyonu yapamazlar. Antikor sekresyonu için önce aktive olmaları gereklidir ki B hücre aktivasyonu ardışık kompleks basamaklardan oluşan bir süreçtir. B hücre aktivasyonu Th hücre bağımlı ve Th hücre bağımsız olmak üzere 2 şekilde gerçekleşebilir. B hücrelerinin antijen reseptörleri polisakkarid, lipid, glikolipid, nükleik asit ve ufak solübl moleküller gibi değişik natürde antijenleri tanıyabilir. TI olarak adlandırılan bu antijenler B hücrelerini direkt olarak aktive edebilirler. Ancak protein antijenlerle B hücre

aktivasyonu için CD4+ T hücre yardımı gereklidir. Bu nedenle proteinler B hücreleri için TD antijenleri olarak bilinirler^{1,94,98-101}.

Germinal merkezler (GC'ler), TD antijenlerine karşı hümmoral immün yanıtın rafine edildiği ikincil lenfoid dokulardaki alanlardır. GC'ler içinde B hücreleri, antijen afinitesini en üst düzeye çıkarmak için B hücre reseptörlerini değiştirir ve çeşitli efektör işlevlere sahip antikorlar üretmek için sınıf geçişi yapar. GC'ler içinde oluşturulan plazma hücreleri ve hafıza B hücreleri, uzun süreli bağışıklık sağlar. Hafıza B hücreleri yıllar boyu nonfonksiyonel/sessiz olarak yaşıyabilirler. Antijenle tekrar karşılaştıklarında ise hızlı humoral immün yanıt sađlayabilirler⁹⁶.

Protein antijenlere primer ve sekonder immün yanıtlar fark göstermektedir. Primer humoral immün yanıt matür naif B hücrelerinin, sekonder humoral immün yanıt ise hafıza B hücrelerinin aktivasyonu ile oluşur. Primer cevap yavaştır, birkaç hafta içinde oluşur ve esas olarak çok miktarda antijene karşı az miktarda ve afinitesi düşük IgM üretimi ile karakterizedir. Sekonder cevap, primer cevaptan daha hızlıdır, daha az antijene karşı 1 hafta içinde daha fazla antikor üretimiyle karakterizedir. Ayrıca sekonder cevaplarda salınan antikor izotipleri farklıdır (IgA, IgE, IgG) ve bunların antijen afiniteleri de yüksektir. Sekonder cevaplarda hafıza B hücrelerinden köken alan plazma hücreleri, primer cevaplarda naif B hücrenden köken alan plazma hücrelerine göre daha uzun ömürlüdür. Ağır zincir izotip/ sınıf değişimi ve afinite matürasyonu tipik olarak protein antijenlere yönelik TD hümmoral immün yanıttta gözlenirler. TI antijenlere yönelik immün yanıt ise karakteristik olarak çok az ağır zincir izotip/sınıf değişimi ve afinite matürasyonu barındırır. Yani bu tip antijenlere karşı üretilen antikorlar klasik olarak düşük afiniteli ve daha çok IgM tipi antikorlardır. Ayrıca GC oluşumu (sekonder lenfoid folikül oluşumu), sekonder immün yanıt veya hafıza gibi özellikler T-bağımsız antijenlere immün yanıttta bulunmazlar. T-bağımsız humoral immün yanıttta oluşan plazma hücreleri ise T-bağımlı humoral immün yanıttta oluşanlara göre daha kısa ömürlüdür^{1,101,102}.

2.2.4.3. NK Hücreler

NK hücreler (doğal öldürücü-natural killer- NK), doğal immünitenin bileşeni olan, benzersiz özelliklere sahip, kemik iliği kökenli, büyük granüllü

lenfositlerdir. Her biri belirli rolleri ve işlevleri olan "doğal lenfoid hücreler" (innate lymphoid cells-ILC'ler) ailesinin en bilinen üyeleridir^{103,104}.

NK hücreleri, kemik iliğinden kaynaklanan ve periferik kan lenfosit havuzunun yüzde 2 ila 18'ini oluşturan lenfositlerdir¹⁰⁵⁻¹⁰⁸. Sayıları az olmakla birlikte, doğal bağışıklık sisteminin periferik kandaki ana lenfositleridir. NK hücrelerinin, organlardaki lenfositlerin azınlık bir kısmını oluşturmalarının önemli istisnaları vardır. Örneğin, duodenal epitelde ve hamilelik sırasında uterus desiduasında, sırasıyla lenfositlerin yüzde 45 ve 70'ini oluştururlar^{109,110}.

NK hücreleri, diğer lenfosit popülasyonları ile aynı hücre yüzey belirteçlerini göstermez. CD3, CD4 veya CD19 içermezken, olgun NK hücrelerinin çoğu aşağıdaki yüzey moleküllerini gösterir^{111,112}:

- CD2 – Lenfosit fonksiyonuyla ilişkili antijen (LFA)-3 için adezyon molekülünün reseptörü
- CD16 – IgG için Fc-gamma-RIIIa reseptörü
- CD56 – NCAM-I (Nöral hücre adezyon molekülü)

Standart lenfosit akım sitometrisi panellerinde, NK hücreleri tipik olarak CD3-, CD16/56+ olarak karakterize edilir. NK hücrelerinin yaklaşık yarısı CD8 eksprese eder, ancak bunlar sitotoksik T hücreleri üzerinde eksprese edilen CD8 alfa/beta heterodimerlerinin aksine CD8 alfa/alfa homodimerleridir.

NK hücreleri, sitotoksitede kullanılan enzimleri ve diğer molekülleri içeren büyük sitoplazmik granüllerinin varlığı ile elektron mikroskopunda diğer lenfositlerden ayırt edilebilir.

Virüs ile enfekte olan hücrelere karşı savunmada ve tümör gözetiminde kritik rol oynarlar^{113,115}.

Germ hattı DNA'sında kodlanmış reseptörler aracılığıyla hareket ettikleri ve özgüllüğe ulaşmak için genetik rekombinasyona uğramamazlar, etki etmek için patojenik antijenlere önceden maruz kalmış olmaları gerekmediğinden doğal bağışıklığın bir parçası olarak kabul edilir. Bu onları, antijene maruz kaldıktan sonra DNA'yı yeniden birleştiren ve sırasıyla antijene özgü T hücre reseptörleri ve

immünoglobulinler üreten adaptif bağışıklık sisteminin lenfositlerinden (yani, T, B ve doğal öldürücü T [NKT] hücreleri) ayırır¹¹⁶.

Doğal bağışıklık sistemindeki NK hücrelerinin en önemli işlevlerinden biri sitotoksitedir. Sürekli olarak çevresini saran hücreleri anormallikler için araştırır, başta virüs ile enfekte olan hücreler ve tümoral hücreler olmak üzere patolojik hücreleri öldürür. Ayrıca işlevleri arasında sitokin ve kemokin üretimi ve diğer bağışıklık hücrelerinin uyarılması yer alır¹¹⁷.

NK hücreleri tarafından gerçekleştirilen başlıca iki öldürme mekanizması vardır: NK hücre sitotoksitesi ve ADCC. Her iki mekanizmada da por oluşturu moleköl perforini, granzim ve serin esterazlar gibi hücre ölümünü indükleyen enzimleri içeren litik granöl içeriklerinin salınmasını içerir.

NK hücre sitotoksitesi öldürmenin en hızlı şeklidir ve doğal bağışıklık sisteminin bir parçasıdır. Akut viral enfeksiyon sırasında, artan NK hücre sitotoksitesi üç gün içinde belirginleşir^{111,118}. NK hücrelerinin bu özelliği, sitotoksik T hücreleri karşılaştırıldığında son derece hızlıdır. Çünkü sitotoksik T hücreleri viral maruziyet ile aktivasyondan önce sitotoksite yeteneğine sahip değildir ve sayıları viral aktivasyondan yaklaşık bir hafta sonra zirveye ulaşır.

ADCC, immünoglobulini içerir ve dolayısıyla adaptif bağışıklık sistemi ile sinerjik etki eder. NK hücresinin yüzeyindeki CD16, IgG'nin Fc kısmına bağlanır. IgG, Fab kısmındaki antijen tanıma bölgeleri aracılığıyla hedef hücre veya organizmaya bağlanır. Bu etkileşim NK hücrelerini aktive ederek hedef hücrenin ADCC'sine yol açar.

Ek olarak, NK hücreler üçüncü bir farklı öldürme tipine de aracılık eder. Bu öldürme şeklinde, hedef hücre tarafından eksprese edilen ligandlar ile NK hücreleri üzerinde bulunan aynı kökenli reseptörler arasındaki etkileşimlere dayalı olarak hedef hücrelerde apoptoz indüklenir¹¹⁹. Bu tip NK hücre öldürme şekli daha yavaş etkilidir, adaptif bağışıklık sistemi ile etkileşim gerektirmez ve "doğal" veya "spontan" sitotoksite olarak adlandırılır.

NK hücrelerinin insan sağlığı ve hastalığındaki önemi, NK hücrelerinin bulunmadığı veya kusurlu olduğu az sayıda insan hastalığı ile gösterilmektedir. NK

hücre bozuklukları nadirdir ve klinik olarak herpes virüsleri (özellikle varicella-zoster virüsü, herpes simpleks virüsleri I ve II, Epstein-Barr virüsü ve sitomegalovirüs) ve daha nadir HPV ile şiddetli ve/veya tekrarlayan ve/veya atipik enfeksiyona duyarlılık ile karakterize edilir. Literatürde bildirilen hastaların çoğu, (bazılarında başarılı hematopoietik hücre nakli yapılmasına rağmen) çocukluk veya ergenlik döneminde kaybedilmiştir. NK hücre eksikliği sendromları, NK hücrelerini etkilediği bilinen başka bir immün yetmezlik, ilaç veya başka bir durumun yokluğunda NK hücrelerinin sayısının, işlevinin veya her ikisinin anormal olduğu bozukluklardır¹²⁰⁻¹²³.

Birçok birincil immün yetmezlik bozukluğu, malignite riskini artırır ve NK hücre eksiklikleri de bu etkiye sahip olabilir. GATA2 eksikliği (Klasik NK hücre eksikliği (cNKD)'ne neden olduğu bilinen tek otozomal dominant mutasyon) olan hastalarda HPV ile ilişkili kanserler topluma göre daha sık gelişir¹²⁰, ancak NK eksikliklerinin diğer nedenlerine sahip hastalardaki veriler yetersizdir.

2.3.İMMÜN SİSTEM VE DEMİR EKSİKLİĞİ

Demir ve bağışıklık yakın bir ilişki içindedir. Demir, vücut savunmasında önemli rolleri olan, bağışıklık sisteminin gelişimi ve işleyişi için mutlaka gerekli olan temel bir elementtir. Demirin vücuda yetersiz alımı, yetersiz bir immün cevaba sebep olur^{5,6,11}.

Demirin konağın bağışıklık tepkilerindeki görevleri; anti-mikrobiyal radikal oluşturulması, immün hücre proliferasyonu, anti-mikrobiyal immün yolların doğrudan değiştirilmesi olarak özetlenebilir^{4,11,124-127}.

Birkaç olası mekanizma demir eksikliğinin bağışıklık sistemi üzerinde etkilerini açıklayabiliriz.

Peroksit ve nitröz oksit üreten enzimler, bağışıklık hücresinin düzgün işleyişi için gereklidir. Demir, bu enzimlerin çok önemli bir bileşenidir^{11,128}. DEA'da azalmış miyeloperoksidaz enzim aktivitesi ve bozulmuş hücre içi bakterisidal aktiviteye bağlı nötrofil fonksiyonunda azalma görülür.

Demir DNA sentezinde yer alan enzimler için de kritiktir. Ribonükleotid redüktaz gibi hücre döngüsü kontrolünde yer alan bazı enzimler işleyişleri sırasında demir kullanır. Bu nedenle hücre içi demir yoksunluğu olduğunda, bu enzimlerin işlevi baskılanır^{129,130}. Büyümeyi ve farklılaşmayı uyaran bu özelliklerinden dolayı, özellikle lenfositlerde olmak üzere immün sistem hücrelerinin gelişiminde, monosit/makrofaj farklılaşmasında önemli bir role sahiptir^{131,132}.

Lenfosit aktivasyonunun proliferatif fazı demir gerektiren bir fazdır ve DEA sırasında bu fazda bozulma görülür⁷. DE, her ikisi de T hücresi aktivasyonu ile ilişkili hücre içi sinyalleşme kaskadında önemli adımlar olan fosfatidilinositol-4, 5-bifosfat hidrolizini ve protein kinaz C aktivitesini inhibe edebilir. Hücresel bağışıklık, humoral bağışıklığa kıyasla demir eksikliğinden daha fazla etkilenir^{124,133-137}. DEA T hücresi proliferasyonuna katkıda bulunabilecek hücre belirteçlerinin ekspresyonunun değişmesine ve T hücre proliferasyonunda azalmaya neden olur^{125,129,134-147}.

