T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ OLAN ÇOCUKLARDA TROMBİN JENERASYON TESTİ İLE TROMBİN ÜRETİMİNİN ÖLÇÜLMESİ

Dr. Umur ÖZDÖL

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2022

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ OLAN ÇOCUKLARDA TROMBİN JENERASYON TESTİ İLE TROMBİN ÜRETİMİNİN ÖLÇÜLMESİ

Dr. Umur ÖZDÖL

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Zeynep Canan ÖZDEMİR

ESKİŞEHİR
2022

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Umur ÖZDÖL'e ait "Demir Eksikliği Anemisi Olan Çocuklarda Trombin Jenerasyon Testi İle Trombin Üretiminin Ölçülmesi" adlı çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 31/03/2022

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Özcan BÖR Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Zeynep Canan ÖZDEMİR Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Yeter DÜZENLİ KAR Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniv. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun……...
Tarih ve..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İ. Özkan ALATAŞ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarıma, tezimin hazırlanması sırasındaki emek ve katkılarından dolayı tez danışman hocam Doç. Dr. Zeynep Canan Özdemir'e teşekkür ederim.

ÖZET

Özdöl, U. Demir Eksikliği Anemisi Olan Çocuklarda Trombin Jenerasyon Testi ile Trombin Üretiminin Ölçülmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2022. Demir eksikliği anemisi (DEA) çocukluk çağında en sık karşılaşılan anemi türüdür. DEA'da hiperkoagülobiliteye artan eğilimin nedeni olarak daha çok trombosit sayı ve aktivitesindeki değişiklikler üzerinde durulmuştur. Bu çalışmada DEA'lı çocuk hastalarda trombositten fakir plazmada trombin jenerasyon testi ile trombin düzeyi ölçümü yapılarak koagülasyon sistemdeki değişikliklerin araştırılması amaçlandı. Çalışmaya, 72 DEA tanılı çocuk ile ile 60 sağlıklı çocuk dahil edildi. Tüm katılımcılardan kan sayımı, hemostaz testleri ve trombin jenereasyon testi çalışıldı. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet dağılımı ve hemostaz parametreleri açısından farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Hasta grubunun tedavi sonrası 1 ay hemoglobin (Hb), transferrin satürasyonu, ferritin düzeyi tedavi öncesi değerlerden yüksek, kontrol grubundan düşüktü ($P<0,001$). Hasta grubunun duraklama zamanı ve pik zamanı kontrol grubundan kısa, endojen trombin potansiyeli (ETP) ve pik yükselik değeri kontrol grbubundan yüksekti ($P<0,001$). Tedavi sonrası 1.ay duraklama ve pik zamanı tedavi öncesi değerlerden uzun ($P<0,001$ ve $P=0,004$), ETP ve pik yükseklik kısa bulundu ($P<0,001$). Tedavi sonrası 1. ay duraklama zamanı, pik zamanı, ETP ve pik yükseklik değeri kontrol grubu ile benzerdi ($P>0,05$). Bir aylık tedavi ile 65 hastanın Hb düzeyi normale dönerken, 7 hastanın Hb düzeyi düşük kaldı. Her iki grubun da tedavi öncesine göre tedavi sonrası 1. ay duraklama zamanı ve pik zamanının anlamlı şekilde uzadığı, pik yükseklik ve ETP'nin azaldığı gösterildi. Sonuç olarak; DEA'lı çocuk hastalarda TGA testinde hiperkoagülobiliteye yönünde değişiklikler oluşmaktadır. Bu değişiklikler geri dönüşümlü olup tüm hastalarda 1 aylık oral demir tedavisinden sonra sağlıklı çocuklar ile benzer değerlere dönmektedir. Bu sonuçlar DEA' lı çocuklarda trombosit etkisi dışlandıktan sonra da hiperkoagülabiliteye eğilimin olduğunu, koagülasyon faktörlerinin hiperkoagülobilte gelişiminde rol oynadığını düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Demir eksikliği anemisi, demir, tedavi, trombin jenerasyon testi, hiperkoagülobilite

ABSTRACT

Özdöl, U. Measuring Thrombin Production with the Thrombin Generation Test in Children with Iron Deficiency Anemia. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Child Health and Diseases in Medicine Thesis, Eskisehir, 2022 Iron deficiency anemia (IDA) is the most common type of anemia encountered in childhood. The debate about tendency to hypercoagulation in IDA has focused on the changes in thrombocyt count and activity. The aim of the current study is to measure thrombin level by thrombin generation test, using platelet-poor plasma in order to ignore the effects of thrombocytes, thus evaluate the changes in the coagulation cascade in children with IDA. The study included 72 children with IDA and 60 healthy children. Complete blood count, hemostasis and thrombin generation tests were analyzed from all participants. There was no significant difference between groups in terms of age, gender and hemostasis parameters ($p>0,05$). It was observed that after 1 month of treatment hemoglobin (Hb), transferrin saturation and ferritin levels in patients increased significantly compared to the values before treatment however still remained lower than that of control group ($p<0,001$). Patients had significantly shorter lag time and time to peak however; endogenous thrombin potential (ETP) and peak heigth levels were higher compared to control group. Lag time and time to peak after the first month of treatment was found to be longer ($p <0,001$ ve $p=0,004$) but ETP and peak height were shorter than the pre-treatment values. While Hb values of 65 patients returned to normal levels, they remained low in 7 patients. It was shown that lag time and time to peak significantly prolonged whereas peak level and ETP decreased in both groups after the first month of treatment. As a result, TGA showed changes in favor of hypercoagulability in pediatric patients with IDA. These changes were reversible and returned to similar levels with healthy children after a month of oral iron treatment. The results showed that there is a tendency to hypercoagulation in children with IDA even after thrombocyte effect was ignored and that coagulation factors are involved in the development of hypercoagulation.

Key words: Iron deficiency anemia, iron, treatment, thrombin generation test, hypercoagulation

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
TABLOLAR DİZİNİ	XV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hematopoez ve Eritropoez	3
2.2 Eritrosit ve Hemoglobin sentezi	3
2.2.1 Hemoglobin Sentezi	3
2.2.2 Eritrosit Oluşumu	5
2.3.1 Demir metabolizması	7
2.3.2 Demir Emilimi	8
2.5. Anemiler	11
2.5.1 Aneminin Tanımı	11
2.5.2 Anemi Prevelansı	14
2.4.3 Anemilerin Sınıflandırılması	14
2.7 Demir Eksikliği Anemisi	15
2.7.1 Tanımı ve Sıklığı	15
2.7.2 Epidemiyoloji	16
2.7.3 Etiyoloji	16
2.7.4 Klinik Bulgular	18
2.7.5 Laboratuvar Bulguları	20

2.7.6 Demir Eksikliği ve Hiperkoagülobilite İlişkisi 22
3. GEREÇ VE YÖNTEM 28
3.1. Araştırmanın Türü ve Amacı 28
3.2. Etik Kurul Onayı 28
3.3. Türkiye İlaç Ve Tıbbi Cihaz Kurumu (Titck) Onayı 28
3.4. Araştırmanın Yeri ve Zamanı 28
3.5 Hastaların Çalışmaya Alınması ve Verilerin Toplanması 28
3.5.1Laboratuvar Testleri 30
3.6. İstatistiksel Yöntem 32
4. BULGULAR 34
4.1. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi İle Kontrol Grubunun Klinik Özellikleri ve Laboratuvar Parametrelerinin Karşılaştırması 34
4.2. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi İle Tedavi Sonrası 1. Ay Laboratuvar Parametrelerinin Karşılaştırması 38
4.3. Hasta Grubunun Tedavi Sonrası 1.Ay İle Kontrol Grubunun Laboratuvar Parametrelerinin Karşılaştırması 39
4.4. Hemoglobin Düzeyi Normale Dönen Hastaların Tedavi Öncesi İle Tedavi Sonrası 1. Ay Laboratuvar Parametrelerinin Karşılaştırması 43
4.5. Hb Düzeyi Normale Dönen Hastaların Tedavi Sonrası 1. Ay İle Kontrol Grubunun Klinik Özellikleri Ve Laboratuvar Parametrelerinin Karşılaştırması 43
4.6. Hb Düzeyi Normale Dönmeyen Hastaların Tedavi Öncesi İle Tedavi Sonrası 1. Ay Laboratuvar Parametrelerinin Karşılaştırması 47
4.7. Cinsiyete Göre Trombin Jenerasyon Testi Parametrelerinin Karşılaştırması 49

4.8. Korelasyon Analizleri 50

5. TARTIŞMA 52

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 60

KAYNAKLAR 62

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALAS-2:	ALA sentetaz-2
aPTT:	Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
2,3-BPG:	2,3 bifosfogliserat
CAT:	Kalibre otomatize trombografi
CFT:	Pıhtı oluşum zamanı
CO_2:	Karbondioksit
DcytB:	Duodenal sitokrom B
DEA:	Demir eksikliği anemisi
DMT-1:	Divalent Metal Transporter 1
EPO:	Eritropoetin
ETP:	Endojen trombin potansiyeli
Fe^{+2}:	Ferröz demir
Fe^{+3}:	Ferrik demir
GATA:	Guanin-adenin-timin-adenin
H_2CO_3:	Sodyum bikarbonat
Hb:	Hemoglobin
Hb F:	Fetal hemaglobin
HCT:	Hematokrit
HFE:	Hemokromatozis protein
HIF:	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
IL-6:	İnterlökin-6
INR:	Uluslararası normalleştirme oranı
KD:	Kilodalton
KPB:	Kardiyopulmoner by-pass
MCF:	Maksimum pıhtı sertliği
MCH:	Ortalama eritrosit hemoglobini

MCHC:	Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV:	Ortalama eritrosit hacmi
NADH:	Nikotinamid adenin dinükleotid dehidrojenaz
PPP:	Plateletten fakir plazma
PRP:	Plateletten zengin plazma
PT:	Protrombin zaman
RDW:	Eritrosit dağlım genişliği
sTfR:	Solübl transferrin reseptör
Tf:	Transferrin
TFPI:	Doku faktör yolağı inhibitörü
TfRC:	Transferrin reseptör geni
TGA:	Trombin jenerasyon testi

ŞEKİLLER

		Sayfa
2.1.	Hem sentezi	4
2.2.	Eritrosit matürasyonu	6
2.3.	Demirin intestinal emiliminin moleküler şeması	9
3.1.	Trombin jenereasyon testi sırasında elde edilen trombogram eğrisi	31

TABLOLAR

	Sayfa
2.1. Yaşa göre Hb, Hematokrit, eritrosit sayısı, MCV, MCH, MCHC, retikülosit yüzdesi değerleri	12
2.2. Anemilerin MCV değerlerine göre sınıflandırılması	15
4.1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet, kan sayımı, serum demir parametrelerinin karşılaştırılması	36
4.2. Hasta ve kontrol gruplarının trombin jenerasyon testi ve hemostaz parametrelerinin karşılaştırılması	37
4.3. Hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası ile kontrol grubunun kan sayımı ve serum demir parametrelerinin karşılaştırması	41
4.4. Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol gruplarının trombin jeneraston testi ve hemostaz parametreleri karşılaştırılması	42
4.5. Hb düzeyi düzelen hastaların tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu yaş, cinsiyet, kan sayımı, serum demir parametreleri kıyaslaması	45
4.6. Hb düzeyi düzelen hastaların tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu trombin jeneraston testi ve hemostaz tetkikleri kıyaslaması	46
4.7. Hb düzeyi normale gelmeyen hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası yaş, cinsiyet, kan sayımı, serum demir parametreleri kıyaslaması	48
4.8. Hb değeri normale gelmeyen hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombin jenerasyon testi ve hemostaz tetkikleri kıyaslaması	49
4.9. Cinsiyete göre trombin jenereasyon testi parametrelerinin karşılaştırması	50
4.10. Tüm grupta (sağlıklı ve hasta), bakılan ilk tam kan, demir parametreleri ve geleneksel koagülasyon tetkikleri ile TGA parametrelerinin korelasyon analizi	51

1.GİRİŞ

Demir ferrik (Fe^{+3}) ve ferröz (Fe^{+2}) formda olmak üzere iki formda vücudumuzda bulunur. Demirin vücudumuzda birçok metabolik görevde rol almaktadır. Bu görevlerin başında protoporfirin IX ile birleşerek hem sentezini sağlamak vardır. Dört hem molekülü 4 globin zinciri ile birleşerek hemoglobin sentezinde kullanılmakta böylece eritrosit üretiminde kullanılmaktadır (1).

Diyetteki demirin %90'ı ferröz formda olmakla birlikte ferrik demir proksimal duodenumda ferröz forma çevrilerek duodenum ve proksimal jejenumdan emilir. Demir eksikliğinin en sık etyolojik nedeni diyetle demir alımındaki yetersizlik olmakla birlikte perinatal faktörler (anne demir rezervi, fetomaternal kanama, ikizden ikize transfüzyon sendromu, anne sütündeki demir miktarının yeterli olmaması) ve gastrointestinal sistemden demir emilimini azaltan veya kaybını arttıran faktörler (inflamatuar barsak hastalıkları, çölyak, crohn hastalığı, alt veya üst gis kanamaları) gibi birçok faktör mevcuttur (2,3).

Demir eksikliği çocukluk çağının en sık karşılaşılan nutrisyonel eksikliğidir. Demir eksikliği olan hastalarda, demir depoları azalmış olmasına rağmen her hastada anemiye neden olmaz. Demir eksikliği anemisi (DEA) dünyada en yaygın görülen anemi türüdür. DEA'nın prevalansı tüm dünyada yaklaşık olarak %32.9'dur (4). Klinik bulgular arasında çabuk yorulma, halsizlik, cilt renginde solukluk, baş ağrısı, çarpıntı, tırnaklarda çizgilenme ve ağız çevresinde yaralar yer almaktadır.

Demir eksikliği anemisinin hiperkoagülabilite ile ilişkili olduğu saptanmış olup bu durum giderek daha çok tanınmlanan bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Altta yatan sağlık sorunu olmayıp inme geçiren çocukların yarısından fazlasında DEA olduğunun saptanması üzerinesağlıklı küçük çocuklarda demir eksikliğinin strok/inme için önemli bir risk faktörü olduğu ortaya konmuştur (5). Demir eksikliği anemisi ile artmış inme riski arasındaki ilişkiyi açıklamak için trombositoz, trombosit aktivitesindeki değişiklikler, eritrosit membran değişiklikleri, kan akımı değişiklikleri, antioksidan sistemdeki zayıflama, artan oksidatif stres düzeyi gibi birçok neden öne sürülmüştür (6-9). Ancak trombositozu olmayan hastalarda da tromboz gözlenmesi DEA'da tromboz patogenezinde trombosit sayısının artışından başka patolojik değişikliklerin de olduğu görüşünün oluşmasına neden olmuştur (10).

Protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) gibi klasik koagülametrik ölçümler koagülasyonun sadece başlangıç kısmını göstermekte ve hiperkoagülabiliteyi göstermekte yeterli değildir. 1950'li yılların başında ortaya konulan Trombin jenerasyon testi (TGA) testi ise belirli bir zaman içerisinde oluşan trombin miktarını ölçmektedir. Trombin, protrombinden meydana gelen ve karaciğerde üretilen bir glikopeptiddir. Trombin kendi oluşumunu faktör V (FV), FVIII ve FXI'i pozitif geri-bildirim ile uyararak arttırmakta ayrıca trombomodülin ile etkileşerek FV ve FVIII'in inaktivasyonun sağlayan protein C'nin aktifleşmesini sağlamaktadır. Hem prokoagülan hem de antikoagülan sistemde etkili olan trombin global olarak koagülasyon kaskadını değerlendirmek için kullanılmaktadır. Önceki çalışmalarda TGA testinin miyokard enfarktüsünde, antifosfolipid antikor sendromunda, protein C, protein S eksikliği olan hastalarda hiperkoagülabiliteye eğilimi göstermek için kullanılabileceği gösterilmiştir (11-12).

Bu çalışmada, DEA tanısı konan çocuk hastalarda oral demir tedavisi öncesi ve sonrası trombositten fakir plazmada TGA testi ile trombin jenerasyonunun ölçülerek hiperkoagülobiliteye eğilimin ve tedavi ile meydana gelen değişikliklerin ortaya konması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Hematopoez ve Eritropoez

İntrauterin hematopez; mezaloblastik, hepatik ve myeloid evre olarak 3 ana evrede sınıflandırılmaktadır. Mezaloblastik evre; vitellus kesesinde kan hücrelerinin gebeliğin 2. haftasında ortaya çıkmasıyla gözlenir. Vitellus kesesinde birleşen hücrelerin meydana getirdiği kan hücresine hemositoblast adı verilir. Bu hücrelerin çevresinden ise damar yapıları meydana gelmektedir. Primitif megaloblastik hücreler embriyoda görülen ilk kan hücreleridir. Bu süreç yaklaşık 6 haftadır. 7. haftadan itibaren başlayan normoblastik eritropoezis ile eritrosit yapımı devam eder. 10. haftaya gelindiğinde kan üretiminin %90'lık kısmı normoblastik eritropoez şeklinde gerçekleşir (13). 6-8 haftalarda 2 α, 2 γ globin zinciri bir araya gelerel fetal hemoglobini (HbF) oluşturur, böylece hepatik dönem başlamış olur. Gebeliğin 5. ayından sonra karaciğerde hematopez azalmaya başlar ve doğumdan sonraki ilk hafta bu dönem biter. Gebeliğin 15-16. haftasında kemik iliğinde hematopoezin başlaması myeloid evre olarak adlandırılır. Normal şartlarda postnatal dönemde de kemik iliği başlıca hematopoez organı olarak işlev görür. İntrauterin 3. ayda dalak, lenf nodu, timusda da kısa bir süre ve az miktarda hematopoez olur. Beş yaşına kadar eritrosit üretimi tüm kemik iliklerinde olurken 20 yaşından sonra tibia proksimali ve humerus dışında eritrosit üretimi olmaz (14).

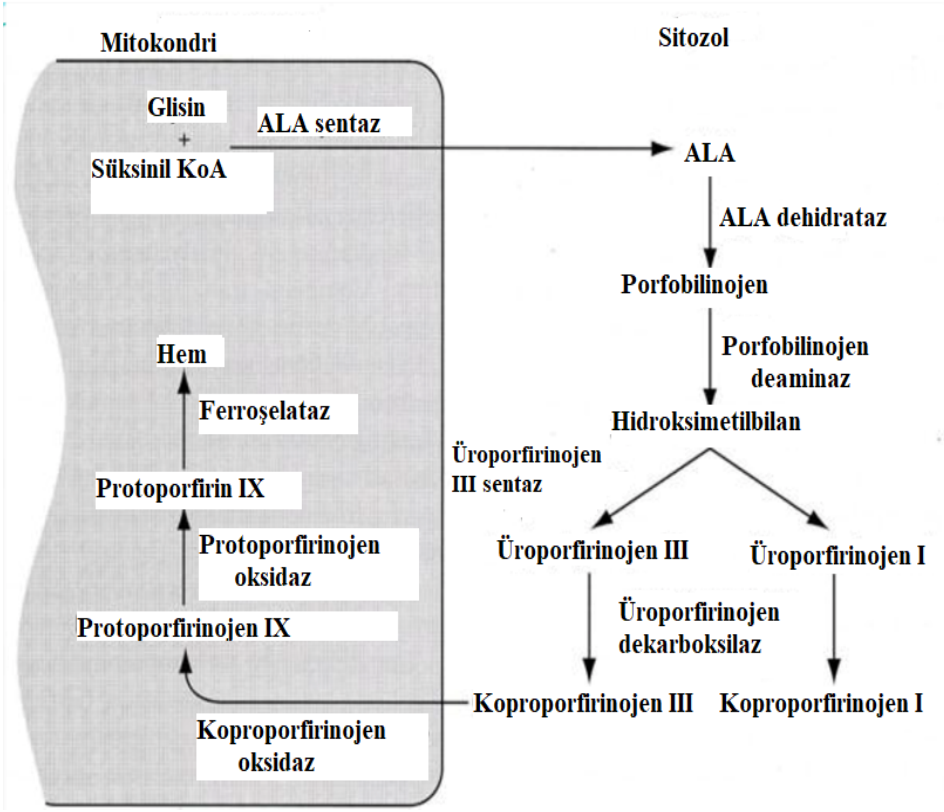
2.2 Eritrosit ve Hemoglobin Sentezi

2.2.1 Hemoglobin Sentezi

Hemoglobin (Hb) 65400 D molekül ağırlığına sahip 6.44 nm çapında olan bir tetramerik proteindir ve bir Hb, dört molekül oksijen bağlayabilmektedir (15). Yetişkinlerde bulunan başlıca hemoglobin iki α globin ve iki β globin alt biriminden oluşan Hb A'dır. Farklı globin genleri, her bir globin alt birimi tipini kodlar (16). Hb A globülin yapısı iki α ile iki β globin zincirinden oluşmaktadır. 4 molekül hem, prostetik grup olarak kovalent bağ ile bağlanarak bu tetramerik yapıya dahil olur. Hem molekülü, Fe^{+2} ve protoporfirin IX halkasından oluşur. Hem biyosentezi glisin ve süksinil-CoA'dan aminolevulinik asit sentetaz-2 (ALAS-2) enzimi ile δ-aminolevulinat oluşmasıyla başlar. Bu biyosentez mitokondriyal matrikste meydana

gelmektedir ve hem biyosentezi için hız kısıtlayıcı basamaktır. ALAS-2 enziminin koenzimi piridoksindir. İki molekül δ- aminolevulinat sitoplazmada ALA dehidraz enzimi ile porfobilinojene dönüştürülür. ALA dehidraz enzimi kurşun tarafından inhibe edilmektedir ve kofaktörü çinkodur. Eritrosit sitoplazmasında porfobilinojenden sırayla ilk olarak hidroksimetil bilan, ikinci olarak üroporfirinojen III ve son olarak da koproporfirinojen III üretilir ve mitokondriyal matrikse taşınır. Koproporfirinojen III'den, sırası ile Protoporfirinojen III ve protoporfirinojen IX üretilir.

Hem molekülünün sentezindeki son basamak protoporfirin IX'a mitokondriyal matrikste ferroşelataz enziminin katalizlediği tepkimeyle Fe^{+2} eklenmesidir. Ferroşelataz enziminin inhibitörü kurşundur (17). Şekil-2.1.'de Hem sentezi gösterilmiştir (18).



Şekil-2.1: Hem sentezi

Alfa zinciri için genler kromozom 16 üzerinde, beta zinciri için genler 11.kromozom üzerindedir (19). 4 hem molekülü ve 4 globin zinciri birleştirilerek hemoglobin sentezlenmiş olur. İnsan vücudundaki hem sentezinin %15 kadarı karaciğerde iken %85'i kemik iliğinde olmaktadır (17).

2.2.2 Eritrosit Oluşumu

Eritrositler olarak da bilinen kırmızı kan hücrelerinin en önemli işlevi akciğerlerden dokulara hemoglobin aracılığı ile oksijen taşımaktır. Hemoglobin taşımasının yanı sıra karbonik asit (H_2CO_3) oluşturmak için karbon dioksit (CO_2) ve su arasındaki tersinir reaksiyonu katalize eden karbonik anhidraz enzimini içerir. Aynı zamanda bu reaksiyonla birlikte vücut için mükemmel bir asit baz tamponu görevini görürler (20). İnsan vücudunda saniyede 2 milyon eritrosit üretilmektedir. Bu üretimi düzenleyen birçok faktör olsa da temel düzenleyici eritropoietindir (EPO). EPO böbrekte yer alan peritübüler kapiller hücrelerden salınmaktadır. Eritrosit proliferasyonunu, apoptozisini ve farklılaşmasını sağlamaktadır (21, 22). EPO'nun birincil işlevi, periferik dokulara oksijen dağıtımını düzenlemektir. Hipoksik indüksiyon ile EPO gen transkripsiyonu kolaylaştırılır. Bu süreçte, göreceli hipoksi seviyesi tarafından düzenlenen hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF) ve guanin-adenin-timin-adenin (GATA) bağlayıcı proteinler (GATA-1, GATA-2, GATA-3) dahil olmak üzere çoklu transkripsiyon faktörleri yer alır. GATA bağlayıcı proteinlerin EPO transkripsiyonunu negatif olarak etkilediği çalışmalarda gösterilmiştir (23). Anemi sırasında yüksek seviyelerde EPO ekspresyonunun, olgunlaşmamış eritroblastları Fas-ligand aracılı sitotoksisiteden koruduğu, böylece eritroid sağ kalımını arttırdığı gösterilmiştir (24). Yetişkin insanda temel eritropoez kemik iliğindeki kemik medullasında yapılmaktadır. Ancak ihtiyaç olması durumunda ya da infiltratif hastalıklarda dalak ve karaciğer gibi ekstramedüller organlarda da eritropoez yapılmaktadır. Proeritroblastlar eritropoez sırasında ilk gözlenen hücrelerdir. Eritroblast ile proeritroblastın temek farkı proeritroblastın nükleolus sahibi olmasıdır (21, 22). Eritroid olgunlaşmasının ikinci aşaması, çekirdekli öncülerin proeritroblastlardan bazofilik, polikromatofilik ve ortokromatik eritroblastlara farklılaşmasını içerir (25). Bu ayrım çekirdek yerleşimi, boyutu ve sitoplazmanın boyanma şekline göredir. Olgunlaşma evresinde eritroblastlar zamanla küçülür,

proliferatif yeteneğin azalmasına bağlı bazofilinin gerilemesi gözlenir. Proliferatif yeteneğin azalmasının bir göstergesi de kromatin ağın yoğunlaşmasıdır.

