

Demir Eksikliği Anemisinde Trombosit "MAO" Aktivitesi ve İdrar Metanefrin Düzeyi

IRON DEFICIENCY ANEMIA AND
CATECHOLAMIN METABOLISM

Türkan PATIROĞLU
Pakize DOĞAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ve Biyokimya Anabilim Dalları, KAYSERİ

Geliş Tarihi: 6 Şubat 1989
Kabul Tarihi: 25 Aralık 1989

ÖZET

Yaşları 1.5 ile 14 yıl arasında değişen 13 sağlıklı kontrol ile iştahsızlık, davranış değişikliği ve dikkat azlığı yakınmaları olan 24 demireksikliği anemisinde platelet monoamin oksidaz (MAO) aktiviteleri ve idrar metanefrin (MN) düzeyleri tayin edilmiştir. Kontrol grubuna oranla anemili hastalarda platelet MAO aktiviteleri düşük düzeylerde bulunmuş ve ortalamaları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.005$). Anemili hastalar ve kontrolları ortalama idrar MN düzeyleri arasındaki fark da önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Bir aylık oral demir tedavisini takiben kontrolü gelen 15 vakanın platelet MAO aktiviteleri ve idrar MN düzeyleri yeniden ölçülmüş, tedaviden önceki ve sonraki değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Sonuç olarak, oral demir tedavisi ile hemoglobin ve serum demiri normal düzeylere erişmeden dahi, platelet MAO aktivitesinde artma ve idrar MN düzeylerinde azalma olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Demir eksikliği anemisi, platelet MAO aktivitesi, idrar metanefrini.

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi C.8, S.4,1990, 343-347

Demir eksikliği anemisi, hemoglobin (Hb) yapımı için gerekli demirin yetersiz olduğu durumda ortaya çıkan hipokrom mikrositer bir anemidir. Hb in 11 gr/dl nin altında olduğu durumlarda demir eksikliği anemisi tanısı, serum demirinde azalma, demir bağlama kapasitesinde artma ve transferrin saturasyonunun %15 in altında olması ile konulmaktadır (4).

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.8, S.4,1990
Turkish Journal of RESEARCH in Medical Sciences V.8, N.4, 1990

SUMMARY

To assess the effects of iron therapy on platelet monoamine oxidase activity and urinary excretion of total metanephrines in infants and young children with iron deficiency anemia 24 subjects 1.5-14 years of age were tested before and after one month of oral iron treatment, although urinary excretion levels of metanephrines of anemic group were found to be lower than control no statistical significance was observed ($P > 0.05$). Difference between the platelet MAO activities in both groups was highly significant ($P < 0.005$). Fifteen out of 24 anemic cases who were treated with oral iron for one month period came to control. A significant difference was found between platelet MA activity and urinary excretion of metanephrines before and after iron therapy ($P < 0.05$). Although hemoglobin and transferrin saturation didn't return to normal, these findings suggested that platelet MAO activity increased and urinary excretion of metanephrines decreased after iron therapy.

KeyWords: Iron deficiency anemi, platelet MAO activity, urinary excretion of metanephrine.

T J Research Med Sci V.8, N.4,1990,343-347

Demir eksikliği anemisinde huzursuzluk, davranış bozukluğu, dikkat azalması ve öğrenme güçlüğü gibi değişiklikler gözlenmektedir (1,12). Anemi ve zihinsel değişiklikler arasındaki ilişkinin beyin fonksiyonlarında rolü olan enzimlerin aktivitesinde azalmaya bağlı olabileceği ileri sürülmektedir. Bu konuda norepinefrin, serotonin ve dopamin gibi nörotransmitterleri metabolize eden

monoaminoksidaz (MAO) enzimi sorumlu tutulmaktadır (8). Demir MAO sentezi için gerekebilir veya enzim fonksiyonu için kofaktör olabilir. Demir eksikliği anemisi olan çocuk ve radarda MAO aktivitesinin azaldığı ve ancak serum demiri normal düzeye eriştiğinde MAO aktivitesinin yükseldiği vurgulanmaktadır (18). Oysa Oski ve Hanig (7) ile tedavinin başlamasından birkaç gün sonra davranış ve zihinsel değişikliklerin düzeldiği belirtilmektedir.-