Demir, ikinci haberci sistemleri üzerindeki etkisiyle sitokin üretiminin düzenlenmesinde de rol oynar¹²⁸. Bu nedenle DEA, aktive lenfositlerin sitokin ekspresyon profilini değiştirebilir¹²⁹. Bazı sitokinlerin (örn. IL-2, IL-1, IL-6, TNF-a, IL-4, IL-12p40, IFN- γ , ve IL-10) seviyelerinin değişmesi bağışıklık sisteminin bozulmasına neden olabilir^{145,146}. IL-2'nin salınımı, lenfosit alt kümeleri ve NK hücreler arasındaki iletişim için gereklidir. DE'de IL-2 düzeyinde azalma meydana gelir^{4,11,143,147}.

3. MATERYAL VE METOD

Araştırmamızın türü prospektif klinik çalışmadır.

3.1. Hasta seçimi

Araştırmaya, Temmuz 2020-Haziran 2021 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniğine başvurup DEA tanısı alan yaşları 18-50 arasında değişen 30 kadın hasta ile 15 kadın sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Çalışmaya katılan hasta

ve sağlıklı gönüllüler detaylı olarak bilgilendirilmiş ve yazılı onamları alınmıştır. Hastalarla paylaşılan bilgilendirilmiş onam formu ise EK-1’de sunulmuştur

Çalışmaya dahil edilme kriterlerini sağlayan hastalara tedaviye başlamadan önce ayrıntılı anamnez alınmış, fizik muayene yapılmış, hemogram ve demir parametreleri kaydedilmiş ve eş zamanlı venöz kan örneği alınmıştır. 6 aylık tedavi ve takip sonrasında hemogram ve demir parametreleri normal sınırlara ulaşan katılımcıların tekrar venöz kan örnekleri alınarak, anamnez ve fizik muayene tekrarlanmıştır. Venöz kan örneklerinde lenfosit alt grup tayini için akım sitometri yöntemi uygulanmıştır. B lenfosit, T lenfosit, yardımcı T lenfosit (CD4+), sitotoksik T lenfosit (CD8+) ve NK hücre sayımı yapılmıştır.

Kendisinde ya da birinci derece akrabalarında immün yetmezlik veya otoimmünite öyküsü olmayan, çalışmaya katıldığı anda herhangi bir enfeksiyonu olmayan yaş ve cinsiyet uyumlu bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, hemogram ve demir parametreleri normal sınırlardaki 15 sağlıklı erişkin ise kontrol grubunu oluşturmuştur.

Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı gönüllülerin demografik özelliklerde yaş, kilo, boy, VKİ (vücut kitle indeksi), eğitim durumu, medeni hal, çalışma durumu, meslek, sigara ve alkol kullanımı, son bir yılda geçirilmiş cerrahi operasyonlar, aşılar, son bir yılda kullanılan ilaçlar değerlendirilmiş, son bir yılda geçirilen enfeksiyonlar ve tedavi süreçleri sorgulanmıştır.

3.1.1. Çalışmaya dahil edilme kriterleri

Hasta grubu:

- 18-50 yaşları arası kadın olmak
- DEA yeni tanı almış ve aşağıdaki kriterleri taşıyor olmak:
 - HGB <12 g/dl,
 - Ferritin <15 ug/L,
 - TSAT <0.15

Kontrol grubu:

- 18-50 yaşları arası kadın olmak,
- Hemogram ve demir değerlerinin normal sınırlarda olması:
 - HGB >12 g/dl,
 - Ferritin >30 ug/L,
 - TSAT> 0.15

3.1.2. Çalışmadan dışlama kriterleri

- Sistemik veya metabolik hastalık olması,
- Gebelik veya laktasyon döneminde olması,
- Aktif sistemik bakteriyel, viral veya mantar enfeksiyonu varlığı,
- Malignite öyküsü olması,
- Konjenital veya edinilmiş immün yetmezlik olması,
- İlaç kullanıyor olması,
- T ve B lenfositleri etkileyebilecek immünsupresif tedavi almış olması.

3.2. Etik kurul onayı ve bütçe

Çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 08.07.2019 tarih ve 2019-13-19 karar no ile izin alınmıştır. Araştırma protokole, ilgili mevzuata, güncel Helsinki Bildirgesi ve iyi klinik uygulamaları ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir, EK-2'de etik kurul onayı sunulmuştur.

Çalışmanın bütçesi Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu(TUEK)'nun uygun bulma kararı ile kurum bütçesinden karşılanmıştır.

3.3. Örneklerin toplanması

Dahil edilme ve hariç tutma kriterlerine göre değerlendirilen ve uygun bulunan 30 hastanın venöz kan örnekleri birer adet 2 ml'lik EDTA'lı tüpe sabah saatlerinde alınarak toplanmıştır. İlk örnekler alındıktan sonra hastalara oral demir tedavisi başlanmıştır ve 6-8 ay süre ile tedavi ve izlemleri devam etmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 30 DEA tanılı hastanın tamamına oral demir tedavisi başlanmıştır ancak hastaların %16,7'si (n=5) oral tedaviyi tolere edemediğinden IV demir replasmanı yapılmıştır. Oral tedavi ile takip edilen hastaların hemoglobin düzeyi normalleştikten sonra demir depolarının dolması için demir tedavisine devam edilmiştir. Tüm hastalardan aneminin düzelmesinden 4 ay sonra, hemoglobin düzeyi 12 g/dl'nin, ferritin düzeyi 30 ug/L'nin üzerinde iken yeniden kan örneği alınmıştır. Hastalardan tedavi öncesi ve tedavi sonrası olmak üzere iki kez, sağlıklı kontrol grubundan ise bir kez alınan EDTA'lı tüpteki numuneler alındığı gün içerisinde Bakırköy Eğitim ve Araştırma Hastanesi Flow Sitometri Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Her örnek alımı ile birlikte kan sayım cihazında B lenfosit, T lenfosit, yardımcı T lenfosit (CD4+), sitotoksik T lenfosit (CD8+) ve NK hücre sayısı belirlenmiştir.

3.4. Flow sitometri

Tam kan yüzey boyama için Fluroscein isothiocyanate (FITC), Phycoerythrin (PE), Allophycocyanin (APC), Phycoerythrin-Cyanin 5.1. (PC5), Phycoerythrin-Texas Red®-X (ECD) ile konjuge anti- monoklonal antikorlar; CD3 (T cell receptor, PE ve FITC), CD4 (T-helper cell receptor, PC5), CD8 (Cytotoxic T cell receptor, ECD), CD19 (co-stimulatory receptor on mature B cell, ECD), CD16 (Natural killer cell protein, FcγRIII, PE), CD56 (Neural cell-adhesin molecule, NCAM, natural killer cells marker, PC5), CD45 (protein tyrosine phosphatase, receptor type C, PTPRC, leukocyte common antigen, cells marker of hematopoietic origin, APC ve FITC) 5 ml'lik tüplere (Beckman Coulter) uygun titrasyonlar yapıldıktan sonra dağıtıldı ve üzerine EDTA'lı tüpe alınan 2 ml kandan 100 mikrolitre olacak şekilde paylaştırıldı. Vorteks yapıldıktan sonra oda ısısında, karanlıkta, 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre bitiminde eritrositleri patlatmak amacıyla 2 ml lysis buffer (Beckman Coulter, Optilyse C) konuldu. Örnekler tekrar

vortekslendikten sonra 10 dakika boyunca oda ısısında inkübe edildi. Üzerine 500 ml flow sıvısı (Beckman Coulter, Flow sheath) eklenerek tekrar vortekslenip 10 dakika karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. Süre bitiminde 2250 rpm de 5 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüj sonrası supernatant döküldü. Üzerine 2 ml flow sıvısı eklenerek tekrar vortekslenildi ve santrifüj edildi (2250 rpm, 5 dakika). Santrifüj sonrası supernatant uzaklaştırıldıktan sonra 500 mikrolitre flow sıvısı ile resüspanse edildi. Tüm örnekler bu şekilde hazırlandıktan sonra, hücre süspansiyonları Beckman Coulter Navios akım sitometri cihazında okutuldu. Örneklerin analizi Kaluza Software programı kullanılarak gerçekleştirildi. Yapılan değerlendirmede tüm veriler total lenfositlere oranlanarak yüzde olarak hesaplandı.

3.5. İstatiksel analiz

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 26.0 sürümü kullanılmıştır. Çalışmada anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken, sürekli yapıdaki verilerin tanımlayıcı istatistiksel bilgileri ortalama, standart sapma, medyan, minimum, maksimum ve nitel yapıdaki veriler için frekans ve yüzde dağılımları verilmiştir. Çalışmada nicel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenlerin ikili bağımsız grup karşılaştırmalarında bağımsız örneklem t testi, iki bağımlı grup karşılaştırmalarında (tedavi öncesi-tedavi sonrası) eşlenik t testi (paired t) kullanılmıştır. İlişki analizleri için Pearson Korelasyon Analizi uygulanmıştır.

4.BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen, 30 hasta ve 15 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere 45 katılımcının tamamı kadındı. Hasta grubu yaş ortalama değeri $33,37 \pm 9,62$ ve kontrol grubu ortalama değeri $33,53 \pm 10,27$ olup, tüm katılımcıların yaşları 18 ile 50 arasında değişmekteydi. Boy ve kilo ortalaması sırasıyla hasta grubunda $161,53 \pm 4,87$ ve $68,63 \pm 14,08$ olup, kontrol grubunda $162,53 \pm 4,03$ ve $60,87 \pm 8,91$ ’di.

Hasta ve kontrollerin VKİ ölçümleri, sigara kullanımı gibi demografik verileri Tablo 4’te ayrıntılı olarak verilmiştir. Alkol kullanımı her iki grupta da yoktu.

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunun demografik verilerine yönelik sıklık dağılım tablosu

	Hasta Grubu (n=30)		Kontrol Grubu (n=15)	
	Ortalama ±SS			
Yaş	33,37±9,62		33,53±10,27	
Kilo (kg)	68,63±14,08		60,87±8,91	
Boy (cm)	161,53±4,87		162,53±4,03	
VKI (kg/m²)	26,27±5,22		23,08±3,59	
	n	%	n	%
VKI sınıflama				
Zayıf	2	6,7	-	-
Normal	11	36,7	10	66,7
Pre-obez	8	26,7	4	26,7
Obez	9	30,0	1	6,7
Sigara kullanımı				
Sigara içiyor	8	26,7	1	6,7
Sigara içmiyor	22	73,3	14	93,3

Hasta ve kontroller son bir yılda geçirdikleri enfeksiyonlar yönünden sorgulandı. Her iki grupta da hastaneye yatış gerektiren ciddi enfeksiyon öyküsü saptanmadı. Hasta grubunda son 1 yıl içinde; üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE), sistit, akut gastroenterit(AGE) ve vaginit enfeksiyonlarından bir veya birkaçını geçirme ve tedavi olma öyküsü olan 23 hasta mevcuttu. Hastalar çalışmaya dahil edildikten sonra takiplerinde yeni saptanan enfeksiyon bulgusu olmadı. Kontrol grubunda ise, 3 katılımcıda ÜSYE öyküsü mevcuttu. Enfeksiyon verileri nicelik ve var/yok olarak değerlendirildi. Veriler Tablo 5’te verilmiştir.

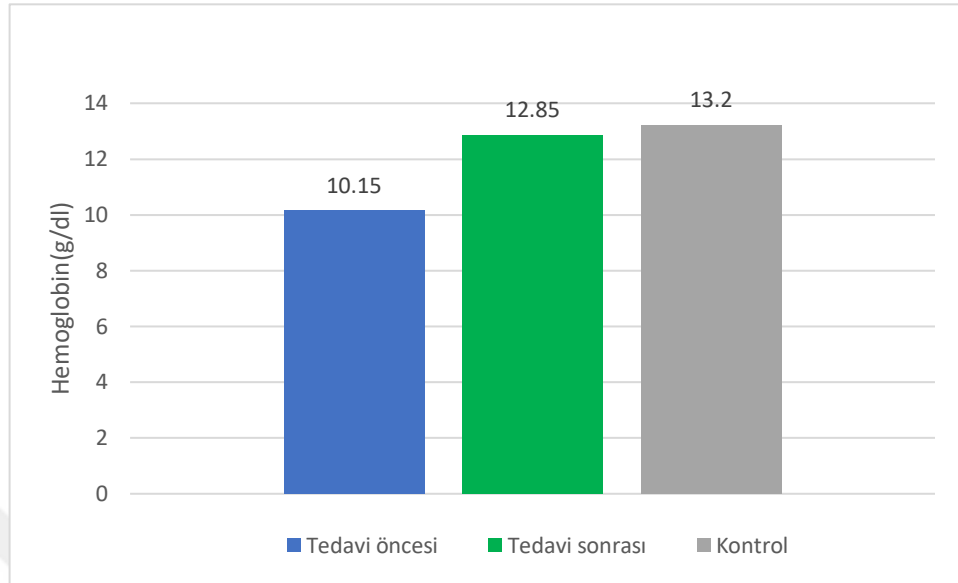
Tablo 5: Hasta ve kontrol grubunun son 1 yılda enfeksiyon geçirme durum ve sıklığı dağılım tablosu

	Hasta Grubu (n=30)		Kontrol Grubu (n=15)	
	Ortalama ±SS			
Enfeksiyon sayısı	1,47±1,33		0,20±0,41	
	n	%	n	%
Enfeksiyon geçirme durumu				
Var	23	76,7	3	20,0
Yok	7	23,3	12	80,0

Hasta grubun tedavi öncesi değerleri ve kontrol grubu arasında HGB, HCT, PLT, MCV, ferritin, demir, TDBK, TSAT değişkenlerinde beklendiği üzere anlamlı bir farklılık elde edilmiştir ($p<0,05$). Farklılık oluşturan değişkenlere yönelik istatistiksel bilgiler ise şöyledir:

DEA hastaların tedavi öncesi HGB ortalaması 10,17 $\pm$ 1,19 şeklindedir. HGB medyan değeri 10,15 iken, minimum değeri 6,50, maksimum değeri ise 11,70’tir. Kontrol grubundaki katılımcıların HGB ortalaması 13,22 $\pm$ 0,68, medyan değeri 13,20 iken, minimum değeri 12,00, maksimum HGB değeri ise 14,20’dir.(Şekil 1)

Şekil 1: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu hemoglobin düzeyleri karşılaştırılması



DEA hastaların tedavi öncesi hematokrit(HCT) ortalaması $32,85 \pm 3,00$ şeklindedir. HCT medyan değeri 32,90 iken, minimum 21,80, maksimum değeri ise 38,10'dur. Kontrol grubundaki katılımcıların HCT ortalaması $39,91 \pm 1,64$, medyan değeri 39,80 iken, minimum değeri 37,30, maksimum değeri ise 43,30'dur.