Eritroblastlar 3 gruba ayrılmaktadır:

- Bazofilik eritroblast
- Polikromatofilik eritroblast
- Ortokromatofilik eritroblast

Hemoglobin sentezi için bol miktarda ribozom içeren hücrelere bazofilik eritroblast denir. Bu süreçte bazofilik eritroblastlara koyu mavi renk görünümü veren sitoplazmalarındaki ribozomlar ve bu ribozomların bazofilik boyanmasındandır. Hemoglobin asidofilik boyanmasından ötürü belirgin Hb sentezinden dolayı polikromatofilik eritrositler lila renk olarak gözlenir. Ortokromatofilik eritroblast (Normoblast) ise sitoplazmadaki bazofilik elemanların regrese olmasından dolayı pembe renkte görülür. Normoblastlarda nükleus tamamen küçülmüş ve koyulaşmıştır. Normoblastlar eritrosit prekürsörleri arasında çekirdek gözlenen son hücrelerdir. Ancak normoblastların periferik kanda gözlenmesi hemolitik anemilerin varlığına işaret olabileceği için dikkatli olunmalıdır (21). Şekil-2.2'de eritrosit maturasyonu gösterilmiştir (26).



Şekil-2.2.: Eritrosit Maturasyonu

Çekirdek yapısına sahip olmayan ilk eritrosit prekürsörü retikülosittir. Bu hücrelerdeki retiküler görünüm poliribozomlar gibi bazofilik kalıntılardan dolayı gözlenmektedir (21). Retikülosit hücreleri %2.5'ten az oranda periferik kanda bulunurlar (27). Retikülositlerin eritrosit hücresine maturasyonu 1-2 gün içerisinde periferik kanda tamamlanır; böylece tüm zarlı organellerini, nukleusunu, ribozomlarını kaybederek tamamen hemoglobin içeren eritrosit hücresi oluşmuş olur (21). Bu aşamada eritrosit, geniş membran yeniden şekillenmesi yoluyla bikonkav şeklini alır ve retiküloendotelyal sistemdeki makrofajlar tarafından uzaklaştırılıncaya kadar kan dolaşımında dolaşır (28). Eritrositler yaklaşık 120 gün boyunca dolaşımda kalırlar ve bu süre boyunca karaciğer ve dalakta yerleşik makrofajlar tarafından sürekli olarak eritrosit morfolojileri, oksijen taşıma kapasiteleri ve inklüzyon cisimciği içermeleri gibi açılardan kontrol edilirler. Dalak içindeki makrofajlar, ömürlerini tamamlamış eritrositlerin yanı sıra istenmeyen veya hasarlı eritrositleri de saptayarak dolaşımdan elimine ederler (29).

2.3.1 Demir Metabolizması

Demir, insanlarda çeşitli metabolik süreçlerin temel bir unsurudur. Küçük istisnalar dışında hemen hemen tüm hücreler, oksijen taşınması, enerji metabolizması ve DNA sentezi gibi temel biyokimyasal faaliyetler için bir kofaktör olarak demir kullanırlar. Bunun nedeni, demirin proteinlerle birleşmesine ve oksijene bağlanmasına, elektronları transfer etmesine veya katalitik reaksiyonlara aracılık etmesine izin veren esnek koordinasyon kimyası ve redoks reaktivitesine sahip olmasıdır (30).

Demir atılımı; ter kaybı, menstrüasyon, saç ve deri hücrelerinin dökülmesi ve enterositlerden atılım yoluyla olur ve düzensiz bir süreçtir. Doğadaki en yaygın elementlerden olmasına rağmen diğer minerallerden farklı olarak, insan vücudundaki demir seviyeleri sadece emilim ile kontrol edilir, vücuttan demir atılımı için düzenlenmiş herhangi bir mekanizma mevcut değildir. İnsan vücudunda demir esas olarak eritrositlerde hem bileşiği hemoglobin olarak (erkeklerde yaklaşık 2 g ve kadınlarda 1.5 g demir), daha az oranda ferritin ve hemosiderin olarak depo şeklinde ve kas hücrelerinde miyoglobin olarak bulunur. Vücuttaki demirin %65'i Hb, %10'u

miyoglobin, %3'ü diğer enzimlerin yapısında fonksiyonel halde bulunurken, %22'si hemosiderin veya ferritin şeklinde depolanır. Demir ayrıca oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarında ve elektron transferinde (sitokromlar ve katalaz) yer alan proteinlere (hemoprotein) ve hem olmayan enzimlere bağlanabilir (31-33). Demir; inaktif ferrik (Fe^{+3}) ve aktif ferröz (Fe^{+2}) form olarak isimlendirilen iki formda stabil olarak vücudumuzda bulunmaktadır (34). Ayrıca, sınırlı emilime bağlı olarak, inaktif ferrik Fe^{+3}'nin biyoyararlanımının zayıftır (35). Demir ayrıca, sitokrom c oksidaz, sitokrom a, b, c, Nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) dehidrojenaz, sitokrom p450, miyeloperoksidaz, katalaz, ksantin oksidaz, ribonükleotid redüktaz, süksinat dehidrojenaz, triptofan pirolaz gibi enzimlerin yapısında bulunur.

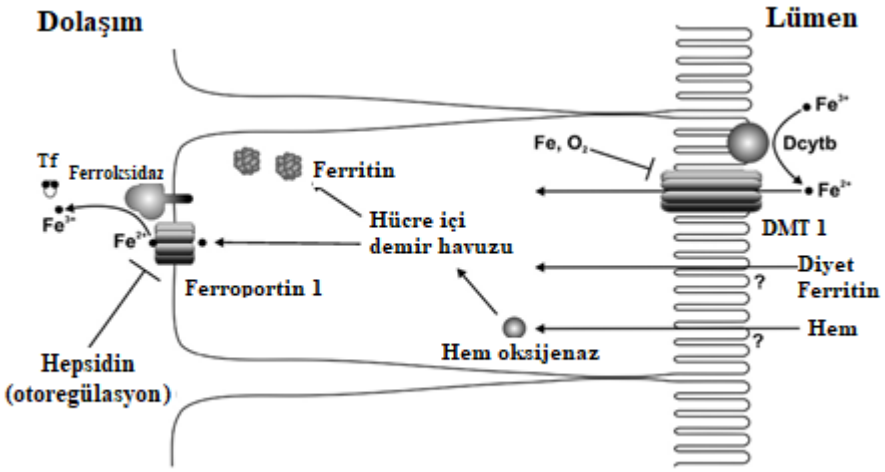
2.3.2 Demir Emilimi

Diyette demir hem ve hem olmayan demir olmak üzere iki şekilde bulunur. Hayvansal gıda kaynaklarının (kırmızı et, deniz ürünleri, kümes hayvanları) hemoglobin ve miyoglobininden türetilen hem demiri, en kolay emilen formdur (%15 ila %35) ve toplam emilen demirimizin %10 veya daha fazlasını sağlar. Hem demiri ferröz (Fe^{+2}) formundadır. Diyetteki demirin %90'ının hem olmayan demir oluşturur. Bitkilerden ve demir takviyeli gıdalardan elde edilir ve %5 oranında emilir. Ferrik demir (Fe^{+3}), non hem demiri olarak da isimlendirilir.

Demir emiliminin büyük kısmnı duodenumda ve proksimal jejunumda meydana gelir. Fizyolojik pH'da demir oksitlenmiş halde, ferrik (Fe^{+3}) formda bulunur. Demirin emilebilmesi için Fe^{+2} durumunda olması gerekir. Gastrik asit üretimi, plazma demir homeostazında anahtar rol oynar. Proksimal duodenumdaki enterositlerin fırçamsı kenarında bulunan duodenal sitokrom B (DcytbB), ferrik demiri (Fe^{+3}) emilebilir demir (Fe^{+2}) iyonlarına dönüştürür. Ferrik demir, bağırsak lümeninde ferröz demire indirgendiğinde, Divalent metal Transporter 1 (DMT-1) olarak adlandırılan enterositlerin apikal zarındaki bir protein, demiri apikal zardan hücreye taşır. Hipoksi durumunda hipoksi ile indüklenebilir faktör-2 (HIF-2α) tarafından pozitif *feedback* ile DMT-1 ve DcytB seviyeleri düzenlenir (36).

Ferröz demir (Fe^{+2}) duedonumda (hem transporter) ile enterositlere taşınır ve hem oksijenaz ile serbest forma dönüştürülür (37). Enterosit içine alındıktan sonra demir, ferritin olarak enterositte depolanabilir.

Ferritin, vücuttaki demirin depolanmasını sağlayan 24 alt birimden oluşan küresel yapıda bir proteindir. Ferritinin küre yapısının iç kısmında Fe^{+3} formunda ferrihidrit [FeO(OH)]8[FeO(H2PO4)] olarak adlandırılan bir mineralle birleştirilerek depolanır. Ferritin molekülünün monomerleri, ferroksidaz aktivitesine ($Fe^{+3} \leftrightarrow Fe^{+2}$) sahiptir, bu da Fe^{+2} iyonlarının ferrihidritten ayrılmasını mümkün kılar ve daha sonra onun ferroportin yoluyla enterositten bazolteral membrandan transportunu sağlar. Transmembran protein ferroportin, hücresel demirin bazolateral mebrandan dolaşıma çıkmasının tek yoludur ve neredeyse tamamen hepsidin tarafından düzenlenir. Demir fazlalığı, inflamatuar sitokinler ve oksijen radikalleri, hepsidin düzeylerinin artmasına neden olur. Hepsidin, ferroportini bağlayarak demir transportunu inhibe eder bu şekilde hücresel demiri ferritin depolarına yönlendirir ve dolaşıma geçmesini engeller (38). Böylece hepsidin enterositlerin fırçamsı kenarından demirin emilimini azaltarak, gaita ile demirin atılımını sağlar. Plazmadaki seruloplazmin ve enterositin bazolateral membranında bulunan hephaestin isimli iki bakır içeren enzim, plazmada demirin Fe^{+2} formundan Fe^{+3} formuna oksidasyonunu (ferroksidaz ile) ve ardından transferrine bağlanmasını sağlar. Şekil-2.3'te Demirin intestinal emiliminin moleküler şeması gösterilmiştir (39).



Şekil-2.3: Demirin intestinal emiliminin moleküler şeması

Duodenal pH'a bağlı demir emilim süreci, bazı diyet bileşikleri tarafından inhibe edilir veya arttırılır. Bitki bazlı bir bileşik olan fitat doz bağımlı olarak demir emilimini engeller. Polifenoller; siyah ve bitkisel çaylarda, kahve, şarap, baklagiller, tahıllarda bulunur ve demir emilimini engellediği gösterilmiştir. Polifenoller ve fitatlar gibi inhibitörler hem olmayan demrinin (Fe^{+2}) emilimini engeller. Ancak kalsiyum, demirin enterositlere transportu noktasında hem ve hem olmayan demirin alımını inhibe eder. Kazein, peynir altı suyu, yumurta akı gibi hayvansal proteinlerin ve bitkilerden elde edilen proteinlerin (soya proteini) insanlarda demir emilimini engellediği gösterilmiştir. Oksalik asit; ıspanak, pazı, fasulye ve kuru yemişlerde bulunur ve demir emilimini barsaklarda demiri bağlayarak inhibe eder. Diğer yandan C vitamini içeren yiyecekler (brokoli domates, portakal, mandalina, kivi gibi), sitrat içeren içecekler (portakal suyu, limonata gibi) demir emilimini arttırır (40).

Transferrin

Transferrin (Tf), ekstravasküler sıvı ve plazmada (1,8-2,6 g/L) bulunan tek zincirli bir polipeptitt ve transport proteinidir. Plazmada transferrinin yarılanma ömrü 8-11 gündür. Transferrin, ağırlıklı olarak karaciğerde sentezlenir. Sentez demir miktarıyla ters orantılıdır. Her moleküle iki ferrik demir atomu bağlanabilir. Transferrin bir seferde yaklaşık 4 mg, günlük 30 mg'dan fazla demir transportunda görev aldığı için demirin transportunda hayati önem taşımaktadır. Demirin transferin yapısından ayrılması, demirin hücre yüzeyindeki belirli reseptörlere bağlanmasını gerektirir. Transferrin reseptör geni (TFRC), bir transmembran proteini olan TFR1'i kodlar, iki alt üniteden oluşan bu reseptör TFR2 ile benzer şekilde 2 adet transferrine bağlanır (41). Kırmızı kan hücresi prekürsörleri, hem sentezi aşamasında kullanmak üzere demir elde etmek için Tf bağımlıdır. Tf döngüsünde, Tf'ye bağlı demir, TFR1'e bağlanır. Oluşan kompleks reseptör aracılı endositoz yolu ile alınır ve demir, DMT-1 tarafından sitoplazmaya iletilmek üzere Tf'den salınır. Tf, ferrik demir (Fe^{+3}) taşırken, DMT-1 sadece ferröz demir (Fe^{+2}) taşımaktadır. Bu nedenle demir endozomda ferrik formdan ferröz forma indirgenmelidir. Böyle bir aktivitenin fonksiyonel kanıtına rağmen, bu aktiviteyi gerçekleştiren enzim bilinmemektedir (37). Hemakromatozis (HFE) protein, TFR1 ve TFR2 ile bağlanarak; hepsidin sentezinin düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca transferrin reseptörü 2 (TFR2) ve Hemakromatozis (HFE) protein,

Tf doygunluğunun algılanmasında rol oynayar. Bu proteinlerdeki mutasyonlar hepsidin üretiminde azalmaya, demir emiliminde artışa ve ardından aşırı demir yüklenmesi hastalığına (hemokromatozis) yol açar (42).

2.4. Anemiler

2.4.1 Aneminin Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, anemi dünyadaki en ciddi on sağlık sorunundan biridir (43). Anemi, kırmızı kan hücresi kütlesinde veya kan hemoglobin konsantrasyonunda azalma olarak tanımlanabilir.

Hemoglobin için normal aralıklar yaş, ırk ve cinsiyete göre büyük ölçüde değişir. Tablo 2'de yaşa ve cinsiyete göre Hb, HCT ve MCV normalleri veya alt sınırları gösterilmiştir. Hb düzeyinin yaş ve cinsiyet için –2 SD'nın altında olmasıdır (44). Yaşa göre Hb, hematokrit, eritrosit sayısı, MCV, MCH, MCHC, retikülosit yüzdesi değerleri tablo 2.1.'de gösterilmiştir (2).

Tablo 2.1. Yaşa göre kan sayımı parametreleri

	Hemoglobin (g/dl)		Hemotokrit %		Eritrosit sayısı		MCV (fl)		MCH (pg)		MCHC (g/dl)		Retikülosit %	
Yaş	Ortalama değer	-2 SD	Ortalama değer	-2 SD	Ortalama değer	-2 SD	Ortalama değer	-2 SD	Ortalama değer	-2 SD	Ortalama değer	-2 SD	Ortalama değer	-2 SD
Doğum	16,5	13,5	51	42	4,7	3.9	108	98	34	31	33	30	3,2	1,8
1-3 gün	18,5	14,5	56	45	5,3	4,0	108	95	34	31	33	29	3,0	1,5
1 hafta	17,5	13,5	54	42	5,1	3,9	107	88	34	28	33	28	0,5	0,1
2 hafta	16,5	12,5	51	39	4,9	3,6	105	86	34	28	33	29	0,5	0,2
1 ay	14,0	10,0	43	31	4,2	3,0	104	85	34	28	33	29	0,8	0,4
2 ay	11,5	9,0	35	28	3,8	2,7	96	77	30	26	33	29	1,6	0,9
3-6 ay	11,5	9,5	35	29	3,8	3,1	91	74	30	25	33	30	0,7	0,4
0.5-2 yaş	12,0	10,5	36	33	4,5	3,7	78	70	27	23	33	30	1,0	0,2
2-6 yaş	12,5	11,5	37	34	4,6	3,9	81	75	27	24	34	31	1,0	0,2
6-12 yaş	13,5	11,5	40	35	4,6	4,0	86	77	29	25	34	31	1,0	0,2
12-18 yaş														
Kadın	14,0	12,0	41	36	4,6	4,1	90	78	30	25	34	31	1,0	0,2
Erkek	14,5	13,0	43	37	4,9	4,5	88	78	30	25	34	31	1,0	0,2

MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: ortalama eritrosit hemoglobin konsantrsayonu, SD: standart sapma

Çocuklarda aneminin nedenleri de başvurudaki yaşa, cinsiyete, ırka ve etnik kökene göre değişir (45).

Eritropoezin doğumdaki durumu ve doğum sonrası dönemde geçirdiği değişiklikler genel hatlarıyla iyi bilinmektedir. Eritropoez, artan doku oksijenasyonunun ve azalmış eritropoietin üretiminin bir sonucu olarak doğumdan sonra dramatik olarak azalır. Doğumda polisitemi ve makrositoz vardır. Sağlıklı term bebeklerde, Hb seviyeleri doğumda yüksektir. Doğum sonrası dönemde eritrosit sayısında, hemoglobin konsantrasyonunda ve ortalama ertirosit hacmi (MCV)'de kademeli bir azalma olur. Hemoglobin konsantrasyonundaki doğum sonrası düşüşün genellikle üçüncü aya kadar devam ederken eritrosit sayısı en düşük seviye 7. haftada ulaşır. Bu yüzden doğumdan üç aya kadarki çocuklarda aneminin en yaygın nedeni "fizyolojik anemi"dir (46). Altı ile dokuz haftalıkken Hb yaklaşık 11 g/dL'ye ulaşır ve buna "bebeklik çağının fizyolojik anemisi" denir. Bu bebekler asemptomatiktir ve bu süreç, intrauterin hayattan ekstrauterin hayata geçişin normal bir adaptasyonu gibi görünmektedir (47).

Aneminin yaygın semptomları arasında uyuşukluk, taşikardi ve solgunluk bulunur. Bebekler huzursuzluk ve yetersiz oral alım ile başvurabilirler. Bununla birlikte, kronik anemili hastalar kompansatuar mekanizmalar sayesinde, akut anemili hastalarla karşılaştırıldığında çok daha az semptom gösterebilir veya hiç göstermeyebilirler. Hemoglobin düzeyi 7-8 gr/dl'ye kadar gerilemediği sürece hastalarda O_2 taşıma kapasitesindeki düşmeye rağmen hastalarda belirgin semptomatik bulgular ortaya çıkmayabilir (48).

2,3 bifosfogliserat (2,3-BPG), hemoglobinin oksijene afinitesinin güçlü bir modülatörüdür ve bifosfogliserat mutaz enziminin sayesinde 1,3-BPG'den sentezlenir. Anemisi olan hastalarda hücre içi mekanizmalarla artan 2,3-BPG, deoksihemoglobine 3güçlü, ancak oksihemoglobine zayıf bağlananır. Deoksihemoglobine bağlanma, hemoglobinin anstabil yapısını stabilize etmeye ve oksijen afinitesini azaltmaya yardımcı olur. Böylece 2,3-BPG'nin artan seviyeleri oksijen afinitesini azaltır, hemoglobin oksijen disosiasyon eğrisini sağa kaydırır ve dokulara oksijen iletimini arttırır (49).

2.4.2 Anemi Prevelansı

Dünya sağlık örgütünün verilerine göre, 2011 yılında dünyada 6 ila 59 ay arasındaki çocuklarda yaklaşık 273,2 milyon anemi hastası olduğu ve genel prevalansın %42,6 olduğu tahmin edilmektedir. Ancak, dünyanın her bölgesinde eşit oranda görülmez. Sahraaltı Afrika'sında anemik çocuk sayısı yaklaşık 84,5 milyon ve prevalans'ı %62,3tür ayrıca dünyada anemiden en çok etkilenen bölgedir. Sosyokültürel etkenler, hastanın yaşadığı bölge, maternal faktörler gibi değişkenler bu oranı değiştirmektedir. Maternal faktörlerin düzeltilmesi 16,8–30,2 milyon çocukta anemiyi azaltma potansiyeline sahip olacaktır; benzer şekilde, sosyoekonomik faktörlerin iyileştirilmesi 15,1–21,6 milyon çocukta anemiyi önleyebilir. Bu rakamlar bir tahmin olmasına rağmen, aneminin kendisinin önemli bir sosyal ve ekonomik maliyeti vardır (43).

Ülkemizde çocukluk çağındaanemi prevalansı üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Balıkesir ilinde 0-18 yaş arasındaki çocuklarda yapılan bir çalışmada anemi prevalansı erkeklerde %34,2, kızlarda %15,09 (50), Sivas ilinde 1-15 yaş grubu çocuklarda yapılan retrospektif bir araştırmada anemi sıklığı % 5,9, kızlarda %6,8 , erkeklerde %5,3 olduğu bildirilmiştir (51).

2.4.3 Anemilerin Sınıflandırılması

Anemiler MCV'ye göre mikrositer, normositer, makrositer olarak üç grupta incelenebilir. Çocuklarda MCV alt sınırı 70+yaş, üst sınır ise 84+(0,6xyaş) formülü ile belirlenebilmektedir. MCV değeri yaşa göre sınırın altında ise mikrositer anemi, normal aralıkta ise normositer, yaşa göre belirlenen üst sınırın üstünde ise de makrositer anemi olarak isimlendirilir. Anemilerin MCV değerine göre sınıflandırılması Tablo 2' de gösterilmiştir (49).

Tablo 2.2. Anemilerin MCV değerlerine göre sınıflandırılması

	MCV düşük	**MCV normal**	**MCV yüksek**
RDW normal	**Mikrositik**	**Normositik**	**Makrositik**
	Alfa talasemi	Normal	Edinsel kemik iliği yetmezliği sendromları
	Kronik hastalık	Kronik hastalık	Prelösemi
		Kronik karaciğer hastalığı	
		Anemi olmayan hemoglobinopatiler	
		Kemoterapi	
		Kronik miyelositik lösemi	
		Hemoraji	
		Herediter sferositoz	
RDW yüksek	**Mikrositik**	**Normositik**	**Makrositik**
	Demir eksikliği anemisi	Erken evre demir veya folat eksikliği	Folat eksikliği anemisi
	Beta talasemi	Kombine eksiklikler	Vitamin B12 eksikliği anemisi
	Hemoglobin H hastalığı	Hemoglobinopatiler	İmmun hemolitik anemiler
	Eritrosit fregmantasyon sendromu (TTP, HÜS, MAHA)	Miyelofibrozis	Soğuk aglütinin hastalığı
		Sideroblastik anemi	

MCV: ortalama eritrosit hacmi, RDW: eritrosit dağılım hacmi, TTP: trombotik trombositopenik purpura, HÜS: hemolitik üremik sendrom, MAHA: mikroanjiopatik hemolitik anemi

2.5 Demir Eksikliği Anemisi

2.5.1 Tanımı ve Sıklığı

Demir eksikliği çocukluk çağının en sık karşılaşılan nutrisyonel eksikliğidir. Özellikle 5 yaş altında görülmekle birlikte demir eksikliği anemisi prevalansı dünyada %32,9'tür (52). En sık görüldüğü yaş aralığı 6-24 ay arasındaki süt çocukluğu dönemindeki çocuklar, ergenler, doğurganlık çağındaki kadınlar ve gebelerdir. Türkiye'de ise demir eksikliği anemisi prevalansı hastaneye başvurusu olan çocuklarda tek merkezli bir çalışmada %29,6 olarak gösterilmekle birlikte %15,2 ile %62,5 arasında değiştiği bildirilmiştir. 5 yaş altı anemisi olan çocuklarda demir eksikliği anemisi tüm anemilerin %48 ile %75'ini oluşturmaktadır (53-55).

