

2002

T. C.  
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİNDE TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI GRANÜLOSİT ADHERANSI,  
KANTİTATİF LÜKOSİT ALKALEN FOSFATAZ VE TRANSFERRİN DÜZEYLERİ.

UZMANLIK TEZİ

Dr. CEMİL ERGÜN TAN

Anadolu Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

ESKİŞEHİR-1990

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	22
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA.....	41
SONUÇLAR.....	49
ÖZET.....	50
KAYNAKLAR.....	51

## G İ R İ Ő

Lökositler ve fonksiyonları uzun yıllardır birçok araştırıcının ilgisini çekmiş ve bu konuda çeşitli çalışmalar yapılarak işlevleri incelenmiştir.

Nötrofilik polimorf nüveli lökositler inflamatuvar olaylarda temel efektör hücrelerdir. İnflamasyon sahasında oluşan bazı maddelerin stimulan etkisiyle bu hücreler kemik iliğinde olgunlaşmakta, periferik kana geçerek inflamasyon bölgesindeki vasküler endotele adhere olup diapedez ile damar dışına çıkmakta ve bakteriyi fagosite ederek intrasellüler olarak öldürmektedir. Fagositoz, intrasellüler lizozomal enzimlerin ekzositozu, toksik oksijen radikallerinin sentezi, prostoglandin ve komplemanın etkileri sonucu daha güçlü bir inflamasyon oluşmaktadır(1).

Granülosit adheransı, inflamatuvar olaya cevap olarak ilk ve çok önemli bir basamağı oluşturmakta ve bu basamaktaki yetersizlik, sonuçta, yabancı partikülün(bakteri), nötrofil tarafından elimine edilememesine yol açmaktadır. Non-steroid antiinflamatuvar ilaçların bu basamağı inhibe, çeşitli kemotaktik maddelerinde aktive ettiğı birçok çalışmalarla anlaşılmış bir konudur(1,2,3).

Birçok dokularda olduğı gibi, alkalen fosfataz özellikle granülositlerde de bulunur, ancak lökosit alkalen fosfatazının biyolojik önemi ve fonksiyonu çok sayıdaki çalışmalara karşın halen tam olarak anlaşılmamıştır. Granülositlerin olgunlaşmasına paralel olarak hücre içi enzim

miktarının artışı, hücrenin fizyolojik matürasyonunun bir ölçüsü olarak kabul edilmektedir(4). Yapılan incelemeler, özellikle akut infeksiyonlarda enzim düzeyindeki yükselmenin, hücrenin bakterisidal kapasitesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir fakat kesin olarak ispat edilememiştir.

Bazı araştırmacılar, demir eksikliği oluşturulan tavşanların nötrofillerinde bakterisidal ve fagositik fonksiyonda azalma bulmuşlardır. Likhite köpekler üzerinde yaptığı deneylerde granülositlerde fagositoz bozukluğu saptamıştır. Summers, Jacobs ve Higashi demir eksikliği anemisi olan hastalarda süksinik dehidrogenaz, sis akonitaz ve myeloperoksidaz gibi demir içeren enzimlerin aktivitesinde azalma bulmuşlardır. Ayrıca tavşan nötrofillerinden elde edilen katyonik proteinler tarafından stafilokokların öldürülmesi için demirin gerekli olduğu gösterilmiştir(5).

Tüm bu çalışmalar, serum demir düzeyinin, granülosit adheransını ve lökosit alkalin fosfataz düzeyinide etkileyebilir mi sorusunu akla getirmektedir. Bazı araştırmacılar tarafından yapılan deneylerde, kan demir düzeyindeki azalma sonucunda, lökosit alkalin fosfataz aktivitesinde normal, düşük yada yüksek değerler elde edilmiş ve yüksek değerler daha ziyade o sırada mevcut olan infeksiyonlara bağlanmıştır. Buna karşılık literatürde, kan demir düzeyi ile granülosit adheransı arasındaki ilişkiyi göstermeye yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada demir eksikliği anemisinde ;

1-Granülosit adheransındaki olası değişiklikleri.

2-Kantitatif lökosit alkalin fosfataz düzeylerini

3-Transferin düzeylerini araştırmak ve oral demir tedavisiyle

(ferrous fumarat "fersamal" ve demir-III-OH polimaltoz kompleksi "ferrum")

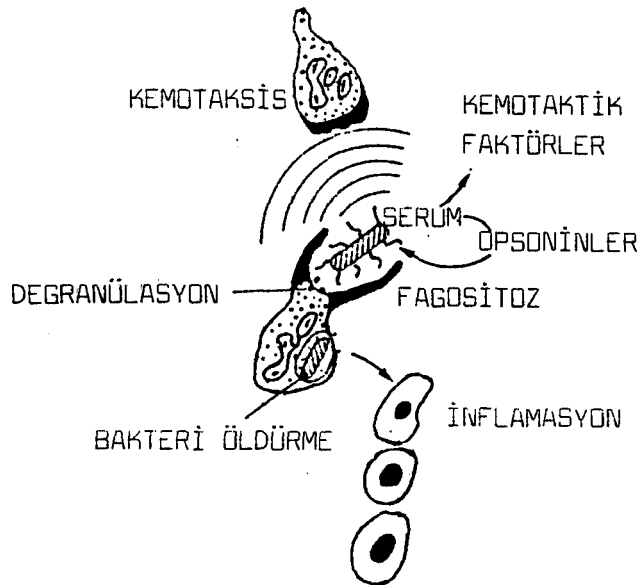
bu parametrelerdeki olası değişiklikleri incelemek amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

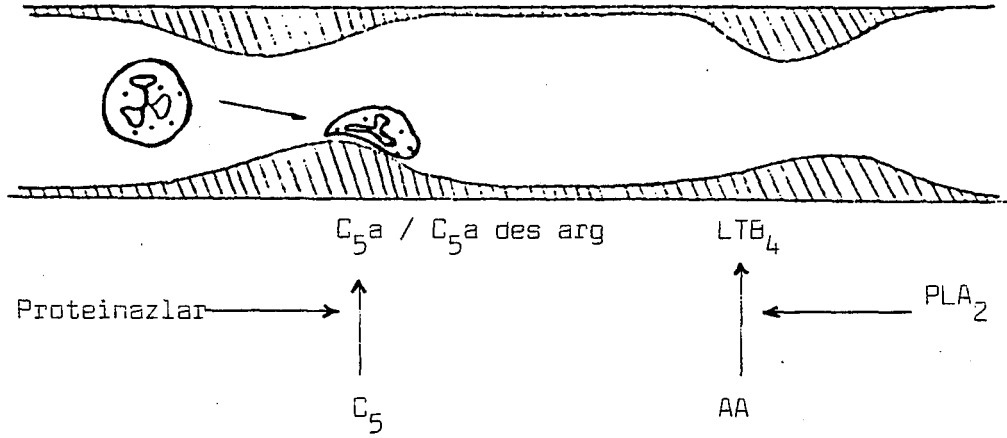
### Lökositler :

Kan hücrelerinin beyaz serisini oluşturan lökositlerin görevi, organizmayı infeksiyon ve benzer etkenlere karşı korumaktır. Diğer kan hücrelerinin aksine, işlevlerini esas olarak dokularda gösterirler. Lökositler başlıca üç gruba ayrılırlar. Bunlar granülositler, lenfositler ve monositlerdir. Ayrıca fagositler ve lenfositler olarak iki gruba da ayrılabilirler. Granülositler fagositik hücreler grubundan olup, nötrofilik, eozinofilik ve bazofilik olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Granülositlere aynı zamanda polimorf nüveli lökositler (PNL) de denmektedir. Nötrofilik PNL'ler, lökositlerin %50-80'ini oluşturur ve esas fonksiyonları kısa sürede infeksiyon alanına ulaşarak mikroorganizmaları fagosit etmek ve öldürmektir. Bunun için kapiller damar duvarına geçici olarak yapışabilme(adhezyon) ve diapedez ile mikroorganizmanın bulunduğu inflamasyon sahasına gidebilme(kemotaksis) özelliklerine sahiptir(Şekil: 1,2,3)(1,2,6).

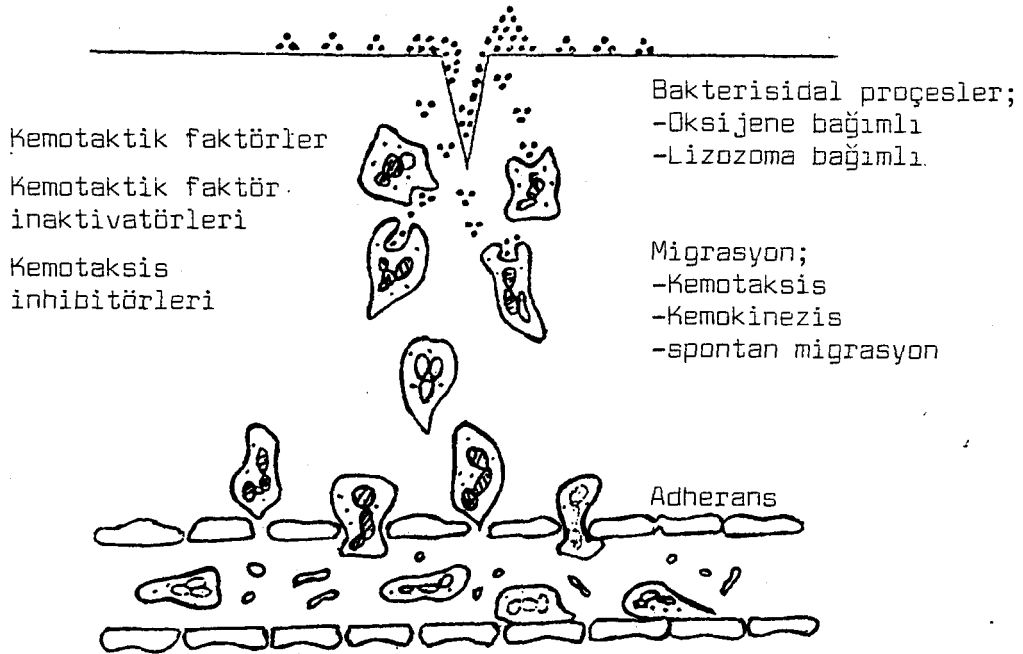
ŞEKİL 1:NÖTROFİL FONKSİYONLARI



ŞEKİL 2: ZEDELENMİŞ DOKUDA KEMOTAKTİK PEPTİDLER VEYA LİPİDLER TARAFINDAN NÖTROPİL-ENDOTELİAL HÜCRE ADHEZİV İLİŞKİSİNİN BAŞLATILMASI



ŞEKİL 3: İNFLAMATUAR REAKSİYONA YOL AÇAN OLAYLARIN ŞEMATİK AÇIKLAMASI



### Granülosit Adheransı :

Nötrofilin, endotel hücrelerine adheransı, akut inflamatuvar cevapta ilk basamaktır ve zedelenme yeri yakınındaki damar duvarında görülür. Bu başlangıç adheziv ilişki doku hasarına bağlı olarak oluşan ve damar duvarına yayılan ürünler vasıtasıyla oluşturulur. Bu ürünler kemotaktik peptidler (C5a, C5a desarg, N formyl methionyl leucyl phenylalanine "fMLP") ve lipid mediatörlerdir (PAF, LTB<sub>4</sub>). Bunlar  $10^{-10}$ - $10^{-6}$  M konsantrasyonlarda, endotel hücrelerine nötrofil adheransını doza bağlı olarak arttırırlar(2). Yapılan çalışmalarda kemotaktik faktör ile stimüle edilen nötrofil, endotel hücrelerine çok hızlı bir şekilde (başlangıçta 30 saniye, maksimal 2 dakika) adhere olurlar. Böylece kemotaktik etkiyle nötrofilin endotele adheransı dinamik bir nötrofil cevabı olarak görülür(2,7,8). Kemotaktik faktörler etkilerini, nötrofil membranındaki reseptörlerine bağlanarak gösterirler(9).

### Granülosit Adheransının Endotel Hücrelerince Kontrolü :

Endotel hücrelerinin önemli fonksiyonlarından birisi granülositlerle uygun bir şekilde etkileşebilmesidir. Bu olay çeşitli şekillerde oluşur.

1-Granülositlerin, endotel hücrelerine karşı olan affinitesi ile ilgili olarak spontan adherans. Normal şartlarda oluşan bu tip adherans, granülositlerin marjinasyonunu açıklayıcı bir mekanizmadır.

2-Granülositlerin, endotel hücrelerine reverzibl adheransı. Bu durum, kemotaktik faktör gradientine karşı, mikrovaskülatürden dışarıya migrasyon cevabında erken bir basamağı oluşturur, normal konak defansı için bir gereksinimdir ve damardan geçiş esnasında endotel zedelenmesi oluşturmaz.

3-Endotel hücresi ile, granülosit arasındaki etkileşimde son zamanlarda tarif edilen diğer bir formu vardır. Endotel zedelenmesinin akut (akut pulmoner vasküler zedelenme) ve kronik (ateroskleroz) formlarında; toksik oksijen metabolitleri, proteazlar ve diğer mediatörler gibi endotel hücre hasarına neden olan bileşiklerin ortama salınmasıyla stimüle olan granülositler, endotele adhere olabilirler. Bu etkileşim zedelenmeye bağlı adherans olarak isimlendirilir.

Tüm bunlara rağmen granülositlerin, endotele adheransını düzenleyen ve etkileyen faktörler tam anlamı ile bilinmemektedir(7,10,11).

Yapılan çalışmalarda, endotel hücrelerinin direk olarak spontan granülosit ve inflamatuvar mediatörlere karşı artmış cevapları azalttığı gösterilmiştir. Nitekim endotel hücreleriyle, granülositler inkübe edildiğinde, inflamatuvar mediatörler tarafından stimüle edilmiş granülosit adheransı ile spontan adheransın ve granülosit kemotaksisinin, endotel hücreleri tarafından inhibe edildiği görülmüştür(11).