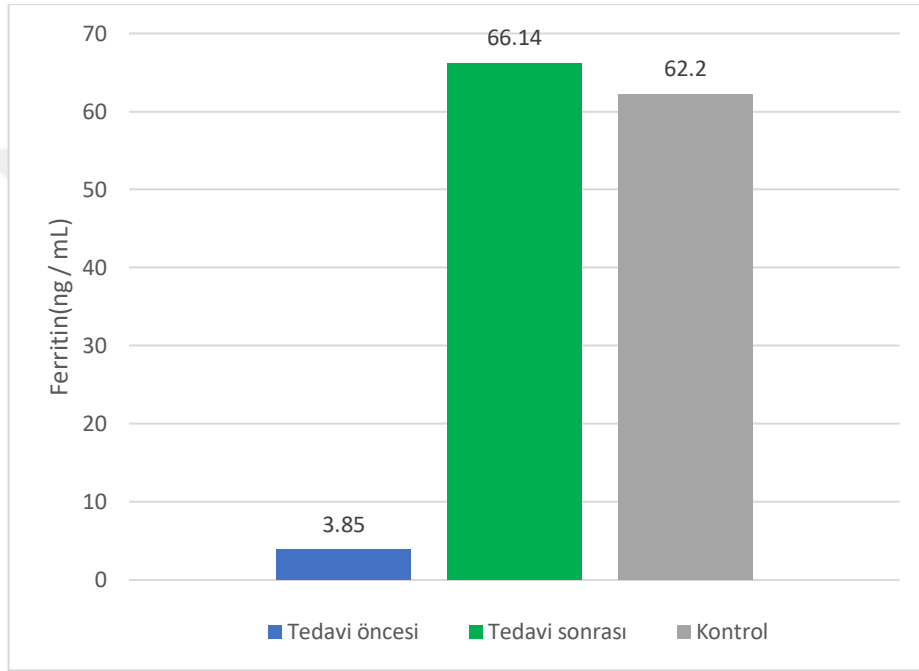
DEA hastaların tedavi öncesi platelet(PLT) ortalaması $306,43 \pm 61,04$, medyan değeri 300,00, minimum 199,00, maksimum 429,00'dur. Kontrol grubundaki katılımcıların PLT ortalaması $255,27 \pm 38,69$, medyan değeri 259,00, minimum 190,00, maksimum değeri ise 344,00'tür. DEA hastaların tedavi öncesi MCV ortalaması $75,27 \pm 7,39$ şeklindedir.

MCV medyan değeri 76,65 iken, minimum MCV değeri 60,20, maksimum MCV değeri ise 88,10'dur. Kontrol grubundaki katılımcıların MCV ortalaması $88,75 \pm 5,64$ şeklindedir. MCV medyan değeri 89,00 iken, minimum MCV değeri 75,00, maksimum MCV değeri ise 94,90'dır.

DEA hastaların tedavi öncesi MCH ortalaması $23,94 \pm 2,85$ şeklindedir. MCH medyan değeri 23,80 iken, minimum MCH değeri 18,80, maksimum MCH değeri ise 29,80'dir. Kontrol grubundaki katılımcıların MCH ortalaması $29,43 \pm 2,35$ şeklindedir. MCH medyan değeri 29,80 iken, minimum MCH değeri 24,10, maksimum MCH değeri ise 32,90'dır.

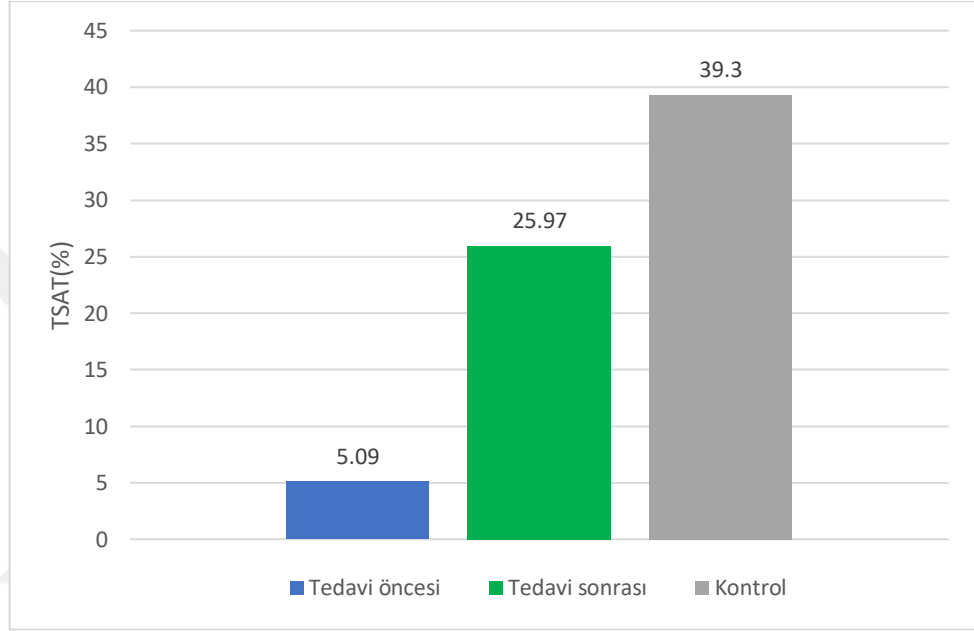
DEA hastaların tedavi öncesi ferritin ortalaması $4,96 \pm 3,41$ şeklindedir. Ferritin medyan değeri 3,85 iken, minimum ferritin değeri 1,00, maksimum ferritin değeri ise 14,90'dır. Kontrol grubundaki katılımcıların ferritin ortalaması $92,65 \pm 104,00$ şeklindedir. Ferritin medyan değeri 62,20 iken, minimum ferritin değeri 33,10, maksimum ferritin değeri ise 456,00'dır.(Şekil 2)

Şekil 2: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu ferritin düzeyleri karşılaştırılması



DEA hastaların tedavi öncesi TSAT ortalaması $6,98 \pm 4,53$ şeklindedir. TSAT medyan değeri 5,09 iken, minimum TSAT değeri 1,29, maksimum TSAT değeri ise 14,97'dir. Kontrol grubundaki katılımcıların TSAT ortalaması $39,29 \pm 12,24$ şeklindedir. TSAT medyan değeri 39,30 iken, minimum TSAT değeri 15,30, maksimum TSAT değeri ise 66,60'tır.(Şekil 3)

Şekil 3: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu TSAT düzeyleri karşılaştırılması



DEA hastaların tedavi öncesi değerleri ile kontrol grubu katılımcılarının hemogram ve demir parametrelerine ilişkin özellikler Tablo 6’da ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 6: DEA hastaların tedavi öncesi ve kontrol grubu arasında hemogram ve demir parametrelerinin grup farklılığı sınaması

	Tedavi Durumu				p ^b
	Tedavi Öncesi		Kontrol Grubu		
	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	
WBC	7,18±1,79	7,03 (4,66-11,56)	7,06±2,52	6,62 (4,49-14,39)	0,857
RBC	4,37±0,50	4,37 (3,00-5,20)	4,51±0,30	4,51 (3,93-5,10)	0,238
HGB	10,17±1,19	10,15 (6,50-11,70)	13,22±0,68	13,20 (12,00-14,20)	0,000*
HCT	32,85±3,00	32,90 (21,80-38,10)	39,91±1,64	39,80 (37,30-43,30)	0,000*
PLT	306,43±61,04	300 (199-429)	255,27±38,69	259,00 (190 - 344)	0,001*
MCV	75,27±7,39	76,65 (60,20-88,10)	88,75±5,64	89,00 (75,00-94,90)	0,000*
MCH	23,94±2,85	23,80 (18,80-29,80)	29,43±2,35	29,80 (24,10-32,90)	0,000*
RDW	15,43±1,79	15,20 (11,80-19,90)	14,03±4,08	12,70 (11,60-28,10)	0,111
NEU	4,14±1,29	4,00 (2,49-7,72)	4,11±1,82	4,01 (2,37-8,99)	0,950
LYM	2,34±0,61	2,30 (1,30-3,60)	2,34±0,69	2,16 (1,66-3,88)	0,996
EO	0,15±0,07	0,15 (0,03-0,34)	0,17±0,13	0,13 (0,05-0,47)	0,562
MON	0,52±0,12	0,49 (0,33-0,87)	0,40±0,18	0,39 (0,20-0,99)	0,010*

BASO	0,03±0,02	0,03 (0,01-0,10)	0,04±0,02	0,04 (0,01-0,09)	0,389
NEU%	57,12±6,4 2	57,75 (45,70-67,40)	57,08±8,48	56,40 (45,00-70,70)	0,986
LYM%	32,86±5,9 0	33,10 (21,00-43,50)	34,34±7,45	36,20 (22,00-45,80)	0,473
EO%	2,08±1,13	2,10 (0,60-5,30)	2,30±1,34	1,80 (0,70-5,50)	0,572
MON%	7,41±1,38	7,50 (5,00-9,70)	5,73±1,31	5,70 (3,60-8,00)	0,000*
BASO%	0,51±0,32	0,45 (0,10-1,70)	0,75±0,75	0,50 (0,10-3,30)	0,138
FERRİTİN	4,96±3,41	3,85 (1,00-14,90)	92,65±104,0 0	62,20 (33,10-456,00)	0,006*
DEMİR	28,27±16, 80	22,50 (6,00-62,00)	124,43±63,5 2	124,40 (49,00-336,00)	0,000*
TDBK	421,83±56 ,07	417,50 (308,00-551,00)	316,23±58,6 1	316,20 (241,90-504,00)	0,000*
TSAT	6,98±4,53	5,09 (1,29-14,97)	39,29±12,24	39,30 (15,30-66,60)	0,000*
NLR	1,82±0,55	1,74 (1,05-3,17)	2,049±0,821	1,79 (0,98-4,29)	0,075

*0,05 için anlamlı farklılık, p^a : Paired t testi

İlaç tedavisi açısından DEA hastalarının %83,3'üne(n=25) oral tedavi ve %16,7'sine(n=5) IV tedavi uygulanmıştır.

DEA hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası HGB, HCT, PLT, MCV, ferritin, demir, TDBK, TSAT değişkenlerinde istendiği üzere anlamlı bir farklılık elde edilmiştir (p<0,05). Farklılık oluşturan değişkenlere yönelik istatistiksel bilgiler ise şöyledir:

Tedavi öncesinde katılımcıların HGB ortalaması $10,17 \pm 1,19$ şeklindedir. HGB medyan değeri 10,15 iken, minimum HGB değeri 6,50, maksimum HGB değeri ise 11,70'tir. Tedavi sonrasında katılımcıların HGB ortalaması $12,98 \pm 0,69$ şeklindedir. HGB medyan değeri 12,85 iken, minimum HGB değeri 12,00, maksimum HGB değeri ise 14,20'dir. (Şekil 1)

Tedavi öncesinde katılımcıların HCT ortalaması $32,85 \pm 3,00$ şeklindedir. HCT medyan değeri 32,90 iken, minimum HCT değeri 21,80, maksimum HCT değeri ise 38,10'dur. Tedavi sonrasında katılımcıların HCT ortalaması $39,61 \pm 1,77$ şeklindedir. HCT medyan değeri 39,75 iken, minimum HCT değeri 35,90, maksimum HCT değeri ise 43,70'tir.