Demir eksikliği ile demir eksikliği anemisi birbiri yerine kullanılan kelimeler olsa da demir eksikliği vücutta demir iyonunun Hb üretimi için yeterli miktarda olmaması iken demir eksikliği anemisi hastanın yaşa göre belirlenen Hb düzeyinin -2SD altında olmasıdır. Bu yüzden her demir eksikliği olan hasta demir eksikliği anemisine sahip değildir (54).

2.5.2 Epidemiyoloji

Türkiye'de demir eksikliği anemisi prevalansı %15,2 ile %62,5 arasında değiştiği bildirilmiştir. 5 yaş altı anemisi olan çocuklarda demir eksikliği anemisi, tüm anemilerin %48 ile %75'ini oluşturmaktadır (53-55). İstanbul'da yapılan bir çalışmada hastaneye başvuran 1-17 yaş arası çocuklarda, etiyolojiden bağımsız olarak anemi sıklığı %29,6 demir eksikliği anemisi ise %26,2 olarak bildirilmiştir (55). Sivas'ta 12-18 yaş aralığında 329 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada demir eksikliği prevalansı tüm grupta %30,7 iken, kızlarda %35,4, erkeklerde %26,1 olarak bulunmuştur. Demir eksikliği anemisi prevalansı ise tüm grup için bakıldığında %5,5, erkeklerde %4,2 iken kızlarda %6,7 olarak bulunmuştur (56). İzmir'de adolesan yaş grubu üzerinde yapılan bir çalışmada demir eksikliği prevalansı %47,2 iken demir eksikliği anemisi prevalansı %11,1'dir (50). İstanbul'da yapılan bir diğer çalışmada ise adolesan sporcu kızlarda demir eksikliği prevalansı %37 demir eksikliği anemisi prevalansı ise %13 olarak

saptanmıştır (58). Gelişmiş ülkelerdeki ortalama demir eksikliği anemisi %2-6 arasında iken gelişmekte olan ülkelerde %36 seviyesindedir (55).

2.5.3 Etiyoloji

Prematur ve düşük doğum ağırlığı olan hastalarda depo demir yetersiz olması nedeniyle demir eksikliği anemisi gözlenmektedir. Yenidoğan döneminde doğum salonundaki kord klemplenme süresinin kısa olması demir eksikliği prevelansını arttıran durumlardandır (60). Doğumdan sonraki 6 ayda HbF yıkımına bağlı ortaya çıkan demirin bebeği demir eksikliği anemisinden koruduğu düşünülse de sonrasında anne sütündeki demir miktarı 5 aylık dönemde 0,3 mg/l miktarına iner (14). Laktasyondaki demir miktarındaki bu azalma süt çocukluğu dönemindeki demir eksikliği anemisinin en önemli nedenidir. Anne sütündeki demir miktarının annenin diyetiyle ilişkisiz olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (61, 62). Anne sütündeki demir, miktar olarak az olsa da emilim yönünden oldukça iyidir (%50). Ancak bu durum hızla boy ve kilosu artan süt çocukluğu dönemindeki çocuklar için yeterli olmamaktadır.

İlk 6 ayda anne sütüne ek olarak ek gıda verilmesinin anne sütündeki demirin emilimini engellediği bilinmektedir. Dünya sağlık örgütünün beslenme önerilerine göre 6-23 aylık süt çocuklarının toplam demir ihtiyacının %98'ni ek gıdadan aldığı ön görülmekte bu yüzden de çocukların aldıkları ek gıdaların demir, fosfor, çinko, magnezyum, B6 vitamini ve kalsiyum açısından zengin olması gerektiği bildirilmektedir (63). Demirden zengin yiyecekler (et, balık, yumurta gibi) ve demir emilimini arttıran C vitamininden zengin yiyecekler açısından zengin bir ek gıda diyeti uygulanmalıdır. Süt çocukluğu dönemindeki nutrisyonel demir eksikliğinin bir diğer nedeni de inek sütü ağırlıklı beslenmedir. İnek sütü, anne sütüne göre fazla miktarda demir ihtiva etmesine rağmen (1.5mg/litre) emilim oranı daha azdır (%10). İnek sütünün içeriğinde bulunan kalsiyum ve kazeinofosfolipitler barsaklarda emilim sırasında demir ile bağlanarak demirin emilimini engellemektedir. İnek sütünde yoğun miktarda bulunan ısıya dayanıksız proteinler de inek sütü protein alerjisi olan bebeklerde mukozadan kan kaybına neden olarak demir eksikliği meydana getirebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı inek sütü kullanan süt çocuklarında daha

sıklıkla demir eksikliği gelişmektedir (64). Süt çocukluğu ve ergenlikte artan büyüme ile paralel olarak demir gereksinimi de artar. Alınan her bir kilograma karşılık olarak demir ihtiyacı 35-45 mg artar (65). Hamilelik ve laktasyon dönemindeki kadınlarda da aynı şekilde artmış demir ihtiyacı mevcuttur. Kan kaybı demir eksikliği nedenlerinden bir diğeridir. Yenidoğanda; prenatal dönemde (ikizden ikize transfüzyon veya fetormaternal kanama gibi), natal dönemde (plasenta previa, ablasyo plasenta gibi) ve postnatal dönemde (gastrointestinal sistemden kan kaybı, göbek kordonunun erken klemplenmesi gibi). Demir eksikliği anemisi tanılı hastalarda barsak mukozasında kısa dönemde fonksiyonel bozukluklar (sitokrom oksidaz, disakkaridaz enzim aktivitesinde azalma), sonrasında ise barsak mukozasında permeabilite artışına bağlı olarak barsak mukozasında oluşan eksüdatif enteropati nedeniyle gaita gizli kana sıklıkla rastlanabilir. Sağlıklı çocuklarda gaitada gizli kan pozitifliği %7 iken demir eksikliği anemisi olan çocuklarda bu oran %50'lere çıkabilemektedir (43, 66). Daha büyük çocuklarda inflamatuar barsak hastalıkları, hiatus hernisi, özofagus varisi, meckel divertikülü, hemaniom, telenjektazi, polip gibi lezyonlara bağlı olarak kan kaybı meydana getirebilmektedir. Kancalı kurt enfeksiyonu başta olmak üzere paraziter enfeksyonlar da özellikle gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda kan kaybının önde gelen nedenlerindendir (67).

Çölyak hastalığı, intestinal volvulus, gastrektomi ve post-op invajinasyon hastalarında malabsorbsiyona bağlı olarak demir eksikliği sıklıkla karşılaşılan bir problemdir (68). Helicobacter pilori enfeksiyonu, hastalarda atrofik gastrit veya otoimmünite oluşturarak demir tedavisine dirençli demir eksikliği anemisi meydana getirir. Ayrıca bu enfeksiyonun tedavisinde kullanılan proton pompa inhibitörleri, H_2 reseptör blokörleri, anti asitler gibi ilaçlar da demir emilimini engelleyerek demir eksikliği oluşmasına katkı sağlar.

2.5.4 Klinik Bulgular

Demir eksikliği anemisi, demir eksikliğinin son aşamasıdır. Hastalar, normal demir durumundan demir eksikliğine, ardından demir sınırlı eritropoez ve son olarak DEA tablosuna doğru kademeli olarak ilerler. Demir eksikliği olan hastalarda, demir depoları azalmıştır, ancak daha fazla demir kaybı meydana gelmedikçe, normal

hemoglobin sentezi için yetecek kadar demir havuzunda demir vardır. Demir eksikliği anemisi demir eksikliğinin son aşamasında gelişir. Tersine, demir takviyesi başlatıldığında, ilk iyileşen anemidir ve demir depolarının normalleşmesi ise iyileşme sürecindeki son aşamadır.

Demir eksikliği anemisinin en yaygın klinik bulgusu, hafif ila orta derecede mikrositik, hipokromik anemidir. Demir eksikliği olan çocuklar tamamen asemptomatiktir ve normal büyüme, gelişme eğrilerini takip ederler. DEA'nin klasik semptomları olan halsizlik, solgunluk, irritabilite, kardiyomegali, yetersiz beslenme ve takipne, eğer anemi şiddetli değil ise oldukça az sıklıkta görülür. Çoğunlukla semptomlar hafif seyirlidir ve halsizlik, aktivite azlığı ve solgunluk gibi semptomlar aileler tarafından farkedilmeyebilir.

Gastrointestinal sistem: Pika, gıda dışı maddeler için duyulan yoğun istek olarak tanımlanabilir. Kil, toprak, nişasta, tebeşir, sabun, kağıt, karton veya çiğ pirinç dahil olmak üzere çeşitli pika biçimleri demir eksikliği ile ilişkilendirilmiştir (69). Buza spesifik pika, diğer ismiyle pagofajinin demir eksikliği anemisi ile ciddi şekilde ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. (70). Ancak pika, DEA için spesifik değildir. Otizm ve zihinsel engelli dahil olmak üzere gelişimsel engelleri olan ve gelişimlerini etkileyen beyin hasarı olan 2-3 yaşındaki çocuklarda DEA olmasa da pika olduğu gösterilmiştir (71).

Deri ve mukoza: Ağır DEA tanılı hastalarda anguler stomatit, atrofik glossit ve keliyosis, kronik DEA tanılı hastalarda mavi sklera, kaşık tırnak, dil papillasında atrofi gibi semptomlar görülebilir (72).

Santral sinir sistemi: DEA tanılı küçük yaştaki çocukların görsel, işitsel ve bilişsel gelişmeleri yaşıtlarına göre daha yavaş olmaktadır (73, 74). Kanada'da 12-40 ay arası çocuklarda yapılan bir çalışmada demir eksikliği anemisi olmasa da serrum ferritin düzeyi ile nörobilişsel gelişim (matematik işlemleri, öğrenme gibi) arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (75). Bangladeş'te 3000 süt çocuğu üzerinde yapılan bir çalışmada, 3 ay demir profilaksisinin süt çocukluğu dönemindeki çocuklarda DEA sıklığını önemli ölçüde azaltsa da uzun dönem nörogelişim üzerine ciddi bir etkisi gösterilememiştir (76). Ancak başka çalışmalarda bu çalışmanın aksine çocuklarda

huzursuz bacak, katılma nöbetleri, periodik bacak hareketlerinin demir tedavisi ile düzelebildiği gösterilmiştir (77, 78).

Kas-iskelet sistemi: Anemi sonucunda azalmış doku oksijenizasyonu nedeniyle kas güçsüzlüğü görülür.

Kardiyovasküler sistem: Azalmış doku oksijenizasyonunu kompasa etmek için kardiak outputta artış ve taşikardi gözlenir. Artmış kardiyak kontraktilite uzun dönemde kardiyak hipertrofi ve kardiomegali gelişmesine neden olur. Hastanın muayenesinde sistolik üfürüm duyulabilir (79, 80).

İmmün sistem: Demir eksikliğinin IL-2 ve IL-6 üretiminde azalma başta olmak üzere, azalmış miyeloperoksidaz aktivitesi, bozulmuş bakterisidal aktivite, bozulmuş doğal öldürücü hücre hücre aktivitesi, makrofaj göçünü inhibe edici faktörde azalma, azalmış proliferasyon nedeniyle üretilen defektif lenfositler, tüberkülin deri testi de dahil olarak ciltte artmış bir hipersensitivite gibi immün sistem etkileri mevcuttur (81). Öte yandan, demir takviyesi enfeksiyonu olan hastalarda prognozunu olumsuz etkileyebilir. Özellikle, trasnferrin ve laktoferrin gibi demir bağlayıcı proteinler, demir ile doyurulduklarında bakteriyostatik etkileri kabolduğundan demir takviyesi bakteriyel enfeksiyon riskini artırabilir (82).

Gözler: Demir eksikliği anemili hastalarda mavi sklera ve konjuktivlarda solukluk gözükebilmektedir. Ancak mavi sklera DEA'ya spesifik değildir, osteogenesis imperfekta gibi hastalıklarda da gözlenebilmektedir (84).

2.5.5 Laboratuvar Bulguları

Hemogram: Hastaların Hb ve MCV değeri yaş, ırk ve cinsiyet için –2 SD'nin altındadır (43). RDW değeri yüksektir ancak RDW, eritrositlerin anizositoz derecesini (boyut farkı) ölçer ve yüksekliği DEA için ne duyarlı ne de spesifiktir.

Periferik yayma: Demir eksikliği anemisi tanılı hastaların periferik yaymasında hipokrom, mikrositer eritrositler, eritrositler arasında şekil ve büyüklük farkı (anizositoz, poikilositoz) dikkati çeker (85).

Ferritin: Anemik bir bireyde yetişkinlerde 15 µg/l'nin altındaki değerler demir eksikliği anemisini tanısı koydururken 5 yaş üstü çocuklar için alt sınır 15 µg/l, 5 ya altı çocuklar için ise 12 µg/l idi (86). Benzer şekilde, 100-150µg/l'nin üzerindeki yüksek bir serum ferritin değeri, anemi nedeni olarak DEA'yı dışlamak için yararlıdır. Ne yazık ki, 15 ile 100 µg/l arasındaki değerler ise, DEA'yı mutlak olarak dışlamaz, çünkü birçok neden, demir depolarıyla ilintisi olmaksızın serum ferritin düzeyini yükseltir. Bu nedenle demir eksikliği olan kişilerde yalancı normal değerler gözlenebilir. Akut faz reaktanı olarak serum ferritini, akut ve kronik enfeksiyonlar, inflamatuar hastalıklar, maligniteler ve karaciğer bozuklukları ile yükselir (87). Ferritin düzeyleri karacğier hastalıkları ve enflamasyon sırasında yüksek bulunurken, transferrin düzeyini bu etkenler değiştirmez bu yüzden demir eksikliğinin en önemli parametrelerinden biridir (88).

Transferrin: Transferrin, ekstravasküler sıvı ve plazmada (1,8-2,6 g/L) bulunan tek zincirli bir polipeptitdir ve transport proteinidir. Plazmada transferrinin yarılanma ömrü 8-11 gündür. Transferinin demir emilimindeki rolü daha önce 'demir emilimi' bölümünde bahsedilmiştir. Serum transferrin reseptörü demir eksikliğinde kullanılan bir diğer parametredir. Serum solübl transferrin reseptörünün normal değeri 5-9 µg/L iken demir eksikliği olan hastalarda yükselmesi beklenir. Ferritinden farklı olarak inflamasyon sırasında serum solübl trasnferrin reseptörü değeri etkilenmemektedir. Transfferin satürüasyonu demir eksikliği anemisi olanlarda %16'nın altında olması beklenir (81).

Solübl transferrin reseptörü (sTfR): Solübl transferrin reseptörü diğer adıyla serum transferrin reseptörü, eritroid öncü hücrelerin membranında bulunan transferrin proteinin seruma serbestleşmesiyle, dolaşımda bulunan formudur. Demir eksikliği olan hastalarda eritroid öncü hücrelerinin membranındaki transfferin proteini bağlanamaması sonucunda dolaşıma serbestleşen transferrin miktarı da artmaktadır. İnflamasyon veya kronik hastalık anemilerinden ise miktarı normal ya da azalmıştır (89). Bu yönüyle kronik hastalık anemisi ile demir eksikliği anemisi ayırıcı tanısında önemli bir yer almaktadır. Normal değeri 5-9 µg/L olarak literatürde belirtilse de labaratuarlar arasındaki değişkenler yüzünden tam bir uluslararası standardizasyonu yoktur (90).

sTfR indeksi: sTfR konsantrasyonu / Ferritin konsantrasyonu formülü ile hesaplanmaktadır. Bu indeks demir eksikliği anemisi ve kronik hastalık anemisi ayırıc tanısında daha çok kullanılmaktadır. sTfR indeksi <1 ise kronik/akut hastalık anemisi veya inflamasyon anemisi lehine, sTfR indeksi >2 ise demir eksikliği anemisi lehine olduğunu düşündürtmektedir (91).

2.5.6 Demir Eksikliği ve Hiperkoagülobilite İlişkisi

Demir eksikliği anemisinin birçok kardiyovasküler hastalığın gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (1-4). Çocuklarda yapılan bir çalışmada da altta yatan sağlık sorunu olmayan ve inme geçiren çocukların yarısından fazlasında DEA olduğu ve sağlıklı küçük çocuklarda demir eksikliğinin strok için önemli bir risk faktörü olduğu ortaya konmuştur (7, 92). Erişkinlerde yapılan bir çalışmada demir eksikliğinin venöz tromboembolizm riskini dört kat artırdığı gösterilmiştir (93). Amerikada yapılan bir başka çalışmada altta yatan predispozan faktör olmaksızın 9-27 ay arasında 3 çocuğun demir eksikliği anemisine sekonder venöz trombüs olduğu gösterilmiştir (94). Hartfield ve ark. tarafından viral prodrom dönemi sonrasında 6-18 ay arasındaki 6 DEA tanılı çocukta diğer predispozan faktörler olmaksızın iskemik inme ve venöz trombüs olduğunu gösteren bir vaka serisi tanımlanmıştır (95). Vaka serilerinin genellikle süt çocukluğu döneminde olmasının nedeninin inek sütüne bağlı demir eksikliği anemisinin bu dönemde sık olmasına bağlanmıştır (96).

Demir eksikliği anemisi ile venöz tromboemboli arasındaki ilişki tam olarak açıklanamamıştır. En çok üzerinde durulan olası neden sekonder trombositozdur (8, 95, 97). Yüksek trombosit sayısı ile ilişkili olarak artmış trombotik riske ek olarak, oksidan dengede meydan gelen değişiklikler (antioksidan defansın azalması, oksidatif stresin artması) trombositlerde agregasyon eğilimini arttırmaktadır (9). Bunlara ek olarak, eritrosit morfolojisindeki değişiklikler, hipoksi nedeni ile artmış kan akımı ve endotel hasarı gibi nedenler de tromboz oluşumuna katkısı olduğu düşünülen diğer faktörlerdir. Özdemir ve ark. (11)'ın DEA sı olan çocuklarda tromboelastogram testi ile hiperkoagülobiliteye yatkınlığın geliştiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, tromboelastgram testi parametrelerinden hiperkoagülobilitenin göstergesi olan pıhtı oluşum zamanı (CFT) indeksinin DEA'sı olan çocuklarda kontrol grubuna göre kısa

olduğunu, maksimum pıhtı sertliği (MCF) indeksinin ise yüksek olduğunu, ayrıca trombosit sayısı ile MCF arasında pozititf, CFT ile negatif korelasyon olduğunu bulmuşlar ve DEA'da pıhtılaşma eğiliminin oluşmasında trombosit sayısının önemli bir parametre olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada Hb, MCV, MCH gibi eritrosit paramtreleri MCF arasında negatif, CFT ile arasında pozitif korelasyon olduğunu bulmuşlar ve trombosti sayı ve değişmiş platelet aktivasyonunun yanı sıra aneminin şiddeti ve eritrosit hacmi ile hiperkoagülobilite arasındaki bir bağlantı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Mikro RNA'lar Bir dizi mRNA'nın stabilitesini veya translasyonunu düzenleyen küçük, kodlamayan bir RNA'dır. Tek başlarına protein sentezine neden olmazlar gen ifade düzenlenmesinde görevlidirler. MiR-223, miR-146a, miR-495 ve miR-107 trombositlerde yüksek oranda eksprese edilir ve bu mikroRNA'lar trombosit aktivasyonunda, trombosit şekil değişikliğinde ve sirkadiyen trombosit reaktivitesinde yer alan genleri düzenler. Bir çalışmada miR-223 ile trombosit aktivasyonunun bir göstergesi olan P-selektin arasında negatif bir ilişki bulmuştur. Bir başka çalışmada da yabani tip farelerle kıyasla, miR-223 eksikliği olan farelerin daha büyük trombüslere, gecikmiş pıhtı retraksiyonuna ve artan agregasyona sahip olduğu gösterilmiştir (94, 99). Özdemir ve ark. (100)'ın yaptığı bir çalışmada demir eksikliği anemisi olan hastalarda MCF değerinde ve miR-223 düzeyleri arasında negatif korelasyon saptanmış olup, daha önce DEA tanılı hastalarda trombolesastogram testi ile gösterdikleri hiperkoagülabiliteye eğilimin nedeni olarak miR-223'ün olabileceği öne sürülmüştür.

Tang ve ark. (101)'ın demir eksikliği olan hasta grubunda yapılan çalışmalarda, artan transferrin düzeyinin transferrin/faktör XIIa/trombin kompleksi oluşturarak tromboembolik olaylar için risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Jimenez ve ark. (102)'ın yaptığı bir çalışmada arterial trombüs için %10 ferrik klorür emdirilmiş filtre kağıdı sağ karotis artere 5 dk yerletirilip geri çıkarıldığında veya venöz trombüs için inferior vena kava süture edilip kan akışı engelledikten sonra süturları geri alındığında kontrol grubuna göre DEA'sı olan ratlarda daha fazla trombositoz ve geniş yayılımlı trombüs geliştiği, demir tedavisi aldıktan sonra ise hem trombositozun hem de artmış tromboemboli riskinin normale döndüğü gösterilmiştir. Ancak DAE'sı olan ratlarda

tromboz eğiliminin patogenezi net olarak ortaya konulamamıştır. DEA tanılı 34.511 hastanın alındığı retrospektif bir çalışmada trombositoz oranının %32,6 ve tromboz oranının %15,8 olduğu, DEA'sı olup trombositozu olmayanlarda tromboz oranının %7,8 olduğu gözlenmiş ve trombositozun eşlik ettiği DEA'lı hastalarda tromboza eğilimin 2 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (103).

2.6. Trombin Jenerasyon Testi (TGA)

Trombin, pıhtılaşma ve antikoagülan sistemin tam merkezindeki proteindir. Bu nedenle trombin düzeyindeki artış hiperkoagülabiliteye azalma ise hipokoagülabilite neden olur. Trombin, tripsin benzeri bir serin proteazdır ve protrombinden meydana gelir. Protrombin, 72 KD ağırlığında karaciğerde sentezlenen bir glikopeptiddir. Protrombinden trombin dönüşümü, doku faktörü (FIII) ve aFVII'nin etkileşimiyle başlayan karmaşık bir dizi enzimatik reaksiyonun sonucudur. İlk başta, protrombinaz kompleksinin (FXa+FVa) aktivasyonu yoluyla, az miktarda trombin üretilir, ancak bu fibrinojenin fibrine dönüşümü için yetersizdir. FV, FVIII ve FXI'nin aktivasyonu yoluyla trombin oluşumu üzerinde pozitif bir geri bildirim ile trombin patlaması meydana gelir. Bu iki aşama, trombin oluşumunun başlama ve amplifikasyon aşaması olarak bilinir. Trombin sadece pozitif geri-bildirim yoluyla kendi oluşumunu hızlandırmakla kalmaz, aynı zamanda trombomodulin ile etkileşerek protein C'nin aktivasyonu (sırayla aFV ve aFVIII'i inhibe ederek) yoluyla kendi üretimini engeller (103). Sonuç olarak trombinin hem prokoagülan hem de antikoagülan sistemle karmaşık etkileşimleri mevcuttur.