Çalışmalar sonucunda inhibisyonun, siklooksijenaz yoluyla endotel hücre arakidonik asit metabolizma ürünlerine bağlı olduğu ortaya konmuştur. Muhtemelen bu aktivitede en önemli rolü  $PGI_2$  (Prostasiklin) oynamaktadır (2,7,11,12).  $PGE_2$  ve  $PGF_{2\alpha}$  'da inhibitör etkiye sahiptir fakat etkileri  $PGI_2$  'e göre zayıftır, ancak yüksek konsantrasyonlarda  $PGI_2$  ile eşit etki gösterirler. Endotel hücrelerinin istirahat durumunda (inflamasyon yokken) granülosit adheransı üzerindeki etkisi çok azdır. Ancak histamin, bradikinin gibi mediatörler veya lökotrienlere cevap olarak  $PGI_2$  salgılamak için stimüle edildiklerinde (inflamatuvar durumlarda) adheransı azaltırlar. Böylece endotel hücreleri direk bir şekilde spontan ve uyarılmış granülosit cevap-



larını azaltarak inflamasyonda granülosit endotel etkileşiminde potansiyel bir etki gösterirler. Bu potansiyelde vasküler hücrelerde sentezlenen prostaglandinler önemli pay sahibi olabilirler. PGI<sub>2</sub>, sentetik analogları ve diğer prostaglandinlerin granülosit adheransını nasıl inhibe ettiğini anlamak için yapılan incelemelerde, onların nötrofil içi cAMP düzeylerini arttırdığı saptanmıştır(11). Bir başka çalışmada ise, granülosit adheransını naylon fibrillerle ölçmenin, hücre kültürlerinde monolayer tabakaya ölçmekle aynı neticeyi verdiği görülmüş ve ortamdaki cAMP'nin artması ile granülosit adheransının azaldığı, cAMP azalmasıyla da, arttığı saptanmıştır (13,14,15). Yine, nötrofillerin epinefrin, norepinefrin, izoproterenol, histamin, koleratoksin, PGE<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, F<sub>2α</sub>, asetil kolin, karbamil kolin, phorbol myristate ve asetat gibi hücre içi cAMP artışına yol açan ajanlarla veya doğrudan doğruya cAMP ile inkübasyonunun, bakteriyel kemotaktik faktöre karşı lökotaktik cevabı inhibe ettiğini ortaya koymuştur(16). Buna göre, hücre içi cAMP artışı, PGI<sub>2</sub> tarafından oluşturulan granülosit fonksiyonundaki(adherans, kemotaksis) inhibisyonun muhtemel mekanizması olarak görülmektedir(11,15). İntrasellüler cAMP artışı granülosit adheransını, ya direk olarak(16) yada granülosit içi LTB<sub>4</sub> sentezini inhibe ederek azaltmaktadır(11). Granülositin adherans ve kemotaksisini arttıran kemotaktik faktörler için endojen etki oluşturan LTB<sub>4</sub>'ün hücre içi azalması da granülosit adheransının azalmasına yol açar. Yapılan bir çalışmada, cAMP düzeyindeki 2 kat artışın, LTB<sub>4</sub> sentezini önemli miktarlarda azalttığı gözlenmiştir(11).

Aktive granülositlerden salınan superoksit ve lökotrienin, prostaglandinlerce inhibisyonuyla ilgili çalışmalar temel alındığında, Ham ve arkadaşları, endotel hücrelerin granülosit adherans ve dağılımını değiştirdiğini ifade etmiştir. Böylece güçlü bir kemotaksis başlatabilmek için, stimüle olan

granülositler reverzibl adherans oluşturur ve bir hiperadherans önlenir. Şu halde granülosit adherans ve dağılımındaki değişiklik potent koruyucu bir mekanizmadır. Çünkü hiperadheransta nötrofil oksijen metabolitleri ve granül enzimlerinin salınımı artar ve endotel zedelenmesine neden olabilir. Hiperadheransın prostaglandinlerce inhibisyonu böyle bir zedelenme ihtimalini ortadan kaldırır(11,15,17).

Granülosit-endotel ilişkisini etkileyen başka faktörlerde vardır. Örneğin divalen katyonlar bu ilişkide önemlidir.  $Ca^{++}$  ve  $Mg^{++}$  eksikliğinde, hem spontan adherans, hem de zimozan ile aktive plazma ve fMLP'nin adheransı arttırıcı etkilerinde azalma olur(10,18). İnsan nötrofil spesifik granüllerinde bulunan laktoferrin kemotaktik stimulusla çok çabuk bir şekilde sentezlenir ve granülosit adheransının başlatıcısıdır(4). Serum proteinlerinin adherans üzerine etkileri yapılan çalışmalarda anlaşılammıştır. Ancak albümin eksikliğinde, spontan adherans bilinmeyen bir mekanizma ile doğrudan granülositler üzerinden azalır. Ancak endotel hücrelerinden ise prostasiklin salınımı artarak spontan ve reverzibl adheransta azalma olur(10). Auranofin, nötrofillerin naylon fibrillere adheransını ve fMLP'e bağlı aggregasyonunu arttırır, migrasyon, fagositoz, bakterisidal etki ve enzim salınımını doza bağlı olarak azaltır(19). Eritrositlerin adheransı arttırmasına karşılık(12) bazı platelet ürünlerinden serotonin ise azaltır . Ayrıca platelet faktör IV, elastaz gibi granülosit proteazların aktivitesinde artış yapar(20). Son zamanlarda lökosit adherans inhibisyonu(LAI) ile ilgili olarak yapılan çalışmada,LAI'da, lökosit adherans inhibitör faktör (LAIF) denilen solübl bir maddenin etkinliği saptanmıştır. Lenfokin benzeri bir madde olan LAIF, antijenik stimulus sonucunda T hücrelerinden üretilir ve lökositlerin tüm tipler-

rinin adheransını inhibe eder. Yani antijen artarsa adherans azalır, anti-jen azalırsa adherans artar denilmektedir(21). Tüberkülozlu hastalar üze-rinde yapılan çalışmalarda, nötrofiller plastike karşı adheransta artış gös-termişlerdir. Campell tarafından, tüberkülozlu hastalarda plazma yoluyla mo-nosit kemotaksisinin inhibe edildiği gösterilmiştir. Muhtemelen aynı plazma faktörü tüberkülozda artmış adheransın nedeni olabilir ve PNL, azalmış kemo-taksisi açıklayabilen bir kemoattraktan maddenin (belki mikobakterilere ait polisakkarit olan arabinogalaktan) yüksek konsantrasyonları ile artmış bir adherans gösterir şeklinde görüş vardır(8).

#### Lökosit Alkalen Fosfatası :

Bir ortofosforik-monoester-fosfohidrolaz olan ve optimum PH'da akti-vite gösteren alkalen fosfataz, esterlerini parçalayan bir enzimdir(22,23). Bu enzim alkalen PH'da, bir fosfat ester substratından inorganik fosfatın serbestleşmesini yani ortofosforik asit monoesterlerinin hidrolizlenmesini katalize eder(22,24). Deneysel olarak Fernly 1971, Anderson ve Vallee 1975, Fishman ve arkadaşları 1976 ve daha birçok araştırmacı tarafından gösteril-diği gibi insan serumunda, lökositlerde, eritrositlerde, spermada, beyinde, karaciğerde, safra kanallarında, barsakta, kemikte, böbrekte, plasentada ve bakteride bulunmaktadır(22,23,24).

Özellikle alkalen fosfataz aktivitesi Valentin ve Beck 1951, Wiltshaw ve Moloney 1955, Moloney 1958, Trubowitz ve arkadaşları 1961, Eng 1964, Rausch ve Moore 1975 ve diğer araştırmacılar tarafından laboratuvar memelileri ve insan periferik kanından elde edilen segmente ve polimorf nüveli lökositlerde, çe-şitli histokimyasal ve biyokimyasal çalışmalarla konsantre bir şekilde göste-rildi(25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37). Lökositlerde bulunan ve löko-

sit alkalen fosfatazı(LAP) olarak isimlendirilen bu enzimin, nötrofillerden başka eozinofillerde de yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu Iwatsuru ve bazı araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur(31,37). Bu konuyla ilgili olarak eozinofilik lökemili hastalar ile deneysel eozinofili oluşturulan hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kan alkalen fosfataz aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Bunun sonucu olarak eozinofillerinde, nötrofiller gibi alkalen fosfatazdan zengin olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca bazofillerde LAP aktivitesi içermektedir(31). Lenfositler üzerinde yapılan çalışmalarda ise lenfositin LAP içermediği yada son derece düşük konsantrasyonlarda içerdiği şeklinde sonuçlar elde edilmiştir. Bu konuyla ilgili olarak lenfatik lökemili bir hastanın kan alkalen fosfatazı çok düşük bulunmuş ve tedavi sonrasında bile değişmediği gözlenmiştir. Buna karşılık kan alkalen fosfatazı düşük bulunan myeloid lökemili hastada ise, tedavi sonrası kan alkalen fosfataz aktivitesi artış göstermiştir. Bu da lenfositin, LAP aktivitesi bakımından nötrofile göre çok yetersiz olduğunun bir ispatıdır(22,31). Ayrıca LAP , monosit ve normoblastlarda gösterilmiştir(22).

PNL'lerdeki alkalen fosfataz aktivitesi, serum alkalen fosfataz aktivitesiyle ilişkili değildir. Tanaka ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Paget hastalığı bulunan bir kadında serum alkalen fosfataz aktivitesi çok yüksek düzeylerde buna karşılık LAP ise düşük olarak bulunmuştur(30).

Nötrofil LAP'ı, onların prekürsörleri olan myeloblast ve myelositlerdekenden daha fazladır(26). Esasen myelositer serinin gelişim süreci içinde enzim ilk kez, myelositlerde(23), bazı araştırmacılara göre metamyelositlerde (26) ortaya çıkar ve hücre olgunlaştıkça hücre içi aktivitesi artar, böylece

genç hücrelerde aktivite düşük, daha olgun hücrelerde ise yüksek olarak bulunur(23,26,27,29,30,31,35). Enzim aktivitesindeki bu değişikliğin önemi ve nedeni hala tam olarak bilinmemektedir. Değişikliğin nedeniyle ilgili olarak yapılan çalışmada, dolaşımda bulunan nötrofilin kemik iliğindeki öncül hücresinden daha fazla LAP içerdiğine dair, değişik histokimyasal ve biyokimyasal çalışmaların sonuçlarından elde edilen bulgulara dayanılarak, nötrofilin kemik iliğinden ayrıldıktan sonra, kanda veya yaşamını sürdürdüğü dokuda ilave alkalin fosfataz sentezlemesinin mümkün olabileceği şeklinde bir hipotez ortaya atılmıştır. Yapılan incelemelerde, PNL'lerin, dolaşımda, yüksek enzim konsantrasyonlu yaşlı ve daha düşük konsantrasyonlu, kemik iliğinden henüz gelen genç hücreler şeklinde, hipotezi destekler tarzda mikst bir popülasyon gösterdiği ortaya konulmuştur(26). Böylece gerek bu hipotez temel alınarak, gerekse diğer araştırmacıların çalışmalarına dayanılarak şu yargıya varılmıştır; hücrenin LAP içeriği, onun fizyolojik matürasyon derecesinin önemli bir göstergesidir(22,25,26,29,30,35,38).

LAP'ın intrasellüler lokalizasyonu, birçok biyokimyasal ve sitokimyasal çalışmalara rağmen zor anlaşılır bir konu olmuştur. Dansite gradient santrifügasyon ve elektron mikroskopik sitokimyasal çalışmalar yapılarak, enzimin intrasellüler lokalizasyonu gösterilmiştir(32). Böylece enzimin farklı membranöz ve granüler komponentleri olduğu anlaşılmıştır(32). Enzimin membranöz komponenti bazı nötrofil organellerinde bulunmaktadır. Aktivite gösteren bu organeller plazma membranı, golgi kompleksi, değişik spesifik olmayan veziküler yapılar, mitokondri, endoplazmik retikulum ve unidentified membranlar(mikrozomlar)dır(5,32). Yine yukarda sözü edilen teknikler uygulanarak PNL'lerin granüler yapısı ve alkalin fosfatazın granüler komponenti

saptanmıştır. Buna göre nötrofillerde iki majör tip granül vardır. Bunlar primer(azurofilik) ve sekonder(spesifik) granüllerdir. Azurofilik granüller daha büyüktür, promyelositte oluşur ve myeloperoksidaz, katyonik antibakteriyel proteinler,  $\beta$  glukronidaz ve 3 lizozomal enzim olan asit fosfataz, aryl sülfataz ve 5-nükleotidaz içerirler. Spesifik granüller ise daha küçük olup myelositte oluşurlar, lizozim, laktoferrin ve alkalen fosfataz içerirler(25,27,29,32,33,34,39). Ancak Avila tarafından, çok önemsiz miktarlarda olsa bile, azurofilik granüllerin alkalen fosfataz içerdiği gösterilmiştir(32). Alkalen fosfataz nükleotidlerde de gösterilmiştir. Ancak bunun fizyolojik önemi açıklanamamıştır(28).

Fosfatazlar, aktivasyonları için bir alfa amino asit kadar, bivalent metalik iyon da gereksinme duyarlar(36). Bununla birlikte alkalen fosfatazın aktivasyonunda metal iyonların rolü hakkında çok gelişmiş raporlar vardır. Cloeten, alkalen fosfatazın metal kompleksler olduğunu,  $Mg^{++}$  ve  $Zn^{++}$ 'nin bu kompleksler içinde yer aldığını dializ ve inhibisyon çalışmaları ile göstermiştir(36,40). Böylece birçok dokudan elde edilebilen alkalen fosfataz metal içerikleri bakımından iki gruba ayrılırlar. 1-Fosfataz A, 2-Fosfataz B. Fosfataz A; aktivasyonu için glisin ve çinkoya, fosfataz B ise magnezyuma ihtiyaç duyar ve fosfataz B kalsiyum ve çinko tarafından inhibe edilir(36).

Aynı şekilde insan lökositinde de iki tip alkalen fosfataz mevcuttur ve aktivasyonu için birisi çinkoya diğeri de magnezyuma ihtiyaç duymaktadır(36).

Böylece lökositlerin yüksek çinko düzeyine sahip oldukları ve çinkonun LAP'ın bir aktivatörü olduğu ve lökosit çinkosunun hücrenin matürasyonu ile ilgili olduğu yapılan çalışmalardan anlaşılmıştır(25,28,39). Alkalen fosfatazında hücrenin matürasyon durumunu gösterdiğinden daha önce bahsedil-

mişti. Şu halde LAP çinkoya bağımlı bir enzimdir ve vücut çinkosunun güvenilir bir marker'ıdır(25). Nitekim Prasad ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sickle-cell anemili ve düşük çinko düzeyli hastalarda LAP'ında düşük olduğunu ve çinko verilmesiyle normale geldiğini göstermişlerdir(25). Başka bir çalışmada intrasellüler çinko konsantrasyonu lökemide düşük, infeksiyonda yüksek bulunmuş ve lökosit çinko düzeylerinde gözlenen bu değişiklikler LAP'daki değişikliklerle uyum göstermiştir(28). Ancak başka bir çalışmada LAP aktivitesi, çinko eksikliğinden etkilenmemiştir(39).

LAP düzeyleri, sağlıklı kişilerde ve farklı klinik durumlarda değişiklikler göstermektedir(26,30) ve farklı hematolojik olguların teşhisinde, özellikle şiddetli lökomoid reaksiyonlardan kronik granülositik lökemi-yi (KGL) ayırmada son derece yararlı bir parametredir(30).