Tedavi öncesinde katılımcıların PLT ortalaması $306,43 \pm 61,04$ şeklindedir. PLT medyan değeri 300,00 iken, minimum PLT değeri 199,00, maksimum PLT değeri ise 429,00'dur. Tedavi sonrasında katılımcıların PLT ortalaması $269,07 \pm 53,99$ şeklindedir. PLT medyan değeri 272,00 iken, minimum PLT değeri 186,00, maksimum PLT değeri ise 381,00'dir.

Tedavi öncesinde katılımcıların MCV ortalaması $75,27 \pm 7,39$ şeklindedir. MCV medyan değeri 76,65 iken, minimum MCV değeri 60,20, maksimum MCV değeri ise 88,10'dur. Tedavi sonrasında katılımcıların MCV ortalaması $88,46 \pm 4,69$ şeklindedir. MCV medyan değeri 88,40 iken, minimum MCV değeri 79,40, maksimum MCV değeri ise 103,80'dir.

Tedavi öncesinde katılımcıların MCH ortalaması $23,94 \pm 2,85$ şeklindedir. MCH medyan değeri 23,80 iken, minimum MCH değeri 18,80, maksimum MCH değeri ise 29,80'dir. Tedavi sonrasında katılımcıların MCH ortalaması $29,07 \pm 1,75$ şeklindedir. MCH medyan değeri 29,00 iken, minimum MCH değeri 25,70, maksimum MCH değeri ise 34,30'dur.

Tedavi öncesinde katılımcıların RDW ortalaması $15,43 \pm 1,79$ şeklindedir. RDW medyan değeri 15,20 iken, minimum RDW değeri 11,80, maksimum RDW değeri ise 19,90'dır. Tedavi sonrasında katılımcıların RDW ortalaması $14,18 \pm 1,60$ şeklindedir. RDW medyan değeri 13,85 iken, minimum RDW değeri 11,70, maksimum RDW değeri ise 17,80'dir.

Tedavi öncesinde katılımcıların ferritin ortalaması $4,96 \pm 3,41$ şeklindedir. Ferritin medyan değeri 3,85 iken, minimum ferritin değeri 1,00, maksimum ferritin değeri ise 14,90'dır. Tedavi sonrasında katılımcıların ferritin ortalaması $66,14 \pm 84,86$ şeklindedir. Ferritin medyan değeri 43,05 iken, minimum ferritin değeri 20,40, maksimum ferritin değeri ise 392,00'dir. (Şekil 2)

Tedavi öncesinde katılımcıların TSAT ortalaması $6,98 \pm 4,53$ şeklindedir. TSAT medyan değeri 5,09 iken, minimum TSAT değeri 1,29, maksimum TSAT değeri ise 14,97'dir. Tedavi sonrasında katılımcıların TSAT ortalaması $25,97 \pm 8,41$ şeklindedir. TSAT medyan değeri 25,97 iken, minimum TSAT değeri 13,37, maksimum TSAT değeri ise 41,15'tir. (Şekil 3)

DEA hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası hemogram ve demir parametrelerine ilişkin özellikler Tablo 7'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 7: DEA hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası arasında hemogram ve demir parametrelerinin grup farklılığı sınaması

	Tedavi Durumu				p ^a
	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası		
	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	
WBC	7,18±1,79	7,03 (4,66-11,56)	7,42±1,77	7,07 (4,85-13,04)	0,400
RBC	4,37±0,50	4,37 (3,00-5,20)	4,48±0,25	4,50 (4,05-5,00)	0,098
HGB	10,17±1,19	10,15 (6,50-11,70)	12,98±0,69	12,85 (12,00-14,20)	0,000*
HCT	32,85±3,00	32,90 (21,80-38,10)	39,61±1,77	39,75 (35,90-43,70)	0,000*
PLT	306,43±61,04	300,00 (199,00-429,00)	269,07±53,99	272,00 (186,00-381,00)	0,000*
MCV	75,27±7,39	76,65 (60,20-88,10)	88,46±4,69	88,40 (79,40-103,80)	0,000*

MCH	23,94±2,85	23,80 (18,80-29,80)	29,07±1,75	29,00 (25,70-34,30)	0,000*
RDW	15,43±1,79	15,20 (11,80-19,90)	14,18±1,60	13,85 (11,70-17,80)	0,001*
NEU	4,14±1,29	4,00 (2,49-7,72)	4,46±1,37	4,32 (2,44-8,22)	0,172
LYM	2,34±0,61	2,30 (1,30-3,60)	2,33±0,65	2,18 (1,00-3,96)	0,880
EO	0,15±0,07	0,15 (0,03-0,34)	0,17±0,10	0,13 (0,07-0,48)	0,292
MON	0,52±0,12	0,49 (0,33-0,87)	0,44±0,12	0,41 (0,24-0,68)	0,001*
BASO	0,03±0,02	0,03 (0,01-0,10)	0,03±0,01	0,03 (0,01-0,07)	0,094
NEU%	57,12±6,42	57,75 (45,70-67,40)	59,46±7,59	58,75 (44,70-73,00)	0,087
LYM%	32,86±5,90	33,10 (21,00-43,50)	31,83±7,64	32,70 (16,60-46,60)	0,362
EO%	2,08±1,13	2,10 (0,60-5,30)	2,31±1,34	1,90 (0,80-6,70)	0,417
MON%	7,41±1,38	7,50 (5,00-9,70)	6,00±1,10	6,00 (3,70-7,80)	0,000*
BASO%	0,51±0,32	0,45 (0,10-1,70)	0,40±0,17	0,40 (0,10-0,80)	0,112
FERRİTİN	4,96±3,41	3,85 (1,00-14,90)	66,14±84,86	43,05 (20,40-392,00)	0,001*
DEMİR	28,27±16,80	22,50 (6,00-62,00)	85,42±27,30	85,40 (48,00-138,40)	0,000*
TDBK	421,83±56,07	417,50 (308,00-551,00)	326,43±39,46	326,40 (236,70-430,60)	0,000*
TSAT	6,98±4,53	5,09 (1,29-14,97)	25,97±8,41	25,97 (13,37-41,15)	0,000*
NLR	1,82±0,55	1,74 (1,05-3,17)	2,049±0,821	1,79 (0,98-4,29)	0,075

*0,05 için anlamlı farklılık, p^a : Paired t testi

DEA hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası T lenfosit, Yardımcı T lenfosit (CD4+), Sitotoksik T lenfosit (CD8+), B lenfosit, NK hücre sayıları ve yüzdeleri ile Yardımcı/Sitotoksik T lenfosit oranları arasındaki farklılık incelendi.

DEA hastalarının tedavi öncesi ve tedavi sonrası lenfosit alt gruplarına yönelik istatistiksel bilgiler şöyledir:

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası analizi yapılan T lenfosit, Yardımcı T lenfosit (CD4+), Sitotoksik T lenfosit (CD8+), B lenfosit sayıları ve yüzdeleri ile Yardımcı/Sitotoksik T lenfosit oranları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. NK hücre sayı ve yüzdelерinde ise anlamlı farklılık elde edilmiştir (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,000$)(Şekil 4)

Tedavi öncesinde katılımcıların %NK ortalaması $19,09 \pm 8,79$ şeklindedir. %NK medyan değeri 18,65 iken, minimum %NK değeri 4,30, maksimum %NK değeri ise 41,00'dir. Tedavi sonrasında katılımcıların %NK ortalaması $27,23 \pm 11,43$ şeklindedir. %NK medyan değeri 28,55 iken, minimum %NK değeri 3,50, maksimum %NK değeri ise 49,10'dur.

Tedavi öncesinde katılımcıların NK ortalaması $441,86 \pm 233,54$ şeklindedir. NK medyan değeri 408,50 iken, minimum NK değeri 99,76, maksimum NK değeri ise 1184,90'dır. Tedavi sonrasında katılımcıların NK ortalaması $628,26 \pm 335,35$ şeklindedir. NK medyan değeri 558,74 iken, minimum NK değeri 91,70, maksimum NK değeri ise 1412,76'dır.

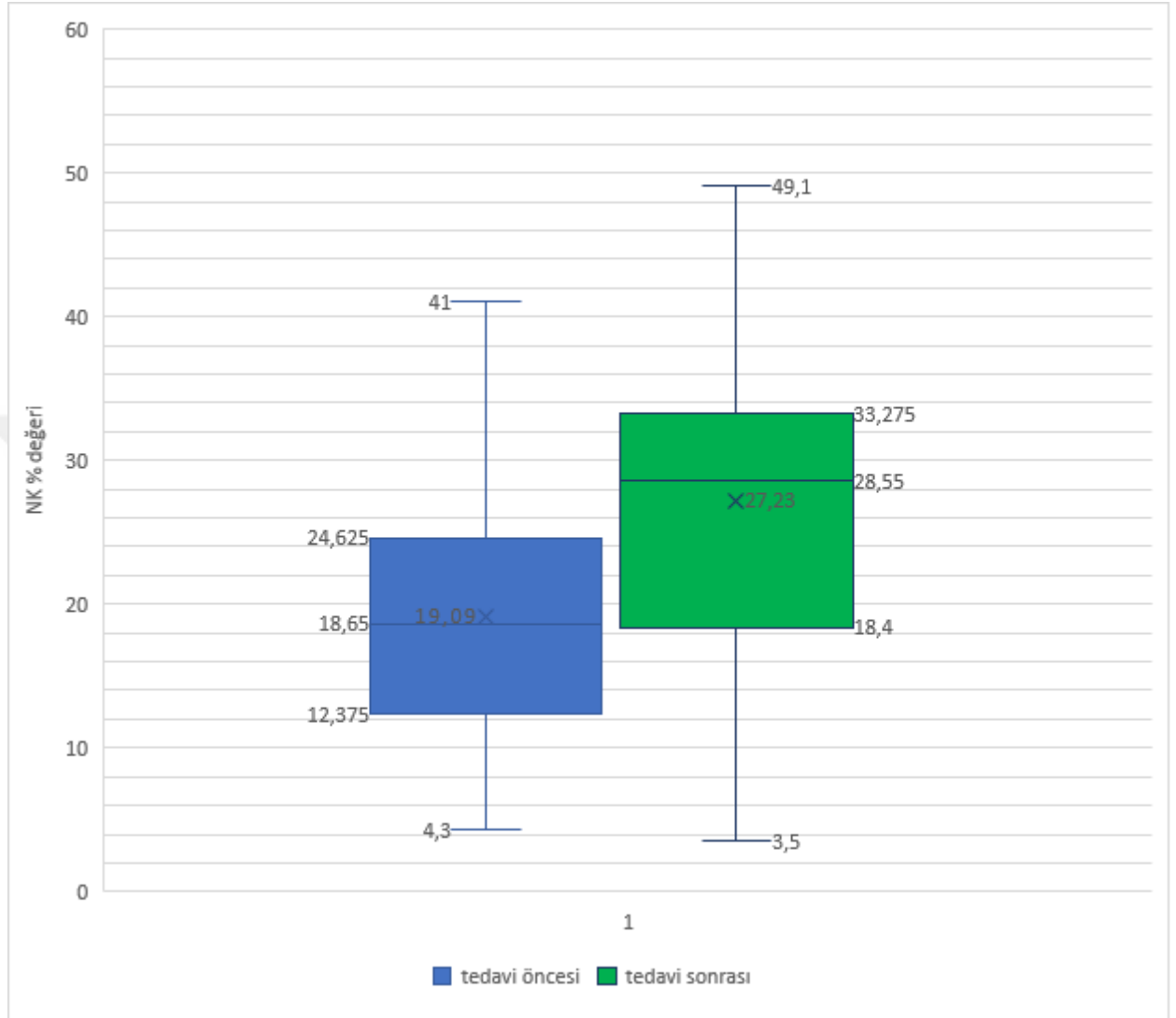
DEA hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelерine ilişkin özellikler Tablo 8'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 8: Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelerine yönelik grup farklılığı sınaması

	Tedavi Durumu				p ^a
	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası		
	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	
%CD3	73,26±7,97	69,80 (62,70-88,60)	71,82±9,72	70,95 (45,10-91,00)	0,379
CD3	1737,77±579, 75	1641,05 (891,80-3006,00)	1671,03±526,34	1562,84 (680,00-3171,96)	0,306
%CD4	43,00±7,03	42,35 (29,90-56,60)	42,92±7,71	44,90 (20,60-60,70)	0,922
CD4	1010,21±338,44	885,28 (544,60-1763,52)	989,37±308,04	903,12 (500,00-1837,44)	0,578
%CD8	23,50±6,88	23,00 (11,40-41,80)	23,80±6,54	23,95 (12,90-43,70)	0,591
CD8	566,23±251,79	525,13 (148,20-1058,40)	564,08±235,88	522,27 (129,00-1082,32)	0,922
CD4/CD8	2,06±0,94	1,76 (0,79-4,54)	1,98±0,80	1,83 (0,78-3,88)	0,155
%CD19	10,25±3,04	10,15 (5,30-18,20)	10,78±2,98	10,40 (5,40-16,40)	0,217
CD19	239,09±95,27	232,28 (117,00-514,80)	249,28±98,10	225,75 (103,68-514,80)	0,345
%NK	19,09±8,79	18,65 (4,30-41,00)	27,23±11,43	28,55 (3,50-49,10)	0,000*
NK	441,86±233,54	408,50 (99,76-1184,90)	628,26±335,35	558,74 (91,70-1412,76)	0,002*