Biz de bu çalışmada, sağlıklı kontroller ile demir eksikliği anemisi olan vakalarda platelet MAO aktivitesi Ue bir katekolamin türevi olan metanefrin (MN) düzeyi arasındaki ilişkiyi, ayrıca demir tedavisinin MAOaktivitesi ve idrar MN düzeyine etkisini göstermeyi amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Eylül 1988 ile Ocak 1989 tarihleri arasında E.Ü.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğine başvuran yaşlan 1,5 Ue 14 yıl arasında değişen 11'i erkek, 13'ü kız toplam 24 demir eksikliği anemisi olan hasta ile yaşlan 1,5 ile 14 yıl arasında değişen 6'sı kız, 7'si erkek toplam 13 sağlıklı çocuk üzerinde yapıldı. Hasta grubundaki çocuklarda Hb değeri 11 gr/di ve transferrin saturasyonu %15 in altında idi, ayrıca huysuzluk, iştahsızlık ve çevreye uyumsuzluk ve dikkatsizlik gibi sorunları bulunmaktaydı. Bu vakaların hiçbirinde enfeksiyon veya kronik hastalık yoktu.

Her iki grubu oluşturan tüm vakalarda Hb, Hct, ortalama eritrosit hacri (OEH) ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb) ve ortalama eritrosit Hb konsantrasyonu (OEHbK) "cultur counter-S 880 (Northwel Drive Inton, Beds, England)" ile ölçüldü. Serum demir ve demir bağlama kapasitesi hazır kit Ue (Sigma) ölçüldü ve transferrin saturasyonu % olarak hesaplandı.

Ayrıca platelet MAO aktivitesi ölçümü için plastik enjektör Ue 5 cc heparinli kan alındı. İdrarda metanefrin ve norepinefrin ölçümü için ise 24 saatlik idrar, içinde 10-15 ml hidroklorik asit bulunan şişelerde toplandı.

Anemi grubundaki tüm vakalara 6 mg/kg/gün olacak şekilde demir tedavisi başlandı ve hastalar bir ay sonra kontrole çağrıldı. Ancak 24 vakanın 15 i kontrole geldi. Rutin kan tetkikleri, serum demir ve demir bağlama kapasitesi, platelet MAO ak-

tivitesi ve 24 saatlik idrarda MN ve normetanefrin (NMN) düzeyleri yeniden ölçüldü.

Platelet MAO aktivitesi ölçümü; plastik tüplere aktarılan 5 ml heparinli kan 1000 xrpm de 4°C de 5 dakika santrifüje edilerek plazması ayrıldı. Elde edilen plazmanın üst 2 ml si alındı ve plateletleri sayıldı ve -20°C de deney amna kadar saklandı. pH = 7.2 olan bir ortamda 8mM ben-zilamin Ue plateletler 37°C de 60 dakika inkübe edildi. Deneyin başında ve 60. dakikada 242 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı örneklerin absorpsiyonları okundu. 242 mM dalga boyunda dakikadaki 0.001 O.D değişimi 1 enzim ünitesi olarak tanımlandı. Bi-üret yöntemine göre protein tayini yapıldı (14). Spesifik aktivite enzim ünitesi/mg protein olarak tarif edildi (6).

Total Metanefrin Tayint

Metanefrin + normetanefrin tayini: Pisano ve arkadaşlarının (11) yöntemine göre yapıldı. 24 saatlik idrar örneği (10 ml) pH = 0.9 a ayarlandı ve metanefrinler 20 dakika kaynar su banyosunda hidrolizlendi. Daha sonra soğutulan örneklerin pH sı 6-6.5 a ayarlandı. Amberlite CG-50 kolonları üzerine adsorbe edilen metanefrinler, amonyum hidroksit ile yıkandı ve periodat ile vaniline oksitlendi. Örneklerin absorpsansı 360 nm dalga boyunda reaktif körüne karşı okundu. Standartlar Ue karşılaştırılarak hesaplandı. Tüm deneyler çift olarak çalışıldı. Küçük yaş grubundaki çocuklarda günlük idrar toplamada hata ihtimali göz önüne alınarak idrar kreatinin değerleri çalışıldı ve MN + N M N u.g/mg kreatinin olarak tariflendi (3).