Lökosit alkalin fosfatazındaki değişiklikler şu şekildedir(5,22,23, 25,26,28,29,30,31,35,36,37,39,40,41,42,43,44,45,46).

#### **Lökosit Alkalin Fosfatazın Arttığı Durumlar:**

- 1-İnfeksiyonlar
- 2-Lökomoid reaksiyonlar
- 3-Lökositoz
- 4-Polisitemia rubra vera
- 5-Hodgkin lenfoma
- 6-Histiositik lenfoma
- 7-Myeloid metaplazi
- 8-Multipl myeloma
- 9-Hairy-cell lökemi
- 10-Myokard infarktüsü

- 11-Diabetik asidoz
- 12-Kronik inflamatuvar hastalıklar
- 13-Gut
- 14-Down sendromu
- 15-Trauma
- 16-Stres
- 17-Eksersiz
- 18-Gebelik
- 19-Kortikosteroid verilmesi
- 20-ACTH verilmesi
- 21-Epinefrin verilmesi
- 22-Growth hormon etkisi
- 23-Yenidoğan dönemi
- 24-Puberte öncesi çocuklar
- 25-Bayanlar

**Lökosit Alkalen Fosfatazın Azaldığı Durumlar:**

- 1-Kronik granülositik lökemi
- 2-Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri
- 3-Hipofosfatazya
- 4-İdiopatik trombositopenik purpura
- 5-Akut myeloblastik lökemi
- 6-Lenfositik lenfoma
- 7-Aplastik anemi
- 8-Refrakter anemi
- 9-Relaps'ta pernisyöz anemi



- 10-Sickle-cell anemi
- 11-Rickets
- 12-İnfeksiyöz mononükleozis
- 13-Kollajen hastalıklar
- 14-Bazı immün yetmezlik sendromları
- 15-Androjen verilmesi
- 16-Menapoz
- 17-Erkekler
- 18-Erişkin dönem
- 19-Pirojen verilmesi
- 20-Malnütrisyon

Polisitemi olgularında LAP' da yükselme nedeni olarak nötrofillerin kemik iliğinden sirkülasyona geçiş hızlarındaki artış düşünülmüştür(29).

Sickle-cell anemide LAP düşük olarak bulunmasına rağmen kronik stres durumlarında yükselmiş değerlere rastlanmaktadır(35).

KGL'deki düşük değerlerin nedeni bilinmemektedir. Bunun sebebi olarak çinko suçlanmış ancak tedavi sonrası hücre içi çinko düzeyleri normale geldiği halde, LAP' da bir artış gözlenmemiş ve remisyon dönemlerinde bile normalden düşük kalmıştır. Dolayısıyla çinkonun düşük değerler için tek başına rol oynamayacağı kanaatine varılmıştır(43). Başka bir araştırmacıda stoplazmik immatürasyonun, düşük değerlerin nedeni olabileceğini öne sürmüştür(35). Başka bir araştırmada da LAP'daki düşme nedeni olarak, enzim sentezinde genetik bir baskılanma, lizozom ve hücre membranlarındaki defektlere bağlı olarak LAP sentez hızında azalma ve düşük LAP içeren nötrofillerin KGL'de akümülasyonu düşünülmüştür(22).

Pirojen maddeler(salmonella lipopolisakkaridi) PNL'lerin akciğer, karaciğer ve dalak kapillerlerinde retansiyon ve sekestrasyonuna neden olarak lökopeni, epinefrin ve eksersiz ise marjinal havuzdaki lökositlerin, sirkülatuar havuza geçmesini sağlayarak lökositoz oluşturur. Neticede pirojenler LAP'da düşme, epinefrin ve eksersiz ise yükselme yaparlar. Bunun nedeni yüksek enzim kapasiteli PNL'lerin açığa çıkması yada sekestrasyonuyla ilgilidir(38).

#### **Lökosit Alkalen Fosfatazın Endokrin İlişkisi :**

Yapılan çalışmalarda, puberte öncesi erkek ve kız çocuklarda enzimin yüksekliği ve yenidoğanlarda aşırı derecede yüksek bulunması, bu enzimin regülasyonunda endokrin faktörlerin rol oynadığını düşündürmektedir (44). Farelerde, androjen verilmesiyle renal alkalen fosfatazda azalma bulunmasına karşılık, karaciğer ve intestinal alkalen fosfatazında değişiklik görülmemiş. Östrojenler böbrek ve karaciğer alkalen fosfataz düzeylerini etkilememiş. İnsanlarda yapılan çalışmalarda, erkeklerdeki LAP düzeylerinin kadın ve çocuklara göre düşük bulunması ve androjen tedavisinin kadınlarda enzimi düşürmesi, androjenlerin LAP'ı inhibe ettiğini düşündürmektedir. Buna karşılık östrojenlerin LAP üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür. Kadın seks hormonlarının LAP'ı, nasıl etkilediği açıklanamamıştır ve belki de östrojen ile progesteronun karşılıklı antagonistik etkiye sahip olabileceği düşünülmüştür(44). Erken çocukluk döneminde bu enzimin çok yüksek düzeylerde olup, puberteye doğru düşmesi growth hormonun bu enzim üzerindeki muhtemel stimulan etkisini düşündürmektedir(44).

Enzimin lökositlerdeki görevi bugün için tam olarak anlaşılmış değildir(5,23,24,29,30,32,33,43,46,47). Ancak karbonhidrat metabolizması ve nükle-

leik asit yapımı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir(23,30). Hipofosfatazuya vakalarında enzimin eksikliğinin, lökosit fonksiyonuna engel, major bir etken olmadığı gösterilmiştir(30), bu durum enzimin öneminin daha ziyade hücre metabolizmasıyla ilgili olduğuna dair şüphelerin haklılığını ortaya koymaktadır(5,30). Ayrıca enzimin bakteriyel infeksiyonlarda ve granülositlerin defansta major rol oynadığı durumlarda artması, eksikliğinde lökosit kemotaksisinde bozukluk olması, rekürrent infeksiyon durumlarında selektif eksikliğinin görülmesi yani LAP'daki azalmaya paralel olarak granülosit fonksiyonlarının bozulması, enzimin, lökositin bakterisidal etkinliğinde önemli role sahip olduğunu gösteren önemli delillerdir(5,32,45). Bütün bu delillere rağmen enzimin, bakterisidal fonksiyondaki önemi anlaşılammış olmasına karşılık, muhtemelen LAP aktivitesi, PNL granülleriyle ilişkili bir anormallik için bir marker'dır ve bu anormalliğin hücre membranı veya degranülasyon süreciyle ilgili olması muhtemeldir(32).

#### Demir Metabolizması :

Hemoglobin(Hb) molekülünün yapısına giren demir, vücudun en önemli metallere birisidir. Normal yetişkindeki miktarı 50, kadınlarda ise 35mg/kg'dır. Günlük Hb sentezi için gereken 20-30mg demirin büyük kısmı dolaşımdaki yaşlı eritrositlerin parçalanmasından, kalan kısmı da alınan diyetten elde edilir. Diyetle alınan demirin yaklaşık %10'u absorbe edilir ve bu absorpsiyon, depolarının boşaldığı durumlarda 3-5 misli artar. Vücuttan atılımı, vücut hücrelerinin kaybı, özellikle gastrointestinal epitel kaybı ile olur. Böylece normal erişkinlerde ve menstruasyon görmeyen kadınlarda 1mg/gün, menstruasyon gören kadınlarda ise 2 misli demir kaybedilir dolayısıyla günlük ihtiyaç bu miktarlardadır. Herhangi bir nedenle oluşan

akut ihtiyaçlar veya aşırı kayıplar vücutta çeşitli şekillerde bulunan (ferritin, hemosiderin) demir depolarından karşılanır. Hb sentezi için gerekli demirin herhangi bir nedenle temin edilememesi veya kullanılmaması bu son derece mükemmel olan sistemin bozulmasına ve sonuçta demir eksikliği anemisi (DEA) dediğimiz klinik tablonun oluşmasına yol açacaktır(6).

Aynı zamanda demir, mitotik süreçte rol oynayabilir. Hela hücrelerinde mükleolus demiri mitoz sırasında kromozomlara transfer edilir ve desferrioksamın gibi demir bağlayıcı ajanın verilmesi, canlı hücrelerin DNA sentezinde selektif bir inhibisyona neden olabilir. DNA sentezindeki benzer eksiklik demir eksikliği anemili hastaların kemik iliği hücrelerinde bulunmuştur. Demir eksikliği hem insanda, hem de hayvanlarda geniş doku defektlerine neden olur. Her ne kadar oral veya gastrik epitel gibi bazı dokularda demonstre edilebilen enzim defekti morfolojik veya fonksiyonel değişikliklerle birlikte olmasada, bu defektler, demire bağlı enzim sistemlerinin bozulmasıyla ilişkili olabilir. Çalışmalar, demir eksikliği olan bireylerde bazı lenfosit fonksiyonlarının önemli derecede bozulduğunu gösterir. Muhtemelen bu bozukluk DNA sentezi ve mitotik süreçteki demirin rolüyle ilişkilidir. DEA olan 2 kişinin periferik kan lenfositleri üzerinde yapılan çalışmalar, kandida antijeni ve PPD ile oluşturulan stimülasyonda, lenfosit transformasyon ve migrasyon inhibisyon faktör üretiminde azalma olduğunu gösterdi ve bu antijenlerin intradermal enjeksiyonu demir eksikliği olan bireylerin sadece küçük bir kısmında gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonu oluşturdu. Lenfositteki diğer enzim sistemlerinin demir eksikliğinden etkilenip etkilenmediği bilinmiyor ancak demir tedavisinden sonra hem MIF üretimi hem de deri hipersensitivite reaksiyonları geri döndü. Bu veriler temel alındığında de-

mirin immün yetmezlik (özellikle hücre sel) durumların potansiyelinde veya oluşmasında bir faktör olabileceği gösterilmiş oldu(48).

**Demir Eksikliği Anemisinde Lökosit Alkalen Fosfataz Düzeyi :**

Malnütrisyonlu bireylerde yapılan çalışmalarda açlığın 4. gününde nötrofillerdeki alkalen fosfataz aktivitesi normal, ancak 10.günden itibaren istatistiksel olarak önemli azalma saptanmış. Serum demir düzeyide aynı şekilde 10.günden sonra önemli azalma göstermiş(45). Tekrarlayan kanamalara bağlı olarak demir eksikliği oluşturulan tavşanlar üzerinde yapılan çalışmada, LAP düzeyleri önemli derecede düşük bulunmuştur(5). DEA olan insanlarda LAP aktivitesi incelendiğinde kontrol gruplarıyla aralarında herhangi bir fark bulunmamıştır(39).

Bu çalışmaların ışığında, ortaya şu şekilde bir sonuç çıkmaktadır: DEA olan hastaların granülositleri; düşük, normal, hatta o anda mevcut infeksiyonlara bağlı olarak yüksek LAP aktivitesi gösterebilmektedirler(5,39,45).

**Transferrin :**

Demirin nakli, taşıyıcı bir protein olan transferrine bağlanmak yolu ile olur. Transferrin molekül ağırlığı 74000-81000 dalton arasında olan bir  $\beta_1$  globulindir, demirin depo sahalarından kemik iliği, dalak, karaciğerdeki RES hücreleri ve Hb sentezinde rolü olan karaciğer parankim hücrelerine taşınmasını sağlar. Tek bir polipeptid zincirinden ibaret olup trivalan(ferrik) demirin iki iyonunu ayrı iki noktada bağlar. Bu iki bağlanma yerinin birbirinden farklı olduğu, örneğin birinin diğerine göre daha asit labil olduğu ve küçük PH değişikliklerinde bile demirini serbest bıraktığı gösterilmiştir.

Transferrin gerçek bir taşıyıcı protein olup bu taşıma işlemi esna-

sında harab olmaz ve serbest iyonları yakalamak üzere dolaşıma geri döner. Büyük kısmı karaciğer parankim hücrelerinin kaba endoplazmik retikulumunda sentez edilir. Ayrıca lenfoid dokulardaki makrofajlar, submaksiller ve meme glandları gibi ektodermal glandlar, overler ve testislerde de sentezi söz konusudur. Demir eksikliği durumlarında sentezi artar. Plazma konsantrasyonu yaklaşık 2.5gr/ L'dir. Genel olarak kendisine bağlanacak demir miktarı kapasitesi ile ölçülür ve total demir bağlama kapasitesi(TDBK) ismini alır. Normal bir kişide plazma demir konsantrasyonu yaklaşık 18  $\mu\text{mol/L}$  (100  $\mu\text{g/dl}$ ), TDBK ise 56  $\mu\text{mol/L}$  (300  $\mu\text{g/dl}$ ) dir. Bu demektir ki normalde mevcut transferrin sahalarının sadece 1/3'ü kullanılmakta geri kalan 2/3'ü ise kapasite olarak saklı tutulmaktadır.

Demir taşıyan transferrin ile eritrosit arasındaki ilişki 4 safhada olur. 1-Transferrin-demir kompleksi eritrosit yüzeyine bağlanır, 2-Demir buradan hücre içerisine doğru geçer, 3-Demir transferrinden ayrılır ve 4-Demirini bırakmış transferrin geri plazmaya döner. Transferrinin eritrosite bağlanmasında eritrosit membranı üzerindeki transferrine spesifik reseptörler rol oynar. İkinci adım olan demirin hücre içine geçişi muhtemelen transferrin ile birlikte ve mikropinositoz ile olur. Demirini bırakmış olan transferrinin eritrositlere bağlanma gücü azalırken, demire olan affinitesi artmıştır. Hb sentezi için daha fazla demire ihtiyaç olmayan vakalarda ise transferrin intestinal absorpsiyon ile aldığı demiri karaciğer parankim hücrelerine taşıyacaktır(6).

**Fersamal :**

Üretimi Glaxo firması tarafından yapılan bir ilaçtır. Preparat tablet formundadır ve 100 tabletlik kutular şeklinde ambalajlanmıştır. Ferrous form-

daki demirin fumarat ile birleştirilmesiyle oluşan bir demir fumarat tuzudur ve her tablet 65mg (%33) elementer demir içerir. Tedavi dozu 3x1 tablettir(195mg elementer demir). Demir sülfat ile mukayese edildiğinde absorpsiyon bakımından farklı olmamakla birlikte, gastrointestinal yan etkilerinin (bulantı, epigastrik ağrı, diyare) daha az olduğu görülmüştür(49,50).