*0,05 için anlamlı farklılık, p^a : Paired t testi

Şekil 4: Tedavi öncesi ve sonrası NK yüzde değerlerinin karşılaştırılması(p=0,000)



Tedavi öncesi hasta grubu ile kontrol grubu arasında lenfosit alt grubu sayı ve yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Karşılaştırmaya ait ayrıntılı veriler Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Tedavi öncesi hasta grubu ve kontrol grubu arasında lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelerine yönelik grup farklılığı sınaması

	Tedavi Durumu				p ^b
	Tedavi Öncesi		Kontrol Grubu		
	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	
%CD3	73,26±7,9 7	69,80 (62,70-88,60)	77,31±6,18	75,50 (68,20-91,30)	0,092
CD3	1737,77±579, 75	1641,05 (891,80-3006,00)	1825,49±59 2,67	1698,12 (1187,76-2948,82)	0,637
%CD4	43,00±7,0 3	42,35 (29,90-56,60)	43,81±7,88	43,50 (30,90-62,10)	0,729
CD4	1010,21±338,44	885,28 (544,60-1763,52)	1036,86±40 5,71	843,09 (618,24-1888,53)	0,817
%CD8	23,50±6,8 8	23,00 (11,40-41,80)	26,32±6,93	24,30 (16,80-40,60)	0,202
CD8	566,23±2 51,79	525,13 (148,20-1058,40)	625,34±258, 15	544,32 (300,72-1074,56)	0,466
CD4/CD8	2,06±0,94	1,76 (0,79-4,54)	1,81±0,67	1,79 (0,76-2,96)	0,368
%CD19	10,25±3,0 4	10,15 (5,30-18,20)	10,06±4,12	9,70 (2,60-17,20)	0,859
CD19	239,09±9 5,27	232,28 (117,00-514,80)	233,56±121, 04	205,64 (63,18-516,04)	0,868
%NK	19,09±8,7 9	18,65 (4,30-41,00)	14,49±6,24	12,50 (3,90-25,30)	0,078
NK	441,86±2 33,54	408,50 (99,76-1184,90)	335,93±176, 51	275,56 (126,00-685,63)	0,129

*0,05 için anlamlı farklılık, p^b : Bağımsız örneklem t testi

DEA hastalarının tedavi sonrası ile kontrol grubunun lenfosit alt gruplarına yönelik istatistiksel bilgiler Tablo 10’da ayrıntılı olarak verilmiştir.

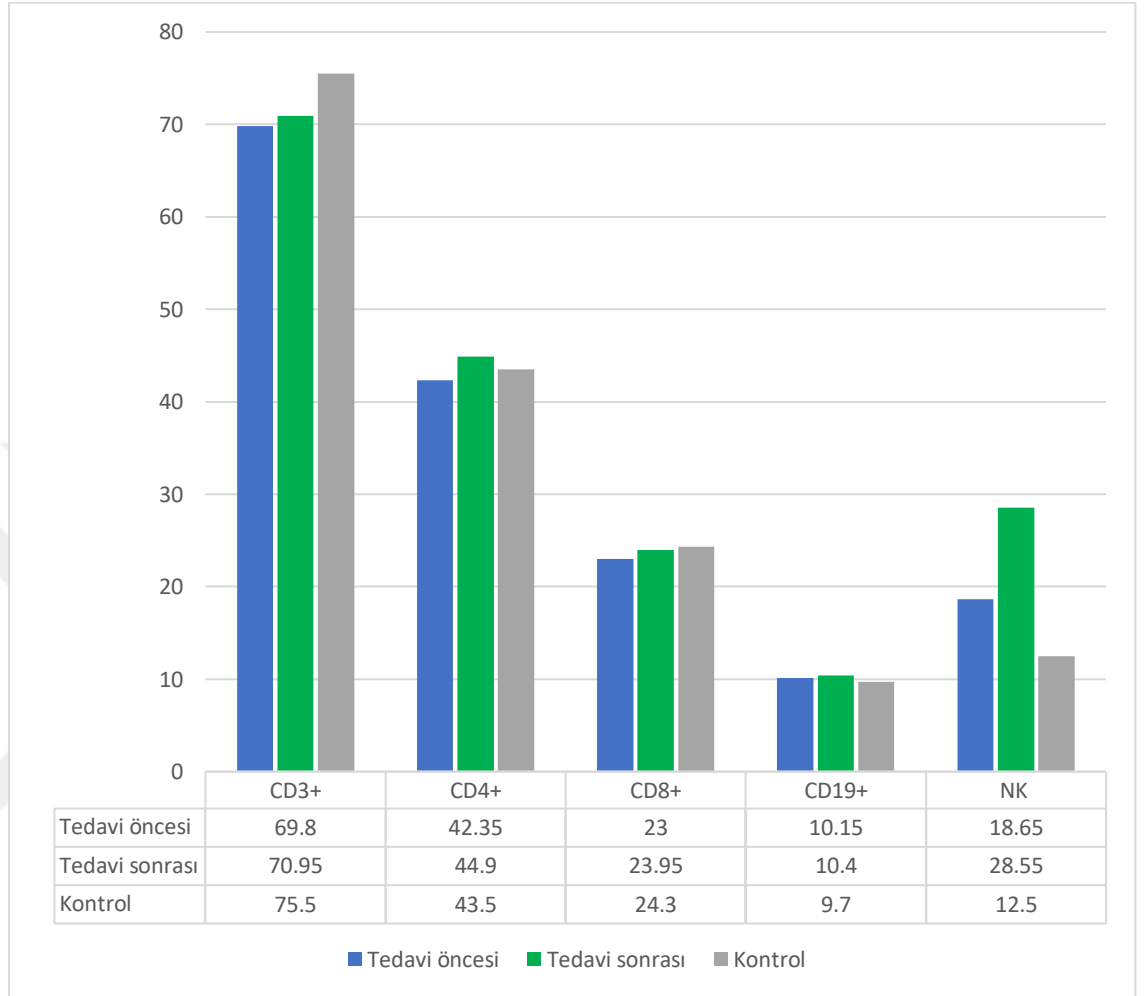
Tablo 10: Tedavi sonrası hasta grubu ve kontrol grubu arasında lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzdelere yönelik grup farklılığı sınaması

	Tedavi Durumu				p ^b
	Tedavi Sonrası		Kontrol Grubu		
	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	
%CD3	71,82±9,7 2	70,95 (45,10-91,00)	77,31±6,18	75,50 (68,20-91,30)	0,053
CD3	1671,03±526,34	1562,84 (680,00-3171,96)	1825,49±592,67	1698,12 (1187,76-2948,82)	0,378
%CD4	42,92±7,7 1	44,90 (20,60-60,70)	43,81±7,88	43,50 (30,90-62,10)	0,720
CD4	989,37±308,04	903,12 (500,00-1837,44)	1036,86±405,71	843,09 (618,24-1888,53)	0,664
%CD8	23,80±6,5 4	23,95 (12,90-43,70)	26,32±6,93	24,30 (16,80-40,60)	0,239
CD8	564,08±235,88	522,27 (129,00-1082,32)	625,34±258,15	544,32 (300,72-1074,56)	0,430
CD4/CD8	1,98±0,80	1,83 (0,78-3,88)	1,81±0,67	1,79 (0,76-2,96)	0,486
%CD19	10,78±2,9 8	10,40 (5,40-16,40)	10,06±4,12	9,70 (2,60-17,20)	0,504
CD19	249,28±98,10	225,75 (103,68-514,80)	233,56±121,04	205,64 (63,18-516,04)	0,642
%NK	27,23±11,43	28,55 (3,50-49,10)	14,49±6,24	12,50 (3,90-25,30)	0,000*
NK	628,26±335,35	558,74 (91,70-1412,76)	335,93±176,51	275,56 (126,00-685,63)	0,000*

*0,05 için anlamlı farklılık, p^b : Bağımsız örneklem t testi

DEA hastaları tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu lenfosit alt grup yüzdeleri medyan değerlerinin karşılaştırmalı grafiği Şekil 5'te verilmiştir.

Şekil 5: Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu lenfosit alt grup düzeyleri karşılaştırma grafiği



DEA hastalarının tedavi öncesi ve sonrası gruplarında yapılan hemoglobin ile lenfosit alt gruplarının sayı ve yüzde değerlerine korelasyon analizlerine yönelik ayrıntılı bilgiler Tablo 11’de mevcuttur.

Tablo 11: HGB ile CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 Oranı, CD19, NK sayı ve yüzde değerlerine yönelik korelasyon analizi

	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
	HGB		HGB	
	r	P ^c	r	P ^c
%CD3	0,173	0,361	-0,315	0,090
CD3	0,339	0,067	-0,237	0,207
%CD4	0,019	0,920	-0,382*	0,037
CD4	0,310	0,096	-0,373*	0,043
%CD8	0,215	0,253	-0,174	0,358
CD8	0,338	0,068	-0,149	0,432
CD4/CD8	-0,147	0,439	-0,041	0,829
%CD19	-0,039	0,836	-0,013	0,945
CD19	0,253	0,178	-0,069	0,716
%NK	-0,102	0,591	0,229	0,224
NK	0,096	0,614	0,191	0,313

*0,05 için anlamlı ilişki, P^c : Pearson Korelasyon analizi

Tedavi öncesinde ve tedavi sonrasında ferritin ile CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 Oranı, CD19, NK sayı ve yüzde değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır (p>0,05). Ayrıntılar Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12: Ferritin ile CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 Oranı, CD19, NK hücre sayı ve yüzde değerlerine yönelik korelasyon analizi

	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
	Ferritin		Ferritin	
	r	P ^c	r	P ^c
%CD3	0,161	0,395	0,151	0,426
CD3	0,244	0,193	-0,085	0,655
%CD4	0,039	0,840	0,067	0,725
CD4	0,229	0,223	-0,106	0,579

%CD8	0,166	0,380	-0,022	0,906
CD8	0,242	0,197	-0,146	0,442
CD4/CD8	-0,143	0,452	-0,035	0,855
%CD19	0,210	0,265	0,124	0,514
CD19	0,291	0,119	-0,101	0,594
%NK	-0,149	0,431	-0,018	0,926
NK	-0,032	0,868	-0,110	0,562

P^c : Pearson Korelasyon analizi

Tedavi sonrası grupta tedavi şekli açısından (oral tedavi ve parenteral tedavi) hiçbir değişkende anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir (p>0,05).

Karşılaştırmaya ait veriler Tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13: Tedavi şekli açısından tedavi sonrası grubuna yönelik grup farklılığı sınaması

	TEDAVİ SONRASI				p ^b
	Oral Tedavi		Parenteral Tedavi		
	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	$\bar{x} \pm SS$	Medyan (min-max)	
%CD3	70,54±9,64	70,10 (45,10-84,70)	78,20±8,11	77,00 (70,00-91,00)	0,109
CD3	1625,74±517,01	1501,64 (680,00-3171,96)	1897,52±572,47	1925,00 (959,00-2384,20)	0,300
%CD4	42,30±8,13	44,70 (20,60-60,70)	46,02±4,50	45,10 (41,20-51,60)	0,334
CD4	963,58±301,33	879,55 (500,00-1837,44)	1118,32±343,78	1127,50 (564,44-1451,24)	0,314
%CD8	23,51±7,09	23,30 (12,90-43,70)	25,24±2,38	24,70 (22,40-28,20)	0,599
CD8	554,75±247,25	512,60 (129,00-1082,32)	610,70±182,58	637,26 (326,06-791,32)	0,637
CD4/CD8	2,01±0,88	1,82 (0,78-3,88)	1,82±0,12	1,83 (1,72-2,01)	0,319
%CD19	10,94±2,95	10,50 (5,40-16,40)	10,00±3,37	9,00 (6,30-15,20)	0,530
CD19	254,01±105,79	224,90 (103,68-514,80)	225,66±42,10	232,20 (165,06-277,50)	0,564
%NK	27,48±11,00	29,70 (3,50-49,10)	25,98±14,79	27,60 (11,50-48,60)	0,794
NK	632,04±331,94	578,93 (91,70-1412,76)	609,34±392,05	405,88 (301,30-1253,88)	0,893

p^b : Bağımsız örneklem t testi

5.TARTIŞMA

Demir eksikliği, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en yaygın önlenabilir beslenme eksikliklerinden biridir. Son yıllardaki çalışmalar, demirin bağışıklık sisteminin normal gelişimi için temel bir element olduğunu göstermektedir^{5,6,139}. Hümmoral ve hücre aracılı bağışıklığın demir ile ilişkisi hem insanlarda hem de hayvanlarda, özellikle in vitro olmak üzere kapsamlı bir şekilde incelenmiştir^{7,134,138,148-153}. Demirin immün sistemin hayati bir unsuru olduğu ortaya çıkmıştır. Bu bilginin ışığında DE'nin insan bağışıklık fonksiyonu üzerindeki etkisine ilişkin klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. DE'nin enfeksiyona yatkınlığa yol açtığı bildiren kısıtlı sayıda klinik çalışma olup buna neden olan etki mekanizması henüz netleşmemiştir.