Trombin jenerasyon testi, Macfarlane ve Biggs'in (104) öncü çalışmasından başlayarak 1950'lerin başından beri kullanılan bir testtir. İlk çalışmalarda TGA'nın hemofili B hastalarında tedavinin etkinliğini takip etmede kullanımı araştırılmış, ancak ilk geliştirilen yöntemde sürekli alt örneklem alınmak zorunda kalınması ve işlemin uzun sürmesi nedeni ile test metodolojisinde değişikliğe gidilmiştir. Hemker ve Beguin (4) ise kromojenik substrat ile çalışarak TGA testinin çalışma süresini önemli ölçüde kısaltılmış ancak bu metod da tüm trombin potansiyelini yansıtmakta yetersiz kalmıştır. Yıllar içerisinde kromojenik substratlar, floroskopik ajan (Z-Gly-Gly-Arg) ile değiştirilmiş ve bir floroskop eşliğinde otomatik olarak bu sinyali

okuyacak sistemler geliştirilmiştir. Şu an kullanımda olan iki otomatik floroskopik (kalibre otomatize trombografi; CAT ve Technotrombin) ve bir tane de kromojenik sistem bulunmaktadır. CAT sisteminde oluşan trombin α2-makroglobulin ile karşılaştırılırken, Technotrombinde yazılım tarafından hesaplanan bir sabit ile karşılatırılır. Bu nedenle CAT tekniğinde sonuçlarda varyasyon ihtimalinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (105). TGA, geleneksel pıhtılaşma testlerinden farklı olarak, hemostazın genel olarak değerlendirilmesini sağlar. PT, aPTT gibi tipik koagülometrik ölçümler, yalnızca koagülasyon işleminin başlangıç aşamasına karşılık gelen pıhtılaşma süresini ölçer. Ayrıca, bu testlerin ölçüm süreci trombinin sadece %5'inin oluşmasından sonra tamamlanır. Geleneksel testler, pıhtı oluşumu ve maksimum trombin üretimini göstermekte yeterli değildir, sadece pıhtılaşmanın başlangıcı hakkında bilgi verir. Dolayısıyla, konvansiyonel testler hemostatik sistemin amplifikasyon ve propagasyon aşamaları hakkında bilgi sağlamaz (106). TGA, amplifikasyon ve propagasyon aşamaları hakkında da bilgi verdiği için diğer testlere göre avantajlıdır. Henüz standardize olmaması, geniş inter- ve intra-laboratuvar değişkenliği majör kısıtlılığıdır (107). Labaratuvar değişkenlikleri olsa da erişkin hastalar için TGA testinin normal aralıkları belirlenmiştir. Ancak şu ana kadar literatürde çocuk hasta grubunda TGA testi parametreleri için normal aralık değerleri henüz bulunmamaktadır. Ayrıca acil durumlarda çalışmak için test süresinin uzun olması diğer bir dezavantajıdır (108). Test tüpüne plazmanın temasından dolayı FXII aktivasyonu olabileceği ve bunun da TGA testi parametrelerini etkileyebileceği öne sürülmüş olsa da henüz kesinlik kazanmamıştır (109). TGA testini tetiklemek için kullanılan doku faktörünün miktarı da test sonuçlarını etkilemektedir. FXI'in etkisini göstermek için plateletten fakir plazma örneğine (PPP) <1 pmol/l doku faktörü eklenmesi gerekirken, 5 pmol/l'ye kadar eklenen doku faktörleri FVIII ve FIX'un aktivitesini göstermede yeterlidir (110). Düşük doku faktörü konsantrasyonları, protein S'nin doku faktör yol inhibitörü (TFPI) üzerindeki protein C'den bağımsız etkisini göstermek için de gereklidir (111).

Trombin jenerasyon testinde damar duvarı hasarını (ör. doku faktörü) taklit etmek için bazı tetikleyiciler kullanır. PPP'de prokoagülan fosfolipidler, doku faktörünün etkilerini arttırır (5). Plateletten zengin plazma (PRP) kullanıldığında trombositler, çoğaltıcı yüzey olarak fosfolipidlerin rolünü üstlenirler. Böylece

trombosit aktivasyonu ve koagülasyon faktörleri arasındaki etkileşim yansıtılmış olur (4). Daha sonra ortama trombini parçalayan floresan substrat eklenir ve açığa çıkan floroforun yoğunluğunun derecesi trombin kalibratörü aracılığıyla eşdeğer trombin konsantrasyonuna dönüştürülerek trombin aktivitesi ölçülür. TGA testi sırasında elde edilen trombogram eğrisi monitöre aktarılır (Şekil 3.1).

Plateletten fakir plazmada yapılan çalışmalar, trombositler hariç koagülasyon kaskadındaki faktörlerin pıhtılaşmadaki önemini göstermektedir. Ancak yapılan bazı çalışmalarda TGA testinin tüm plazma koagülasyonunu tam anlamıyla yasıtmadığı, henüz keşfedilmemiş faktörlerin de olabileceğini göstermiştir. PRP ile yapılan TGA çalışmaları ise, trombosit sayısındaki azalmanın hipokoagülabilite lehinde (pik değere ulaşma zamanında uzama, lag timeda uzama, pik trombin değerinde azalma) değişiklikler yaptığı gösterilmiştir (111).

2.6.1 Trombin jenerasyon testinin kullanım alanları

Trombin jenerasyon testinde bugüne kadar hemofili hastalarında kanama takibinde, hemofilili hastaların cerrahi operasyonu sırasında, FVIII inhibitörü olan hastalarda inhibitör by pass tedavisi sonrasında tedavi etkinliğini gözlemlemek için, FVII eksikliği alan hastalarda rekombinant FVIIa kullanımı sonrasında kanama eğilimi düzeyini ölçmek için, Bernard Soulier ve Glanzman sendromlu hastalarda cerrahi monitörizasyonda kullanılmıştır. Ek olarak warfarin, heparin, anti faktör Xa inhibitörü (fondaparinux, rivoroxaban) thrombin inhibitörü (lepirudin, bivalirudin), aspirin, clopidogrel ve glikoprotein (GP) IIb/IIIa antagonisti (abciximab) gibi antikoagülanların klinik izleminde, ayrıca arteriyel ve venöz trombüslerin oluşum ve tekrarlama riskini göstermede kullanılmıştır. Birçok nadir faktör eksikliğinin (FII, FV, FVII, FX, FXI gibi) ciddi kanama ihtimalini öngörmede kullanılabileceği gösterilmiştir (112-115). Protein C ve S eksikliği olan hastalarda tanı amacıyla kullanılabildiği ortaya konulmuştur (116). Diyabet, non-alkolik yağlı karaciğer hastalıkları, miyeloproliferatif neoplazmalar, inflamatuar barsak hastalıkları gibi klinik durumlarda TGA testi hiperkoagülabitiyi gösteren önemli bir biyobelirteçtir. (117, 118). Kardiyopulmoner baypas (KPB) sonrası koagülopati, aşırı kan kaybı ve olumsuz hasta sonuçları ile ilişkilidir. Bozulmuş trombin üretimi KPB sonrası

koagülopatinin önemli bir nedenidir ve bu durumu düzeltmek için hastalara plazma, protrombin kompleks konsantresi, rekombinant FVIIa gibi tedaviler uygulanmaktadır. Bu tedavilerin etkinliğinin göstermek için TGA testi KPB sonrası hastalarda kullanılmaya başlanmıştır (119). Antifosfolipid sendrom gibi otoimmün hastalıklarda hiperkoagülabilite gelişimini göstermede kullanılmıştır (120). Klinefelter sendromlu hastalar hem PPP'de hem de PRP'de artan trombin üretiminin de neden olduğu ve en azından kısmen artan FVIII seviyeleri ile açıklanan bir prokoagülan dengesizliği sergiler (121). Quebec trombosit sendromu, otozomal dominant kalıtılan ve alfa granüllerinin bozulmuş degradasyonu sonucunda özellikle cerrahi veya travma sonrası orta-ağır düzeyde geç kanama şeklinde kendini gösteren bir tablodur. Quebec trombosit sendromu olan hastalarda hipokoagülabiliteyi ve traneksamik asit tedavisi sonrası kısmi düzelmeyi göstermede kullanılmıştır (122). Von-Willebrand faktör eksikliği olan 53 hastada trombin oluşumunu değerlendirilen bir çalışmada hem PPP hem de PRP'de trombin oluşumunun azaldığı ve geciktiği ayrıca kanama skorlaması ile TGA parametreleri arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (123). Derin ven trombozu olan 417 hastanın 47 ay boyunca nüks açısından takip edildiği bir çalışmada 4 yılda nüks riskinin pik trombin düzeyi 400 nmol/l'nin altında olanlarda %6,5 ve pik trombin düzeyi 400 nmol/l'nin üstünde olanlarda %20 saptanmıştır. Bu çalışma, derin ven trombozu olan hastaların nüks izleminde TGA testinin güvenilir bir parametre olduğunu göstermektedir (124).

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Araştırmanın Türü ve Amacı

Çalışmamız; faz IV, prospektif ve analitik bir çalışmadır. Çalışmada, DEA tanısı konulan çocuk hastalarda tanı anında ve tedaviden sonra birinci ayda trombositten fakir plazmada trombin aktivitesi ölçülmüş ve sağlıklı çocukların değerleri ile karşılaştırılmıştır. Çalışmanın birincil amacı, DEA'da hiperkoagülobilitenin nedeni olarak gösterilen trombositlerin etkisini dışlayarak trombin üretimindeki değişikliklerin ortaya konması; ikincil amacı ise bu değişikliklerin tedavi ile nasıl değiştiğinin ortaya konulmasıdır.

3.2. Etik Kurul Onayı

Çalışma için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17/06/2021 tarihli 35 no'lu karar ile onay alındı.

3.3. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) Onayı

Çalışma için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 01.09.2021 Tarihli 21-AKD-51 sayılı karar ile onay alındı.

3.4. Arşatırma Bütçesi

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu onayı (Proje No: TTU-2021-2215) ile bütçe oluşturuldu.

3.5. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu çalışmaya 01.07.2021-01.01.2022 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji polikliniğine başvuran hastalar dahil edilmiştir.

3.6 Hastaların Çalışmaya Alınması ve verilerin Toplanması

Çalışmaya 01.07.2021-01.01.2022 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji polikliniğine başvuran 2-18 yaş arası 82 hasta ve 60 sağlıklı çocuk alındı. Tüm hasta ve kontrol gruubundan ebeveynlerinden onam formu alındı. Üç yaşın üstündeki hastaların kendisinden de onam alındı. Hb ve MCV'nin o yaş grubu ve cinsiyet için verilen -2 SD'nin altında olması anemi olarak kabul edildi (132). Nutrisyonel demir eksikliği olduğu düşünülen hastalar çalışmaya alındı. İshal ve tekrarlayan kanama öyküsü olan hastalar çalışmaya alınmadı. Ferritin düzeyinin 5 yaş altında 12 µg/ml'nin altında olması, 5 yaş üzerinde 15 µg/ml'nin altında olması ve transferrin satürasyonunun <%15 olması demir eksikliği olarak kabul edildi (38).

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

- 2-18 yaş arasında olması
- DEA nedeniyle tedavi almamış olması
- Kan transfüzyonu yapılmamış olması
- Eşlik eden enfeksiyon veya enflamatuar hastalığın olmaması
- Kronik hastalığının (kalp, karaciğer, böbrek, bağırsak, immün yetmezlik sendromları, kronik renal yetmezlik …) olmaması
- İlaç kullanımı (non steroid antiinflamatuar, asetil salisilik asit, ibuprofen, dahil) olmaması
- Talasemi taşıyıcılığının olmaması
- Vitamin B12 eksikliği olmaması

Çalışmadan çıkarılma kriterleri

- 2 yaş altında olması
- DEA nedeniyle tedavi almış olması
- Kan transfüzyonu almış olması
- Eşlik eden enfeksiyon veya enflamatuar hastalığın olması

- Kronik hastalığının (kalp, karaciğer, böbrek, bağırsak, immun yetmezlik sendromları, kronik renal yetmezlik …) olması
- İlaç kullanımı (non steroid antiinflamatuar, asetil salisilik asit, ibuprofen, dahil) olması
- Talasemi taşıyıcılığının olması
- Vitamin B12 vitamin eksikliği olması

Ek olarak çalışma esnasında pandemiden dolayı testleri tamamlayamayan hastalar da çalışma dışı bırakıldı. Hasta grubundaki 82 çocuktan 10 tanesi çalışmaya dahile dilme kriterlerini karşılamadığından çalışmadan çıkarıldı.

Kontrol grubu olarak, sağlıklı olduğu bilinen, kronik hastalığı olmayan, ilaç kullanmayan ve talasemi taşıyıcılığı olmayan, kontrol amaçlı polikliniğmize getirilen çocuklardan oluşturuldu. Kontrol grubuna toplamda 60 çocuk dahil edildi. Tüm katılımcıların yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı, beslenme özellikleri, başvuru şikayetleri kayıt edildi.

3.7. Örneklerin toplanması

Hasta grubundan tanı anında ve oral demir tedavisinden 4 hafta sonra, kontrol grubundan bir defa olmak üzere 8 saatlik açlık sonrası kan örnekleri toplandı. Tüm katılımcılardan venöz yol ile hemogram, serum demir paramtreleri (serum demir, toplam demir bağlama kapasitesi, transferin satürasyonu, ferritin), primer hemostaz testleri (PT, aPTT, fibrinojen), TGA için kan örnekleri toplandı. Kan örnekleri hemogram için etilen diamin tetraasetik asit içeren (EDTA) tüplere, demir parametreleri için jelli biyokimya tüplerine, primer hemostaz testleri için sitratlı tüplere, TGA testi için sitratlı tüplere toplandı. Hemogram, serum demir parametreleri, primer hemostaz testleri aynı gün için taze olarak hastanemiz biyokimya laboratuvarında çalışıldı. TGA için alınan kan örnekleri 6 saaten kısa süre içerisinde hastanemiz hematoloji laboratuvarına transfer edildi. Deneyimli bir teknisyen tarafından 10.000 x g 10 dk süre ile santirfüj edildi. Böylece PPP elde edildi. Örneklerin plasma kısmı eppendorf tüpüne alınarak -80 °C'de saklandı.

3.7.1 Laboratuvar analizleri

Tüm kan örnekleri 8 saatlik açlık sonrası toplandı. Tam kan sayımı taze olarak otomatik kan sayımı analizöründe (Beckman Coulter LH750, Kraemer Blud. Brea, CA, US) çalışıldı. Biyokimyasal analiz için düz tüpe alınan kan örnekleri 1.500 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı ve aynı gün içerisinde çalışıldı. Serum demir düzeyi fotometrik metot ile (Cobas c502, Roche Diagnostics, Germany), ferritin düzeyi elektrokemilüminesan metot ile (Cobas E-602, Roche Diagnostics, Germany) analiz edildi. Transferrin satürasyonu, serum demiri×100/total demir bağlama kapasitesi formülü ile hesaplandı.

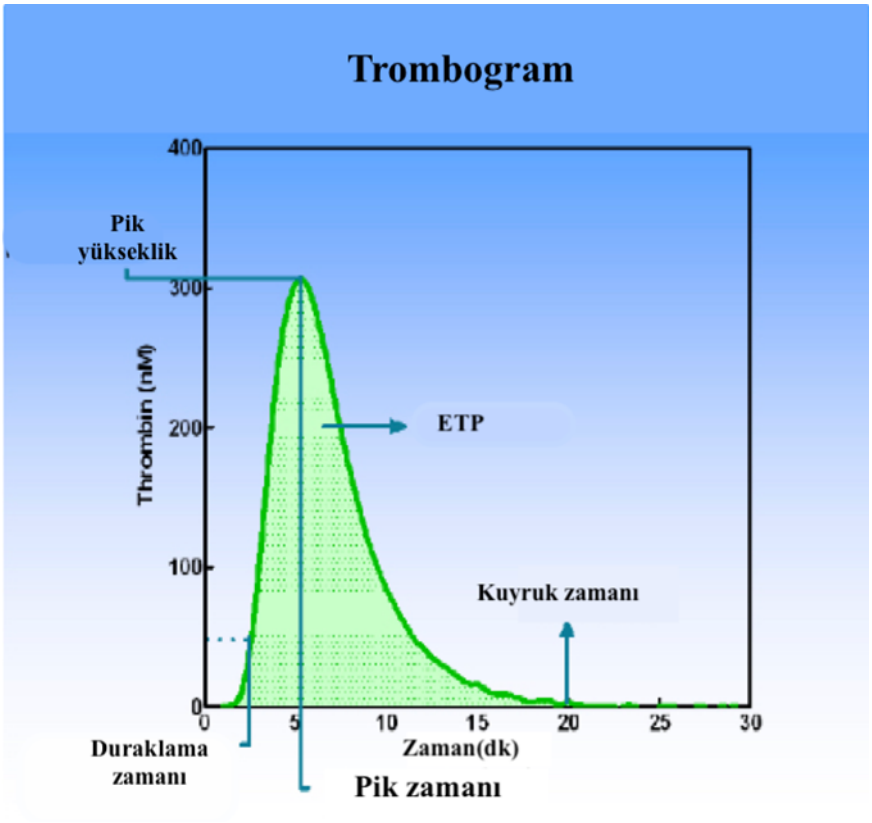
Hemostaz testleri

Hasta ve kontrol grubundan alınan numuneler sodyum sitratlı tüplere aktarıldı (0.109 mol/L, %3.2; Vacuetainer, Becton, Dickinson and Company, ABD) ve 2000 g'de 10 dakika santrifüjü ile elde edilen plazma örneklerinde PT ve aPTT parametreleri, analiz edildi. INR değeri için, INR = [PT(hasta)/PT(Normal bireylerin geometrik ortalaması)] formülü kullanıldı. Pıhtı içeren, hemolizli, lipemik ve kan/antiko- agülan oranında uygunsuzluk olan numuneler çalışmadan çıkarıldı. Elde edilen plazma örneklerinden PT (sn), aPTT (sn), INR tetkikleri (Sysmex S2500, Dubai, BAE) cihazı ile çalışıldı.

Trombin jenerasyon testi

Hastalardan alınan plazmalar test zamanı geldiğinde 37 °C distile su ile hazırlanmış sıcak su küvetlerinde 5 dk süre ile eritildi. Her 80µL plazmaya 20 µL thrombin kalibratörü kullanıldı. Fluo-substrate ile Fluo-buffer 37 °C distile su ile hazırlanmış sıcak su küvetlerinde 2 dk süre ile karıştırılarak FluCa oluşturuldu. Çalışmada plateletten fakir plazma kullanıldı. Çalışılacak olan plasma örneğine FluCa ve PPP-reagent (Protrombin-trombin dönüşüm kaskadını tetikleyiciler) eklendi. PPP-reagent aracılığı ile plazmadaki protrombinden trombin üretimi başlatıldı. Bu enzim aktivasyonunu sağlamak için her FluCa'ya 5pmol/L doku faktörü ve 4 pmol/L fosfolipid eklendi. Ortaya çıkan trombin, FluCa'yı bir florofora dönüştürüldü. Antitrombin, protein C ve S aracılığı ile bu reaksiyon sonlandırıldı. Ortaya çıkan

florofor sinyali sürekli olarak bir florometre ile ölçüldü ve trombin kalibratörü ile kıyaslanarak (thrombinoscope yazılımı eşliğinde) thrombogram eğrisine aktarıldı. TGA testi Thermo Fluoroskan Ascent 96-well marka cihaz kullanıldı. Thrombinoscope software programı ile veriler elde edildi. Tüm bu aşamalar kiti sağlayan firma tarafından görevlendirilen deneyimli bir teknisyen tarafından grçekleştirildi. TGA testi sonucunda elde edilen trombogram eğrisi şekil 3.1'de gösterildi.



Şekil 3.1: Trombin jenereasyon testi sırasında elde edilen trombogram eğrisi

TGA testi parametreleri

Duraklama zamanı: Trombin formasyonunun başladığı zaman, birimi dakikadır. Duraklama zamanı, geleneksel bir pıhtılaşma testindeki pıhtılaşma süresinin eşdeğerini temsil eder. Fibrinojen, FVII, FXII'deki azalma, protein S düzeyindeki artış duraklama zamanını uzamaya neden olan temel faktörlerdir (127, 128).

Pik yükseklik: Trombinin maksimum konsantrasyonu gösterir. Birimi nanomolar trombindir.

Endojen trombin potansiyel (ETP): Trombogram eğrisinin altında kalan alanı gösterir. Birimi nanomolar trombin x dakika (nM x dakika). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, trombin oluşumundaki artışın (ETP değerindeki yükselmenin) daha sık tromboz insidansı ve daha az kanamaya eğilim gösterdiği kanıtlanmıştır (129). Tripodi ve ark. (106)'nın yaptığı retrospektif ve Besser ve ark. (130)'nın yaptığı prospektif çalımalar trombin üretimindeki artışın venöz tromboemboli sıklığıyla ilintili olduğunu göstermiştir. Trombin artışının venöz tromboembolilerle bağlanıtısı kanıtlansa da arteriyel trombotik olaylarla daha zayıf bir bağı olduğu gösterilmiştir (131).

Pik zamanı: Pik trombin düzeyine ulaşılması için geçen zamanı gösterir. Birimi dakikadır.

Start Tail (Kuyruk başlangıcı): Trombin üretiminin sona erdiği zamandır. Birimi dakikadır.

Duraklama zamanında uzama, ETP ve pik düzeyde azalma azalmış trombin jenerasyonunu ve hipokoagülobilite, duraklama zamanında kısalma, ETP ve pik değerde artma artmış trombin jenerasyonunu ve hiperkoagülobilite olarak kabul edildi

3.8. İstatistiksel Yöntem

Verilerin analizi IBM SPSS 21 programı ile yapıldı. Nicel (nümerik) değişkenlere ait veriler ortalama±standart sapma (mean±SD) ya da medyan (Q1-Q3) olarak, nitel (kategorik) değişkenlere ait veriler ise frekans ve yüzde ile gösterildi. Nicel değişkenlerin gruplardaki normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Normal dağılıma uygunluk görülen iki bağımsız grup kıyaslaması bağımsız örnekler t, normal dağılıma uymayan iki bağımsız grup kıyaslamasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Hasta grubu içerisinde tedavi öncesi ve sonrası ölçümlerdeki normal dağılıma uyan değişkenler bağımlı örnekler t testi, normal dağılıma uymayan değişkenler Wilcoxon testi ile karşılaştırldı. Nitel değişkenler arasındaki ilişki Pearson Ki kare analizi, nicel değişkenler arasındaki doğrusal ilişki

ise Spearman Korelasyon analizi ile değerlendirildi. $P<0.05$ olması istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Temmuz 2021 ile Ocak 2022 tarihleri arasında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji polikliniğine başvuran DEA tanısı konulan 72 hasta ve 60 sağlıklı çocuk çalışmaya alındı.

4.1 Hasta grubunun tedavi öncesi ile kontrol grubunun klinik özellikleri ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması

Hasta grubundaki çocukların 39'u kız (%54,2), 33'ü erkek (%45,8), kontrol grubundaki çocukların 33'ü kız (%55), 27'si erkek (%45) cinsiyette idi. Hasta grubunun yaş ortalaması 8,98±5,59 yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması 9,24±4,96 yıl idi. İki grup arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından farklılık bulunmadı (p=0,687, p=0,924 sırasıyla). Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1'de gösterildi.

Hasta grubunun ortanca Hb'i 9,75 (9,35-10,30) gr/dL, MCH'si 22,40 (20,20-24,25) pg, MCHC'si %30,10 (29,30-31,40), ortalama MCV'si 71,94±4,71 fL iken, kontrol grubunun ortanca Hb'i 13,10 (12,50-13,50) gr/dL, MCH'si 28,10 (26,75-29,40) pg, MCHC'si %33,70 (33,15-34,85), ortalama MCV'si (81,80±4,07) fL idi. Hasta grubunun Hb, MCV, MCH, MCHC değerleri kontrol grubunun değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşük bulundu (p<0,001, hepsi için). Hasta grubunun ortanca platelet sayısı 369 (278,50-488,50) /mm^3, RDW değeri %16,75 (15,30-18,40), kontrol grubunun ortanca platelet sayısı 307,0 (265,0-349,5) /mm^3, RDW değeri %12,85 (12,40-13,30) idi. Hasta grubunun platelet sayısı ve RDW değerleri kontrol grubunun değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı şekilde yüksek bulundu (p=0,003, p<0,001, sırasıyla). Hasta grubunun ortanca eritrosit sayısı 4,80 (4,33-5,02)x10^6/mm^3, kontrol grubunun ortanca eritrosit sayısı 4,84 (4,53-5,10)x10^6/mm^3 olup iki grup arasında eritrosit sayısı açısından farklılık bulunmadı (p=0,078). Hasta ve kontrol grubunun kan sayımı parametreleri Tablo 4.1'de gösterildi.

Hasta grubunun ortanca serum demir düzeyi 19 (13,5-23,0) µg/dL, ferritin düzeyi 8,79 (5,06-11,60) µg/mL, transferrin satürasyonu %6,69 (4,14-10,55)

iken; kontrol grubunun ortanca serum demir düzeyi 68,50 (47,50-94,50) µg/dL, ferritin düzeyi 33,25 (22,85-70,80) µg/mL, transferrin satürasyonu %29,06 (23,10-41,95) idi. Hasta grubunun serum demir ve ferritin düzeyi, transferrin satürasyonu kontrol grubundan istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşük bulundu (p<0,001, hepsi için). Hasta grubunun ortalama serum demir bağlama kapasitesi (469,10±42,72 µg/dL), kontrol grubunun değerinden (345,88±54,79 µg/dL) anlamlı derecede yüksekti (p<0,001). Hasta ve kontrol grubunun serum demir parametreleri Tablo 4.1'de gösterildi.