**Ferrum :**

Abdi İbrahim İlaç Firması tarafından draje olarak üretilmiştir. Her draje, demir-III-OH polimaltoz kompleksi şeklindedir ve 40mg elementer demir içermektedir. 30 drajelik kutular şeklinde ambalajlanmaktadır. Tavsiye edilen doz 3x1-2 draje şeklindedir. Polimaltoz bileşiğinin, demir absorpsiyonunu hızlandırdığı iddia edilmektedir. Bu nedenle hastalara 200mg elementer demir yerine 120mg elementer demire eşdeğer ferrum verilmiştir. Yan etkileri diğer demir preparatlarından farklı değildir(49,50,51,52).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarlarında yapılmıştır. Çalışmaya yaşları 14-62(ortalama 32.5) arasında değişen 20 demir eksikliği anemisi (DEA) olan hasta grubu(2 erkek, 18 kadın) ve yaşları 18-51(ortalama 31.6) arasında değişen sağlıklı ve gönüllü 20 kişi(13 erkek,7 kadın) kontrol grubu olarak katıldı. Hasta grubunda demir eksikliği anemisine eşlik eden kronik bir hastalık(siroz, kronik böbrek yetmezliği, malignansi, kollajen doku hastalığı v.s.) ve gebelik bulunmamasına dikkat edildi. Çalışma öncesi deney yapılan 40 gönüllü kişi anamnez, fizik ve laboratuvar incelemelerine tabi tutularak tam kan sayımları(hemoglobin"Hb", hematokrit "Hct", lökosit "BK", eritrosit "KK", trombosit "tromb", retikülosit "retik", ortalama eritrosit volümü"MCV", ortalama eritrosit hemoglobini"MCH", ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu"MCHC"),periferik yayma analizleri,hasta grubuna tam idrar ve gaita incelemeleri(parazit,gizli kan) yapıldı. Ayrıca bunlardan transferrin için kan alınarak serumları ayrıldı ve ileride çalışılmak üzere derin dondurucuda(-45°C) saklandı. Daha sonra serum demir düzeyleri, TDBK ve demir saturasyonları hesaplanarak saf demir eksikliği anemisi tanısı alan hasta grubu(demir saturasyonu < %15) ile sağlıklı kontrol grubu üzerinde granülosit adheransı (GA) ve lökosit alkalin fosfataz(LAP) çalışması yapıldı. Hasta grubunun yarısı Glaxo İlaç Firmasınınca tablet formunda üretilen ve ferrous fumarat olan fersamal, diğer yarısı da Abdî İbrahim İlaç



Firmasınca draje formunda üretilen ve demir-III-OH polimaltoz kompleksi olan ferrum ile 4 hafta süresince oral olarak günde 3x1 tablet veya draje verilerek tedavi edildi ve bu süre sonunda aynı laboratuvar incelemeleri (demir düzeyleri hariç) ve testler tekrarlandı (ferrum preparatları Abdi İbrahim Firmasınca temin edilmiştir). 4.hafta sonunda demir düzeylerinin çalışılmayışı, demir metabolizmasını tam olarak yansıtamayacağı içindi.

Granülosit adheransını hesaplamada Lorente F. ve arkadaşlarının plastik enjektörler içine yerleştirilmiş cam boncuklar yöntemi kullanıldı (53). Bu yöntemde önce hastadan heparinli (50 U heparin/ml) 4ml kan örneği alınıp 1.5ml'si bir kan sayım tüpüne aktarılarak, Coulter Counter model-890 otomatik kan sayım aleti ile lökositler sayıldı ve 1ml kandaki lökosit(BK) sayısı bulundu. Wright boyaması yapılarak orijinal % granülosit sayısı hesaplandı ve deney öncesi mililitre (ml) başına düşen granülosit sayısı bulundu. Sonra kalan kan örneğinden 1'er ml alınarak, önceden hazırlanan ve içinde bir gece önceden distile su ile yıkanmış ve etüvde kurutulmuş, ortalama çapı 4.5mm olan 65 adet cam boncuk yerleştirilmiş, 2 adet, steril 5cc'lik plastik enjektörlerin içine konuldu. Enjektörlerin alt ucu içindeki kanın dökülmemesi için lastik tapa ile kapatıldı ve 2rpm hızla dönen alete yerleştirilerek 37<sup>0</sup>C'lik etüvde 30 dakika döndürüldü. Süre sonunda, enjektörün pistonu çıkarılarak 2cc Hank's solüsyonu (PH:7.2) ilave edildi ve lastik tapa çıkarılarak enjektör içindeki, kan Hank's solüsyonu karışımı, bir plastik tüp içine aktarıldı. Toplam 2.75cc olan karışım materyalinde lökosit(BK) sayımı yapıldı ve yine wright boyaması ile deney sonrası % granülosit sayısı bulundu ve aşağıdaki formülle % granülosit adheransı (GA) hesaplandı.

$$\%GA=100-\frac{\text{Granülosit sayısı/ml(karışım materyalinde)}\times 2.75}{\text{Granülosit sayısı/ml(orijinal kan örneği)}}$$

Granülosit adheransını belirlemek için, ayrı ayrı bulunan iki değerin aritmetik ortalaması alındı.

Lökosit alkalin fosfataz çalışması ise, Valentine ve Back tarafından tarif edilen yöntem modifiye edilerek şu şekilde yapıldı(37).

İçinde 0.2ml heparin bulunan enjektöre 10ml kan alındı ve enjektör uygun bir kab içinde dik olarak, ucu yukarıda, piston tarafı aşağıda olacak şekilde 45 dakika bekletilerek lökosit zengin plazması ayrıldı. Ayrılan lökosit zengin plazma silikonize tüpe aktarılıp, +4°C'de 850rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü. Lökositler her defasında sarsılarak dağıtıldıktan sonra 5ml serum fizyolojik ile yine 850rpm'de 6'şar dakika olarak 3 kez daha santrifüj edildi ve daha sonra ozmotik şok uygulanarak eritrositler ortamdaki uzaklaştırıldı. Son lökosit çökeltisi (pellet) yine sarsılıp dağıtıldıktan sonra üzerine 1ml serum fizyolojik ilave edilerek sayım yapıldı ve mm<sup>3</sup> 'teki lökosit sayısı hesaplandı. Böylece ayrılan lökosit süspansiyonu -45°C derin dondurucuda hızla donduruldu. 1 saat sonra tüpler derin dondurucudan çıkarılarak üzerlerine mm<sup>3</sup>'te 10000 lökosit olacak şekilde distile su ilave edildi ve hücreler vorteks ile hızlı bir şekilde parçalanmaya tabi tutularak enzimlerin açığa çıkması sağlandı. Lökosit süspansiyonu 2000rpm'de santrifüj edilerek elde edilen süpernatandan LAP aktivitesi çalışıldı(süpernatandaki enzim aktivitesi 10<sup>9</sup>/L BK'ya aittir).

Burada tarif edilen yöntem, substrat olarak kullanılan p-nitrophenylphosphate'ın alkalin fosfataz ile sarı renk veren p-nitrophenol'e dönüşmesi ve bu renk farkının spektrofotometrik olarak 410 nm'de saptanması esasına dayanmaktadır. Tampon olarak 2 amino 2 methyl 1,3 propanediol(1M)(PH:9.6) kullanıldı. Deney şu şekilde yapıldı:

	<u>Kör</u>	<u>Örnek</u>
BK süpernatanı (ml)	-	0.1
2 amino 2 methyl 1,3 propanediol; IM (ml)	2.8	2.7
	Oda ısısında 5dak.inkübe edildi	
p-nitrophenylphosphate; 0.1M(ml)	0.2	0.2

Sonra spektrofotometrede 2'şer dakika aralarla 6 okuma yapıldı ve böylece başlangıç ve 12.dakika optik dansiteler(OD) bulundu ve enzim aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{LAP aktivitesi (U/10}^{10}\text{BK/dak)} = \frac{\Delta\text{OD dak} \times 3.0 \times 1000}{18.8 \times 0.1} \times 10$$

$\Delta\text{OD} = \text{OD son} - \text{OD ilk} / t$ , 3.0=küvet hacmi,  $1000 = 10^9 / \text{L BK}$  ifadesi, 18.8=p-nitrophenylphosphate'ın mM absorpsiyonu, 0.1=örnek hacmi,  $10 = 10^9 / \text{L BK}$  değerini  $10^{10}$  BK'ya yükseltmek için, t=dakika olarak total okuma süresi.

Böylece, söz konusu formül ile dakikada,  $10^{10}$  BK'ya düşen LAP aktivitesi ünite (U) olarak saptanmış oldu.

Kontrol ve hasta grubunun serum transferrin düzeyleri ise immüno-türbidometrik yöntem kullanılarak Behring Turbitimer cihazıyla ölçülmüştür(transferrin kitleri Abdi İbrahim İlaç Firmasınca temin edilmiştir).

#### **İstatistiksel Yöntem :**

Bu çalışmadaki istatistikî veriler (student t testi ve korelasyon/regresyon analiziyle) Apple Macintosh Plus Bilgisayarında StatView program paketinde değerlendirilmiştir.

## B U L G U L A R

Bu çalışmaya alınan kontrol grubunun yaş, cins ve tam kan sayım değerleri Tablo 1'de, demir eksikliği anemisi olan grubun tedavi öncesi ve sonrası yaş, cins ve tam kan sayım değerleri ile tedavi öncesi kan demir düzeyleri Tablo 2-3'te gösterilmiştir.

Bu çalışmada kontrol grubu ile demir eksikliği anemisi(DEA) olan hasta grubunun granülosit adheransı(GA), lökosit alkalen fosfataz(LAP) ve transferrin değerleri ile fersamal ve ferrumun bu parametreler üzerinde oluşturduğu değişiklikler hesaplanarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1.Kontrol grubunun GA ortalaması  $60.04 \pm 15.28$  (n=20), DEA hasta grubunun ise  $50.53 \pm 16.10$  (n=19) idi. Ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemli bulundu (t:3.92)(P<0.05)(Tablo 4, Grafik 1). Hasta grubunda 1 olgunun GA değeri hatalı olduğundan çalışma dışı bırakılmıştır.

2.Hasta grubunun tedavi sonrası (fersamal+ferrum) GA ortalaması  $65.18 \pm 11.85$  (n=20) hesaplandı ve tedavi öncesi ile tedavi sonrası ortalamalar arası fark ileri derecede önemliydi (t:-5.68)(P<0.0005)(Tablo 4).

3.Kontrol grubu ile tedavi sonrası hasta grubunun GA ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu görüldü(t:-1.19)(P>0.1) (Tablo 4).

4.Fersamal verilen grubun tedavi öncesi GA ortalaması  $41.25 \pm 19.75$  (n=9), ferrum verilen grubun ise  $54.77 \pm 15.80$  (n=10) idi ve ortalamalar arası fark önemsiz olarak hesaplandı(t:-1.69)(P>0.05)(Tablo 5, Grafik 4-7).

5.Fersamal ile tedavi edilen hasta grubunun tedavi sonrası GA ortalaması  $60.06 \pm 12.22$  (n=10), ferrum ile tedavi edilenin ise  $70.29 \pm 9.43$  (n=10) idi ve ortalamalar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü (t:-2.10)(P<0.05)(Tablo 5,Grafik 4-7).

6.Fersamal verilen grubun tedavi öncesi ve sonrası GA ortalamaları arası farkın çok önemli olduğu saptandı(t:-3.67)(P<0.005)(Tablo 5,Grafik 4).

7.Ferrum ile tedavi edilen grubun tedavi öncesi ve sonrası GA ortalamaları arası fark çok önemli idi(t:-3.66)(P<0.005)(Tablo 5,Grafik 7).

8.Fersamal ile GA artış miktarlarının ortalaması  $14.52 \pm 9.82$  (n=9), ferrum ile  $14.53 \pm 13.77$  (n=10) idi ve ortalamalar arası fark önemsizdi(t:-0.001)(P>0.4)(Tablo 5, Grafik 4-7).

9.Kontrol grubu LAP ortalaması  $54.45 \pm 16.10$  U/10<sup>10</sup>BK/dak(n=20), hasta grubunun ise  $42.76 \pm 17.42$  U/10<sup>10</sup>BK /dak (n=20) idi. Ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemli bulundu(t:2.20)(P<0.025)(Tablo 4,Grafik 2).

10.Hasta grubunun tedavi sonrası (fersamal+ferrum) LAP ortalaması  $54.52 \pm 16.31$  U/10<sup>10</sup>BK/dak(n=20) hesaplandı ve tedavi öncesi ile tedavi sonrası ortalamalar arası farkın ileri derecede önemli olduğu görüldü(t:-4.33)(P<0.0005)(Tablo 4).

11.Kontrol ve tedavi sonrası hasta grubunun LAP ortalamaları arası fark önemsiz bulundu(t:-0.01)(P>0.4)(Tablo 4).

12.Fersamal verilen grubun tedavi öncesi LAP ortalaması  $43.74 \pm 18.85$  U/10<sup>10</sup>BK/dak (n=10), ferrum verilen grubun ise  $41.78 \pm 16.82$  U/10<sup>10</sup>BK/dak(n=10) idi ve ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemsiz hesaplandı(t:0.25)(P>0.4)(Tablo 5,Grafik 5-8).

13. Aynı grupların tedavi sonrası LAP ortalamaları ise  $60.23 \pm 16.72$  U/10<sup>10</sup> BK/dak (n=10) ve  $48.80 \pm 14.74$  U/10<sup>10</sup> BK/dak bulundu ve ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemsiz idi (t:1.64) (P>0.05) (Tablo 5, Grafik 5-8).

14. Fersamal verilen grubun tedavi öncesi ve sonrası LAP ortalamaları karşılaştırıldığında, ortalamalar arası fark istatistiksel olarak çok önemli bulundu (t:-3.48) (P<0.005) (Tablo 5, Grafik 5).

15. Ferrum ile tedavi öncesi ve sonrası LAP ortalamaları karşılaştırıldığında ise, ortalamalar arası fark yine çok önemli idi (t:-3.63) (P<0.005) (Tablo 5, Grafik 8).

16. Fersamal ile LAP artış miktarlarının ortalaması  $16.49 \pm 14.98$  U/10<sup>10</sup> BK/dak (n=10), ferrum ile  $7.02 \pm 6.12$  U/10<sup>10</sup> BK/dak (n=10) bulundu ve ortalamalar arası farkın önemli olduğu görüldü (t:1.85) (P<0.05) (Tablo 5, Grafik 5-8).

17. Fersamal alan grupta GA ve LAP artışları arasında herhangi bir ilişkinin olmadığı görülmüştür (r=0.07). Aynı şekilde ferrum ile de böyle bir ilişki saptanmamıştır (r=0.41) (Tablo 5).

18. Fersamal alan hasta grubunun tedavi öncesi Hb değerlerinin ortalaması  $9.83 \pm 1.61$  g/dl (n=10) ve ferrum alan grubun ise  $9.06 \pm 2.07$  g/dl (n=10) bulundu ve ortalamalar arası farkın önemsiz olduğu görüldü (t:0.93) (P>0.1) (Tablo 6).