İstatistikî analiz için iki ortalama ve eşler arası farkın önemlilik testleri kullandı (15).

BULGULAR

Çalışma, 1.5-14 yaş arasındaki 11'i erkek, 13'ü kız toplam 24 demir eksikliği anemisi olan vaka ile 7'si erkek, 6'sı kız 13 sağlıklı çocuk üzerinde yapıldı. Anemili vakaların tedavi öncesi Hb düzeyleri 4.6 ile 10,5 gr/dl arasında olup, ortalama 8.34 0.53 gr/dl idi. Kontrol grubunda ise Hb düzeyleri 11.5-13.0 gr/dl arasında değişmekte olup, ortalama 12.40 ± 0.14 gr/dl idi ve her iki ortalama arasındaki fark önemli idi (P<0.05). Anemi grubundaki vakaların transferrin saturasyonuu %2.9 Ue 9.7 arasında değişmekte olup, ortalama

Tablo 1. Anemili ve Sağlıklı Kontrollerin Hematolojik ve Biyokimyasal Bulguları

No	Yaş	Anemili Grup				Kontrol Grubu				
		Hb gr/dl	Transferrin Satürasyonu %	Platelet MAO Aktivitesi Ü/mg protein	İdrar MN-NMN mg/mg kreatinin	Hb gr/dl	Transferin Satürasyonu %	Platelet MAO Aktivitesi Ü/mg protein	İdrar MN-NMN mg/mg kreatinin	
1	15	8.5	5.0	0.081	0.808	15	12.0	39.6	0.182	3.125
2	15	9.6	9.7	0.102	0.412	15	12.7	34.0	0.160	5.040
3	15	9.5	4.2	0.073	1.371	2	12.0	20.5	0.362	6.719
4	15	7.6	7.0	0.074	1.733	3	13.0	26.7	0.165	3.167
5	15	8.8	2.9	0.072	3.228	4	11.5	25.7	0.182	1.125
6	2	8.8	2.9	0.101	3.531	4	13.0	34.0	0.173	2.012
7	2	7.5	3.0	0.112	0.802	6	12.3	17.8	0.190	1.077
8	3	8.5	3.0	0.109	2.714	6	13.0	17.4	0.190	2.079
9	3	9.6	4.0	0.081	1.474	7	12.7	23.0	0.178	1.125
10	3	8.5	3.2	0.105	1.259	9	13.0	24.7	0.157	2.059
11	3	4.6	5.5	0.059	1.674	10	12.0	17.0	0.209	2.033
12	4	8.8	3.8	0.174	2.295	11	12.0	36.2	0.184	0.788
13	4	8.5	3.1	0.159	1.466	14	13.0	24.7	0.207	2.388
14	5	6.7	6.1	0.098	2.714					
15	6	7.5	4.6	0.143	0.350					
16	6	8.8	8.1	0.078	2.834					
17	7	6.9	8.6	0.076	1.681					
18	7	10.5	6.1	0.205	6.770					
19	10	9.6	2.7	0.085	3.328					
20	11	8.8	3.2	0.049	3.122					
21	11	4.6	3.8	0.122	1.409					
22	12	9.3	5.1	0.563	1.371					
23	14	9.3	4.6	0.084	0.559					
24	14	9.5	3.5	0.065	0.879					

Tablo 2. Anemi ve Kontrol Grupları Ortalama Değerlerinin Karşılaştırılması

Hb (gr/dl)	n	Anemi X ± S X	n	Kontrol X ± S X	t	P
Hb (gr/dl)	24	8.34 ± 0.53	13	12.40 ± 0.14	5.8	P<0.05
Transferrin satürasyonu (%)	24	4.73 ± 0.39	13	25.63 ± 2.19	9.5	P<0.05
Platelet MAO aktivitesi Ü/mg protein	24	0.11 ± 0.02	13	0.2 ± 0.02	3.6	P< 0.005
İdrar MN-NMN mg/mg kreatinin	24	1.99 ± 0.28	13	2.51 ± 0.47	0.9	P>0.05