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet, kan sayımı ve serum demir parametrelerinin karşılaştırılması

Değişkenler	**Hasta grubu (n=72)**	**Kontrol grubu (n=60)**	**P değeri**
Yaş (yıl)	8,98±5,59	9,24±4,96	0,687
Cinsiyet (K/E)	39 (%54,2) /33 (%45,8)	33 (%55)/ 27(%45)	0,924
Kan sayımı parametreleri			
Hb (gr/dl)	9,75(9,35-10,30)	13,10(12,50-13,50)	<0,001
MCV (fL)	71,94±4,71	81,80±4,07	<0,001
MCH (pg)	22,40(20,20-24,25)	28,10(26,75-29,40)	<0,001
MCHC (%)	30,10(29,30-31,40)	33,70(33,15-34,85)	<0,001
Eritrosit sayısı (10^6/mm^3)	4,80(4,33-5,02)	4,84(4,53-5,10)	0,078
RDW (%)	16,75(15,30-18,40)	12,85(12,40-13,30)	<0,001
Platelet sayısı (10^3/mm^3)	369(278,50-488,50)	307(265-349,50)	0,003
Serum demir parametreleri			
Serum demir düzeyi (µg/dL)	19(13,50-23)	68,5(47,50-94,50)	<0,001
TDBK (µg/dL)	469,10±42,72	345,88±54,79	<0,001
Transferrin satürasyonu (%)	6,69(4,14-10,55)	29,06(23,1-41,95)	<0,001
Ferritin (µg/ml)	8,79(5,06-11,6)	33,25(22,85-70,8)	<0,001

Hb: hemoglobin, MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, RDW: eritrosit dağlım genişliği, TDBK: toplam demir bağlama kapasitesi

TGA testinde; hasta grubunun tedavi öncesi ortanca duraklama zamanı 3,33 (3-3,62) dk, pik zamanı 5,96 (5,38-6,62) dk, kontrol grubu ortanca duraklama zamanı 3,62 (3,28-3,95) dk, pik zamanı 6,63 (5,50-7,29) dk idi. Hasta grubunun

duraklama zamanı ve pik zamanı kontrol grubunun değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı şekilde kısa bulundu (p=0,007, p=0,005, sırasıyla). Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca ETP düzeyi 2579 (2286-2952,50) nMxdk, pik yükseklik 498,07(448,19-529,03) nM ; kontrol grubunun ortanca ETP düzeyi 1807 (1698-1980) nM x dakika, pik yükseklik 348,48 (316,83-376,51) nM idi. Hasta grubunun ETP ve pik yükseklik değeri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu (p<0,001, ikisi için). Hasta grubunun kuyruk başlangıcı zamanı 22(20-23) dk, kontrol grubunu kuyruk başlangıcı zamanı 20 (20-22) dk olup, iki grup arasında kuyruk başlangıç zamanı açısından farklılık yoktu (p=0,05). Hasta grubunun tedavi öncesi ve kontrol grubunun TGA parametreleri Tablo 4.2'de gösterildi.

Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca PT'si 12,40 (11,90-13) sn, aPTT'si 30,60 (29-31,95) sn, INR'si 1,01 (0,97-1,07) sn, fibrinojen düzeyi 253(231,05-302) mg/dl; kontrol grubunun ortanca PT'si 12,40 (11,90-13,02) sn, aPTT'si 31,75(28,75-33,15) sn, INR'si 1,02 (0,98-1,11) sn, fibrinojen düzeyi 275,9 (231,50-323) mg/dL idi. Hasta grubunun PT, aPTT, INR, fibrinojen değerleri ile kontrol grubunun değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmadı (p=0,949, p=0,256, p=0,289, p=0,96, sırasıyla). Tüm gruplarda koagülasyon tetkikleri normal sınırlarda idi. Hasta ve kontrol grubunun hemostaz parametreleri Tablo 4.2'de gösterildi.

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarının trombin jenerasyon testi ve hemostaz parametrelerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Hasta grubu (n=72)	Kontrol grubu (n=60)	P değeri
TGA parametreleri			
Duraklama zamanı (dk)	3,33(3-3,62)	3,62(3,28-3,95)	0,007
ETP (nMxdakika)	2579(2286-2952,50)	1807(1698-1980)	<0,001
Pik yükseklik (nM)	498,07(448,19-529,03)	348,48(316,83-376,51)	<0,001
Pik zaman (dk)	5,96(5,38-6,62)	6,63(5,50-7,29)	0,005
Kuyruk başlangıç zamanı (dk)	22(20-23)	20(20-22)	0,050
Hemostaz parametreleri			
PT (sn)	12,40(11,90-13)	12,40(11,90-13,20)	0,949
aPTT (sn)	30,60(29-31,95)	31,75(28,75-33,15)	0,256
INR (sn)	1,01(0,97-1,07)	1,02(0,98-1,11)	0,289
Fibrinojen (mg/dl)	253(231,05-302)	275,90(231,50-323)	0,96

ETP: endojen trombin potansiyeli, PT: protrombin zamanı, aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, INR: uluslararası normalleştirme oranı

4.2. Hasta grubunun tedavi öncesi ile tedavi sonrası 1. ay laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması

Hasta grubunun tedavi öncesi ortalama Hb'i 9,6±0,99 gr/dL, ortanca MCV'si 72,4 (68,55-74,90) fL, MCH'si 22,4 (20,20-24,25) pg, MCHC'si 30,1 (29,30-31,40), eritrosit sayısı 4,80 (4,33-5,02)x10^6/mm^3; tedavi sonrası 1. ay ortalama Hb'i 11,47±0,98 gr/dL, ortanca MCV'si 76,4(73,50-80,10) fL, MCH'si 25,70 (24,35-26,70) pg, MCHC'si %33,70 (33,15-34,85), eritrosit sayısı 4,98(4,90-5,29)x10^6/mm^3 olup, tedavi öncesi değerler tedavi sonrası 1. ay değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşük bulundu (p<0,001, hepsi için). Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca platelet sayısı 369 (278,50-488,05)x10^6/mm^3, RDW yüzdesi %16,75 (15,30-18,40); tedavi sonrası 1. ay ortanca platelet sayısı 331(257-434,50)10^6/mm^3, RDW yüzdesi %13,8 (13,40-15,25) idi. Tedavi öncesi platelet sayısı ve RDW yüzdesi tedavi sonrası 1.ay değerlerinden anlamlı şekilde yüksek bulundu (p<0,001, ikisi için). Hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1.aydaki kan sayımı parametreleri Tablo

4.3'de gösterildi.

Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca serum demir düzeyi 19 (13,50-23) µg/dL, transferrin satürasyonu %6,69(4,14-10,55), ferritin düzeyi 8,79 (5,06-11,6) µg/ml; tedavi sonrası 1. ay ortanca serum demir düzeyi 34 (25-41,50) µg/dL, transferrin satürasyonu %15,51 (9,64-22,1), serum ferritin düzeyi 14 (11,34-22,09) ng/mL idi. Hasta grubunun tedavi öncesi değerleri tedavi sonrası 1. ay değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlıderecede düşük bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca serum demir bağlama kapasitesi 472,50 (438-498,50) µg/dL, tedavi sonrası 1.ay serum demir bağlama kapasitesinden 396 (365-405) µg/dL anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Hasta ve tedavi sonrası 1. ay serum demir parametreleri Tablo 4.3'de gösterildi.

Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca duraklama zamanı 3,33 (3-3,62) dk, pik zamanı 5,96 (5,38-6,62) dk; tedavi sonrası 1.ay ortanca duraklama zamanı 3,62 (3,28-4,20) dk, pik zamanı 6,29 (5,71-6,87) dk idi. Hasta grubu duraklama zamanı ve pik zamanı tedavi sonrası 1. ay değerlerinden anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p<0,001$, $p=0,004$, sırasıyla). Hasta grubunun tedavi öncesi ortalama ETP (2650,78±438,89 nMxdk), pik yükseklik düzeyi (499,59±81,57 nM); tedavi sonrası 1.ay ETP (1811,31±204,76 nM x dakika), pik yükseklik (337,22±50,84 nM) düzeyinden anlamlı derecede daha yüksekti ($p<0,001$, ikisi için). Tedavi öncesi ortanca kuyruk başlangıcı zamanı 22 (20-23) nM ile tedavi sonrası 1. ay kuyruk başlangıç zamanı 21 (19,5-26) nM arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,642$). Hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1.ay TGA parametreleri Tablo 4.4'de gösterildi.

Hasta grubunun tedavi öncesi ortanca PT, aPTT'si, INR'si fibrinojen düzeyi [12,40(11,90-13) sn, 30,60 (29-31,95) sn, 1,01(0,97-1,07), 253 (231,05-302) mg/dL] ile tedavi sonrası 1. aydaki değerler [12,50(12,10-13,0)sn, 30,95 (29,65-33,60) sn, 1,06 (0,98-1,09), 296 (249,20-326) mg/dL] arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmadı ($p=0,186$, $p=0,167$, $p=0,089$, $p=0,183$ sırasıyla). Tüm gruplarda koagülasyon tetkikleri normal sınırlarda idi. Hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1.ay hemostaz parametreleri Tablo 4.4'de gösterildi.

4.3. Hasta grubunun tedavi sonrası 1.ay ile kontrol grubunun laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması

Hasta grubunun tedavi sonrası 1.ay ortalama Hb'i 11,47±0,98 gr/dL, ortanca MCV 'si 76,40 (73,50-80,10) fL iken, MCH'si 25,70(24,35-26,70) pg, MCHC'si %32,70 (31,70-33,40), eritrosit sayısı 4,98 (4,90-5,29)x10^6/mm^3; kontrol grubunun ortalama Hb'i 13,11±0,95 gr/dL, ortanca MCV'si 81,95 (78,95-84,25) fL, MCH'si 81,80±4,07 pg, MCHC'si % 33,70(33,15-34,85), eritrosit sayısı 4,84 (4,53-5,10)x10^6/mm^3 olup, tedavinin 1. ay değerleri kontrol grubu değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşük bulundu (p<0,001, hepsi için). Tedavi sonrası 1. ay ortanca RDW yüzdesi %13,80 (13,40-15,25), kontrol grubu RDW yüzdesinden %12,85(12,40-13,30) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,001). Tedavi sonrası 1. ay ortanca trombosit sayısı 331(257-434,50)x10^6/mm^3 ile kontrol grubu ortanca trombosit 307 (265-349,50)x10^6/mm^3 sayısı arasında anlamlı bir fark yoktu (P=0.156). Tedavi sonrası 1. ay ile kontrol grubunun kan sayımı parametreleri Tablo 4.3'de gösterildi.

Tedavi sonrası 1. ay ortanca serum demir düzeyi 34(25-41,50) µg/dL, transferrin satürasyonu %15,51(9,64-22,10), ferritin düzeyi 14(11,34-22,09) µg/Ml; kontrol grubunun ortanca serum demir düzeyi 68,50 (47,50-94,50) µg/dL, transferrin satürasyonu %29,06 (23,10-41,95), ferritin düzeyi 33,25 (22,85-70,80) µg/mL olup, tedavi sonrası 1.ay değerleri kontrol grubu değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu (p<0,001, hepsi için). Tedavi sonrası 1. ay ortanca serum demir bağlama kapasitesi 396(365-405) µg/dL, kontrol grubu serum demir bağlama kapasitesinden 344 (311-387,50) µg/dL istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,001). Tedavi sonrası 1. ay ve kontrol grubunun serum demir parametreleri Tablo 4.3'de gösterildi.

Tedavi sonrası 1. ay ortanca duraklama zamanı 3,62(3,28-4,20) dk, pik zamanı 6,29(5,71-6,87) dk, kuyruk başlangıç zamanı 21 (19,50-26) dk, ortalama ETP 1811,31±204,76 nM x dakika, pik yükseklik 337,22±50,84 Nm; kontrol grubunun ortanca duraklama zamanı 3,62 (3,28-3,95) dk, pik zamanı 6,63 (5,50-7,29) dk, kuyruk başlangıç zamanı 20 (20-22) dk, ortalama ETP (1830,72±249,98 nM x dakika), pik yükseklik (343,37±60,38 nM) idi. TGA parametreleri açısından

tedavi sonrası 1. ay ile kontrol grubun değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark yoktu (p=0,352, p=0,699, p=0,171, p=0,504, p=0,241, sırasıyla). Tedavi sonrası 1.ay ve kontrol grubunun TGA parametreleri Tablo 4.4'de gösterildi.

Hasta grubunun tedavi sonrası 1. ay ortanca PT, aPTT'si, INR'si, fibrinojen düzeyi [12,50(12,10-13,0)sn, 30,95 (29,65-33,60) sn, 1,03 (0,95-1,09), 296 (249,20-326) mg/dL] ile kontrol grubunun değerleri [12,40 (11,90-13,20) sn, 31,75 (28,75-33,15)sn, 1,02 (0,98-1,11) sn, 275,90 (231,50-323) mg/dL] arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmadı (p90=0,145, p=0,821, p=0,821, p=0,201, sırasıyla). Tedavi sonrası 1. ay ve kontrol grubun hemostaz parametreleri Tablo 4.4'de gösterildi.

Tablo 4.3. Hasta grubunun tedavi öncesi, tedavi sonrası ile kontrol grubunun kan sayımı ve serum demir parametrelerinin karşılaştırması

Değişkenler	Hasta grubu Tedavi öncesi (n=72)	Hasta grubu Tedavi sonrası (n=72)	Kontrol grubu (n=60)	P1	P2
Kan sayımı parametreleri					
Hb (gr/dl)	9,6±0,99	11,47±0,98	13,11±0,95	<0,001	<0,001
MCV (fL)	72,40 (68,55-74,90)	72,40 (68,55-74,90)	81,95(78,95-84,25)	<0,001	<0,001
MCH (pg)	22,40 (20,20-24,25)	25,70 (24,35-26,70)	28,10 (26,75-29,40)	<0,001	<0,001
MCHC (%)	30,10 (29,30-31,40)	32,70 (31,70-33,40)	33,70 (33,15-34,85)	<0,001	<0,001
Eritrosit (10^6/mm^3)	4,80 (4,33-5,02)	4,98 (4,90-5,29)	4,84 (4,53-5,10)	<0,001	0,001
RDW (%)	16,75 (15,30-18,40)	13,80 (13,40-15,25)	12,85 (12,40-13,30)	<0,001	<0,001
Platelet (10^3/mm^3)	369 (278,50-488,50)	331 (257-434,50)	307 (265-349,50)	<0,001	0,156
Serum demir parametreleri					
Serum serbest demir (µg/dL)	19 (13,50-23)	34 (25-41,50)	68,50 (47,50-94,50)	<0,001	<0,001
TDBK (µg/dL)	472,50 (438-498,50)	396 (365-405)	344 (311-387,50)	<0,001	<0,001
Transferrin satürasyonu (%)	6,69 (4,14-10,55)	15,51 (9,64-22,10)	29,06 (23,10-41,95)	<0,001	<0,001
Ferritin (µg/mL)	8,79 (5,06-11,60)	14 (11,34-22,90)	33,25 (22,85-70,80)	<0,001	<0,001

P1: Tedavi öncesi-tedavi sonrası, P2: tedavi sonrası-kontrol grubu karşılaştırılması, Hb: hemoglobin, MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, RDW: eritrosit dağlım genişliği , TDBK: toplam demir bağlama kapasitesi

Tablo 4.4. Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol gruplarının trombin jeneraston testi ve hemostaz parametreleri karşılaştırılması

Değişkenler	**Hasta grubu Tedavi öncesi (n=72)**	**Hasta grubu Tedavi sonrası (n=72)**	**Kontrol grubu (n=60)**	**P1**	**P2**
TGA parametreleri					
Duraklama zamanı (dk)	3,33 (3-3,62)	3,62 (3,28-4,20)	3,62 (3,28-3,95)	<0,001	0,352
ETP (nMxdakika)	2650,78±438,89	1811,31±204,76	1830,72±249,98	<0,001	0,504
Pik yükseklik (nM)	499,59±81,57	337,22±50,84	343,37±60,38	<0,001	0,241
Pik zaman (dk)	5,96 (5,38-6,62)	6,29 (5,71-6,87)	6,63 (5,50-7,29)	0,004	0,699
Kuyruk başlangıç zamanı (dk)	22 (20-23)	21(19,50-26)	20 (20-22)	0,642	0,171
Hemostaz parametreleri					
PT (sn)	12,40 (11,90-13)	12,50(12,10-13,20)	12,40 (11,90-13,20)	0,186	0,145
aPTT (sn)	30,60(29-31,95)	30,95 (29,65-33,60)	31,75 (28,75-33,15)	0,167	0,821
INR (sn)	1,01 (0,97-1,07)	1,06 (0,98-1,09)	1,02 (0,98-1,11)	0,089	0,821
Fibrinojen (mg/dL)	253 (231,05-302)	296 (249,20-326)	275,90 (231,50-323)	0,183	0,201

P1: Tedavi öncesi-tedavi sonrası, P2: tedavi sonrası-kontrol grubu karşılaştırılması, ETP: endojen trombin potansiyeli, PT: protrombin zamanı, INR: uluslararası normalleştirme oranı, aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, TDBK : toplam demir bağlama kapasitesi

4.4. Hemoglobin düzeyi normale dönen hastaların tedavi öncesi ile tedavi sonrası 1. ay laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması

Hasta grubundaki 72 çocuktan 65 tanesinin 1. ay sonunda Hb düzeyi normale döndü. Hb düzeyi normale dönen hastaların tedavi öncesi ortanca Hb'i, MCV'si, MCH'si, MCHC'si, eritrosit sayısı, tedavi sonrası 1. ay ortanca değerlerinden istatistiksel açıdan anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Tedavi öncesi platelet sayısı, RDW yüzdesi, tedavi sonrası 1. ay değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Tedavi öncesi ortanca serum demir düzeyi, transferrin satürasyonu, ferritin düzeyi tedavi sonrası 1. ay değerlerinden düşük, serum demir bağlama kapasitesi ise yüksek bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Tedavi öncesi ortanca duraklama zamanı ve pik zamanı tedavi sonrası 1. ay değerlerinden anlamlı şekilde kısa ($p<0,001$, $p=0,004$, sırasıyla), ETP ve pik yükseklik değeri daha yüksek bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1. ay kuyruk başlangıç zamanı ve hemostaz testleri açısından farklılık bulunmadı ($p>0,05$, hepsi için). Hb düzeyi normale dönen hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası 1. ay laboratuvar parametreleri Tablo 4.5 ve 4.6'da gösterildi.

4.5. Hemoglobin düzeyi normale dönen hastaların tedavi sonrası 1. ay ile kontrol grubunun laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması

Hemoglobin düzeyi normale dönen hastaların tedavi sonrası 1. ay ortanca Hb'i, MCV'si, MCH'si, MCHC'si, eritrosit sayısı, retikülosit yüzdesi, kontrol grubu ortanca değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derece düşük bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Tedavi sonrası 1.ay ortanca RDW yüzdesi, kontrol grubu değerinden istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Hb değeri normale dönen hastaların tedavi sonrası 1.ay ortanca platelet sayısı ile kontrol grubu değeri arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0,069$). Tedavi sonrası 1. ay ortanca serum demir düzeyi, transferrin satürasyonu, ferritin düzeyi kontrol grubu ortanca değerlerinden istatiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,001$, hepsi için). Tedavi sonrası 1. ay ortanca serum demir bağlama kapasitesi, kontrol grubu

değerinden yüksek bulundu (p<0,001). Tedavi sonrası 1. ay ortanca duraklama zamanı, pik zamanı, ETP, pik yükseklik, kuyruk başlangıç zamanı ile kontrol grubu değerleri arasında anlamlı bir fark yoktu (p=0,336, p=0,699, p=0,504, p=0,241, p=0,171, sırasıyla). İki grup arasında hemostaz testleri açısından farklık yoktu (p>0,05, hepsi için). Hb düzeyi normale dönen hastaların tedavi sonrası 1. ay ile ile kontrol grubunun laboratuvar parametreleri Tablo 4.5 ve 4.6'da gösterildi.

Tablo 4.5. Hb düzeyi normale dönen hastaların tedavi öncesi, tedavi sonrası 1.ay ve kontrol grubunun kan sayımı, serum demir parametreleri kıyaslaması

Değişkenler	**Hasta grubu Tedavi öncesi (n=65)**	**Hasta grubu Tedavi sonrası (n=65)**	**Kontrol grubu (n=60)**	**P1**	**P2**
Kan sayımı parametreleri					
Hb (gr/dl)	10 (9,40-10,30)	11,50 (11,30-12,10)	13,10 (12,50-13,50)	<0,001	<0,001
MCV (fL)	72,60 (69,70-75)	76,70 (74,70-80,10)	81,95 (78,95-84,25)	<0,001	<0,001
MCH (pg)	22,50(20,30-24,60)	25,70 (24,70-26,70)	28,10 (26,75-29,40)	<0,001	<0,001
MCHC (%)	30,10 (29,30-31,90)	32,90 (31,70-33,40)	33,70 (33,15-34,85)	<0,001	<0,001
Eritrosit (10^6/mm^3)	4,80 (4,35-5,02)	4,98 (4,90-5,30)	4,84 (4,53-5,10)	<0,001	<0,001
RDW (%)	16,10 (14,90-18,40)	13,70 (13,20-15,30)	12,85 (12,40-13,30)	<0,001	<0,001
Platelet (10^3/mm^3)	369 (285-489)	331 (268-427)	307 (265-349,50)	<0,001	0,069
Serum demir parametreleri					
Serum demiri (µg/dL)	20 (16-23)	34 (32-42)	68,50 (47,50-94,50)	<0,001	<0,001
TDBK (µg/dL)	464 (438-499)	396 (372-405)	344 (311-387,50)	<0,001	<0,001
Transferrin satürasyonu (%)	6,61 (3,95-10,10)	16,10 (9,91-22,20)	29,06 (23,10-41,95)	<0,001	<0,001
Ferritin (µg/mL)	9 (5,12-12)	14 (12-22,90)	33,25 (22,85-70,80)	<0,001	<0,001

P1: Tedavi öncesi-tedavi sonrası, P2: tedavi sonrası-kontrol grubu kıyaslaması, Hb: hemoglobin, MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, RDW: eritrosit dağlım genişliği, TDBK: toplam demir bağlama kapasitesi

Tablo 4.6. Hb düzeyi normale gelmeyen hastaların tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubunun trombin jeneraston testi ve hemostaz tetkikleri kıyaslaması

Değişkenler	**Hasta grubu Tedavi öncesi (n=65)**	**Hasta grubu Tedavi sonrası (n=65)**	**Kontrol grubu (n=60)**	**P1**	**P2**
TGA Parametreleri					
Duraklama zamanı (dk)	3,33 (3-3,62)	3,62 (3,28-4,20)	3,62 (3,28-3,95)	<0,001	0,336
ETP (nMxdakika)	2579 (2286-2952,50)	1778,50 (1665-1896)	1807 (1698-1980)	<0,001	0,504
Pik yükseklik (nM)	498,07 (448,19-529,03)	342,72 (287,08-374,3)	348,48 (316,83-376,51)	<0,001	0,241
Pik zaman (dakika)	5,96 (5,38-6,62)	6,29 (5,71-6,87)	6,63 (5,5-7,29)	0,004	0,699
Kuyruk başlangıç zamanı (dk)	22 (20-23)	21 (19,50-26)	20 (20-22)	0,642	0,171
Hemostaz parametreleri					
PT (sn)	12,40 (11,90-13)	12,80 (12,10-13,20)	12,40 (11,90-13,20)	0,011	0,145
aPTT (sn)	30,60 (29-31,95)	30,95 (29,65-33,60)	31,75 (28,75-33,15)	0,167	0,821
INR (sn)	1,01 (0,97-1,07)	1,06 (0,98-1,09)	1,02 (0,98-1,11)	0,019	0,821
Fibrinojen (mg/dL)	253 (231,05-302)	296 (249,20-326)	275,90 (231,50-323)	0,183	0,201

P1: Tedavi öncesi-tedavi sonrası, P2: tedavi sonrası-kontrol grubu kıyaslaması ETP: endojen trombin potansiyeli, PT: protrombin zamanı, INR: uluslararası normalleştirme oranı, aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı

4.6 Hb düzeyi normale gelmeyen hastaların tedavi öncesi ile tedavi sonrası 1. ay laboratuvar parametrelerinin karşılaştırması

Hasta grubundaki 72 çocuktan 7 tanesinin 1. ay sonunda Hb düzeyi düşük kaldı. Hb düzeyi normale dönmeyen hasta hastaların tedavi öncesi Hb'i, MCV'si MCH'si, MCHC'si, eritrosit sayısı, tedavi sonrası 1.ay tetkiklerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (p=0,002, p=0,001, p=0,018, p=0,003, p=0,018, sırasıyla). Tedavi öncesi RDW yüzdesi, tedavi sonrası 1. aydan yüksek bulundu (p<0,001). Tedavi öncesi trombosit sayısı, tedavi sonrası 1. ay ile arasında fark yoktu (p=0,832). Tedavi öncesi serum demir düzeyi, serum ferritin, transferrin satürasyonu tedavi sonrası 1. ayına göre düşük bulundu (p<0,001, p=0,017, p<0,001, sırasıyla). Tedavi öncesi serum demir bağlama kapasitesi ile tedavi sonrası 1.ayında değerinden yüksek bulundu (p<0,001). Tedavi öncesi duraklama zamanı tedavi sonrası 1. aydan daha düşük bulundu (p=0,046). Tedavi öncesi ETP ve pik yükseklik ise tedavi sonrası 1.aydan daha yüksekti (p<0,001, p=0,002, sırasıyla). Tedavi öncesi kuyruk başlangıç zamanı ve pik zamanı ile tedavi sonrası 1.ay arasında fark yoktu (p=0,714, p=0,446, sırasıyla). Hemostaz testleri açısından farklılık bulunmadı (p>0,05, hepsi için). Hb düzeyi normale gelmeyen hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavinin 1. ayı laboratuvar parametreleri Tablo 4.7 ve 4.8'de gösterildi.