19. Fersamal alan grubun tedavi sonrası Hb değerlerinin ortalaması  $11.62 \pm 1.03$  g/dl (n=10) ve ferrum alan grubun ise  $9.59 \pm 2.07$  g/dl (n=10) idi ve ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemli bulundu (t:2.78) (P<0.01) (Tablo 6).

20.Fersamal ile tedavi öncesi ve sonrası Hb değerlerinin ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede önemliydi( $t:-6.47$ ) ( $P<0.0005$ ) (Tablo 6).

21.Ferrum ile aynı şekilde ortalamalar arası fark ileri derecede önemli bulundu( $t:-6.00$ )( $P<0.0005$ ) (Tablo 6).

22.Fersamal ile sağlanan Hb değerlerindeki artışların ortalaması  $1.79\pm 0.88$  g/dl ( $n=10$ ), ferrum ile ise  $0.53\pm 0.28$  g/dl ( $n=10$ ) bulundu ve ortalamalar arası farkın ileri derecede önemli olduğu görüldü( $t:4.34$ )( $P<0.0005$ ) (Tablo 6).

23.Kontrol grubu transferrin değerleri ortalaması  $261.10\pm 56.99$  mg/dl ( $n=20$ ), tedavi öncesi hasta grubunun ise  $370.05\pm 197.49$  mg/dl ( $n=20$ ) bulundu ve ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemliydi( $t:-2.37$ )( $P<0.025$ ) (Tablo 7,Grafik 3).

24.Fersamal ile tedavi öncesi transferrin değerlerinin ortalaması  $293.80\pm 53.63$  mg/dl ( $n=10$ ) ve tedavi sonrası ise  $237.70\pm 36.02$  mg/dl ( $n=10$ ) idi ve ortalamalar arası fark çok önemliydi( $t:3.92$ )( $P<0.005$ )(Tablo 8,Grafik 6).

25.Aynı şekilde ferrum ile tedavi öncesi ve sonrası transferrin değerlerinin ortalaması  $446.30\pm 257.95$  mg/dl ( $n=10$ ) ve  $324.90\pm 122.30$  mg/dl ( $n=10$ ) idi ve ortalamalar arası farkın önemli olduğu görüldü( $t:2.23$ )( $P<0.05$ )(Tablo 8,Grafik 9).

TABLO 1: KONTROL GRUBUNUN YAŞ, CİNS ve TAM KAN SAYIM DEĞERLERİ

OLGU NO	YAŞ	CİNS	Hb (g/dl)	Hct (%)	KK ( $\times 10^6/mm^3$ )	BK ( $mm^3$ )	TROMB ( $\times 10^3/mm^3$ )	RETİK (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
1	45	K	13.3	38.4	4.24	6100	187	0.6	90.6	31.3	34.6
2	25	E	16.2	45.5	5.16	8700	166	0.8	88.2	31.3	35.6
3	29	E	14.9	44.7	4.92	13200	316	0.6	90.9	30.2	33.3
4	34	E	16.4	49.4	5.80	5400	204	0.8	85.2	28.2	33.1
5	31	E	15.2	48.5	4.87	6100	185	1.4	96.5	32.1	31.3
6	39	E	14.7	42.9	4.87	8100	216	0.8	88.0	30.1	34.2
7	35	E	14.8	42.5	4.83	11000	267	0.6	87.2	30.6	32.4
8	18	K	12.2	37.8	4.26	5800	235	0.8	88.6	28.6	32.2
9	51	K	15.0	44.2	4.88	8500	498	0.8	88.0	30.7	33.9
10	34	K	14.4	42.6	4.40	5900	263	0.8	96.8	32.7	33.8
11	37	K	14.6	42.9	4.68	5800	271	0.6	91.7	31.1	34.0
12	36	E	14.3	42.0	4.84	6400	292	0.3	86.7	29.5	34.0
13	26	E	14.9	44.3	4.91	7000	242	1.0	90.2	30.3	33.6
14	21	E	13.5	40.5	4.65	9100	226	1.2	87.0	29.0	33.3
15	36	E	13.3	39.9	4.47	5600	171	0.6	89.2	29.7	33.3
16	27	K	12.5	34.2	4.17	4300	328	2.0	86.2	29.9	36.5
17	28	E	13.6	40.6	4.36	5200	217	0.4	93.1	31.1	33.4
18	37	E	13.3	38.7	4.36	7100	279	1.9	88.6	30.5	34.3
19	23	E	15.1	45.3	4.84	8200	254	0.6	93.6	31.1	33.3
20	21	K	12.8	35.9	3.77	7400	227	1.2	95.2	33.9	35.6



TABLO 2:DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ OLAN GRUBUN YAŞ,CİNS,TEDAVİ ÖNCESİ TAM KAN SAYIM VE DEMİR DÜZEYLERİ

OLGU NO	YAŞ	CİNS	SERUM DEMİR (µg/dl)	TDBK (µg/dl)	SAT (%)	Hb (g/dl)	Hct (%)	KK ( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ )	BK ( $\text{mm}^3$ )	TROMB ( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ )	RETİK (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
1	25	K	44	384	11	11.8	34.8	4.32	7900	276	1.0	80.5	27.3	33.9
2	27	K	26	384	7	8.6	27.3	4.08	6900	187	1.2	66.8	21.0	31.5
3	24	K	22	396	6	7.8	25.6	4.26	6800	303	0.6	60.1	18.3	30.4
4	30	K	42	384	11	11.6	33.8	5.25	5200	341	0.8	73.9	22.0	34.3
5	57	E	27	354	8	9.1	47.4	6.01	4200	183	0.8	78.9	25.1	31.8
6	37	K	32	404	8	10.7	32.5	4.47	4900	199	0.8	72.7	23.9	33.0
7	29	K	43	442	10	7.4	25.2	3.78	3500	319	0.8	66.8	19.6	29.3
8	17	K	22	304	7	10.7	33.8	4.29	5900	198	0.6	79.1	24.9	31.6
9	27	K	45	354	13	10.9	34.0	4.43	8700	567	0.4	76.6	24.6	32.0
10	28	K	30	638	5	8.7	28.1	4.07	5900	335	1.0	69.0	21.4	31.0
11	62	E	21	690	3	6.8	22.8	3.56	4900	265	1.4	64.0	19.1	29.8
12	42	K	38	443	9	10.0	30.2	4.07	5800	220	1.0	74.2	24.6	33.1
13	29	K	32	466	9	7.3	24.0	3.67	9600	498	0.8	65.4	19.9	30.4
14	47	K	24	542	4	11.8	35.5	4.30	8000	320	0.2	82.4	27.4	33.2
15	38	K	12	434	3	7.7	26.3	4.24	7600	361	1.2	62.1	18.1	29.2
16	42	K	22	416	5	10.4	31.8	4.12	8100	389	1.0	77.1	25.2	32.7
17	26	K	35	413	8	11.7	34.3	4.48	5500	326	0.8	76.5	26.1	34.1
18	14	K	29	336	9	11.1	33.6	4.07	4900	324	0.6	82.5	27.2	33.0
19	21	K	30	317	9	6.1	22.0	3.57	8500	474	1.4	61.7	17.0	27.7
20	39	K	8	462	2	8.7	28.2	4.25	7500	220	1.4	66.3	20.4	30.8

TABLO 3:HASTA GRUBU (DEA) OLGULARININ YAŞ, CİNS, KULLANDIKLARI İLAÇLAR VE TAM KAN SAYIM DEĞERLERİ

OLGU NO	YAŞ	CİNS	VERİLEN İLAÇ	Hb (g/dl)	Hct (%)	KK ( $\times 10^6 / \text{mm}^3$ )	BK ( $\text{mm}^3$ )	TROMB ( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ )	RETİK (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
1	25	K	FERS*	12.7	38.1	4.75	7600	300	1.4	80.2	26.7	33.3
2	27	K	FERS	11.5	36.1	4.94	7200	234	1.2	73.2	23.2	31.8
3	24	K	FERS	10.1	34.5	3.85	6700	316	0.8	87.0	25.3	28.8
4	30	K	FERR**	12.1	34.4	4.65	7900	355	1.0	74.1	26.0	35.2
5	57	E	FERR	9.6	30.1	3.87	10500	367	1.4	77.6	24.8	31.9
6	37	K	FERR	11.2	33.2	4.37	4600	288	1.2	75.9	25.6	33.7
7	29	K	FERS	10.6	33.0	4.19	3900	245	1.3	78.8	25.2	32.1
8	17	K	FERS	11.7	36.4	4.53	6500	170	1.2	80.3	25.8	32.1
9	27	K	FERR	11.8	32.1	4.11	9600	455	0.6	78.3	28.7	36.7
10	28	K	FERS	10.7	32.8	4.32	8600	270	0.8	76.1	24.7	32.6
11	62	E	FERR	7.9	24.6	3.92	5000	288	1.2	62.9	20.1	32.1
12	42	K	FERS	10.8	33.8	4.38	5500	186	1.4	77.1	24.6	31.9
13	29	K	FERR	7.8	23.4	3.45	10500	352	1.0	67.9	22.6	33.3
14	47	K	FERS	12.8	37.9	4.44	9700	291	1.0	85.4	28.8	33.7
15	38	K	FERR	8.1	27.8	4.38	13100	381	1.6	60.4	18.4	29.1
16	42	K	FERS	12.7	39.0	4.50	6700	294	1.8	86.7	28.2	32.5
17	26	K	FERR	12.1	33.2	4.22	6500	266	1.0	78.7	28.6	36.4
18	14	K	FERS	12.6	37.5	4.31	5900	225	1.0	87.0	29.2	33.8
19	21	K	FERR	6.5	22.6	3.43	6300	279	2.6	65.8	18.9	28.7
20	39	K	FERR	8.8	25.6	3.46	6200	296	2.2	65.8	25.4	34.3

\* FERS : Fersamal

\*\*FERR : Ferrum

TABLO 4: KONTROL GRUBU İLE TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI HASTA GRUBUNUN GRANÜLOSİT ADHERANS VE LÖKOSİT ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYLERİ

OLGU NO	KONTROL		DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ			
			GA (%)		LAP (U/10 <sup>10</sup> BK/dak)	
	GA (%)	LAP (U/10 <sup>10</sup> BK/dak)	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI
1	50.10	57.17	37.43	52.25	58.50	70.47
2	78.27	101.06	72.10	79.64	47.87	54.51
3	79.11	54.51	54.24	62.94	38.56	39.89
4	67.37	43.88	63.55	70.78	41.48	59.83
5	77.06	38.56	19.15	47.07	31.91	37.23
6	59.80	43.88	53.28	74.83	26.59	37.23
7	91.67	67.81	Yapılamadı	56.45	13.29	47.87
8	56.05	34.57	33.68	49.39	29.25	34.57
9	51.05	42.55	63.84	75.10	37.23	45.21
10	63.00	66.48	39.34	62.07	65.15	70.47
11	58.42	45.21	64.75	73.61	35.90	38.56
12	43.11	53.18	62.00	60.89	59.83	62.49
13	57.49	41.22	68.06	65.55	46.54	47.87
14	68.70	61.16	45.49	70.82	67.81	91.75
15	58.26	61.16	66.34	64.94	82.44	83.77
16	34.17	37.23	39.68	69.62	23.93	65.15
17	29.64	59.83	45.68	73.59	45.21	47.87
18	60.00	41.22	28.50	36.54	33.24	65.15
19	48.27	77.12	63.82	79.59	49.20	53.18
20	69.23	61.16	39.19	77.85	21.27	37.23

TABLO 5:HASTA GRUBUNUN FERSAMAL VE FERRUM İLE TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI GRANÜLOSİT ADHERANSI VE LÖKOSİT ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYLERİ

OLGU NO	FERSAMAL						FERRUM					
	YAŞ	CİNS	GA (%)		LAP (U/10 <sup>10</sup> BK/dak)		YAŞ	CİNS	GA (%)		LAP (U/10 <sup>10</sup> BK/dak)	
			TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI			TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI
1	25	K	37.43	52.25	58.50	70.47	30	K	63.55	70.78	41.48	59.83
2	27	K	72.10	79.64	47.87	54.51	57	E	19.15	47.07	31.91	37.23
3	24	K	54.24	62.94	38.56	39.89	37	K	53.28	74.83	26.59	37.23
4	29	K	Yapı- lamadı	56.45	13.29	47.87	27	K	63.84	75.10	37.23	45.21
5	17	K	33.68	34.57	29.25	34.57	62	E	64.75	73.61	35.90	38.56
6	28	K	39.34	66.48	65.15	70.47	29	K	68.06	65.55	46.54	47.87
7	42	K	62.00	53.18	59.83	62.49	38	K	66.34	64.94	82.44	83.77
8	47	K	45.49	61.16	67.81	91.75	26	K	45.68	73.59	45.21	47.87
9	42	K	39.68	37.23	23.93	65.15	21	K	63.82	79.59	49.20	53.18
10	14	K	28.50	41.22	33.24	65.15	39	K	39.19	77.85	21.27	37.23

TABLO 6:FERSAMAL VE FERRUM VERİLEN HASTA GRUBUNUN TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI HEMOGLOBİN DEĞERLERİ

OLGU NO	HEMOGLOBİN DEĞERİ (g/dl)			
	FERSAMAL		FERRUM	
	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI
1	11.8	12.7	11.6	12.1
2	8.6	11.5	9.1	9.6
3	7.8	10.1	10.7	11.2
4	7.4	10.6	10.9	11.8
5	10.7	11.7	6.8	7.9
6	8.7	10.7	7.3	7.8
7	10.0	10.8	7.7	8.1
8	11.8	12.8	11.7	12.1
9	10.4	12.7	6.1	6.5
10	11.1	12.6	8.7	8.8

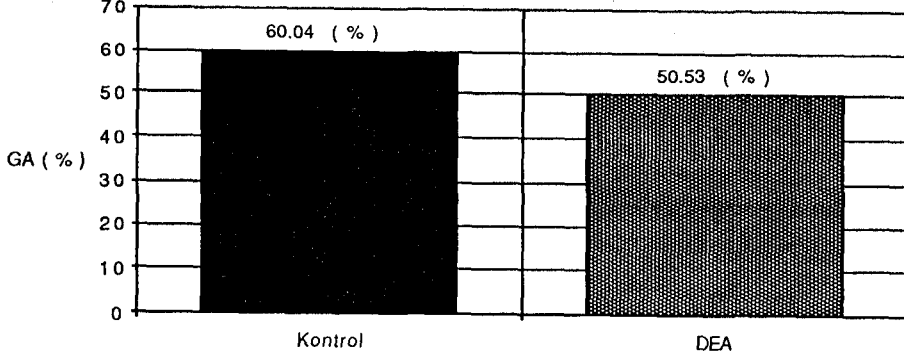
TABLO 7:KONTROL VE HASTA GRUBUNUN TRANSFERRİN DÜZEYLERİ