4.73 ± 0.39, kontrol grubunda ise 17.4 ile 39.6 arasında değişmekte olup, ortalama 25.63 ± 2.19 idi ve iki grup arasındaki fark önemli bulundu (P<0.05). Anemili vakaların platelet MAO aktiviteleri 0.049 ile 0.205 Ü/mg protein olup, ortalama 0.110 ± 0.02 Ü/mg protein idi. Kontrol grubu MAO aktiviteleri ise 0.157 ile 0.562 Ü/mg protein ve ortalama 0.210 ± 0.02 Ü/mg protein idi, ve iki ortalama arasındaki fark önemli bulundu (P<0.005). 24 saatlik idrada total metanefrin düzeyleri hasta grubunda ise 0.788-6.770 u.g/mg kreatinin olup ortalama 1.99 ± 0.28 u.g/mg

kreatinin, kontrol grubunda ise 0.788-6.719 u.g/mg kreatinin arasında değişmekte olup, ortalama 2.510 ± 0.47 u.g/mg kreatinin idi ve iki ortalama arasındaki fark önemsiz bulundu (P > 0.05) (Tablo 1,2).

Anemisi olan 24 vaka 6 mg/kg oral demir ile tedaviye alındı. Tedaviden soma kontrole gelen vakaların hepsinin Hb düzeylerinde ve satürasyon yüzdelerinde artma oldu ve eşler arasındaki fark önemli idi (P<0.05).

Bir aylık tedaviye rağmen Hb düzeyi sadece bir vakada 11 gr/dl nin, bir vakada da transferrin

Tablo 3. Tedaviden Önce ve Sonra Anemdi Vakaların Hematolojik ve Biyokimyasal Bulguları

No	Yaş	Hb(gr/dl)		Transferrin Satürasyonu %		LMAO aktivitesi Ü/mg protein		MN- NMN xg /mg kreatinin	
		Tedaviden Önce	Sonra	Tedaviden Önce	Sonra	Tedaviden Önce	Sonra	Tedaviden Önce	Sonra
1	13	8.5	10.6	5.0	10.5	0.081	0.427	0.808	0.401
2	13	9.6	9.8	9.7	11.3	0.102	0.134	0.412	0.408
3	İS	9.5	10.4	4.2	8.6	0.073	0.181	1.371	1.187
4	İS	7.6	8.3	7.0	9.7	0.074	0.108	1.733	1.265
5	2	8.8	9.8	2.9	4.6	0.101	0.128	3.331	3.197
6	2	7.5	9.1	3.0	7.8	0.112	0.139	0.802	0.682
7	4	8.3	10.2	3.1	9.1	0.159	0.191	1.466	1.348
8	5	8.8	10.4	3.8	10.1	0.174	0.204	2.295	2.052
9	5	6.7	7.3	6.1	5.9	0.098	0.122	2.714	2.522
10	6	8.8	9.8	8.1	15.4	0.078	0.174	2.834	1.920
11	7	10.5	11.5	6.1	13.7	0.205	0.315	6.770	4.228
12	10	9.6	10.4	2.7	6.5	0.085	0.124	3.328	2.834
13	11	8.8	10.4	3.2	3.3	0.049	0.086	3.122	2.841
14	11	4.6	6.9	3.8	7.8	0.122	0.153	1.409	1.210
15	14	9.5	10.8	3.3	10.3	0.065	0.182	0.879	0.753
		P<0.05		P<0.05		P<0.05		P<0.05	

satürasyonu %15 in üzerine yükseldi. Tedaviden sonra tüm vakaların platelet MAO aktivitesinde artma oldu ve eşler arasındaki fark önemli bulundu ($P<0.05$). Total metanefrin düzeylerinde ise tedaviyi takiben azalma saptandı ve eşler arasındaki farkın önemli olduğu gözlemlendi ($P < 0.05$) (Tablo 3).