Tablo 4.7. Hb düzeyi normale gelmeyen hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası yaş, cinsiyet, kan sayımı, serum demir parametreleri kıyaslaması

Değişkenler	**Tedavi öncesi (n=7)**	**Tedavi sonrası (n=7)**	**P değeri**
Kan sayımı parametreleri			
Hb (gr/dl)	8,40 (6,80-9,30)	9,70 (8,70-10,30)	0,002
MCV (fL)	68,40 (65,70-68,70)	73,60 (73,20-74,20)	<0,001
MCH (pg)	22,30 (16,80-22,40)	24,30 (18,10-26,30)	0,018
MCHC (%)	26,80 (26,80-30,80)	32,70 (32-32,70)	0,003
Eritrosit (10^6/mm^3)	4,42 (4,20-4,81)	4,90 (4,60-5,23)	0,018
RDW (%)	18,40 (17,10-18,80)	14,70 (14,68-14,72)	<0,001
Platelet (10^3/mm^3)	348 (160-456)	357 (167-487)	0,832
Serum demir parametreleri			
Serum demiri (µg/dL)	12 (11,80-13)	22 (22-25)	<0,001
TDBK (µg/dL)	473 (472-478)	372 (365-401)	<0,001
Transferrin satürasyonu (%)	6,90 (4,80-18,90)	12,10 (9,23-22,10)	<0,001
Ferritin (µg/mL)	6 (3,60-10)	13 (11,34-16)	0,017

P1: Tedavi öncesi-tedavi sonrası, P2: tedavi sonrası-kontrol grubu kıyaslaması, Hb: hemoglobin, MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, RDW: eritrosit dağlım genişliği, TDBK: toplam demir bağlama kapasitesi

Tablo 4.8. Hb düzeyi normale gelmeyen hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası trombin jenerasyon testi ve hemostaz tetkikleri kıyaslaması

Değişkenler	**Tedavi öncesi (n=7)**	**Tedavi sonrası (n=7)**	**P değeri**
TGA parametreleri			
Duraklama zamanı (dk)	3,33 (2,95-3,33)	3,62 (3,28-4,28)	0,046
ETP (nMxdakika)	2603 (2579-2609)	1773 (1681-1906)	<0,001
Pik yükseklik (nM)	504,57 (445,51-511,75)	344,16 (306,28-372,54)	0,002
Pik zaman (dakika)	5,96 (5,62-6,67)	6,29 (5,62-6,96)	0,446
Kuyruk başlangıç zamanı (dk)	22 (21-23)	20 (17-26)	0,714
Hemostaz parametreleri			
PT (sn)	13 (11,60-13,20)	13,20 (11,10-13,20)	0,851
aPTT (sn)	29 (27,90-29,80)	32 (30,70-32)	0,035
INR (sn)	1,08 (0,93-1,08)	1,09 (0,9-1,09)	0,915
Fibrinojen (mg)	248 (229-271)	354 (273-354)	0,016

ETP: endojen trombin potansiyeli, PT: protrombin zamanı, INR: uluslararası normalleştirme oranı, aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı

4.7. Cinsiyete göre trombin jenerasyon testi parametrelerinin karşılaştırması

Hasta ve kontrol grubunda TGA parametrelerinde cinsiyete göre değişiklik olup olmadığı incelendiğinde; ortanca duraklama zamanı kız cinsiyette 3,33 (3-3,62) dk, erkek cinsiyette 3,36 (3,28-3,67) dk, ETP değeri kız çocuklarda 2260 (1877-2587) nM x dakika, erkeklerde 2257,5 (1787,5-2583) nM x dakika, pik yükseklik değeri kızlarda 420,32 (366,95-504,57) nM, erkeklerde 408,02 (336,46-504,57) nM, pik zamanı değeri kızlarda 6,25 (5,34-6,67) dk, erkeklerde 6,51 (5,62-6,98) dk, kuyruk başlangıcı değeri kızlarda 21 (20-23) dk, erkeklerde 21,5 (20-23) dk idi. Kız ve erkek cinsiyette bu parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0,265, p=0,766, p=0,759, p=0,304, p=0,989, sırasıyla). Cinsiyete göre TGA parametreleri Tablo 4.9'da gösterildi.

Tablo 4.9. Cinsiyete göre trombin jenereasyon testi parametrelerinin karşılaştırması

Değişkenler	Kız (n=132)	Erkek (n=132)	P değeri
Duraklama zamanı (dk)	3,33 (3-3,62)	3,36 (3,28-3,67)	0,265
ETP (nMxdakika)	2260 (1877-2587)	2257,5 (1787,5-2583)	0,766
Pik yükseklik (nM)	420,32 (366,95-504,57)	408,02 (336,46-504,57)	0,759
Pik zaman (dakika)	6,25 (5,34-6,67)	6,51 (5,62-6,98)	0,304
Kuyruk başlangıç zamanı (dk)	21 (20-23)	21,50 (20-23)	0,989

ETP: endojen trombin potansiyeli

4.8. Korelasyon Analizleri

Tüm hasta ve kontrol grubunda Hb düzeyi ile duraklama zamanı (r=+0,282, p<0,001) ve pik zamanı (r=+0,283, p=0,001) arasında zayıf güçte pozitif, Hb düzeyi ile pik yükseklik (r=-0,702, p<0,001) ve ETP (r=-0,694, p<0,001) arasında orta güçte negatif korelasyon saptandı. Serum demir düzeyi ile duraklama zamanı (r=+0,198, p=0,023) ve pik zaman (r=+0,181, p=0,038) arasında zayıf güçte pozitif, serum demir düzeyi ile pik yükseklik (r=-0,679, p<0,001), ETP değeri (r=-0,694, p<0,001) arasında orta güçte negatif korelasyon saptandı. Ferritin ile duraklama zamanı (r=+0,232 p=0,008) ve pik zamanı (r=+0,282, p=0,001) arasında zayıf güçte pozitif, ferritin düzeyi ile pik yükseklik (r=-0,706, p<0,001) arasında güçlü, ETP (r=-0,686, p<0,001) ile arasında orta güçte negatif korelasyon saptandı. Fibrinojen ile duraklama zamanı ve pik zamanı pik yükseklik ve ETP arasında korelasyon saptanmadı (p>0,05, hepsi için). PT süresi ile duraklama zamanı, pik zamanı, pik yükseklik ve ETP arasında korelasyon saptanmadı (p>0,05). aPTT süresi ile duraklama zamanı (r=+0,176, p=0,046) arasında zayıf güçte pozitif korelasyon saptandı. aPTT süresi ile pik zamanı, pik yükseklik, ETP ve kuyruk başlangıç zamanı arasında korelasyon saptanmadı (p>0,05). Korelasyon analizi sonuçları Tablo 4.10'de gösterildi.

Tablo 4.10. Tüm grupta (sağlıklı ve hasta), bakılan ilk tam kan, demir parametreleri ve geleneksel koagülasyon tetkikleri ile TGA parametrelerinin korelasyon analizi

Değişkenler	**Duraklama zamanı**	**ETP**	**Pik yükseklik**	**Pik zamanı**	**Kuyruk başlangıç zamanı**
Hb (g/dL)	**r:+0,282**	**r:-0,694**	**r:-0,702**	**r:+0,283**	r:-0,134
	p=0,001	**p<0,001**	**p<0,001**	**p=0,001**	p=0,125
Serum demiri (µg/dL)	**r:+0,198**	**r:-0,694**	**r:-0,679**	**r:+0,181**	r:-0,129
	p=0,023	**p<0,001**	**p<0,001**	**p=0,038**	p=0,141
Ferritin (µg/mL)	**r:+0,232**	**r:-0,686**	**r:-0,706**	**r:+0,282**	r-0,178
	p=0,008	**p<0,001**	**p<0,001**	**p:0,001**	p=0,051
Fibrinojen (mg/dL)	r:+0,099	r:+0,015	r:-0,015	r:+0,057	r:+0,001
	p=0892	p=0,868	p=0,868	p=0,515	p=0,993
PT (sn)	r:+0,058	r:-0,034	r:+0,004	r:-0,009	r:+0,001
	p=0,507	p=0,702	p=0,964	p=0,920	p=0,994
aPTT (sn)	r:+0,176	r:-0,023	r:-0,081	r:+0,158	r:+0,094
	p=0,05	p=0,795	p=0,359	p=0,071	p=0,283
INR (sn)	r:+0,151	r:-0,089	r:-0,080	r:+0,072	r:+0,027
	p=0,084	p=0,313	p=0,363	p=0,411	p=0,76

Hb: hemoglobin, PT: protrombin zamanı, aPTT: aktive parsiyel tromboplastin zamanı, INR: uluslararası normalleştirme oranı,

5.TARTIŞMA

Demir eksikliği çocukluk çağının en sık karşılaşılan nutrisyonel eksikliği olup, çocukluk çağında görülen aneminin en sık nedeni DEA'dır. DEA'nın dünyadaki prevalansının yaklaşık %32,9 olduğu tahmin edilmektedir (47). Türkiye'de DEA prevalansının hastaneye başvuran çocuklarda %15,2 ile %62,5 arasında değiştiği bildirilmiştir. Çocuklarda en sık görüldüğü yaş aralığı 6-24 ay arasındaki süt çocukluğu dönemindeki çocuklar ve ergenlik dönemindeki çocuklardır (55).

Demir eksikliğinini erken evrelerinde anemi görülmezken, geç evresinde tipik labaratuvar bulguları (serum demirinde azalma, demir bağlama kapasitesinde yükselme, ferritinde azalma) ile birlikte anemi gelişir. Kan sayımında Hb, MCV değeri –2 SD'nin altında, RDW değeri ise yüksek saptanır (132, 133). Çalışmamızda Hb, MCV, serum demiri ve ferritin düzeyi kontrol grubunun değerlerinden düşük, RDW ve serum demir bağlama kapasitesi ise kontrol grubunun değerlerinden yüksek idi (Tablo 4.1.). Baker ve ark. (135)'ı, 0-3 yaş arası çocuklarda yaptığı çalışmada hafif anemisi olanlarda (Hb ≥ 9 gr/dl) demir tedavisinden bir ay sonra Hb değerinde en az 1 gr/dl, orta-ağır anemisi olan hastalarda (Hb<9 gr/dl) ise tedaviden iki hafta sonra Hb değerinde en az 1 gr/dl artış olduğunu göstermiştir. Şener ve ark. (136)'ın 0-6 yaş arası DEA'sı olan çocuklarda yaptığı çalışmada Hb, MCV, MCHC, RDW değerlerinde tedavinin 1. ayında istatistiksel olarak düzelme olsa da normal değerlere 3. ayda ulaşıldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda 65 hastada Hb düzeyinin tedavinin 1. ayında normale döndüğü, MCV, MCH, RDW değerlerinde istatistiksel olarak düzelme olsa da yaş grubuna göre normal değerlere ulaşmadığı gözlendi.

Uzun yıllar önce DEA ile hemiparezi ve afazi arasındaki ilişki olduğu öne sürülmüş ve DEA ile trombotik komplikasyonların birlikteliği vurgulanmıştır. Ancak tromboza yetkınlığın nedeni aydınlatılamamıştır. En çok üzerinde durulan neden trombositozdur. Yapılan birçok çalışmada DEA'ya trombositozun eşlik ettiği gösterilmiştir (7,12,97). Trombositozun nedeninin kemik iliğindeki megakaryositer serideki artışa bağlı olduğu düşünülmekte ve DEA'da oluşan trombositoz 'reaktif trombositoz' olarak tanımlanmaktadır. Trombosit sayısının 450.000/mm^3'ün üzerinde olması trombositoz olarak kabul edilmiştir (137, 138). Schloesser ve ark. (139)'ı, 46 DEA tanılı hastada trombositoz sıklığının sağlıklı gruba göre 2 kat yüksek olduğunu

ve ortalama trombosit sayısının 499.000/mm^3 olduğunu göstermişlerdir. Kasper ve ark. (140)'ı ise DEA tanılı 100 hastayı değerlendirdikleri prospektif çalışmada hastaların %50'sinin trombosit sayısının 400.000/mm^3'ün üzerinde olduğunu, hastaların %7'sinin trombosit sayısının 1.000.000/mm^3'ün üzerinde olduğunu göstermişlerdir. Song ve ark. (99)'ı yaptıkları retrospektif çalışmada, DEA tanılı 34.511 hastada trombositoz oranını %32,6 olarak bildirilmişlerdir. Dabsch ve ark. (141)'ı, 26 DEA tanılı hastada demir tedavisi sonrası 6. haftada trombositozun tamamen düzeldiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda hasta grubunda trombositoz oranı %30,6 olup, bu oran literatür ile uyumlu bulundu. DEA grubunun trombosit sayısı, kontrol grubunun trombosit sayısından istatistiksel açıdan anlamlı şekilde yüksekti ve tedavinin 1. ayında trombosit sayısı kontrol grubu ile benzere değerlere dönmüştü (Tablo 4.3.).

Demir eksikliği anemisi tanılı hastalarda görülen trombositozun klinik olarak asemptomatik seyrettiği bildirilse de literatürde tromboz geliştiği bildirilen olgu sunumları ve bazı çalışmalar olduğu görülmektedir. Yirmi dokuz yaşındaki trombositozu olan DEA tanılı hastada santral retinal ven trombüsü geliştiği, demir replasman tedavisi sonrasında trombosit sayısının hızla düştüğü ve normale döndüğü, santral retina ven trombüsünün tekrarlamadığı (145), serebral ven trombozu olan 22 aylık hastada ağır DEA ve trombositoz olduğu (146), 44 yaşındaki DEA tanılı bir kadın hastada karotis arter trombüsü olduğu (147), üç yaşında DEA tanılı bir çocuk hastada serebral vende trombüs geliştiği gösterilmiştir (148). Makhija ve ark. (144)'ı, Hindistan'da yapılan bir çalışmada serebral ven trombozu gelişen ve etyolojisi aydınlatılamayan çocuk hastaların %66,5' inde DEA olduğunu ve serebral enfarktüs ile demir eksikliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Trombositozu olmayan DEA hastalarında da tromboz gelişebildiği bildirilmiştir. Roshal ve ark. (149)'ı karotis arter trombüsü olan 41 yaşındaki hastada tromboz için DEA dışında bir risk faktörü olmadığını ve trombosit sayısının normal olduğunu, Kinoshita ve ark. (150)'ı benzer şekilde trombositozu olmayan serebral ven trombozu gelişen iki hasta bildirimişlerdir. Literatürde bildirilen çalışma ve vakalardan anlaşıldığı üzere DEA'da trombositoz dışında başka faktörler de hiperkoagülobilite gelişiminde rol oynamaktadır.

Demir eksikliği anemisinde artmış oksidatif stres, trombosit agregasyonu

Tekin ve ark.(9), artmış trombosit yaşam süresi, artmış trombosit adhezyon ve agregasyonu (152, 153), trombosit şekil ve morfolojisindeki değişiklikler (154), eritrosit morfolojisindeki değişiklikler, artmış kan viskositesi, hipoksi nedeni ile artmış kan akımı ve endotel hasarı gibi nedenler tromboz oluşumuna katkısı olduğu düşünülen diğer faktörlerdir (155, 158). Bunlara ek olarak yakın zamanda yapılan bir çalışmada DEA'lı hastalarda demir replasmanı öncesinde trombin reseptörü ile aktive olan protein-6 ile indüklenen trombosit agregasyonu ve adenozin difosfat (ADP) ile uyarılan P-selektin (CD62P) ekspresyonunun tedavi sonrasına göre belirgin yüksek olduğu (141), bir başka çalışmada da artmış transferrin düzeyinin trombin/FXIIa ile etkileşemie girerek antikoagülan bir protein olan antitrombinin aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (156).

Literatürde trombositozu olmayan hastalarda da trombotik olayların bildirilmiş olması ve trombosit ile ilgili faktörlerin dışındaki başka mekanizmaların da hiperkoagülobilitenin gelişiminde rol oynamasının mümkün olduğu göz önüne alınarak çalışmamızda trombositlerin etkisini mümkün olabildiği kadar elimine ettikten sonra halen hiperkoagülobiliteye yatkınlığın olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Bu nedenle çalışmamızda aldığımız kan örneklerini santrifüj ederek trombositleri plazmadan uzaklaştırdıktan sonra kalan plazma örneklerinden trombin jenerasyon testi ölçümlerini gerçekleştirdik. Hasta grubunda kontrol grubuna göre duraklama zamanı ve pik zamanının kısa olduğunu, ETP ve pik yükseklik değerlerindin ise yüksek oldıuğunu, kuyruk başlangıç zamanının ise benzer olduğunu gösterdik (Tablo 4.2.) Bu sonuçlar DEA'sı olan çocukların TGA testinde hiperkoagülobilite yönünde değişiklikler olduğunu desteklemektedir.

Duraklama zamanı, trombin formasyonunun başladığı zamanı gösterir. Çalışmamızda hasta grubunda tedavi öncesi duraklama zamanı kontrol grubuna anlamlı düzeyde düşüktü. Hasta grubunda tedavi sonrası 1. ay duraklama zamanı ile kontrol grubunun değerleri arasında fark yoktu. Ek olarak tedavi sonrası Hb düzeyi normale dönmeyen yedi hastada da duraklama zamanı tedavi sonrasında tedavi öncesine göre analmalı şekilde uzamış bulundu. İstasitiksel karşılaştırma yapamamış olsak da bu hastalarda tedavi sonrası duraklama zamanı ortanca değeri kontrol grubu ile benzerdi. Nashashibi ve ark. (163)'ları, 82 DEA tanılı erişkin hastada yaptığı çalışmada, tedavi sonrası duraklama zamanının tedavi öncesi değerler ile benzer

olduğunu ve demir tedavisi ile duraklama zamanının değişmediğini, duraklama zamnının FVIII aktivitesinden etkilenmediğini bildirmişlerdir (164). Duraklama zamanı üzerine FXI'in de etkisi olduğu, fibrinojen düzeyi ile değişmediği, melatonin gibi bir çok ilaç ile de etkilenebildiği gösterilmiştir (5, 161, 163).

Endojen trombin potansiyeli, koagülasyon kaskadı sırasında oluşan trombinin miktarını gösterir. Hiperkoagülobilite durumunda ETP değerinde yükselme olması beklenir. Çalışmamızda hasta grubunun tedavi öncesi ETP değerinin tedavi sonrası değerlerine göre yüksek olduğunu, tedavi sonrası değerlerinin ise kontrol grubu ile benzer seviyelere geldiğini, Hb düzeyi normale gelmeyen hastalarda tedavi sonrası değerlerin tedavi öncesi değerlere göre anlamlı şekilde azaldığını gösterdik (Tablo 4.4., 4.6., 4.8.). Pik zamanı, pik trombin düzeyine ulaşılması için geçen zamanı, pik yükseklik ise trombinin maksimum konsantrasyonu gösterir. Çalışmamızda, hasta grubunda tedavi öncesine göre tedavi sonrası pik zamanının uzadığı, pik yüksekliğin azaldığı ve bu değerlerin kontrol grubu ile benzer seviyelere geldiğini, Hb düzeyi normale gelmeyen hastalarda tedavi sonrası pik yükseklik değerinin azaldığını ve pik zamanının uzadığını gösterdik (Tablo 4.4., 4.6., 4.8.). Duraklama ve pik zamanında kısalma, ETP ve pik yükseklikte artış olması DEA'sı olan çocuklarda TGA testinde hiperkoagülobilite bulgularının olduğunu göstermektedir. Trombositten fakir plazmada trombin oluşumunun artmış olması, plazma kaynaklı koagülasyon faktörlerinin hiperkagülobilite oluşumunda rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Trombin oluşum basamaklarında koagülasyon faktörleinin karşılıklı etkileşimi söz konusudur. Faktör XI, XII, XIII eksikliğine bağlı hipokoagülasyonu göstermede ve faktör replasmanı sonrasında düzelmeyi göstermede ETP, pik yükseklik ve pik zamanının duyarlı olduğu gösterilmiştir (160, 164, 165). Duchemin ve ark. (164)'ları düşük doku faktörü kullanılarak yapılan TGA tetkiklerinde FXI hariç tüm faktörlerin; yüksek doku faktörü kullanılarak yapılan TGA tetkiklerinde ise tüm ekstrensek koagülasyon kaskadındaki faktörlerin TGA parametrelerini (duraklama zamanı, ETP, pik trombin yüksekliği) etkilediğini göstermiştir. Metze ve ark. (162)'ları FXa inhibitörü alan hastalarda duraklama zamanında uzama, ETP ve pik yükseklik değerlerinde azalma olduğunu, Omarova ve ark. (127)' ları normal plazmaya FVIII ve FXI antikoru eklediklerinde duraklama zamanında uzama ve ETP değerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Feugray ve ark. (158)'ı 54 tane FXII

eksikliği, 23 tane FVIII eksikliği olan hasta ile 25 tane sağlıklı bireyin trombogram testini kıyasladıkları çalışmalarında; FXII eksikliği olup kanama öyksü olan hastaların TGA parametreleri (ETP ve pik yükseklik) FXII eksikliği olup arteriyel trombüs hikayesi olanlara göre daha düşük olduğunu ve aPTT değerinin de beklenildiği gibi kanama öyküsü olanlarda daha yüksek olduğunu, FVIII eksikliği olan grubun ETP ve pik yükseklik değerlerinin FXII eksikliği olanlara göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Bunların tersine Young ve ark. (161)'ları kalıtsal afibrinojenemisi olan 4 hastada fibrinojen konsantresi replasmanı öncesi ve sonrasında TGA parametrelerinde değişiklik olmadığını, tümünün normal olduğunu göstermişlerdir.

Demir eksikliği anemisinde kaogülasyon faktörlerinde nasıl değişiklikler olduğu tam olarak bilinmemektedir. Literatürde bu konu ile ilgili yapılmış iki araştırmada, DEA'sı olan hastalarda FVIII aktivitesinin tedavi sonrasında düştüğünü gösteren sonuçlar bulunmaktadır. Özsoylu ve Gürsel (166) yaptıkları çalışmada, DEA'lı çocuklarda yükselmiş FVIII aktivitesinin demir tedavisi sonrasında azaldığını göstermişlerdir. Nashashibi ve ark. (163)'ları DEA'sı olan erişkin hastalarda yaptıkları çalılşmada demir tedavisi sonrası FVIII aktivitesinin tedavi öncesi değerlere %9,6 oranında göre azaldığını, FVIII'in trombin oluşumunun hızlanması aşamasında pozitif geribildirim ile trombin amplifikasyonunu arttırdığını ve böylelikle ETP ve pik yükseklikte artışın gerçekleştiğini, tedavi sonrasında FVIII aktivitesindeki düşüş ile ilgili olarak ETP ve pik yüksekliğin azaldığını ve pik zamanının uzadığını ileri sürmüşlerdir. Çalışmacılar, demir tedavisi sonrasında FVIII aktivitesindeki azalmanın demir depoları ile FVIII arasında bir nedensellik ilişkisine bağlamışlardır. Campillos ve ark. (167), hayvan çalışmalarında demir yanıt elemanlarının etkisi ile FVIII transkripsyonunun düzenlediğini göstermişler ve DEA'lı hastalarda FVIII'deki artışın bu yol ile gerçekleştiğini ileri sürmüşlerdir. Trombogram parametrelerinin hiçbirinin hemoglobin veya ferritin düzeylerindeki değişiklikle istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterememişlerdir. Aynı çalışmada hasta grubunun demir tedavi sonrası hemoglobin düzeyindeki artışa göre iki gruba (Hb >1 gr/dl ve Hb >2gr/dl) ayırmışlardı. Her iki grup için de Hb değeri ile TGA parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadğını gösterdiler. Bu sonuçlar aneminin düzelme hızı ile TGA parametrelerinin düzelme hızı arasında ilişki olmadığı hakkında bilgi sağlamıştır. Çalışmamızda, Hb ile duraklama ve pik zamanı arasında pozitif, ETP ve

pik yükseklik arasında negatif yönde korelasyon olduğunu bulduk. Hb düzeyi normale dönmeyen hastalarda da hiperkoagülobilite indekslerinde düzelme olması aneminin düzelme hız ile trombogramdaki düzelme ile parallelik olmadığını desteklemektedir. Diğer yandan Hb düzeyi normale dönmese bile hastaların demir tedavisi alıyor olması, hiperkoagülobilitenin düzelmesinde etkili gibi görünmektedir.