OLGU NO	TRANSFERRİN DÜZEYİ(mg/dl)	
	KONTROL	DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ
1	285	319
2	212	228
3	362	252
4	254	329
5	319	251
6	235	305
7	308	364
8	282	340
9	345	247
10	200	322
11	204	808
12	200	287
13	211	290
14	240	234
15	235	499
16	226	234
17	251	1000
18	217	358
19	245	296
20	391	438

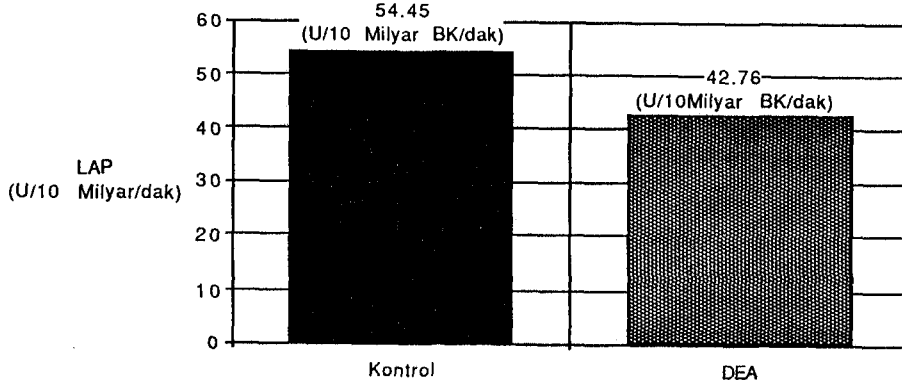
TABLO 8:FERSAMAL VE FERRUM VERİLEN HASTA GRUBUNUN TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI TRANSFERRİN DÜZEYLERİ

OLGU NO	TRANSFERRİN DÜZEYİ (mg/dl)			
	FERSAMAL		FERRUM	
	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI	TEDAVİ ÖNCESİ	TEDAVİ SONRASI
1	319	257	329	326
2	228	201	251	250
3	252	244	305	242
4	364	329	247	225
5	340	227	808	427
6	322	216	290	295
7	287	216	499	501
8	234	235	1000	543
9	234	215	296	231
10	358	237	438	209

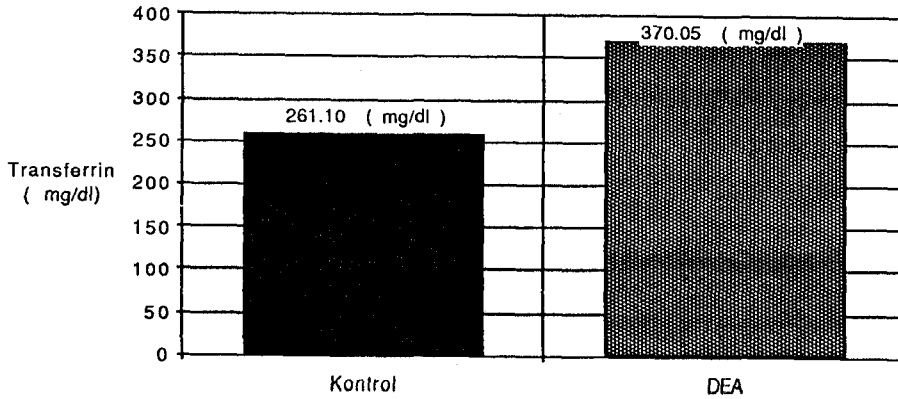
Grafik-1 : Kontrol Grubu ve Demir Eksikliği Anemisinde ( DEA ) % Granülosit Adheransı



Grafik-2: Kontrol Grubu ve Demir Eksikliği Anemisinde ( DEA ) Lökosit Alkalen Fosfataz Aktivitesi ( LAP )

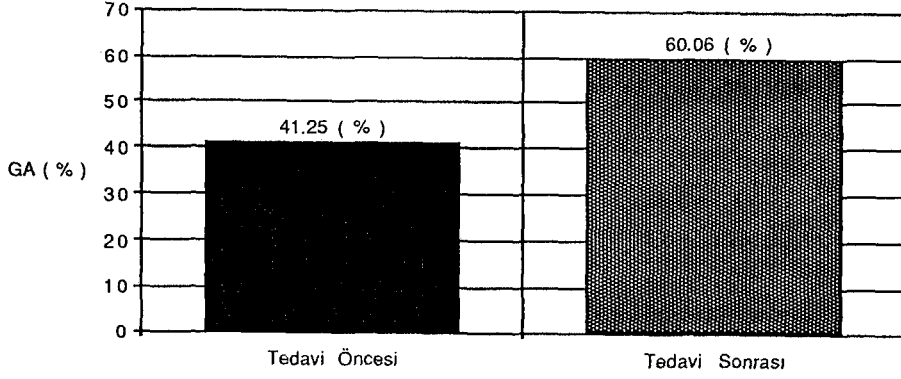


Grafik-3 : Kontrol Grubu ve Demir Eksikliği Anemisinde ( DEA ) Transferrin Düzeyleri

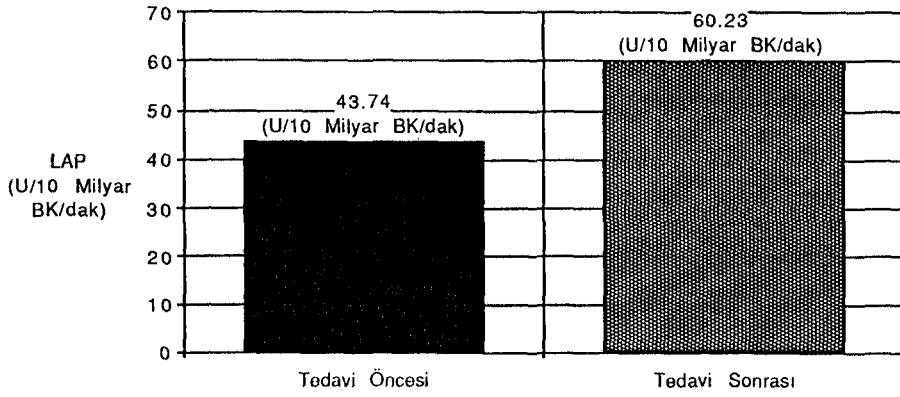




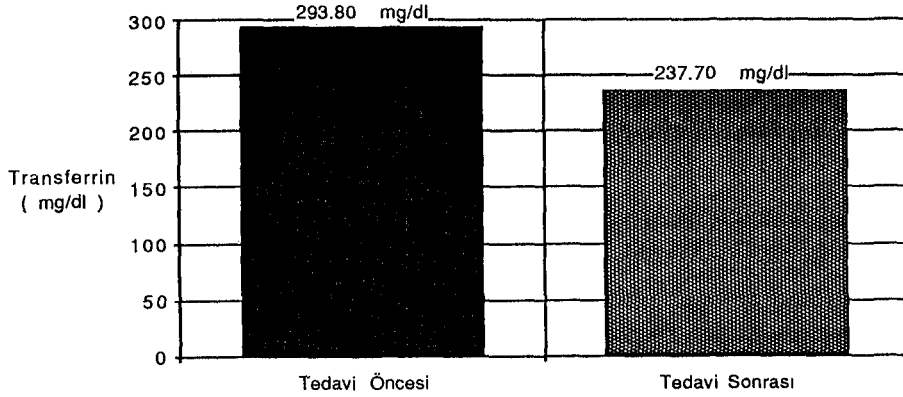
Grafik-4 : Ferrous Fumarat ( Fersamal ) Tedavi Öncesi ve Sonrası Granülosit Adheransı ( GA )



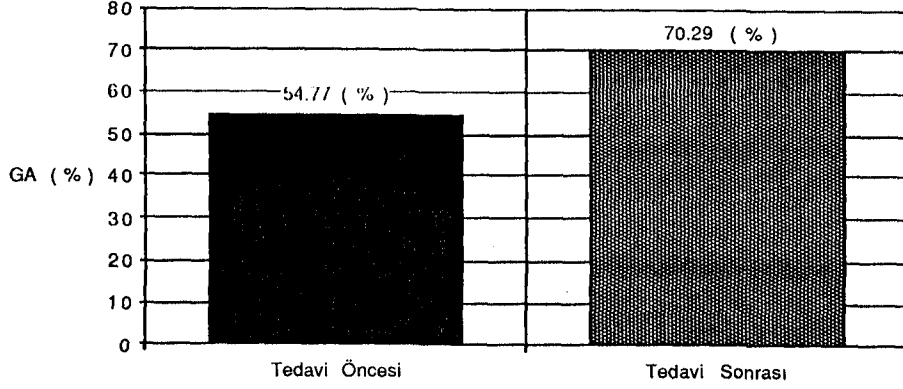
Grafik-5 : Ferrous Fumarat ( Fersamal ) Tedavi Öncesi ve Sonrası Lökosit Alkale Fosfataz Aktivitesi ( LAP )



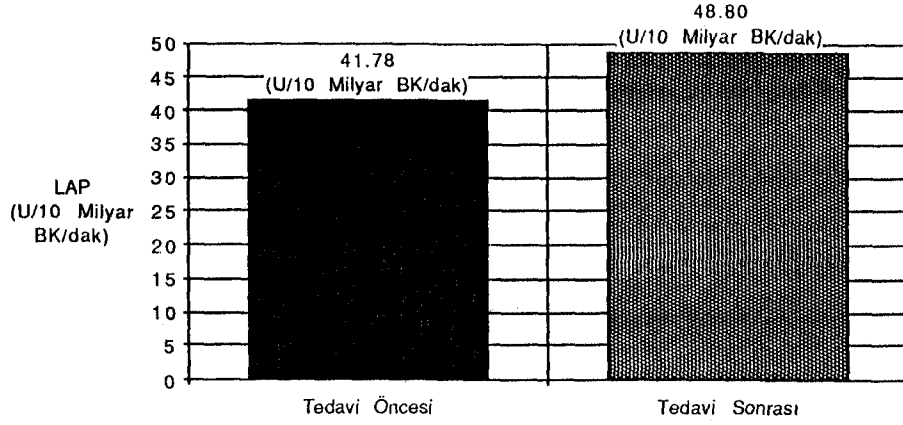
Grafik-6 : Ferrous Fumarat ( Fersamal ) Tedavi Öncesi ve Sonrası Transferrin Düzeyleri



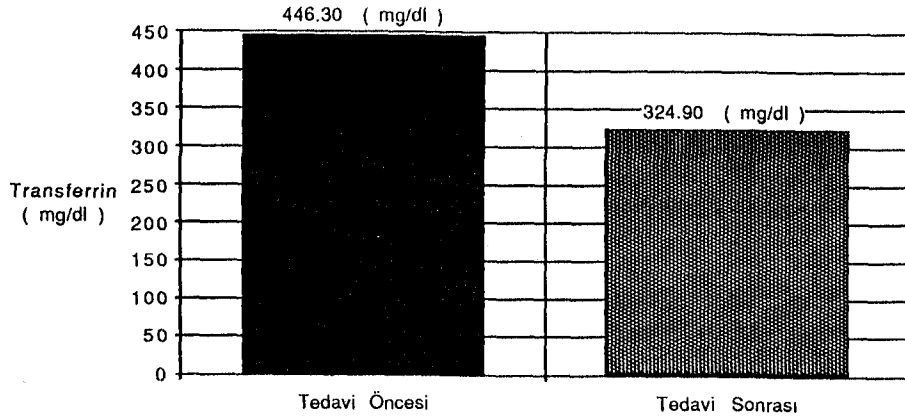
Grafik-7 : Demir-III-OH Polimaltoz Kompleksi ( Ferrum ) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası % Granülosit Adheransı ( GA )



Grafik-8 : Demir-III-OH Polimaltoz Kompleksi ( Ferrum ) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Lökosit Alkalen Fosfataz Aktivitesi ( LAP )



Grafik-9 : Demir-III-OH Polimaltoz Kompleksi ( Ferrum ) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Transferrin Düzeyleri



## TARTIŞMA

Bu çalışmada demir eksikliği anemisinde (DEA) granülosit adheransı (GA)  $50.53 \pm 16.10$  , sağlıklı kontrol grubunda ise  $60.04 \pm 15.28$  bulundu ve oran olarak %16 azalma saptandı. Aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olması ( $P < 0.05$ ) demir eksikliğinde GA'nın azaldığını yani gerektiğinde granülositlerin, özellikle nötrofillerin vasküler endotele yeterince tutunamadığını göstermektedir. Daha önce bahsedildiği gibi nötrofiller infeksiyon ajanlarına karşı vücudun savunmasında en önemli görevi üstlenen temel etkenlerdir ve etkilerini dokularda gösterirler. Böylece infeksiyon etkeninin bulunduğu inflamasyon sahasından yayılan kemotaktik maddelerin oluşturduğu stimulusa yanıt olarak dolaşımdan, inflamasyon bölgesine nötrofil migrasyonu başlar. Ancak, nötrofilin dolaşımdan inflamasyon sahasına gitmesi demek olan migrasyonun olabilmesi için, nötrofilin mutlak surette damar endoteline tutunabilmesi gerekir. Granülosit adheransı olarak isimlendirilen bu olay, infeksiyonla mücadele edebilmenin ilk basamağını oluşturur. Daha sonra nötrofil uygun şekilde damar duvarını geçer, diapedez ile etkenin yanına yaklaşır, onu fagosite eder, öldürür ve sindirir. Eğer herhangi bir nedenle granülosit adheransı yeterli bir şekilde olmuyorsa, infeksiyonla mücadelede organizmanın savunmasında önemli bir eksiklik var demektir. Bu çalışmada DEA olan bireylerde böyle bir eksiklik olduğu da açıkça gösterilmiştir.

Demir eksikliğinde GA neden azalıyor? Elimizde bununla ilgili herhangi bir veri yoktur. Esasen literatür taramalarında da demir eksikliğinde GA ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu konuyla

ilgili birkaç hipotez ileri sürmek belki ilerde bu konu üzerinde yapılabilecek çalışmalara ışık tutabilecektir. GA, damar endoteli ile granüositler arasındaki ilişkiyi içermekte ve bu ilişkide birçok faktörler olumlu yada olumsuz rol oynamaktadır. Kemotaktik maddeler, nötrofil içi  $LTB_4$ , glikoprotein yapısındaki endotel hücre spesifik membran proteinleri, vasküler zedelenme ve yeterli düzeydeki  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ , albümin bu ilişkiyi arttırmakta, buna karşılık endotel hücre ve nötrofildeki negatif yüzeysel yük, auranofin ve vasküler endotelde sentezlenen  $PGI_2$ ,  $E_2$  ve  $F_{2\alpha}$  ise azaltmaktadır(1,2,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,18,19,52,53,54). Tüm bunların dışında kemotaktik stimulus ile çabuk bir şekilde sentezlenen laktoferrinin ve ayrıca eritrositlerin GA'nı arttırdığı gözlenmiştir(4,24). Laktoferrin nötrofil sekonder granüllerinde bulunan demir bağlayıcı bir protein olup, oksijenden bağımsız antimikrobial sistemin bir parçasıdır ve demir ile tam satüre olduğu zaman bakterilerin yaşaması için gerekli demir sağlanamamış olacağından bakteriyostatik bir etki gösterir(4,6).