Demir eksikliğinin immün sistem üzerine etkileri; azalmış miyeloperoksidaz enzim aktivitesi ve bozulmuş hücre içi bakterisidal aktiviteye bağlı nötrofil fonksiyonunda azalma, T-lenfosit sayılarında azalma, T-lenfosit kaynaklı kusurlu proliferatif yanıt, bozulmuş NK hücre aktivitesi, lenfositler tarafından üretilen başta IL-2 olmak üzere çeşitli sitokinlerin üretiminde azalma ve makrofaj inhibisyon faktörü üretiminin azalmasıdır^{4,10,11,134}.

Hümmoral ve hücresele bağışıklığın fonksiyonlarının gerektiği şekilde gerçekleşebilmesi için T lenfositler, B lenfositler ve NK hücrelerin yeterli miktarda ve oranda olmaları gerekmektedir. Bu hücrelerin konjenital veya kazanılmış hastalıklar yoluyla azalması immün sistemin doğru çalışmamasına ve enfeksiyonlara yatkın hale gelmesine yol açar. Biz de çalışmamızda DEA olan hastaların tedavi öncesi periferik kan lenfosit alt grup mutlak sayılarını ve yüzdelerini akım sitometri yöntemi ile saptayarak, tedavi sonrası ve kontrol grubu değerleri ile kıyaslamayı, sonuçları laboratuvar ve klinik ile ilişkilendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızı önceki çalışmalar ile birlikte değerlendirdiğimizde bulgularımızın B lenfosit analiz sonuçlarımızın literatürün çoğuyla uyumlu olduğunu gözlemledik. T lenfosit ve alt grup sayıları konusunda tartışmalı ve çelişkili çalışmalar olduğunu gördük. Aynı zamanda daha önce literatürde değinilmemiş NK hücre sayısı ve DE ilişkisi konusunda literatüre yeni katkılar sağlayacak sonuçlara vardık.

Çalışmamıza dahil ettiğimiz DEA tanılı 30 hastanın tedavi öncesi ve sonrası lenfosit alt gruplarını kıyasladığımızda, T lenfosit, Yardımcı T lenfosit (CD4+), Sitotoksik T lenfosit (CD8+), B lenfosit sayıları ve yüzdeleri ile Yardımcı/Sitotoksik T lenfosit oranları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. NK hücre sayı ve yüzdelerinde ise anlamlı farklılık elde edilmiş ve tedavi öncesi grupta belirgin derecede düşük saptanmıştır(sırasıyla $p=0,002$, $p=0,000$). Ayrıca demir replasmanı yapılan tedavi sonrası grubun NK hücre sayı ve yüzdelerinin kontrol grubundan da yüksek olduğu saptanmıştır(sırasıyla $p=0,000$, $p=0,000$).

DE ve bağışıklık ilişkisini inceleyen hayvan deneyleri ve klinik deneyler, DE'nin immün yanıtta bozulmaya neden olduğunu göstermiştir^{134,138-141,150-156}. Van Heerden'in 1981'de yayınlanan 21 DE(9'u DEA) olan çocuk ve 22 kontrolün dahil edildiği çalışmasında T lenfosit fonksiyonlarının her iki grupta benzer olduğu saptanmıştır¹⁵⁷. Ceyda Ekiz ve ark. tarafından 32 DEA olan çocuk ve 29 benzer yaştaki kontrolün dahil edildiği Türkiye'de yapılan çalışmada da T lenfosit subgruplarında, IgG1, IgG2, IgG3, IgA ve IgM düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır. Buna karşın IGG4, IL-6, nötrofil ve monosit patlama aktiviteleri ise DEA grubunda düşük bulunmuştur¹⁵⁸. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalarlarla uyumlu olarak T lenfosit alt tiplerinde hasta tedavi öncesi ve sonrası ile kontrol grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır($p>0,005$).

Bu bulguların aksine DE'de T lenfosit sayılarında düşüş olduğunu ve tedavi ile normal düzeye yükseldiğini bildiren birçok çalışma mevcuttur. Kuvibidila ve ark.'nın 1991 yılından itibaren yaptığı birçok hayvan deneyi DE'nin optimal T lenfosit proliferasyonu üzerindeki negatif etkilerini göstermiştir. Bu çalışmalarda özellikle hücrel immünitinin DE durumunda fonksiyonlarını tam olarak yerine getirememesine bağlı bulgular saptanmıştır^{134,138,150-153}. 1991'de Agnès Dhur ve ark.'nın yaptığı çalışmada demirden fakir diyet ile 6 hafta beslenen farelerin dalaktaki CD4+ ve CD8+ T lenfosit sayılarının normal diyetle beslenen farelere göre düşük olduğu saptanmıştır¹⁵⁴. 1994 yılında Omara ve Blakley çalışmasında, demir fakir diyetle beslenen farelerde, normal veya takviyeli demir diyeti ile beslenen farelere göre, gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu ve lenfoproliferatif aktivitelerinin azaldığını kanıtlamıştır¹⁴⁰.

Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu ön planda CD4+ T lenfositlerin anahtar rol oynadığı aşırı duyarlılık tipidir. Bu çalışmada DE'nin CD4+ T lenfositlerinin fonksiyonlarının bozulduğu görülmüştür.

Mullick ve ark. tarafından yapılan çalışmada, DEA olan 40 çocuk ile 30 kontrol kıyaslanmış, CD4+ lenfosit yüzdesi ve CD4:CD8 oranı DEA grubunda anlamlı düşük bulunurken, CD8+ lenfosit sayısında anlamlı fark saptanmamıştır. Demir replasmanı sonrası CD4+ T lenfosit sayısında yükselme görülmüştür¹⁴². 2017'de Anani ve ark.'nın çalışmasında ise DEA grubunda hem CD4+ hem de CD8+ T lenfosit sayısı düşük bulunmuştur¹⁵⁹. Özellikle hayvan deneyleri ve pediyatrik hasta grubu üzerinde yapılan bu çalışmalarda elde edilen birbiri ile çelişen sonuçlar ancak gelecekte yapılacak çalışmalarla netleşecektir.

Santos ve ark.'nın klinik çalışmasında 21 DEA ve 21 kontrolün periferik kandaki lenfosit sayıları analiz edilerek kıyaslanmış, CD3+ ve CD4+ T lenfositler ve CD19+ B lenfositler düşük saptanmıştır¹⁴³. Bu çalışmada hümmoral immunitenin efektör hücreleri olan B lenfositlerin DE'den etklendiği sonucu çıkmıştır. Ancak sonraki yıllarda yapılan benzer çalışmaların sonuçları bu veriyi desteklememektedir. Aly ve ark. tarafından yapılan 50 DEA çocuğun 25 sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığı çalışmada CD3+, CD4+, CD8+ T lenfositler, CD19+ B lenfositler CD4/CD8 oranı değerlendirilmiştir. CD3+, CD4+ T lenfositler ve CD4/CD8 oranı DEA grubunda düşük bulunurken, CD8+ T lenfositler ile CD19+ B lenfositler açısından iki grup arasında fark gösterilmemiştir¹²⁴.

Das ve ark. tarafından yapılan DEA 40 çocuğun ve sağlıklı kontrollerin T lenfosit alt grupları ile immunglobulinlerinin karşılaştırıldığı çalışmada CD4+ lenfosit yüzdesi ve CD4:CD8 oranı DEA grubunda anlamlı düşük bulunurken, CD8+ lenfosit ve serum IgG, IgA ve IgM düzeyleri arasında fark bulunmamıştır¹³⁵.

Thibault ve ark. çalışmalarında T lenfosit alt grupları, IgG, IgA ve IgM düzeylerinde DEA olan ile normal hemogram ve demir parametreleri olan çocuklar arasında fark saptanmazken, DEA grubunda IL-2 üretiminde düşüş saptamış ve bunu DEA'ya bağlı sitotoksik T lenfosit olgunlaşmasındaki bozukluğa bağlamıştır¹⁴⁴.

Galan ve ark. tarafından, DE olan çocuklarda aktive lenfositler tarafından üretilen IL-2 miktarında bir azalma bildirilmiştir¹⁴⁷. IL-2'nin salınımı, lenfosit alt kümeleri ve NK hücreler arasındaki iletişim için gereklidir. Bu durum DEA olan hastalarda lenfosit subgruplarının kantitatif olarak değişmediği durumlarda dahi sitokin salınımlarındaki değişikliklerden dolayı lenfosit fonksiyonlarının bozulabileceği ve enfeksiyona yatkınlık meydana getirebileceği yönünde yorumlanmaktadır.

1993'te Thibault ve ark. ve 2014'te Das ve ark.'nın verilerine göre immunglobulin düzeylerinin, 2018'de Aly ve ark.'nın çalışmasında da B lenfosit sayılarının DE'de değişmediği saptanmıştır. Bu çalışmaların ışığında hümmoral bağışıklığın, hüccresel bağışıklığa göre DE'den daha az etkilendiği görölmektedir. DE olan insanlarda, antikor üretimi korunmuştur^{124,130,135,137,144}. Bizim çalışmamızda da bu ön bilgi ve çalışmalarla uyumlu olarak DEA tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grupları arasında CD19+ B lenfosit sayılarında ve yüzdelerinde anlamlı fark saptanmamıştır($p>0,005$).

1987'den itibaren Sherman ve ark., immünite ve demir ilişkisini ortaya koymak adına yaptıkları çeşitli hayvan deneylerinde DE'nin lenfosit sayısını azalttığını ve NK hücre aktivitesini bozduğunu göstermiştir^{141,155,156}. 1991'de Amanda T. Spear ve Adria Rothman Sherman çalışmalarında, demirden fakir ve demirden zengin diyetle 6 hafta beslenen 2 grup fareye, kanserojen 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) vermiş, demirden fakir beslenen gruptaki NK sitotoksisite aktivitesi demir zengin beslenen gruba göre daha düşükken, tümör gelişme insidansı ise daha yüksek saptamıştır¹⁴⁴. Bu sayede NK hücre sitotoksisite fonksiyonunun sürdürülebilmesi için demir ihtiyacı olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise DEA hastalarının tedavi öncesi ve sonrası NK hücre sayı ve yüzdelerinde anlamlı farklılık elde edilmiş, tedavi öncesi grupta belirgin derecede düşük saptanmıştır(sırasıyla $p=0,002$, $p=0,000$). Ayrıca demir replasmanı yapılan tedavi sonrası grubun NK hücre sayı ve yüzdelerinin kontrol grubundan da yüksek olduğu saptanmıştır(sırasıyla $p=0,000$, $p=0,000$). Literatürde DEA veya DE ile NK hücre sayısını ilişkilendiren çalışmaya rastlamadık. NK hücreleri özellikle hüccresel immünitede önemli rol oynayan lenfosit alt grubu olup, eksikliğinde sitotoksisitede bozulma beklenmektedir. Bu alanda ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak çalışmamızdaki özellikle T lenfosit alt tiplerindeki gruplar arası fark saptanmamış olması, literatürde yer alan bu alandaki diğer çalışma verileri ile çelişmekteyken, B lenfosit sayısının gruplar arası fark olmaması literatürle uyumludur. Çalışmamız ve önceki çalışmaların verileri arasındaki farklar, yaş, cinsiyet, beslenme durumu, farklı örneklem büyüklüğü, etnik köken, kullanılan laboratuvar metodlarının farklılığından kaynaklanabilir. Önceki çalışmaların çoğu pediatrik hasta gruplarıyla yapılmış ve yetişkin hastalarda sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Biz çalışmamıza DEA'ya neden olabilecek ek hastalık taşınaması amacıyla yalnız doğurgan çağıdaki kadınları dahil ettik. Çalışmamızın en belirgin limitasyonu yüksek maliyet nedeniyle düşük hasta sayısı dahil edilmesidir.

Analizlerimizde saptadığımız ve literatürde benzer çalışmaya rastlamadığımız DEA tedavi öncesi grupta tedavi sonrasına göre NK hücre sayı ve oranlarında belirgin düşüklük ise kapsamlı araştırılması gereken diğer bir alandır ($p=0,002$, $p=0,000$).

NK hücreleri virüs ile enfekte olan hücrelere karşı savunmada ve tümör denetiminde kritik rol oynar. Bu hücrelerin bu anahtar görevleri göz önüne alındığında, sayılarındaki azalma yalnız enfeksiyona değil aynı zamanda tümör oluşumuna da yakınlık oluşturmaları yönünden önemlidir.