Çalışma sonuçlarımız serum demir ve ferritin düzeyi ile duraklama ve pik zamanı arasında pozitif, ETP ve pik yükseklik arasında negatif yönde korelasyon olduğunu, kuyruk zamanı ile aralarında korelasyon olmadığını göstermiştir (Tablo 4.10.). Serum demir ve ferritin ile trombin miktarını gösteren ETP arasındaki ilişki demir eksikliğinde artan transferrin ile ilişkili olabilir. Transferrinin demir transportu dışında koagülan sistemin düzenlenmesinde de rol oynadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Demir eksikliğine adaptasyon mekanizmaları, serum ferritin düzeylerinin ve transferrin satürasyonunun azalmasına yol açan hepatik hormon hepsidin'in baskılanmasıyla ilişkilidir. Demir seviyelerinin azalması transferrin sentezinin artışını tetikler. Artan transferrin seviyeleri ile ilişkili olarak transferrin satürasyonu azalır (99). Hipoksi ile uyarılabilen faktör 1 (Hipoksi Inducible Faktör; HIF-1), hipoksi durumuda transferrin geninde bulunan ona ait bağlayıcı bölgelere bağlanarak transferrin genini yukarı regüle eder (99,168). Transferrinin, FXIIa/trombinin etkileşimini güçlendirdiği ve pıhtılaşma proteazlarının antitrombin tarafından inaktivasyonunu bloke ederek hiperkoagülobiliteyi indüklediği gösterilmiştir (99, 156). Bu bilgiyi destekler şekilde fare modelinde, transferrinin aşırı ekspresyonunun aterosklerozu şiddetlendirirken, transferrin inhibisyonu, antitransferrin antikoru veya transferrin-trombin/FXIIa etkileşimlerine müdahale eden tasarlanmış peptitler ile tedavinin aterosklerozu hafiflettiği gösterilmiştir (156). Bugüne kadar, transferrinin pıhtılaşma ve ateroskleroz ile ilişkili olup olmadığı belirsizliğini korumaktadır. Daha önce yapılan bazı çalışmalardada enflamasyon ve kardiyovasküler hastalıkta azalan transferrin seviyesi (156, 169), bazı çalışmalarda kardiyovasküler hastalıklarda artan transferrin seviyeleri bildirilmiştir (156, 170,171). Tang ve ark. (156)'larının yaptığı çalışmada aterosklerotik insan plazmasında yükselmiş transferrin düzeylerinin trombin ve FXIIa'nın artmış enzimatik aktivitesi ve prokoagülan durum ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışma, transferrinin pıhtılaşma dengesini korumak için fibrinojen, trombin, FXIIa ve antitrombin ile farklı afinitelerle

doğrudan etkileşime girdiğini göstermiştir. Bu bulgular transfrerrinin demir transportu dışında koagülan sistem de de rolü olduğunu düşündürmektedir.

Demir eksikliği, mitokondriyal solunumu, solunum zinciri kompleks mekanizmasını ve membran potansiyelini azaltırark oksidan-antioksidan sistemi etkilemektedir (172). Şiddetli anemik eritrositlerin normal hücrelere göre daha fazla oksidatif strese maruz kaldığı, artmış hemoglobin otooksidasyonu ve ardından reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunun kısa eritrosit ömrü ve anemi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (173). Eritrositlerin ömrünün kısalması, aneminin giderek ağırlaşmasına ve oksidatif stresin daha da şiddetlenmesine neden olur. Anemik hastada artmış oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu (174-176), glutatyon peroksidaz dahil antioksidan enzimlerde tükenmeye ve sonuçta antioksidan kapasitede azalmaya neden olur (177-179). Daha önce yapılan az sayıda çalışmada DEA'da oksidatif stresi arttığı gösterilmiştir. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada da DEA'lı çocuklarda oksidatif stresin arttığı, antioksidan kapasitenin azaldığı, oksidatif stres ile tromboelastografide hiperkoagülobilitenin göstergesi olan indeksler arasında ilişki olduğu gösterilmişti (11). Oksidatif stres ile hiperkoagülobilite ilişkisi birkaç mekanizma ile açıklanabilir. Oksidatif stres ile artan lipid peroksidasyon ürünleri platelet ve endotelyal hücrelerin aktivasyonu yolu ile ve koagülasyon proteinlerinde değişikliğe yol açıp onların fonksiyonunu bozarak hemostazı bozabilir. Lipid peroksidasyon ürünleri ayrıca fibrinojende oksidatif fosoforilasyona neden olarak fibrin pıhtılarının plazmin tarafından parçalanmasına karşı azalmış duyarlılığına neden olur (180). Bu bulgular lipid peroksidasyonunun çoklu pıhtılaşma proteinlerinin işlevini değiştirebileceğini ve oksidatif stres ile ilişkili hiperkoagülobilite durumuna katkıda bulunabileceğini göstermektedir (181). Ek olarak, dolaşımdaki artan oksidatif yük, trombositleri pro-yapışkan ve pro-agregatör fenotipten sorumlu proaktif bir ortama maruz bırakır ve bu da tromboembolik yatkınlığa yol açar (182). Aktive olan trombositler, tenaz (FIXa ve FVIIIa) ve protrombinaz (FXa ve Fva) komplekslerinin bağlanması için önemli bir alan sağlayarak (183) ve trombüs oluşumuna doğrudan katılarak trombin oluşumunu hızlandırır. Dolayısı ike TGA testinde göstermiş olduğumuz hiperkoagülobilitenin bir nedeninin de DEA'da artan oksidatif stres olması muhtemeldir.

Tripodi (106)'nin yayınladığı bir derlemede işaret ettiği gibi geleneksel koagülasyon testleri hiperkoagülabiliteyi göstermekte yetersizdir. Balci ve ark.

(185)'ları DEA'sı olan ve serebral ven trombüsü geçiren hastalarda koagülasyon tetkiklerinin normal olduğunu, Özdemir ve ark. (11)'ları DEA'sı olan çocuk hastalarda koagülasyon tetkiklerinin normal olduğunu bildirmişlerdir. Chao ve ark. (185)'ları DEA'sı olan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası koagülasyon testlerinin benzer olduğunu ve kanama zamanında düzelme olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda hasta grubunun TGA testinde hiperkoagülobilite yönünde değişiklikler olmasına rağmen, geleneksel koagülasyon tetkilerinde (PT, aPTT, INR, fibrinojen) hem tedavi öncesinde hem de tedavi sonrasında analmalı bir değişiklik olmadığı gibi, TGA testi parametreleri ile koagülasyon testleri arasında korelasyon gösteremedik.

Çalışmamızda, tüm çalışma grubunda kız ve erkeklerde TGA paramtrelerinin benzer olduğu ve istatistiksel açıdan farklılık olmadığı saptandı. Marchi ve ark. (162)'larının yaptığı çalışmada da TGA parametrelerinin cinsiyete göre farklılık göstermediği bildirilmiştir. Smid ve ark. (186)'ları tanı anı, 4. gün, 3.ay ve 6.ayda TGA testini çalıştıkları miyokard enfarktüsü geçirmiş 135 hastada tanı anında hiperkoagülabiliteye eğilimi olduğunu tedavi sonrasında ise kademeli olarak normale döndüğünü, ancak hem tanı anı ve hem tedavi sonrası TGA parametrelerinin cinsiyete göre değişmediğini göstermişlerdir.

Sonuç olarak; DEA'sı olan çocuklarda TGA testinde hiperkoagülobilite yönünde değişiklikler olmakta ve bir aylık demir tedavisi ile bu değişiklikler normale dönmektedir. Hemoglobin düzeyi normale gelmese bile hiperkoagülabilite parametrelerinde düzelme olmaktadır. DEA'da hiperkoagülobilitenin etiyolojisinin aydınlatılması için koagülasyon faktörlerinin aktivitelerinin ölçümünü içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaya 01.07.2021-01.01.2022 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji polikliniğine başvuran, DEA tanısı konulan 72 çocuk ve 60 sağlıklı çocuk alınmıştır. Hasta grubundan tanı anında ve ve 1 aylık tedavi sonunda TGA testi çalışılarak kontrol grubu ile kıyaslanmıştır.

1. Hasta grubunun 39'u kız (%54,2), 33'ü (45,8) erkek cinsiyette olup ortalama yaşları 8,98±5,59 yıl, kontrol grubundaki çocukların 33'ü kız (%55), 27'si erkek (%45) olarak saptandı.
2. Hasta grubunun Hb, MCV, MCH, serum demir düzeyi, transferrin satürasyonu, ferritin düzeyi kontrol grubunun değerlerinden düşük ($p<0,001$, hepsi için), platelet sayısı ve TDBK kontrol grubundan yüksekti ($p=0,003$, $p<0,001$, sırasıyla)
3. Hasta ve kontrol grubu arasında PT, aPTT, INR, fibrinojen değerleri açısından farklılık bulunmadı ($P>0,05$).
4. Hasta grubunun tanı anı ortalama Hb düzeyi 9,6±0,99 gr/dl iken tedavinin 1. ayında 11,47±0,98 gr/dl'ye yükseldi.
5. Hasta grubunun tanı anı serum demiri 19(13,5-23) mg/dL, TDBK'sı 472,5(438-498,5) mg/dL, transferrin satürasyonu %6,69(4,14-10,55), ferritin düzeyi 8,79 (5,06-11,6) mg/mL iken, bir aylık tedavi sonrasında bu değerler anlamlı derecede düzeldi ($p<0,001$, hepsi için).
6. Hasta grubunun tanı anı ortanca duraklama zamanı [3,33 (3-3,62) dk] kontrol grubunun değerinden [3,62 (3,28-3,95) dk] istatistiksel olarak anlamlı olarak düşüktü ($p=0,007$). Bir aylık tedavi sonrasında duraklama zamanı kontrol grubu ile benzere değerlere döndü. Duraklama zamanı ile Hb, serum demir ve ferritini arasında pozitif yönde korelasyon saptandı.
7. Hasta grubunun tanı anı ortalama ETP değeri [2579 (2286-2952,5) nM x dakika] kontrol grubunun değerinden [1807(1698-1980) nM x dakika] istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Bir aylık tedavi sonrasında kontrol grubu ile benzere değerlere döndü. ETP ile Hb, serum demir ve ferritini arasında negatif yönde korelasyon saptandı.

8. Hasta grubunun tanı anı ortanca pik zamanı [5,96 (5,38-6,62) dk], kontrol grubu değerine [6,63 (5,5-7,29) dk] göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kısaydı. Bir aylık tedavi sonrasında kontrol grubu ile benzere değerlere döndü. Pik zamanı ile Hb, serum demir ve ferritini arasında pozitif yönde korele olarak değiştiği gözlendi.
9. Hastaların tanı anı ortanca pik yükseklik değeri [498,07(448,19-529,03) nM] kontrol grubunun değerinden [348,48 (316,83-376,51) nM] istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Bir aylık tedavi sonrasında kontrol grubu ile benzere değerlere döndü. Hb, serum demir ve ferritini arasında ile negatif yönde korelasyon saptandı.
10. Hasta grubunun tanı anı kuyruk başlangıç zamanı kontrol grubu ile benzerdi. Bir aylık tedavi sonrasında anlamlı değişiklik olmadı.
11. İki cinsiyet arasında TGA parametreleri açısından farklılık yoktu (P>0,05).
12. DEA tanısı konulan çocuklarda TGA testi parametrelerinde hiperkoagülabilite yönünde değişiklik olduğu, bu değişikliğin geri dönüşümlü olduğu, bir aylık tedavi sonunda normale döndüğü izlendi.
13. Bir aylık oral demir tedavi sonrasında 65 hastanın anemisi düzelirken 7 hastanın anemisi düzelmedi. İki grupta da tedavi öncesi göre tedavi sonrası duraklama zamanının uzadığı, pik yüksekliğin azaldığı, pik zamanının uzadığı, ETP'nin azaldığı tespit edildi.
14. TGA testi parametrelerindeki düzelme hemoglobin düzeyinden bağımsızdı.
15. DEA'sı olan çocuklarda hiperkoagülobiliteye artmış eğilim bir aylık oral demir tedavisi sonrasında düzelmektedir. Bu nedenle hastalara erken dönemde tanı konulması ve en kısa sürede demir tedavisine başlanması önemlidir. TGA testi temelde doku faktörü ve koagülasyon faktörlerinin karşılıklı etkileşimi ile oluşan trombin ölçümüne dayandığından, hiperkoagülobilitenin nedeninin aydınlatılması için koagülasyon faktörlerini de içeren yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Bishop DF, Henderson AS, Astrin KH. Human δ-aminolevulinate synthase: Assignment of the housekeeping gene to 3p21 and the erythroid-specific gene to the X chromosome. Genomics. 1990;7(2):207-14.
2. Lanzkowsky P, Karayalcin G, Miller F, Lane BP. iron-deficient infants. J Pediatr. 1981;99(4):605-8.
3. Glader B. Iron deficiency anemia. In:Rothman JA, (ed). Nelson textbook of pediatrics. 21th ed. Philedelphia, Elsevier; 2019 :2522-25.
4. Seré KM, Rosing J, Hackeng TM. Inhibition of thrombin generation by protein S at low procoagulant stimuli: implications for maintenance of the hemostatic balance. Blood. 2004;104(12):3624-30.
5. Bauman ME, Cheung PY, Massicotte MP. Hemostasis and platelet dysfunction in asphyxiated neonates. J Pediatr. 2011;158(2):e35-e9.
6. Lawler PR, Filion KB, Dourian T, Atallah R, Garfinkle M, Eisenberg MJ. Anemia and mortality in acute coronary syndromes: a systematic review and meta-analysis. Am Heart J. 2013;165(2):143-53.e5.
7. Tekin D, Yavuzer S, Tekin M, Akar N, Cin S. Possible effects of antioxidant status on increased platelet aggregation in childhood iron-deficiency anemia. Pediatr Int. 2001;43(1):74-7.
8. Imam MU, Zhang S, Ma J, Wang H, Wang F. Antioxidants mediate both iron homeostasis and oxidative stress. Nutrients. 2017;9(7):671.
9. Özdemir ZC, Çolak E, Kar YD, Özen H, Bör Ö. Relationship between oxidant-antioxidant status and hypercoagulobility indices in children with iron deficiency anaemia. Blood Coagul Fibrinolysis. 2021;32(7):451-7.
10. Franchini M, Targher G, Montagnana M, Lippi G. Iron and thrombosis. Ann Hematol. 2008;87(3):167-73.
11. Özdemir ZC, Düzenli Kar Y, Gündüz E, Turhan AB, Bör Ö. Evaluation of hypercoagulability with rotational thromboelastometry in children with iron deficiency anemia. Hematology. 2018;23(9):664-8.

12. Lecut C, Peters P, Massion PB, Gothot A. Is there a place for thrombin generation assay in routine clinical laboratory?. Ann Biol Clin (Paris). 2015;73(2) 137-49.

13. Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, Béguin S. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. Thromb Haemost. 2006;96(5):553-61.

14. Dachary-Prigent J, Toti F, Satta N, Pasquet JM, Uzan A, Freyssinet JM. Physiopathological significance of catalytic phospholipids in the generation of thrombin. Semin Thromb Hemost. 1996;22(2):157-64.

15. Finch CA, Huebers H. Perspectives in iron metabolism. N Engl J Med. 1982;306(25):1520-8.

16. Behrman RE, Vaughan III VC. Development of the Hematopoietic System. Nelson Textbook of Pediatrics: 20th ed. Philedelphia, USA. WB Saunders company;2016;2307

17. Ganz T. Systemic iron homeostasis. Physiol Rev. 2013;93(4):1721-41.

18. Hafen BB, Sharma S. [2018]. Oxygen Saturation [online]: StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430685/ [01/03/2022].

19. Farid Y, Bowman NS, Lecat P. [09/03/2021]. Biochemistry, hemoglobin synthesis. [online]: StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536912/ [11/03/2022].

20. Kim HR, Won SJ, Fabian C, Kang MG, Szardenings M, Shin MG. Mitochondrial DNA aberrations and pathophysiological implications in hematopoietic diseases, chronic inflammatory diseases, and cancers. Ann Lab Med. 2015;35(1):1-14.

21. Chiabrando D, Mercurio S, Tolosano E. Heme and erythropoieis: more than a structural role. Haematologica. 2014;99(6):973-83.

22. Guyton AC, Hall JE. Red Blood Cells, Anemia, and Policytemia. Hall JE, Hall ME. Guyten Hall Textbook of Medical physiology. 14nd ed. Philedelphia, USA. Elsevier; 2021;443-5.

23. Moras M, Lefevre SD, Ostuni MA. From Erythroblasts to Mature Red Blood Cells: Organelle Clearance in Mammals. Front Physiol. 2017;8:1076.

24. Winter WE, Bazydlo LA, Harris NS. The molecular biology of human iron metabolism. Lab Med. 2014;45(2):92-102.

25. Bunn HF. Erythropoietin. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013;3(3): a011619.

26. Liu Y, Pop R, Sadegh C, Brugnara C, Haase VH, Socolovsky M. Suppression of Fas-FasL coexpression by erythropoietin mediates erythroblast expansion during the erythropoietic stress response in vivo. Blood. 2006;108(1):123-33.

27. Granick S, Levere RD Heme synthesis in erythroid cells. Prog Hematol. 1964;4:1-47.

28. Zivot A, Lipton JM, Narla A, Blanc L. Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017. Mol Med. 2018;24(1):11.

29. Kratz A, Ferraro M, Sluss PM, Lewandrowski KB. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Laboratory reference values. N Engl J Med. 2004;351(15):1548-63.

30. Gifford SC, Derganc J, Shevkoplyas SS, Yoshida T, Bitensky MW. A detailed study of time-dependent changes in human red blood cells: from reticulocyte maturation to erythrocyte senescence. Br J Haematol. 2006;135(3):395-404.

31. Crosby WH. Normal functions of the spleen relative to red blood cells: a review. Blood. 1959;14(4):399-408.

32. Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. Int J Biochem Cell Biol. 2001;33(10):940-59.

33. Rodgers GM, Gilreath JA. The Role of Intravenous Iron in the Treatment of Anemia Associated with Cancer and Chemotherapy. Acta Haematol. 2019;142(1):13-20.

34. Gómez-Ramírez S, Bisbe E, Shander A, Spahn DR, Muñoz M. Management of perioperative iron deficiency anemia. Acta Haematol. 2019;142(1):21-9.

35. Gafter-Gvili A, Schechter A, RozenZvi B. Iron deficiency anemia in chronic kidney disease. Acta Acta Haematol. 2019;142(1):44-50.

36. Gürsel O,Eker İ, Kürekçi AE. Demir Metabolizması ve Bozuklukları.Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi.2015;9(1):71-7.

37. DeLoughery TG. Safety of oral and intravenous iron. Acta Acta Haematol. 2019;142(1):8-12.

38. Ems T, Huecker MR. [26/04/2021] Biochemistry, iron absorption [online]. StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448204/ [01/01/2022].

39. Siah CW, Ombiga J, Adams LA, Trinder D, Olynyk JK. Normal iron metabolism and the pathophysiology of iron overload disorders. Clin Biochem Rev. 2006;27(1):5-16.

40. Boumaiza M, Abidi S. Hepcidin cDNA evolution in vertebrates. In: Litwack G, (eds). Vitamins and hormones. Iron Metabolism: Hepcidin. 1st ed. Cambridge: Academic Press; 2019. 1–16.

41. Fuqua BK, Vulpe CD, Anderson GJ. Intestinal iron absorption. J Trace Elem Med Biol. 2012;26(2-3):115-9.

42. Camaschella C, Hoffbrand AV, Hershko C. Iron metabolism, iron deficiency and disorders of haem synthesis.Hoffbrand AV, Higgs DR, Keeling DM, Mehta AB. Postgraduate Haematology. 7nd ed. 2015:21-39.

43. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hediger MA. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. Nature. 1997;388(6641):482-8.

44. Qureshi M, Forouhar F. Hereditary hemochromatosis: Gastrointestinal features. Atlas of Dermatological Manifestations of Gastrointestinal Disease: Springer; 2013;187-8.

45. Assessing the Iron Status of populations. Geneva: World Health Organization; 2004; WHO/ NHD/01.3. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789241596107

46. Oski F, Brugnara C, Nathan DG. A diagnostic approach to the anemic patient.In: Oski F, Brugnara C, Nathan DG (eds). Nathan and Oski's Hematolgy of Infancy and Childhood. 18nd ed. Philedelphia, Elsevier; 2015: 293-303

47. Moe PJ. Normal red blood picture during the first three years of life. Acta Paediatr Scand. 1965;54:69-80.

48. Gairdner D, Marks J, Roscoe JD. Blood Formation in Infancy: Part II.—Normal Erythropoiesis. Arch Dis Child. 1952;27(133):214.

49. Brugnara C, Platt OS. The neonatal erythrocyte and its disorders. In: Oski F, Brugnara C, Nathan DG (eds). Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood. 18nd ed. Philedelphia, Elsevier; 2015:36-66.

50. Gedikoğlu G. Ağaoğlu L. Kan Hastalıkları. In: Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. Cilt 2. 2.B.İzmir: Nobel Tıp Kitapevleri; 1993; 347-63.

51. Lemarchandel V, Joulin V, Valentin C, Rosa R, Galactéros F, Rosa J, Cohen-Solal M. Compound heterozygosity in a complete erythrocyte bisphosphoglycerate mutase deficiency. Blood. 1992;80(10):2643-9.

52. Yazıcı S, Çelik T, Seyrek K. Çocukluk çağında anemi sıklığı. İzmir Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi. 2012;2(1):6-9.

53. Karagün BŞ, Korkmaz Ö, Gürsu AH, Cevit Ö, Solmaz S, Bayram B, Aslan E, Sancakdar E, Cevit R, Özkan F, Özosy İE. Sivas ilinde hastaneye başvuran 1-15 yaş grubu çocuklar arasında anemi prevalansı. Güncel Pediatri. 2014;12(2):67-72.

54. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, Wulf SK, Johns N, Lozano R, Regan M, Weatherall R, Chou DP, Eisele TP, Flaxman SR, Pullan RL, Brooker SJ, Murray CJL. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. Blood. 2014;123(5):615-24.

55. Gökçay G. Kılıç A. Çocuklarda demir eksikliği anemisinin epidemiyolojisi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2000;43:3-13.

56. Özdemir N. Çocuklarda tanıdan tedaviye demir eksikliği anemisi. Türk Pediatri Arşivi. 2015;50(1):11-9.

57. Celep G, Durmaz Z. Çocuklarda Demir Eksikliği ve Demir Eksikliği Anemisi: Tek Merkez Deneyimi. İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2021(13):16-29.

58. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. N Engl J Med. 1999;341(26):1986-95.

59. Berçem İ, İçağasıoğlu D, Cevit Ö, Ergür TA, Berçem G, Gültekin A, Sütçü İ. Sivas' ta 12-18 yaş grubu adolesanlarda demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi prevalansı. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi. 1999;8(1):15-20.

60. Küçük C. Orta Öğretim Çağındaki Kız Sporcularda Demir Eksikliği Anemisi Durumuna Etki Eden Faktörlerin Değerlendirilmesi: Pediatri Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2018.

61. Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care. A guide for health administrators and programme managers. Geneva: World Health Organization; 1989; Available from https://apps.who.int/iris/handle/10665/39849.

62. van Rheenen P. Less iron deficiency anaemia after delayed cord-clamping. Paediatr Int Child Health. 2013;33(2):57-8.

63. Siimes MA, Vuori E, Kuitunen P. Breast milk iron a declining concentration during the course of lactation. Acta Paediatr Scand. 1979;68(1):29-31.

64. Celada A, Busset R, Gutierrez J, Herreros V. No correlation between iron concentration in breast milk and maternal iron stores. Helv Paediatr Acta. 1982;37(1):11-6.

65. Organization WH. Requirements of Vitamin A, Iron, Folate, and Vitamin B12: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation: Food & Agriculture Org.; 1988.