Belki organizmadaki demirin yetersiz olması, bakterinin kullanması gereken demiri bağlayan böyle bir proteine organizmanın ihtiyacının kalmamasına, böylece sentezinin azalmasına yol açabilir ve neticede GA'da bir azalma oluşturabilir. Ayrıca demir eksikliği eritropoizde kantitatif ve kalitatif bir bozukluğa yol açarak yine GA'da azalma yapabilir. Şu anda spekülasyondan öteye gitmeyen bu hipotezlerin ne derece doğru olduğu bilinmemekte, muhtemelen daha birçok faktörlerin GA'da azalmaya yol açabileceği tahmin edilmektedir. İleride lökosit içi laktoferrin ve demir düzeyleri ile ilgili yapılacak araştırmalar bizi bu konuda daha iyi aydınlatacaktır.

Bu çalışmada, 4 hafta oral demir tedavisi ile GA'nın düzeldiği ve sağ-

lıklı kontrol grubundaki seviyeye geldiği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Böylece kan demir düzeyinin GA üzerinde henüz tam olarak anlaşılammış önemli bir etkisi olduğu bu çalışmada gösterilmiştir.

Bu çalışmada ayrıca; demir eksikliğinde lökosit alkale fosfataz(LAP) düzeyi  $42.76 \pm 17.42$  U/10<sup>10</sup> BK/dak ve kontrol grubunda ise  $54.45 \pm 16.10$  U/10<sup>10</sup> BK/dak olarak bulunmuştur ve azalma oranı %22'dir. Ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur(P<0.025). Bu sonuç bize, demir eksikliğinde LAP düzeyinin azaldığını göstermektedir. Bu konuda Ş.Üzsoylu tarafından demir eksikliği olan çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada, kontrol grubuna göre önemli bir fark gözlenmemiş ve serum demir düzeyinin LAP aktivitesini etkilemediği kanaatine varılmıştır(39). Buna karşılık; demir eksikliği oluşturulan tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise, LAP aktivitesinin önemli derecede azaldığı gösterilmiş(5), yine malnütrisyonlu bireylerde yapılan başka bir çalışmada da açlığın 10.gününden itibaren LAP düzeyinin, serum demir düzeyiyle paralel olarak azalma gösterdiği saptanmıştır(45). Bizim çalışmamız , bahsedilen son iki çalışmayla paralellik göstermekte ve serum demir düzeyinin LAP aktivitesini etkilediğini istatistiksel olarak göstermektedir.

Demir, LAP düzeylerini nasıl etkilemektedir? Bu konu henüz açığa kavuşmamıştır. Ancak demirin hücre DNA sentezinde, dolayısıyla mitozda önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Belkide demir eksikliği olduğunda DNA sentezinde bozukluk olmakta ve hücrenin LAP sentezi ile ilgili sinyal sisteminde geçici bir aksama olmaktadır. Çünkü yapılan çalışmalarda, desferrioksamın verilmesiyle hücrelerin DNA sentezinde selektif bir inhibisyonun olduğu gösterilmiştir(48). Yine demir eksikliğinde, kandida antijeni veya PPD ile stimüle edilen lenfositlerde, lenfosit transformasyon faktör ve migrasyon inhi-

bisyon faktör(MIF) üretiminde azalma saptanmış ve tedavi ile bu durumun düzelindiği gösterilmiştir. Muhtemelen benzer şekilde bir etkiyle LAP düzeyinde azalttığı düşünülebilir. Ancak DNA sentezindeki inhibisyon çok büyük ihtimalla reverzibldir, nitekim çalışmamızda demir tedavisi ile LAP düzeyinde artış saptanmış ve tedavi sonrası hasta grubu LAP düzeyiyle, sağlıklı kontrol grubunun LAP düzeyi arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş yani tedavi ile LAP aktivitesi kontrol grubunun düzeyine yükselmiştir.

Enzimin görevi bugün için tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak bakteriyel infeksiyonlarda yüksek düzeylere ulaşması, eksikliğinde nötrofil kemotaksisinin azalması, rekürrent infeksiyonlarda selektif eksikliğinin görülmesi, nötrofilin bakterisidal kapasitesinde önemli bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Böylece demir eksikliğinde hem granülosit adheransı, hemde lökosit alkalin fosfatazında azalma olması bu bireyleri infeksiyonlar için açık bir ortam haline getirmekte, bu nedenle hızla tedavi edilmelerini gerektirmektedir.

Bu çalışmada; demir eksikliği anemisinde, transferrin düzeyi  $370.05 \pm 197.49$  mg/dl ve kontrol grubunda  $261.10 \pm 56.99$  mg/dl olarak bulunmuştur ve artma oranı %42'dir. Ortalamalar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P < 0.025$ ) yani demir eksikliğinde serum transferrin düzeyinin yükseldiği görüldü. Bu durum demir eksikliğinde transferrin sentezinin arttığına dair(6) klasik bilgilerimize tamamen paralellik göstermektedir ve tedavi ile serum transferrin düzeyinin kontrol grubundaki düzeye düştüğü saptanmıştır.

Demir eksikliği anemisi olan 20 hastanın 10 tanesi fersamal(ferrous fumarat), 10 tanesi de ferrum(demir-III-OH polimaltoz kompleksi) ile tedavi

edilerek Hb, GA, LAP ve transferrin düzeylerindeki değişiklikler incelendi. Fersamal verilen grubun tedavi öncesi ortalama Hb düzeyi  $9.83 \pm 1.61$  g/dl ve ferrum verilen grubun ise  $9.06 \pm 2.07$  g/dl bulundu ve fark istatistiksel olarak önemsiz idi ( $P > 0.1$ ). Tedavi sonrası, hem fersamal hemde ferrum alan grubun Hb düzeylerinde önemli derecede yükselme olduğu görüldü ( $P < 0.0005$ ) ve fersamal ile ortalama Hb düzeyi  $11.62 \pm 1.03$  g/dl, ferrum ile  $9.59 \pm 2.07$  g/dl'e yükseldi. Ancak bu iki grubun tedavi sonrası Hb düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aradaki fark önemli bulundu ( $P < 0.01$ ). Yine fersamal ile sağlanan Hb artışı  $1.79 \pm 0.88$  g/dl, ferrum ile  $0.53 \pm 0.28$  g/dl bulundu ve fark ileri derecede önemli idi ( $P < 0.0005$ ). Yani DEA'de fersamal tedavisinin ferruma göre daha etkili olduğu ve Hb düzeylerinde daha iyi bir düzelme yaptığı anlaşılmıştır.

Fersamal verilen grubun tedavi öncesi GA düzeyi ile ferrum verilen grubun tedavi öncesi GA düzeyi karşılaştırıldığında aradaki farkın önemli olmadığı görüldü ( $P > 0.05$ ) ve aynı grupların tedavi öncesi LAP düzeyleri arasındaki fark yine önemsiz bulundu ( $P > 0.4$ ). Yani farklı tedavi alan 10'ar kişilik hasta grupları arasında tedavi öncesi GA ve LAP düzeylerini etkileyebilecek bir farklılık yoktu. Fersamal tedavisinden sonraki GA düzeyleri, tedavi öncesiyle karşılaştırıldığında oran olarak %46 artma gözlemlendi ve aradaki fark istatistiksel olarak önemliydi ( $P < 0.005$ ) (Grafik 10). Aynı şekilde fersamal alan grubun tedavi sonrası LAP düzeyi, tedavi öncesiyle karşılaştırıldığında oran olarak %38 artma görüldü ve fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $P < 0.005$ ) (Grafik 10). Ferrum verilen grupta da tedavi sonrasında tedavi öncesine göre oran olarak %28 ve %17 GA ve LAP artışı saptanmış ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür

( $P < 0.005$ ) (Grafik 10). Fersamal ile sağlanan GA'daki artış miktarı ile ferrum tarafından oluşturulan artış karşılaştırıldığında, fersamalin ferruma göre GA'nı %39 oranında daha fazla arttırdığı gözlenmiş ancak aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.4$ ). Aynı gruplarda tedavi sonrası LAP artışları karşılaştırıldığında fersamal alan grubun ferruma göre LAP'da %17 oranında daha fazla artış yaptığı gösterilmiş ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Böylece fersamal ve ferrum GA'da aynı derecede düzelme sağlayabildiği halde, fersamalin LAP aktivitesini daha etkin bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir.

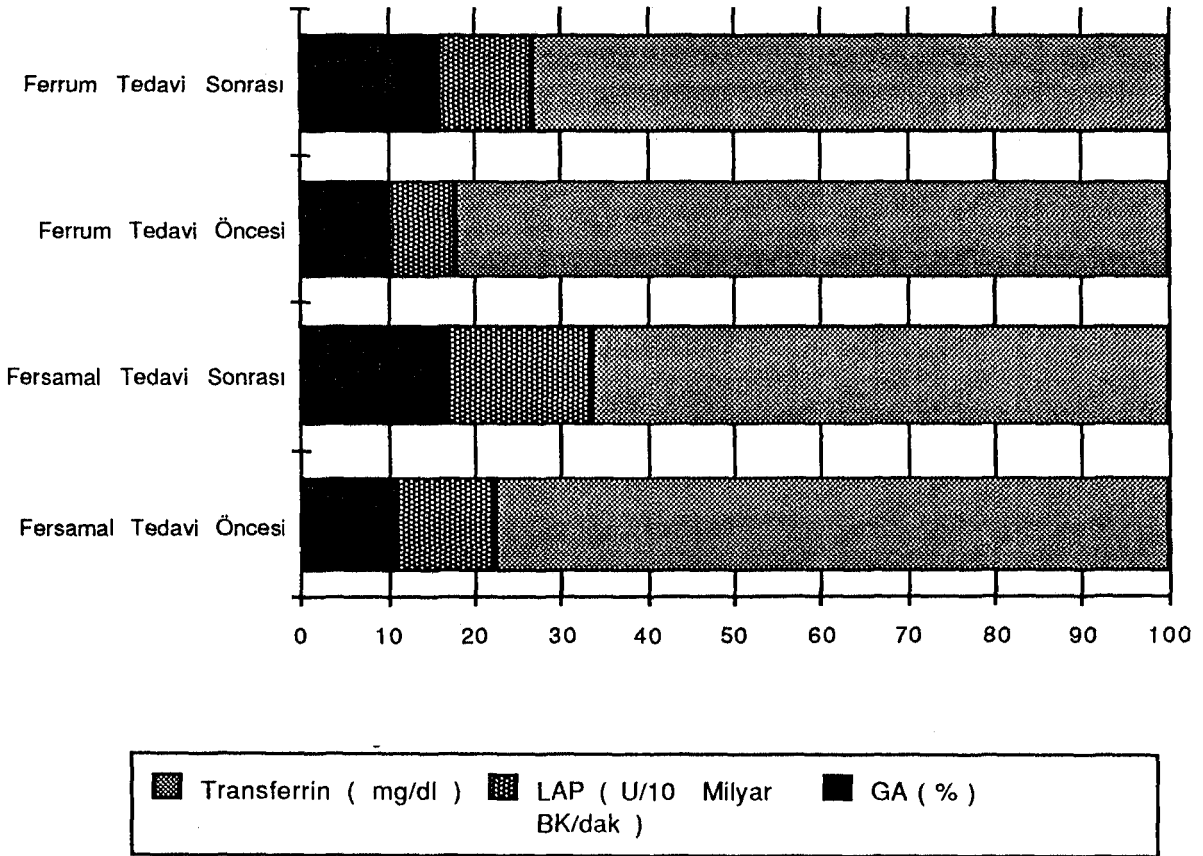
Çalışmamızda gerek fersamal ve gereksede ferrum ile tedavi edilen hastaların GA ve LAP artışları arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır ( $r = 0.07$ ,  $r = 0.41$ ). Bu bizim için beklenen bir sonuç olmuştur, çünkü bu iki parametre nötrofillerin farklı fonksiyonları ile ilgilidir.

Ferrum ile tedavi edilen hasta grubunun, tedavi sonrası transferrin değeri, tedavi öncesine göre oran olarak %27 azalma gösterdi ve fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $P < 0.05$ ) (Grafik 10), buna karşılık fersamal ile tedavi sonrasında transferrinde görülen %19 oranındaki azalma, istatistiksel olarak çok daha önemliydi ( $P < 0.005$ ) (Grafik 10). Bu da fersamalin hastaları daha etkili bir şekilde tedavi ettiğini gösteren diğer bir bulguydu.

Sonuç olarak fersamal ve ferrum tedavisi karşılaştırıldığında, fersamal ile hemoglobinin daha fazla yükseldiği, lökosit alkalen fosfatazda daha etkin düzelme ve transferrinde daha çok azalma olduğu gözlemlendi. Ancak granülosit adheransındaki düzelme ikisinde de aynı olarak görüldü. Bu sonuçlar bize fersamal ile daha etkin bir tedavi sağlandığını göstermektedir. Bu durum fersamalin gastrointestinal absorpsiyonunun daha iyi ve elementer demir



Grafik-10 : Ferrous Fumarat ( Fersamal ) ve Demir-III-OH Polimaltoz Kompleksi ( Ferrum ) ile Tedavi Öncesi ve Sonrası Granülosit Adheransı ( GA ), Lökosit Alkalen Fosfataz ( LAP ) ve Transferrin Düzeylerindeki Değişiklikler



konsantrasyonunun daha fazla olmasıyla açıklanabilir. Ancak bu çalışma bize, aynı zamanda ferrumunda demir eksikliği anemisinde etkili bir ajan olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte günümüzdeki birim fiyatlarla karşılaştırıldığında 1 tablet fersamal 13.26TL iken, 1 draje ferrum 256.66TL'si olduğu saptanmış ve ferrum ile demir eksikliği anemisi tedavisinin, fersamale göre 19 kat daha pahalıya mal olduğu anlaşılmıştır.

## S O N U Ç L A R

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar şunlardır:

1-Demir eksikliği anemisinde (DEA) granülosit adheransı (GA), kontrol grubuna göre %16 oranında azalmıştır( $P < 0.05$ ).

2-DEA'de LAP düzeyleri kontrol grubuna göre %22 oranında azalma göstermiştir( $P < 0.025$ ).

3-DEA'de transferrin düzeyleri kontrol grubuna göre %42 oranında artma göstermiştir( $P < 0.025$ ).