Literatürde bildirilmiş NK hücre bozuklukları nadirdir ve klinik olarak herpes virüsleri (özellikle varicella-zoster virüsü, herpes simpleks virüsleri I ve II, Epstein-Barr virüsü ve sitomegalovirüs) ve daha nadir HPV ile şiddetli ve/veya tekrarlayan ve/veya atipik enfeksiyona duyarlılık ile karakterizedir. Bildirilen hastaların çoğu çocukluk veya ergenlik döneminde kaybedilmiştir¹²⁰⁻¹²³. Birçok immün yetmezlik sendromu malignite riskini artırır ve NK hücre eksiklikleri de bu etkiye sahip olabilir. GATA2 eksikliğinde (Klasik NK hücre eksikliği-(cNKD)'ne neden olduğu bilinen tek otozomal dominant mutasyon) hastalarda HPV ile ilişkili kanserlerin topluma göre daha sık geliştiği bildirilmiştir¹²⁰. Bu nedenle, DEA'nın NK hücrelerinde azalmaya neden olması, enfeksiyona yakınlık ve malignite gelişme risklerini artırabileceği yönünde yorumlanabilir. Ancak daha yüksek hasta sayıları ile klinik bulguların değerlendirmeye katıldığı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.KAYNAKLAR

1. Kasper, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 20th edition. New York: McGraw Hill Education, 2018. (Bölüm 93 ve 342)
2. Global Health Observatory data repository, WHO-World Health Organization, Geneva, Switzerland,(erişim tarihi haziran 2021).
3. British Columbia Medical Association, Guidelines and Protocols Advisory Committee. Iron deficiency-Investigation and management, 2010
4. Kumar V, Choudhry VP. Iron deficiency and infection. Indian J Pediatr. 2010 Jul;77(7):789-93. doi: 10.1007/s12098-010-0120-3. Epub 2010 Jun 29. PMID: 20589461.
5. Soyano A, Gómez M. Participación del hierro en la inmunidad y su relación con las infecciones [Role of iron in immunity and its relation with infections]. Arch Latinoam Nutr. 1999 Sep;49(3 Suppl 2):40S-46S. Spanish. PMID: 10971835.
6. Bhaskaram P. Micronutrient malnutrition, infection, and immunity: an overview. Nutr Rev. 2002 May;60(5 Pt 2):S40-5. doi: 10.1301/00296640260130722. PMID: 12035857.
7. Brock JH, Mulero V. Cellular and molecular aspects of iron and immune function. Proc Nutr Soc. 2000 Nov;59(4):537-40. doi: 10.1017/s002966510000077x. PMID: 11115788.
8. Walter T, Olivares M, Pizarro F, Muñoz C. Iron, anemia, and infection. Nutr Rev. 1997 Apr;55(4):111-24. doi: 10.1111/j.1753-4887.1997.tb06462.x. PMID: 9197131.
9. Jurado RL. Iron, infections, and anemia of inflammation. Clin Infect Dis. 1997 Oct;25(4):888-95. doi: 10.1086/515549. PMID: 9356804.
10. Ward RJ, Crichton RR, Taylor DL, Della Corte L, Srai SK, Dexter DT. Iron and the immune system. J Neural Transm (Vienna). 2011 Mar;118(3):315-28. doi: 10.1007/s00702-010-0479-3. Epub 2010 Sep 29. PMID: 20878427.
11. Oppenheimer SJ. Iron and its relation to immunity and infectious disease. J Nutr. 2001 Feb;131(2S-2):616S-633S; discussion 633S-635S. doi: 10.1093/jn/131.2.616S. PMID: 11160594.
12. Türk Hematoloji Derneği (THD), Eritrosit Hastalıkları Ve Hemoglobin Bozuklukları Tanı Ve Tedavi Kılavuzu 2019.
13. Bunge, G. Textbook of Physiological and Pathological Chemistry, 2nd English edn transl. by E.H. and F.A. Starling, 1902, pp. 370 – 385. Kegan Paul Trench / Trubner, London.
14. Anonymous Editorial: Iron in the blood of infants. Lancet,1931, 2, 305 – 306.1931
15. Bessis, M. & Delpech, G. Discovery of the red blood cell with notes on priorities and credits of discoveries, past, present and future. Blood Cells,1981, 7, 447 – 480.
16. Hart GD. Anemia in ancient times. Blood Cells. 1981;7(3):485-93. PMID: 7039724.
17. Poskitt EM. Early history of iron deficiency. Br J Haematol. 2003 Aug;122(4):554

18. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood* 2014; 123:615.
19. Lewis SM. Introduction – The global problem of nutritional anemias. *Hematology* 2005; 10 Supp 1: 224-226.
20. WHO. Guidelines for the control of iron deficiency anaemia in countries of the Eastern Mediterranean Middle East and North Africa 2002.
21. Barton JC, Wiener HH, Acton RT, et al. Prevalence of iron deficiency in 62,685 women of seven race/ethnicity groups: The HEIRS Study. *PLoS One* 2020; 15:e0232125.
22. Fraser IS, Mansour D, Breymann C, Hoffman C, Mezzacasa A, Petraglia F. Prevalence of heavy menstrual bleeding and experiences of affected women in a European patient survey. *Int J Gynaecol Obstet* 2015; 128: 196– 200.
23. Price EA, Mehra R, Holmes TH, Schrier SL. Anemia in older persons: etiology and evaluation. *Blood Cells Mol Dis* 2011; 46:159.
24. Stauder R, Valent P, Theurl I. Anemia at older age: etiologies, clinical implications, and management. *Blood* 2018; 131: 505– 14.
25. Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med* 2015; 372: 1832-43.
26. Mast AE, Bialkowski W, Bryant BJ, et al. A randomized, blinded, placebo-controlled trial of education and iron supplementation for mitigation of iron deficiency in regular blood donors. *Transfusion* 2016; 56:1588.
27. Baart AM, van Noord PA, Vergouwe Y, et al. High prevalence of subclinical iron deficiency in whole blood donors not deferred for low hemoglobin. *Transfusion* 2013; 53:1670.
28. Mantilla-Gutiérrez CY, Cardona-Arias JA. Iron deficiency prevalence in blood donors: a systematic review, 2001-2011]. *Rev Esp Salud Publica* 2012; 86:357.
29. Cable RG, Glynn SA, Kiss JE et al. Iron deficiency in blood donors: analysis of enrollment data from the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion* 2011; 51: 511– 22.
30. Cook JD, Skikne BS. Iron deficiency: definition and diagnosis. *J Intern Med* 1989; 226:349.
31. Bryant BJ, Yau YY, Arceo SM, et al. Ascertainment of iron deficiency and depletion in blood donors through screening questions for pica and restless legs syndrome. *Transfusion* 2013; 53:1637.
32. Spencer B. Blood donor iron status: are we bleeding them dry? *Curr Opin Hematol* 2013; 20:533.
33. Annibale B, Capurso G, Chistolini A, et al. Gastrointestinal causes of refractory iron deficiency anemia in patients without gastrointestinal symptoms. *Am J Med* 2001; 111:439.
34. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, et al. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol* 2013; 161:639.
35. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. *Lancet* 2016; 387:907.

36. Khadem G, Scott IA, Klein K. Evaluation of iron deficiency anaemia in tertiary hospital settings: room for improvement? *Intern Med J* 2012; 42:658.
37. Ho CH, Chau WK, Hsu HC, et al. Predictive risk factors and prevalence of malignancy in patients with iron deficiency anemia in Taiwan. *Am J Hematol* 2005; 78:108.
38. Ioannou GN, Rockey DC, Bryson CL, Weiss NS. Iron deficiency and gastrointestinal malignancy: a population-based cohort study. *Am J Med* 2002; 113:276.
39. Hallberg L, Rossander L, Skånberg AB. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:988.
40. Cook JD, Monsen ER. Food iron absorption in human subjects. III. Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. *Am J Clin Nutr* 1976; 29:859.
41. Storcksdieck genannt Bonsmann S, Hurrell RF. Iron-binding properties, amino acid composition, and structure of muscle tissue peptides from in vitro digestion of different meat sources. *J Food Sci* 2007; 72:S019.
42. Armah CN, Sharp P, Mellon FA, et al. L-alpha-glycerophosphocholine contributes to meat's enhancement of nonheme iron absorption. *J Nutr* 2008; 138:873.
43. Shah YM, Matsubara T, Ito S, et al. Intestinal hypoxia-inducible transcription factors are essential for iron absorption following iron deficiency. *Cell Metab* 2009; 9:152.
44. Prentice AM, Doherty CP, Abrams SA, et al. Hepcidin is the major predictor of erythrocyte iron incorporation in anemic African children. *Blood* 2012; 119:1922.
45. Finch CA, Huebers H. Perspectives in iron metabolism. *N Engl J Med* 1982; 306:1520.
46. Cook JD. Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol* 1982; 19:6.
47. Mastrogiannaki M, Matak P, Keith B, et al. HIF-2alpha, but not HIF-1alpha, promotes iron absorption in mice. *J Clin Invest* 2009; 119:1159.
48. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001; 291:1755.
49. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell* 2010; 142:24.
50. Camaschella C. Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013; 2013:1.
51. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 33:21.
52. Andriopoulos B Jr, Corradini E, Xia Y, et al. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat Genet* 2009; 41:482.
53. Mastrogiannaki M, Matak P, Peyssonnaud C. The gut in iron homeostasis: role of HIF-2 under normal and pathological conditions. *Blood* 2013; 122:885.
54. Schwartz AJ, Das NK, Ramakrishnan SK, et al. Hepatic hepcidin/intestinal HIF-2 α axis maintains iron absorption during iron deficiency and overload. *J Clin Invest* 2019; 129:336.
55. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood* 2010; 116:4754.

56. Auerbach M, Adamson JW. How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *Am J Hematol* 2016; 91:31.
57. Osaki T, Ueta E, Arisawa K, et al. The pathophysiology of glossal pain in patients with iron deficiency and anemia. *Am J Med Sci* 1999; 318:324.
58. Trost LB, Bergfeld WF, Calogeras E. The diagnosis and treatment of iron deficiency and its potential relationship to hair loss. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54:824.
59. Howell JT, Monto RW. Syndrome of anemia, dysphagia and glossitis (Plummer Vinson syndrome). *N Engl J Med* 1953; 249:1009.
60. van den Broek NR, Letsky EA, White SA, Shenkin A. Iron status in pregnant women: which measurements are valid? *Br J Haematol* 1998; 103:817.
61. Pavord S, Daru J, Prasannan N, et al. UK guidelines on the management of iron deficiency in pregnancy. *Br J Haematol* 2020; 188:819.
62. Hallberg L, Bengtsson C, Lapidus L, et al. Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. *Br J Haematol* 1993; 85:787.
63. Mast AE, Blinder MA, Gronowski AM, et al. Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clin Chem* 1998; 44:45.
64. Harju E, Pakarinen A, Larmi T. A comparison between serum ferritin concentration and the amount of bone marrow stainable iron. *Scand J Clin Lab Invest* 1984; 44:555.
65. Auerbach M, Deloughery T. Single-dose intravenous iron for iron deficiency: a new paradigm. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2016; 2016:57.
66. Tolkien Z, Stecher L, Mander AP, et al. Ferrous sulfate supplementation causes significant gastrointestinal side-effects in adults: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2015; 10:e0117383.
67. Goddard AF et al. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut* 2000;46(supl):IV1-IV5.
68. British Columbia Guidelines & protocols advisory committee, 2010.
69. Cook, JD. Diagnosis and management of iron-deficiency anaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:319.
70. Alleyne, M, Horne, MK, Miller, JL. Individualized treatment for iron-deficiency anemia in adults. *Am J Med* 2008;121:943
71. Schrier SL. So you know how to treat iron deficiency anemia. *Blood* 2015; 126:1971.
72. Auerbach M, Schrier S. Treatment of iron deficiency is getting trendy. *Lancet Haematol* 2017; 4:e500.
73. Auerbach M, Ballard H, Glaspy J. Clinical update: intravenous iron for anaemia. *Lancet* 2007; 369:1502.
74. Grasso P. Sarcoma after intramuscular iron injection. *Br Med J* 1973; 2:667.
75. Greenberg G. Sarcoma after intramuscular iron injection. *Br Med J* 1976; 1:1508.

76. Modepalli N, Shivakumar HN, McCrudden MT, et al. Transdermal Delivery of Iron Using Soluble Microneedles: Dermal Kinetics and Safety. *J Pharm Sci* 2016; 105:1196.
77. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 1997; 91:295.
78. Medzhitov R. Pattern recognition theory and the launch of modern innate immunity. *J Immunol* 2013; 191:4473.
79. Janeway CA Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1989; 54 Pt 1:1.
80. Thaïss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature* 2016; 535:65.
81. Lynch SV, Pedersen O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *N Engl J Med* 2016; 375:2369.
82. Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, et al. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med* 2018; 24:392.
83. Heath WR, Carbone FR. Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. *Nat Immunol* 2009; 10:1237.
84. Schmitt N, Ueno H. Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol* 2015; 34:130.
85. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136:2348.
86. Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol* 1994; 12:227.
87. Schmitt E, Klein M, Bopp T. Th9 cells, new players in adaptive immunity. *Trends Immunol* 2014; 35:61.
88. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature* 2008; 453:1051.
89. Crome SQ, Wang AY, Levings MK. Translational mini-review series on Th17 cells: function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease. *Clin Exp Immunol* 2010; 159:109.
90. Zhang S, Zhang H, Zhao J. The role of CD4 T cell help for CD8 CTL activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 384:405.
91. Kitchen SG, Jones NR, LaForge S, et al. CD4 on CD8(+) T cells directly enhances effector function and is a target for HIV infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:8727.
92. Fooksman DR, Grönvall GK, Tang Q, Edidin M. Clustering class I MHC modulates sensitivity of T cell recognition. *J Immunol* 2006; 176:6673.
93. Henkart PA, Catalfamo M. CD8⁺ effector cells. *Adv Immunol* 2004; 83:233.

94. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. B cell activation and antibody production. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, eds. Cellular and molecular immunology. 7th edn. Philadelphia, USA, Elsevier Saunders, 2012:173-293.
95. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112:1570.
96. Freedman AS, Munro JM, Rice GE, et al. Adhesion of human B cells to germinal centers in vitro involves VLA-4 and INCAM-110. *Science* 1990; 249:1030.
97. Chen ZJ, Wheeler J, Notkins AL. Antigen-binding B cells and polyreactive antibodies. *Eur J Immunol* 1995; 25:579.
98. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:37-49.
99. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:33-40.
100. Mesquita Júnior D, Araújo JA, Catelan TT, Souza AW, Cruvinel Wde M, Andrade LE, Silva NP. Immune system - part II: basis of the immunological response mediated by T and B lymphocytes. *Rev Bras Reumatol* 2010;50:552-80.
101. Durmaz EÖ, B cell activation and antibody production. *Turkderm-Turk Arch Dermatol Venereol.* 2013; 47(1): 24-27
102. Oracki SA, Walker JA, Hibbs ML, et al. Plasma cell development and survival. *Immunol Rev* 2010; 237:140.
103. Montaldo E, Vacca P, Vitale C, et al. Human innate lymphoid cells. *Immunol Lett* 2016; 179:2.
104. Lim AI, Verrier T, Vosshenrich CA, Di Santo JP. Developmental options and functional plasticity of innate lymphoid cells. *Curr Opin Immunol* 2017; 44:61.
105. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989; 47:187.
106. Angelo LS, Banerjee PP, Monaco-Shawver L, et al. Practical NK cell phenotyping and variability in healthy adults. *Immunol Res* 2015; 62:341.
107. Mace EM, Orange JS. Genetic Causes of Human NK Cell Deficiency and Their Effect on NK Cell Subsets. *Front Immunol* 2016; 7:545.
108. Mahapatra S, Mace EM, Minard CG, et al. High-resolution phenotyping identifies NK cell subsets that distinguish healthy children from adults. *PLoS One* 2017; 12:e0181134.
109. Eiras P, Roldán E, Camarero C, et al. Flow cytometry description of a novel CD3-/CD7+ intraepithelial lymphocyte subset in human duodenal biopsies: potential diagnostic value in coeliac disease. *Cytometry* 1998; 34:95.
110. Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat Rev Immunol* 2006; 6:584.
111. Cederbrant K, Marcusson-Ståhl M, Condevaux F, Descotes J. NK-cell activity in immunotoxicity drug evaluation. *Toxicology* 2003; 185:241.
112. Orange JS. Human natural killer cell deficiencies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6:399.

113. Miller JS. The biology of natural killer cells in cancer, infection, and pregnancy. *Exp Hematol* 2001; 29:1157.
114. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, et al. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999; 17:189.
115. Orange JS, Ballas ZK. Natural killer cells in human health and disease. *Clin Immunol* 2006; 118:1.
116. Taniguchi M, Harada M, Kojo S, et al. The regulatory role of Valpha14 NKT cells in innate and acquired immune response. *Annu Rev Immunol* 2003; 21:483.
117. Strowig T, Brilot F, Münz C. Noncytotoxic functions of NK cells: direct pathogen restriction and assistance to adaptive immunity. *J Immunol* 2008; 180:7785.
118. Biassoni R, Cantoni C, Pende D, et al. Human natural killer cell receptors and co-receptors. *Immunol Rev* 2001; 181:203.
119. Hanna J, Bechtel P, Zhai Y, et al. Novel insights on human NK cells' immunological modalities revealed by gene expression profiling. *J Immunol* 2004; 173:6547.
120. Spinner MA, Sanchez LA, Hsu AP, et al. GATA2 deficiency: a protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity. *Blood* 2014; 123:809.
121. Mace EM, Bigley V, Gunesch JT, et al. Biallelic mutations in IRF8 impair human NK cell maturation and function. *J Clin Invest* 2017; 127:306.
122. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, et al. The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2018; 38:129.
123. Biron CA, Byron KS, Sullivan JL. Severe herpesvirus infections in an adolescent without natural killer cells. *N Engl J Med* 1989; 320:1731.
124. Aly SS, Fayed HM, Ismail AM, Abdel Hakeem GL. Assessment of peripheral blood lymphocyte subsets in children with iron deficiency anemia. *BMC Pediatr.* 2018 Feb 12;18(1):49. doi: 10.1186/s12887-018-0990-5. PMID: 29433459; PMCID: PMC5809939.
125. Mastroeni P, Vazquez-Torres A, Fang FC, Xu Y, Khan S, Hormaeche CE, et al. Antimicrobial actions of the NADPH phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase in experimental Salmonellosis. II. Effects on microbial proliferation and host survival in vivo. *J Exp Med.* 2000;192:237–48.
126. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radic Biol Med.* 2013;65:1174–94.
127. Gross RL, Reid JVU, Newberne PM, Burgess B, Marston R, Hif W. Depressed cell-mediated immunity in megaloblastic anemia
128. Hershko C. Iron and infection. *Iron Nutr Health Dis.* 1996;22:231–8.
129. Hoffbrand AV, Ganeshaguru K, Hooton JW, Tattersall MH. Effect of iron on DNA synthesis in human cells. *Br J Haematol.* 1976;33(4):517–26.

130. Lucas JJ, Szepesi A, Domenico J, Takase K, Tordai A, Terada N, et al. Effects of iron depletion on cell cycle progression in normal human T lymphocytes: selective inhibition of the appearance of the cyclin A-associated component of the p33cdk2 kinase. *Blood*. 1995;86(6):2268–80.
131. Weiss G. Iron, infection and anemia a classical triad. *Wein Klin Wochenschr*. 2000;114:357–67.
132. Collins HL. The role of iron in infections with intracellular bacteria. *Immunol Lett*. 2003;133:336S–40S.
133. Beard JL. Iron biology in immune function, muscle metabolism, and neuronal functioning. *J Nutr*. 2001;131:568S–80S.
134. Kuvibidila S, Baliga BS, Murthy KK. Impaired protein kinase C activation as one of the possible mechanisms of reduced lymphocyte proliferation in iron deficiency in mice. *Am J Clin Nutr*. 1991 Nov;54(5):944–50. doi: 10.1093/ajcn/54.5.944. PMID: 1951169..
135. Das I, Saha K, Mukhopadhyay D, Roy S, Raychaudhuri G, Chatterjee M, Mitra PK. Impact of iron deficiency anemia on cell-mediated and humoral immunity in children: a case control study. *J Nat Sci Biol Med*. 2014;5:158–63.
136. Saldanha-Araujo F, Souza AM. Early effects on T lymphocyte response to iron deficiency in mice. *Biol Trace Elem Res*. 2009;127:95–101.
137. Markel TA, Crisotomo PR, Wang M, et al. The struggle for iron: gastrointestinal microbes modulate the host immune response during infection. *J Leukoc Biol*. 2007b;81:393–400.
138. Kuvibidila SR, Porretta C. Differential effects of iron deficiency on the expression of CD80 and CD86 co-stimulatory receptors in mitogen-treated and untreated murine spleen cells. *J Cell Biochem*. 2002;86(3):571–82. doi: 10.1002/jcb.10206. **PMID:** 12210763
139. Vydyborets' SV. Analiz pokaznykiv imunitetu u khvorykh iz zalizodefitytnoiu anemiieiu [An analysis of the immunity indices of patients with iron-deficiency anemia]. *Lik Sprava*. 2000 Apr-Jun;(3-4):71–5. Ukrainian. PMID: 10921267.
140. Omara FO, Blakley BR. The effects of iron deficiency and iron overload on cell-mediated immunity in the mouse. *Br J Nutr*. 1994 Dec;72(6):899–909. doi: 10.1079/bjn19940094. PMID: 7827010.
141. Spear AT, Sherman AR. Iron deficiency alters DMBA-induced tumor burden and natural killer cell cytotoxicity in rats. *J Nutr*. 1992 Jan;122(1):46–55. doi: 10.1093/jn/122.1.46. PMID: 1729472.
142. Mullick S, Rusia U, Sikka M, Faridi MA. Impact of iron deficiency anemia on T lymphocytes and their subsets in children. *Indian J Med Res*. 2006;124:647–54.
143. Santos PC, Falcão RP. Decreased lymphocyte subsets and K-cell activity in iron deficiency anemia. *Acta Haematol*. 1990;84:118–21.
144. Thibault H, Galan P, Selz F, Preziosi P, Olivier C, Badoual J, Hercberg S. The immune response in iron-deficient young children: effect of iron supplementation on cell-mediated immunity. *Eur J Pediatr*. 1993;152:120–4.

145. Safuanova GSH, Nikulicheva VI, Bakirov AB. Comprehensive evaluation of the immune system and various cytokines in patients with iron-deficient anemia. *Klin Lab Diagn.* 2004;24:33–5.
146. Kurtoglu E, Ugur A, Baltaci AK, Mogolkoc R, Undar L. Activity of neutrophil NADPH oxidase in iron-deficient anemia. *Biol Trace Elem Res.* 2003;96(1–3):109–15.
147. Galan P, Thibault H, Preziosi P, Hercberg S. Interleukin 2 production in iron deficient children. *Biol. Trace Elem. Res.* 1992;32:421–426.
148. Muñoz C, Rios E, Olivos J, Brunser O, Olivares M. Iron, copper and immunocompetence. *Br J Nutr.* 2007 Oct;98 Suppl 1:S24-8. doi: 10.1017/S0007114507833046. PMID: 17922954.
149. de Silva A, Atukorala S, Weerasinghe I, Ahluwalia N. Iron supplementation improves iron status and reduces morbidity in children with or without upper respiratory tract infections: a randomized controlled study in Colombo, Sri Lanka. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jan;77(1):234–41. doi: 10.1093/ajcn/77.1.234. PMID: 12499347.
150. Kuvibidila SR, Kitchens D, Baliga BS. In vivo and in vitro iron deficiency reduces protein kinase C activity and translocation in murine splenic and purified T cells. *J Cell Biochem.* 1999 Sep 1;74(3):468–78. PMID: 10412047.
151. Kuvibidila SR, Porretta C, Baliga BS. Iron deficiency alters the progression of mitogen-treated murine splenic lymphocytes through the cell cycle. *J Nutr.* 2001 Jul;131(7):2028–33. doi: 10.1093/jn/131.7.2028. PMID: 11435525.
152. Kuvibidila SR, Porretta C. Iron deficiency and in vitro iron chelation reduce the expression of cluster of differentiation molecule (CD)28 but not CD3 receptors on murine thymocytes and spleen cells. *Br J Nutr.* 2003 Jul;90(1):179–89. doi: 10.1079/bjn2003864. PMID: 12844390.
153. Kuvibidila S, Yu L, Ode D, Velez M, Gardner R, Warriar RP. Effects of iron deficiency on the secretion of interleukin-10 by mitogen-activated and non-activated murine spleen cells. *J Cell Biochem.* 2003 Oct 1;90(2):278–86. doi: 10.1002/jcb.10627. PMID: 14505344
154. Agnès Dhur, Pilar Galan, Paul Preziosi, Serge Hercberg, Lymphocyte Subpopulations in the Thymus, Lymph Nodes and Spleen of Iron-Deficient and Rehabilitated Mice, *The Journal of Nutrition*, Volume 121, Issue 9, September 1991, Pages 1418–1424, <https://doi.org/10.1093/jn/121.9.1418>
155. Hallquist NA, McNeil LK, Lockwood JF, Sherman AR. Maternal-iron-deficiency effects on peritoneal macrophage and peritoneal natural-killer-cell cytotoxicity in rat pups. *Am J Clin Nutr.* 1992 Mar;55(3):741–6. doi: 10.1093/ajcn/55.3.741. PMID: 1550051.
156. Sherman AR, Lockwood JF. Impaired natural killer cell activity in iron-deficient rat pups. *J Nutr.* 1987 Mar;117(3):567–71. doi: 10.1093/jn/117.3.567. PMID: 3572568.
157. van Heerden C, Oosthuizen R, van Wyk H, Prinsloo P, Anderson R. Evaluation of neutrophil and lymphocyte function in subjects with iron deficiency. *S Afr Med J.* 1981 Jan 24;59(4):111–3. PMID: 7455835.

158. Ekiz C, Agaoglu L, Karakas Z, Gurel N, Yalcin I. The effect of iron deficiency anemia on the function of the immune system. *Hematol J*. 2005;5(7):579-83. doi: 10.1038/sj.thj.6200574. PMID: 15692603.
159. Anani, M.M., Omar, H.H., El-Kelani, A. et al. Impact of iron deficiency anemia on CD4 and CD8-T lymphocytes among preschool-school children. *Comp Clin Pathol* 26, 1063–1068 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2485-4>