66. Lanzkowsky P. Iron Deficiency Anemia. In: Lanzkowsky P (ed). Manual of pediatric hematology and oncology. 6th ed. Philedelphia, Elsevier; 2005: 69-73

67. Loukas A, Hotez PJ, Diemert D, Yazdanbakhsh M, McCarthy JS, Correa-Oliveira R, Croese J, Bethony JM. Hookworm infection. Nat Rev Dis Primers. 2016;21688.

68. Wilson D. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood 6th ed Philadelphia: WB Saunders Com. 2009:522-42.

69. Yadav D, Chandra J. Iron deficiency: beyond anemia. Indian J Pediatr. 2011;78(1):65-72.

70. Osman YM, Wali YA, Osman OM. Craving for ice and iron-deficiency anemia: a case series from Oman. Pediatr Hematol Oncol. 2005;22(2):127-31.

71. Haoui R, Gautie L, Puisset F. Pica: a descriptive study of patients in a speciality medical center. Encephale. 2003;29(5):415-24.

72. Özdemir N. Iron deficiency anemia from diagnosis to treatment in children. Türk Pediatri Arsivi. 2015;50(1):11-9.

73. Amin SB, Orlando M, Wang H. Latent iron deficiency in utero is associated with abnormal auditory neural myelination in ≥ 35 weeks gestational age infants. J Pediatr. 2013;163(5):1267-71.

74. Algarín C, Peirano P, Garrido M, Pizarro F, Lozoff B. Iron deficiency anemia in infancy: long-lasting effects on auditory and visual system functioning. Pediatr Res. 2003;53(2):217-23.

75. Parkin PC, Koroshegyi C, Mamak E, Borkhoff CM, Birken CS, Maguire JL, Thorpe KE. Association between serum ferritin and cognitive function in early childhood. J Pediatr. 2020;217:189-91. e2.

76. Pasricha SR, Hasan MI, Braat S, Larson LM, Tipu SMM, Hossain SJ, et al. Benefits and Risks of Iron Interventions in Infants in Rural Bangladesh. N Engl J Med. 2021;385(11):982-95.

77. Zehetner AA, Orr N, Buckmaster A, Williams K, Wheeler DM. Iron supplementation for breath-holding attacks in children. Cochrane Database Syst Rev. 2010(5):Cd008132.

78. Dosman C, Witmans M, Zwaigenbaum L. Iron's role in paediatric restless legs syndrome a review. Paediatr Child Health. 2012;17(4):193-7.

79. Kahraman SS. Çocuklarda demir eksikliği anemisi ve tedavisi. Eczacılık Ana Bilim Dalında Uzmanlık Tezi. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Erciyes, 2011.

80. Bermejo F, García-López S. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. World J Gastroenterol. 2009;15(37):4638-43.

81. Kumar V, Choudhry V. Iron deficiency and infection. Indian J Pediatr. 2010;77(7):789-93.

82. Baltimore RS, Shedd DG, Pearson HA. Effect of iron saturation on the bacteriostasis of human serum: in vivo does not correlate with in vitro saturation. J Pediatr. 1982;101(4):519-23.

83. Means RT. Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia: Implications and Impact in Pregnancy, Fetal Development, and Early Childhood Parameters. Nutrients. 2020;12(2):447.

84. Subramanian S, Viswanathan VK. [25/07/2021]. Osteogenesis Imperfecta [online]. StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536957/ [03.02.2022].

85. Janus J, Moerschel SK. Evaluation of anemia in children. Am Fam Physician. 2010;81(12):1462-71.

86. Serum ferritin concentrations for the assessment of iron status and iron deficiency in populations. World Health Organization; 2011; WHO/NMH/NHD/MNM/11.2. Avaiable from: https://www.who.int/vmnis/indicators/serum_ferritin.pdf

87. Cook JD. Defining optimal body iron. Proc Nutr Soc. 1999;58(2):489-95.

88. Yildiz İ. Demir Eksikliği Anemisi.2009; 44 Özel Sayı:[8-14 pp.].

89. Means RT, Jr. Advances in the anemia of chronic disease. Int J Hematol. 1999;70(1):7-12.

90. Beguin Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. Clin Chim Acta. 2003;329(1-2):9-22.

91. Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. Blood. 1997;89(3):1052-7.

92. Azab SF, Abdelsalam SM, Saleh SH, Elbehedy RM, Lotfy SM, Esh AM, Srea MA, Aziz KA. Iron deficiency anemia as a risk factor for cerebrovascular events in early childhood: a case–control study. Ann Hematol. 2014;93(4):571-6.

93. Henry DH, Dahl NV, Auerbach M, Tchekmedyian S, Laufman LR. Intravenous ferric gluconate significantly improves response to epoetin alfa versus oral iron or no iron in anemic patients with cancer receiving chemotherapy. Oncologist. 2007;12(2):231-42.

94. Benedict SL, Bonkowsky JL, Thompson JA, Van Orman CB, Boyer RS, Bale JF, Jr., Francis M Filloux. Cerebral sinovenous thrombosis in children: another reason to treat iron deficiency anemia. J Child Neurol. 2004;19(7):526-31.

95. Hartfield DS, Lowry NJ, Keene DL, Yager JY. Iron deficiency: a cause of stroke in infants and children. Pediatr Neurol. 1997;16(1):50-3.

96. Shah P, Nguyen D, Berman B. Cerebral Venous Sinus Thrombosis Related to Iron-Deficiency Anemia. Cureus. 2020;12(6):e8917.

97. Kadikoylu G, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. J Natl Med Assoc. 2006;98(3):398.

98. Kim JA, Kim JE, Song SH, Kim HK. Influence of blood lipids on global coagulation test results. Ann Lab Med. 2015;35(1):15-21.

99. Evans DJ, Jackman L, Chamberlain J, Crosdale D, Judge H, Jetha K, K E Norman, S E Francis, R F Storey. Platelet P2Y12 receptor influences the vessel wall response to arterial injury and thrombosis. Circulation. 2009;119(1):116-22.

100. Özdemir ZC, Düzenli Kar Y, Bör Ö. Whole Blood miR-210, miR-122, miR-223 Expression Levels and Their Relationship With Iron Status Parameters and

Hypercoagulability Indices in Children With Iron Deficiency Anemia. J Pediatr Hematol Oncol. 2021;43(3):e328-e35.

101. Tang X, Fang M, Cheng R, Zhang Z, Wang Y, Shen C, Han Y, Lu Q, Du Y, Liu Y, Sun Z, Zhu L, Mwangi J, Xue M, Long C, Lai R. Iron-deficiency and estrogen are associated with ischemic stroke by up-regulating transferrin to induce hypercoagulability. Circ Res. 2020;127(5):651-63.

102. Jimenez K, Leitner F, Leitner A, Scharbert G, Schwabl P, Kramer AM,Krnjic A, Friske J, Helbich T, Evstatiev R, Khare V, Gasche V. Iron deficiency-induced thrombocytosis increases thrombotic tendency in rats. haematologica. 2021;106(3):782.

103. Song AB, Kuter DJ, Al-Samkari H. Characterization of the rate, predictors, and thrombotic complications of thrombocytosis in iron deficiency anemia. Am J Hematol. 2020;95(10):1180-6.

104. Biggs R, Douglas A. The thromboplastin generation test. J Clin Pathol. 1953;6(1):23.

105. Van Veen J, Gatt A, Cooper P, Kitchen S, Makris M. Between-batch variation of calibrator activity can significantly influence fluorogenic measurement of thrombin generation. J Thromb Haemost. 2006;4(11):2514-6.

106. Tripodi A. Thrombin generation assay and its application in the clinical laboratory. Clin Chem. 2016;62(5):699-707.

107. Van Veen J, Gatt A, Makris M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? Br J Haematol. 2008;142(6):889-903.

108. Ljungkvist M, Strandberg K, Berntorp E, Chaireti R, Holme PA, Larsen O. H., Lassila R., Jouppila A., Szanto, T., Zetterberg E. Evaluation of a standardized protocol for thrombin generation using the calibrated automated thrombogram: a Nordic study. Haemophilia. 2019;25(2):334-42.

109. Spronk HM, Dielis AW, De Smedt E, van Oerle R, Fens D, Prins MH, Hamulyák K, ten Cate H. Assessment of thrombin generation II: validation of the calibrated automated thrombogram in platelet-poor plasma in a clinical laboratory. Thromb Haemost. 2008;100(08):362-4.

110. Van Veen J, Gatt A, Bowyer A, Cooper P, Kitchen S, Makris M. The effect of tissue factor concentration on calibrated automated thrombography in the presence of inhibitor bypass agents. Int J Lab Hematol. 2009;31(2):189-98.

111. Yan Q, Ninivaggi M, de Laat B, de Laat Kremers RM. Reference values for thrombin dynamics in platelet rich plasma. Platelets. 2021;32(2):251-8.

112. Al Dieri R, Peyvandi F, Santagostino E, Giansily M, Mannucci PM, Schved JF, Béguin S, Hemker HC. The thrombogram in rare inherited coagulation disorders: its relation to clinical bleeding. Thromb Haemost. 2002;88(4):576-82.

113. Keularts IM, Hamulyak K, Hemker H, Béguin S. The effect of DDAVP infusion on thrombin generation in platelet-rich plasma of von Willebrand type 1 and in mild haemophilia A patients. Thromb Haemost. 2000;84(10):638-42.

114. Keularts IM, Zivelin A, Seligsohn U, Hemker HC, Béguin S. The role of factor XI in thrombin generation induced by low concentrations of tissue factor. Thromb Haemost. 2001;85(06):1060-5.

115. Al Dieri R, Wagenvoord R, Van Dedem G, Beguin S, Hemker H. The inhibition of blood coagulation by heparins of different molecular weight is caused by a common functional motif—the C-domain. J Thromb Haemost. 2003;1(5):907-14.

116. Duchemin J, Pittet JL, Tartary M, Béguin S, Gaussem P, Alhenc-Gelas M, Aiach M. A new assay based on thrombin generation inhibition to detect both protein C and protein S deficiencies in plasma. Thromb Haemost. 1994;71(03):331-8.

117. Fargion S, Porzio M, Fracanzani AL. Nonalcoholic fatty liver disease and vascular disease: state-of-the-art. World J Gastroenterol. 2014;20(37):13306.

118. Saibeni S, Saladino V, Chantarangkul V, Villa F, Bruno S, Vecchi M, de Franchis R, Sei C, Tripodi A. Increased thrombin generation in inflammatory bowel diseases. Thromb Res. 2010;125(3):278-82.

119. Fitzgerald J, McMonnies R, Sharkey A, Gross PL, Karkouti K. Thrombin generation and bleeding in cardiac surgery: a clinical narrative review. Can J Anaesth. 2020;67(6):746-53.

120. Billoir P, Le Cam Duchez V, Miranda S, Richard V, Benhamou Y. Thrombin generation assay in autoimmune disease. Rev Med Interne. 2021;42(12):862-8.

121. Indirli R, Ferrante E, Scalambrino E, Profka E, Clerici M, Lettera T, Serban AL, Vena W, Pizzocaro A, Bonomi M, Cangiano B, Carosi G, Mazziotti G, Persani L, Lania A, Arosio M, Peyvandi F, Mantovani G, Tripodi A. Procoagulant Imbalance in Klinefelter Syndrome Assessed by Thrombin Generation Assay and Whole-Blood Thromboelastometry. J Clin Endocrinol Metab. 2021;106(4):e1660-e72.

122. Brunet JG, Sharma T, Tasneem S, Liang M, Wilson MD, Rivard GE, Hayward CPM. Thrombin generation abnormalities in Quebec platelet disorder. Int J Lab Hematol. 2020;42(6):801-9.

123. Rugeri L, Beguin S, Hemker C, Bordet JC, Fleury R, Chatard B, Negrier C, Dargaud Y. Thrombin-generating capacity in patients with von Willebrand's disease. Haematologica. 2007;92(12):1639-46.

124. Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. Jama. 2006;296(4):397-402.

125. Chan P, Tomlinsoin B, Tsai CW, Pan WH, Lee YS. Thrombophilia in patients with hypercholesterolemia. Metabolism. 1996;45(8):966-9.

126. Chan P, Huang TY, Shieh SM, Lin TS, Tsai CW. Thrombophilia in patients with hypertriglyceridemia. J Thromb Thrombolysis. 1997;4(3):425-9.

127. Omarova F, Uitte De Willige S, Ariëns R, Rosing J, Bertina R, Castoldi E. Inhibition of thrombin-mediated factor V activation contributes to the anticoagulant activity of fibrinogen γ′. J Thromb Haemost. 2013;11(9):1669-78.

128. Kim SY, Kim JE, Kim HK, Kim I, Yoon S-S, Park S. Influence of coagulation and anticoagulant factors on global coagulation assays in healthy adults. Am J Clin Pathol. 2013;139(3):370-9.

129. Al Dieri R, De Laat B, Hemker HC. Thrombin generation: what have we learned? Blood reviews. 2012;26(5):197-203.

130. Besser M, Baglin C, Luddington R, van Hylckama Vlieg A, Baglin T. High rate of unprovoked recurrent venous thrombosis is associated with high thrombin-generating potential in a prospective cohort study. J Thromb Haemost. 2008;6(10):1720-5.

131. Ulrich-Möckel NV, Riehle M, Vollert J, Heller G Jr, Störk T, Riess H, Müller C, Frei U, Möckel M. Thrombin activity throughout the acute phase of acute ST-elevation myocardial infarction and the relation to outcome. Biomarkers. 2009;14(5):311-6.

132. Lanzkowsky P. Manual of pediatric hematology and oncology. 6th ed. London, UK: Elsevier; 2016;32

133. Domellof M, Dewey KG, Lonnerdal B, Cohen RJ, Hernell O. The diagnostic criteria for iron deficiency in infants should be reevaluated. J Nutr. 2002;132(12):3680-6.

134. Naiboğlu E, Naiboğlu S, Turan E, Hatipoğlu SS, Akkuş CH. Çocuk Servisinde Yatan Hastaların Demir Eksikliği Anemisi Açısından Araştırılması. Medical Journal of Bakirkoy. 2019;15(3):204-8

135. Baker RD, Greer FR. Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0–3 years of age). Pediatrics. 2010;126(5):1040-50.

136. Şener NB, Fezan Ş. Çocuklardaki demir eksikliği anemisi'nde Fe^{+2} tedavisine laboratuar cevabı. Zeynep Kamil Tıp Bülteni.2004;35(2):85-9.

137. Benderlioğlu E, Gökçebay DG. Demir Eksikliğine Bağlı Reaktif Trombositoz Olgusu. Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi.2021;15(6): 553-209

138. Dan K. Thrombocytosis in iron deficiency anemia. Intern Med. 2005;44(10):1025-6.

139. Schloesser LL, Kipp MA, Wenzel FJ. Thrombocytosis in iron-deficiency anemia. J Lab Clin. 1965;66(1):107-14.

140. Kasper CK, Whissell DYE, Wallerstein RO. Clinical Aspects of Iron Deficiency. JAMA. 1965;191(5):359-63.

141. Kulnigg Dabsch S, Schmid W, Howaldt S, Stein J, Mickisch O, Waldhör T, Evstatiev R, Kamali H, Volf I, Gasche C. Iron deficiency generates secondary thrombocytosis and platelet activation in IBD: the randomized, controlled thromboVIT trial. Inflamm Bowel Dis. 2013;19(8):1609-16.

142. Akan H, Güven N, Ayogdu İ, Arat M, Beksaç M, Dalva K. Thrombopoietic cytokines in patients with iron deficiency anemia with or without thrombocytosis. Acta Haematol. 2000;103(3):152-6.

143. Evstatiev R, Bukaty A, Jimenez K, Kulnigg-Dabsch S, Surman L, Schmid W, Eferl R, Lippert K, Scheiber-Mojdehkar B, Kvasnicka HM, Khare V, Gasche C. Iron deficiency alters megakaryopoiesis and platelet phenotype independent of thrombopoietin. Am J Hematol. 2014;89(5):524-9.

144. Makhija S, Aneja S, Tripathi R, Narayan S. Etiological profile of stroke and its relation with prothrombotic states. Indian J Pediatr. 2008;75(6):579-84.

145. Nagai T, Komatsu N, Sakata Y, Miura Y, Ozawa K. Iron deficiency anemia with marked thrombocytosis complicated by central retinal vein occlusion. Intern Med. 2005;44(10):1090-2.

146. Belman AL, Roque CT, Ancona R, Anand AK, Davis RP. Cerebral venous thrombosis in a child with iron deficiency anemia and thrombocytosis. Stroke. 1990;21(3):488-93.

147. Akins PT, Glenn S, Nemeth PM, Derdeyn CP. Carotid artery thrombus associated with severe iron-deficiency anemia and thrombocytosis. Stroke. 1996;27(5):1002-5.

148. Curatola A, Ferretti S, Gatto A, Valentini P, Lazzareschi I. Iron-deficiency anaemia in childhood: a risk factor for severe venous thrombosis? Paediatr Int Child Health. 2021;42(13):1-5.

149. Roshal D. Embolic Stroke due to a Common Carotid Artery Thrombus in a Young Patient with Severe Iron-Deficiency Anemia without Thrombocytosis. Case Rep Neurol Med. 2016;2016:692030

150. Kinoshita Y, Taniura S, Shishido H, Nojima T, Kamitani H, Watanebe T. Cerebral Venous Sinus Thrombosis Associated With Iron Deficiency Two Case Reports. Neurol Med Chir. 2006;46(12):589-93.

151. Park Y, Schoene N, Harris W. Mean platelet volume as an indicator of platelet activation: methodological issues. Platelets. 2002;13(5-6):301-6.

152. J. Bancroft EA, M. McLaren, JJF Belch, A. Mean platelet volume is a useful parameter: a reproducible routine method using a modified Coulter thrombocytometer. Platelets. 2000;11(7):379-87.

153. Park MJ, Park PW, Seo YH, Kim KH, Park SH, Jeong JH, Ahn JY. The relationship between iron parameters and platelet parameters in women with iron deficiency anemia and thrombocytosis. Platelets. 2013;24(5):348-51.

154. Franchini M, Targher G, Montagnana M, Lippi G. Iron and thrombosis. Ann Hematol. 2008;87(3):167-73.

155. Yager JY, Hartfield DS. Neurologic manifestations of iron deficiency in childhood. Pediatr Neurol. 2002;27(2):85-92.

156. Tang X, Zhang Z, Fang M, Han Y, Wang G, Wang S, Xue M, Li Y, Zhang L, Wu J, Yang B, Mwangi J, Lu Q, Du X, Lai R. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factors. Cell Res. 2020;30(2):119-32.

157. Kılcı C, Olcay L, Özdemir B, Fettah A, Çolak MY. Children with Iron Deficiency Anemia Have a Tendency to Hypercoagulation: An Evaluation by Thromboelastography. Turk J Haematol. 2020;37(1):59-62.

158. Feugray G, Kasonga F, Chamouni P, Barbay V, Fresel M, Hélène Chretien M, Brunel S, Le Cam Duchez V, Billoir P. Factor XII deficiency evaluated by thrombin generation assay. Clin Biochem. 2022;100:42-7.

159. Kasonga F, Feugray G, Chamouni P, Barbay V, Fresel M, Chretien MH, Brunel S, Le Cam Duchez V, Billoir P. Evaluation of thrombin generation assay in factor XI deficiency. Clin Chim Acta. 2021;523:348-54.

160. Pitkänen HH, Jouppila A, Lemponen M, Ilmakunnas M, Ahonen J, Lassila R. Factor XIII deficiency enhances thrombin generation due to impaired fibrin polymerization—An effect corrected by Factor XIII replacement. Thromb Res. 2017;149:56-61.

161. Young GA, Carmona R, Cano Garcia V. Thromboelastography and thrombin generation assay in inherited afibrinogenemia. Haemophilia. 2018;24(6):e410-e6.

162. Marchi R, Marcos L, Paradisi I. Comparison by sex between thrombin generation and fibrin network characteristics in a healthy population. Clin Chim Acta. 2015;441:86-9.

163. Nashashibi J, Avraham GR, Schwartz N, Awni Y, Elias M. Intravenous iron treatment reduces coagulability in patients with iron deficiency anaemia: a longitudinal study. Br J Haematol. 2019;185(1):93-101.

164. Duchemin J, Pan Petesch B, Arnaud B, Blouch MT, Abgrall JF. Influence of coagulation factors and tissue factor concentration on the thrombin generation test in plasma. Thromb Haemost. 2008;99(04):767-73.

165. Metze M, Pfrepper C, Klöter T, Stöbe S, Siegemund R, Siegemund T, Edel E, Laufs U, Petros S. Inhibition of thrombin generation 12 hours after intake of direct oral anticoagulants. Res Pract Thromb Haemost. 2020;4(4):610-8.

166. Ozsoylu S, Gürsel T. Factor VIII procoagulant activity in iron deficiency anemia. J Pediatr. 1980;96(2):287-8.

167. Campillos M, Cases I, Hentze MW, Sanchez M. SIREs: searching for iron-responsive elements. Nucleic Acids Res. 2010;38(suppl_2):W360-W7.

168. Rolfs A, Kvietikova I, Gassmann M, Wenger RH. Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1. J Biol Chem. 1997;272:20055–62.

169. Ahmed, M. S., Jadhav, A. B., Hassan, A. & Meng, Q. H. Acute phase reactants as novel predictors of cardiovascular disease. ISRN Inflamm. 2012; 953461.

170. Tynecka, M. Iron and transferrin in the blood serum of the patients with acute cerebral vascular disease. Neurol. Neurochir. Pol. 1994;28:515–22.

171. Marniemi J, Alanen E, Impivaara O, Seppänen R, Hakala P, Rajala T, Rönnemaa T. Dietary and serum vitamins and minerals as predictors of myocardial infarction and stroke in elderly subjects. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 2015;15:188–97.

172. Erichsen K, Hausken T, Ulvik R, Svardal A, Berstad A, Berge R. Ferrous fumarate deteriorated plasma antioxidant status in patients with Crohn disease. Scand J Gastroenterol. 2003;38(5):543-8.

173. Adams RL, Bird RJ. Review article: coagulation cascade and therapeutics update: relevance to nephrology. Part 1: overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. Nephrology 2009;14:462–70.

174. Roderique EM, Wynands JE. Blood coagulation and haemostasis: a review. Can. Anaesth. Soc. J. 1967;14:129–51.

175. Mann KG, Orfeo T, Butenas S, Undas A, Brummel Ziedins K. Blood coagulation dynamics in haemostasis. Hamostaseologie 2009;29:7–16.

176. Chan AK, Paredes N. The coagulation system in humans. Methods Mol. Biol. 2013;992:3–12.

177. Ganter, M. T. & Spahn, D. R. Active, personalized, and balanced coagulation management saves lives in patients with massive bleeding. Anesthesiology 2010;113:1016–18 .

178. Prinsen BHCMT, Velden MGMS, Kaysen GA, Straver HWHC, Rijn HJMV, Stellaard F, Berger R, Rabelink TJ. Transferrin synthesis is increased in

nephrotic patients insufficiently to replace urinary losses. J. Am. Soc. Nephrol. 2001;12:1017–25.

179. Gkouvatsos K, Papanikolaou G, Pantopoulos K. Regulation of iron transport and the role of transferrin. Biochim. Biophys. Acta 2012;1820:188–202.

180. Vinchi F, Porto G, Simmelbauer A, Altamura S, Passos ST, Garbowski M, Silva AMN, Spaich S, Seide SE, Sparla R, Hentze MW, Muckenthaler MU. Atherosclerosis is aggravated by iron overload and ameliorated by dietary and pharmacological iron restriction. Eur. Heart J. 2019

181. Pang JH, Jiang MJ, Chen YL, Wang FW, Wang DL, Chu SH, Chau LY. Increased ferritin gene expression in atherosclerotic lesions. J. Clin. Investig. 2019;97:2204–12.

182. Marniemi J, Alanen E, Impivaara O, Seppänen R, Hakala P, Rajala T, Rönnemaa T. Dietary and serum vitamins and minerals as predictors of myocardial infarction and stroke in elderly subjects. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 2005;15:188–197.

183. Clark, S. F. Iron deficiency anemia. Nutr. Clin. Pr. 2008;23:128–41.

184. Balci K, Utku U, Asil T, Büyükkoyuncu N. Deep cerebral vein thrombosis associated with iron deficiency anaemia in adults. J Clin Neurosci. 2007;14(2):181-4.

185. Ho CH. Increase of red blood cells can shorten the bleeding time in patients with iron deficiency anemia. Blood. 1998;91(3):1094.

186. Smid M, Dielis A, Winkens M, Spronk H, Van Oerle R, Hamulyak K, M H Prins, J Rosing, J L Waltenberger, H ten Cate. Thrombin generation in patients with a first acute myocardial infarction. J Thromb Haemost. 2011;9(3):450-6.