4-Ferrous fumarat (fersamal) tedavisi alan grupta GA başlangıç değerine göre %46 oranında artma göstermiştir( $P < 0.005$ ).

5-Ferrous fumarat (fersamal) tedavisi alan grupta LAP aktivitesi başlangıç değerine göre %38 oranında artma göstermiştir( $P < 0.005$ ).

6-Ferrous fumarat (fersamal) tedavisi alan grupta transferrin düzeyi %19 oranında azalma göstermiştir( $P < 0.005$ ).

7-Demir-III-OH polimaltoz kompleksi (ferrum) tedavisi alan grupta GA başlangıç değerine göre %28 artma göstermiştir( $P < 0.005$ ).

8-Demir-III-OH polimaltoz kompleksi (ferrum) tedavisi alan grupta LAP aktivitesi başlangıç değerine göre %17 oranında artma göstermiştir( $P < 0.005$ ).

9-Demir-III-OH polimaltoz kompleksi (ferrum) tedavisi alan grupta transferrin düzeyi %27 oranında azalma göstermiştir( $P < 0.05$ ).

## Ö Z E T

Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı Laboratuvarlarında yapılan bu çalışmanın birinci kısmında; demir eksikliği anemisi(DEA) olanlarla, sağlıklı bireylerde(kontrol grubu), % granülosit adheransı (GA), lökosit alkalin fosfataz aktivitesi (LAP) ve serum transferrin düzeyleri çalışılmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında ise; demir eksikliği anemisi olan grup ikiye ayrılarak, birinci grup ferrous fumarat(fersamal) 3xl oral tablet, ikinci grup ise demir-III-OH polimaltoz kompleksi (ferrum) 3xl oral draje verilerek 4 hafta tedavi edilmiş ve yukarıdaki parametreler tekrar değerlendirilmiştir.

Çalışmaya katılan kontrol grubunda; GA  $60.04 \pm 15.28$ , LAP aktivitesi  $54.45 \pm 16.10$  U/10<sup>10</sup>BK/dak, serum transferrin düzeyi  $261.10 \pm 56.99$  mg/dl olarak bulunmuştur. Demir eksikliği anemisi olanlarda ise; GA  $50.53 \pm 16.10$ , LAP aktivitesi  $42.76 \pm 17.42$  U/10<sup>10</sup>BK/dak, serum transferrin düzeyi  $370.05 \pm 197.49$  mg/dl olarak saptanmıştır. Bu bulgular karşılaştırıldığında; DEA'de, GA'da %16 azalma ( $P < 0.05$ ), LAP aktivitesinde %22 azalma ( $P < 0.025$ ), transferrin düzeyinde ise %42 artma ( $P < 0.025$ ) olduğu gösterilmiştir.

Ferrous fumarat (fersamal) ile tedavi edilen grubun tedavi öncesi GA'sı  $41.25 \pm 19.75$ , LAP aktivitesi  $43.74 \pm 18.85$  U/10<sup>10</sup>BK/dak, transferrin düzeyi  $293.80 \pm 53.63$  mg/dl iken, tedavi sonrası GA'sı  $60.06 \pm 12.22$ , LAP aktivitesi  $60.23 \pm 16.72$  U/10<sup>10</sup>BK/dak, transferrin düzeyi ise  $237.70 \pm 36.02$  mg/dl olarak bulunmuştur. Bu bulgular karşılaştırıldığında; GA'da %46 artma ( $P < 0.005$ ), LAP aktivitesinde %38 artma ( $P < 0.005$ ), transferrin düzeyinde ise %19 azalma ( $P < 0.005$ ) olduğu gösterilmiştir.

Demir-III-OH polimaltoz kompleksi(ferrum) ile tedavi edilen grubun tedavi öncesi GA'sı  $54.77 \pm 15.80$ , LAP aktivitesi  $41.78 \pm 16.82$  U/10<sup>10</sup>BK/dak, transferrin düzeyi  $446.30 \pm 257.95$  mg/dl iken, tedavi sonrası GA'sı  $70.29 \pm 9.43$ , LAP aktivitesi  $48.80 \pm 14.47$  U/10<sup>10</sup>BK/dak, transferrin düzeyi ise  $324.90 \pm 122.30$  mg/dl olarak saptanmıştır. Bu bulgular karşılaştırıldığında; GA'da %28 artma ( $P < 0.005$ ), LAP aktivitesinde %17 artma ( $P < 0.005$ ), transferrin düzeyinde ise %27 azalma ( $P < 0.05$ ) olduğu gösterilmiştir.

Demir eksikliği anemisinde gerek ferrous fumarat (fersamal) ve gerekse de demir-III-OH polimaltoz kompleksi (ferrum) tedavisinin; granülosit adheransı, lökosit alkalin fosfataz aktivitesi ve transferrin düzeylerinde, istatistiksel olarak önemli derecede düzelme yaptığı saptanmıştır. Ancak ferrous fumaratın, demir-III-OH polimaltoz kompleksine göre GA'sını %39, LAP aktivitesini ise %17 oranında daha fazla düzelttiği gösterilmiştir. Transferrin düzeyini ise demir-III-OH polimaltoz kompleksinin (ferrum), ferrous fumarata (fersamal) göre %30 daha fazla azalttığı bulunmuştur.

K A Y N A K L A R

1. Palmblad J. The role of granulocytes in inflammation. Scand J Rheumatology 1984; 13:163-72.
2. Tonnesen M G, Smedly L A, Knedler A, Henson P M. Modulation of neutrophil adherence to endothelial cells induced by chemotactic factors and lipid mediators. Advances in Inflammation Research 1986;10:288-91.
3. Meyrick B, Hoffman L H, Brigham KL. Chemotaxis of granulocytes across bovine pulmonary artery intimal explants without endothelial cell injury. Tissue and Cell 1984; 16:1-16.
4. Oseas R, Yang H H, Baehner R L, Boxer L A. Lactoferrin: A promoter of polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. Blood 1981;57:939-45.
5. Celada A, Herreros V, Pugin P, Rudolf H. Reduces leucocyte alkaline phosphatase activity and decreased NBT reduction test in induced iron deficiency anaemia in rabbits. British Journal of Haematology 1979;43:457-63.
6. Williams W J, Beutler E, Erslev A J, Lichtman M A. Hematology. Third edition McGraw-Hill Book Company New York, 1986.
7. Harlan J M. Leukocyte-endothelial interactions. Blood 1985; 65:513-25.
8. Notes. Augmented neutrophil adherence in active and remote tuberculosis. Am Rev Respir 1981; 124:643-45.
9. Valk P V D, Herman C J. Biology of disease leucocyte functions. Laboratory Investigation 1987;57:127-37.

10. Zimmerman G A, Hill H R. Inflammatory mediators stimulate granulocyte adherence to cultured human endothelial cells. *Thrombosis Research* 1984; 35:203-17.
11. Zimmerman G A, Wiseman G A, Hill H R. Human endothelial cells modulate granulocyte adherence and chemotaxis. *The Journal of Immunology* 1985; 134:1866-74.
12. Pearson J D, Carleton J S, Beesley J E, Hutchings A, Gordon J L. Granulocyte adhesion to endothelium in culture. *J Cell Sci* 1979;38: 225-35.
13. Spagnuolo P J, Ellner J J. Comparative stimulation of granulocyte adherence and chemotaxis by bacterial products. *Infection and Immunity* 1980; 27:519-24.
14. Macgregor R R, Macarak E J, Kefalides N A. Comparative adherence of granulocytes to endothelial monolayers and nylon fiber. *The Journal of Clinical Investigation* 1978;61:697-702.
15. Boxer L A, Allen J M, Schmidt M, Yoder M, Baehner R L. Inhibition of polymorphonuclear leukocyte adherence by prostacyclin. *J Lab Clin Med* 1980;95:672-78.
16. Hill H R, Estensen R D, Quie P G, Hogan N A, Goldberg N D. Modulation of human neutrophil chemotactic responses by cyclic 3',5'-guanosine monophosphate and cyclic 3',5'-adenosine monophosphate. *Metabolism* 1975; 24: 447-56.
17. Ham E A, Soderman D D, Zanetti M E, Dougherty H W, McCauley E, Kuehl F A. Inhibition by prostaglandins of leukotriene B<sub>4</sub> release from activated neutrophils. *Proc Natl Acad Sci* 1983;80:4349-53.

18. Hoover R L, Folger R, Haering W A, Ware B R, Karnovsky M J. Adhesion of leukocytes to endothelium: Roles of divalent cations, surface charge, chemotactic agents and substrate. *J Cell Sci* 1980; 45:73-86.
19. Haftsröm I. The effect of auranofin on polymorphonuclear granulocytes. *Scand J Rheumatol (suppl)* 1983; 51:36-41.
20. Boogaerts M A, Yamada O, Jacob H S, Moldow C F. Enhancement of granulocyte endothelial cell adherence and granulocyte-induced cytotoxicity by platelet release products. *Proc Natl Sci* 1982; 79:7019-23.
21. Koppi T A, Maluish A E, Halliday W J. The cellular mechanism of leukocyte adherence inhibition. *The Journal of Immunology* 1979; 123:2255-60.
22. Greenberger J S, Hassan L R, Karpas A, France D S, Moloney W C. Leukocyte alkaline phosphatase elevation in human acute leukaemia derived cell lines cultured in diffusion chambers. *Scand J Haematol* 1977; 19:242-254.
23. Apaydın M C, Erkul M, Gök H. Lenfomalı hastalarda lökosit alkalen fosfataz (LAP) düzeyleri. *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 1984; 6:505-19.
24. Wyngaarden J B, Smith L H. Cecil textbook of medicine. 18th edition volume 1. W B Saunders Company Philadelphia London, 1988.
25. Schiliro G, Russo A, Azzia N, Mancuso G R, Gregorio F D, Romeo M A, Fallico R, Sciacca S. Leukocyte alkaline phosphatase (LAP) useful marker of zinc status in  $\beta$ -thalassemic patients. *The American Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 1987; 9(2):149-52.
26. Trubowitz S, Feldman D, Benante C, Hunt V M. The alkaline phosphatase content of the human polymorphonuclear leukocyte in blood and marrow. *American Journal of Clinical Pathology* 1959; 31:483-86.
27. Kaplow L S. A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. *Blood* 1955; 10:1023-28.

28. Trubowitz S, Feldman D, Morgenstern S W, Hunt V M. The isolation, purification and some properties of the alkaline phosphatase of human leucocytes. *Biochem J* 1961; 80:369-74.
29. Williams P M. Leukocyte alkaline phosphatase as a marker of cell maturity: A quantitative cytochemical and autoradiographic study. *Br J Haematol* 1975; 31:371-79.
30. Özsoylu Ş. Leukocyte alkaline phosphatase activity in rickets due to vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine* 1969; 280: 1221-23.
31. Haight W F, Rossiter R J, Phil D. Acid and alkaline phosphatase in white cells. Data for the lymphocyte and the polymorphonuclear leukocyte of man and the rabbit. *Blood* 1950; 5:267-76.
32. Rustin G J S, Wilson P D, Peters T J. Studies on the subcellular localizing of human neutrophil alkaline phosphatase. *J Cell Sci* 1979; 36:401-12.
33. Rausch G, Moore T G. Granule enzymes of polymorphonuclear neutrophils: A phylogenetic comparison. *Blood* 1975; 46:913-49.
34. Bainton D F, Farquhar M G. Differences in enzyme content of azurophil and specific granules of polymorphonuclear leukocytes. *The Journal of Cell Biology* 1968; 39:299-317.
35. Steinberg M H. Leukocyte alkaline phosphatase. *Annals of Internal Medicine* 1974; 81:274.
36. Trubowitz S, Feldman D, Benante C, Kirman D. Metal requirements of alkaline phosphatases of human and rabbit leucocytes. *J Biophys and Biochem Cytology* 1957; 3:35-8.



37. Valentine W N, Beck W S. Biochemical studies on leucocytes. I. phosphatase activity in health, leucocytosis and myelocytic leucemia. *J Lab and Clin Med* 1951; 38:39-55.
38. Trubowitz S, Moschides E, Feldman D, Orange E. Alkaline phosphatase activity of the polymorphonuclear leukocyte in rapidly induced leukopenia and leukocytosis. *J Lab Clin Med* 1961; 57(5):747-53.
39. Özsoylu Ş. Leukocyte alkaline phosphatase in iron deficiency. *Acta Haemat* 1970; 44:327-29.
40. Eng L L L. Alkaline phosphatase activity of the leukocytes in animals. *Nature* 1964; 204:191-2.
41. Dechatelet L R, Cooper M R. A modified procedure of the determination of leukocyte alkaline phosphatase. *Biochemical Medicine* 1970; 4:61-68.
42. Jaffe N, Paed D, Bishop Y M M. The serum iron level, hematocrit, sedimentation rate and leukocyte alkaline phosphatase level in pediatric patients with Hodgkin's Disease. *Cancer* 1979; 26:332-37.
43. Tanaka K R, Valentine W N, Fredricks D E. Diseases or clinical conditions associated with low leukocyte alkaline phosphatase. *The New England Journal of Medicine* 1960; 262:912-18.
44. Rosner F, Lee S L. Endocrine relationships of leukocyte alkaline phosphatase. *Blood* 1965; 25:356-67.
45. Palmblad J. Fasting (acute energy deprivation) in man: Effect on polymorphonuclear granulocyte functions, plasma iron and serum transferrin. *Scand J Haematol* 1976; 17:217-26.
46. Braunwald E, Isselbacher K J, Pertersdorf R G, Wilson D J, Martin J B, Fauci A S. *Harrison's principles of internal medicine, eleventh edition* McGraw-Hill Book Company New-York San Francisco, 1987.

47. Repine J, Clawson C C, Brunning R D. Primary leucocyte alkaline phosphatase deficiency in a adult with repeated infections. British Journal of Haematology 1976; 34:87-94.
48. Joynson D H M, Jacobs A, Walker D M, Dolby A E. Defect of cell-mediated immunity in patients with iron-deficiency anaemia. The Lancet 1972:18: 1058-59.
49. Kayaalp S O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. İkinci baskı 3.cilt Nüve Matbaası Ankara,1983.
50. Berkarda B, Müftüoğlu A Ü, Ulutin O N. Kan Hastalıkları. Güray Matbaacılık İstanbul,1983.
51. Jacobs P, Wormald L A, Gregory M C. Absorption of iron polymaltose and ferrous sulphate in rats and humans. S A Med J 1979; 55:1065-72.
52. Sas G, Nemesanszky E, Brauer H, Scheffer K. On the therapeutic effects of trivalent and divalent iron in iron deficiency anaemia. Arzneim Forsch. Drug Res 1984; 34(II);11:1575-79.
53. Lorente F, Fontan G, Rodriguez G, Ojeda J A. A simple and reproducible method to evaluate granulocyte adherence. Journal of Immunological Methods 1978; 19:47-51.