TARTIŞMA

Webb ve arkadaşları (1x7) demir eksikliği anemisi olan 12-14 yaş grubundaki çocuklarda okul başarısının azaldığını göstermişlerdir. Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada da okul başarısı de demir eksikliğinin ilişkisi vurgulanmıştır (10). Anemi olmasa dahi, demir eksikliği durumunda davranışlarda ve zihinsel gelişimde gerilik olduğu, Bayley gelişme indeksi de gösterilmiştir. Bu durumdan nörotransmitterleri metabolize eden MAO enzimi sorumlu tutulmaktadır. MAO tüm organlarda ve plateletlerde bulunmaktadır. Beyinden iki farklı tipi, MAO A B, plateletlerden ise MAO ve B elde edilmiştir (8,13,16). Şizofrenik ve depresyonlu hastalarda platelet MAO B aktivitelerinde azalmanın gösterilmesi ile platelet MAO düzeyleri beyin enzim aktivitesinin muhtemel bir "marker"i olarak kabul edilmiştir (9). Bu nedenle bizim çalışmamızda da huzursuzluk, çevreye uyumsuzluk, dikkatsizlik gibi

yakınmaları olan demir eksikliği anemisi vakalarında platelet MAO aktiviteleri değerlendirilmiştir. Çalışmamızda sağlıklı kontrollerin ortalama MAO düzeyi 0.21 ± 0.02 Ü/mg protein bulunmuştur. Literatürde ise, sağlıklı erişkinlerde ortalama değer 2.46 ± 1.23 Ü/mg proteindir. MAOaktivitesinin yaşla birlikte arttığı bilinmektedir (2). Vakalarımızın çocuk yaşta olması nedeniyle çalışmamızda daha düşük değerler elde edilmiştir.

Bir nörotransmitter olan epinefrin katekol-o-metil transferaz ile metanefrine (MN), metanefrin de MAO ile 4-OH 3-methoxy mandelik aldehyt ve vanil mandelik asite dönüşmektedir. 1-15 yaş arası sağlıklı çocuklarda idrar MN düzeyleri 0.001-5.38 |xg/mg kreatinin arasında değişmektedir (3). Çalışmamızda ise, kontrol grubu ortalama MN düzeyleri literatüre uygun olarak 2.51 ± 0.47 p,g/mg kreatinin olarak bulunmuştur.

Demirin MAO sentezi veya fonksiyonu için gerekli bir eleman olduğu bilinmektedir. Demir eksikliği olan ratlarda ve çocuklarda platelet MAO aktivitesinde azalma saptanmıştır (18). Çalışmamızda da anemi grubunda kontrollara göre MAO aktivitesi daha düşük düzeylerde bulunmuştur ve iki ortalama arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır.

Demir eksikliği anemisinde 24 saatlik idrarda katekolaminlerin arttığı gösterilmiştir (19). **Ancak**

bizim çalışmamızda her iki grubun idrar MN düzeyleri arasında belirgin bir fark saptanamamıştır.

Oski ve Honig (7), demir eksikliği anemisindeki zihinsel değişikliklerin hemoglobin düzeyinde yükselme olmaksızın birkaç günlük demir tedavisi ile düzelebileceğini belirtirken, bir başka araştırmada düzelme için daha uzun süre demir kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (5). Woods ve arkadaşları (18) ise, ancak serum demiri ile paralel olarak platelet MAOaktivitesinin yükseldiğini belirtmektedir. Bizim çalışmamızda ise bir aylık demir tedavisini takiben MAO aktivitesinde artma ve idrar MN düzeylerinde azalma gözlenmiştir. Tedaviden önce ve sonra MAO aktivitesi ve idrar MN düzeyleri arasındaki fark önemli bulunmuştur. Tedaviyi takiben Hb ve demir düzeylerinde artma olmasına karşılık, bir vaka dışında hiçbirinde nor-

mal düzeylere erişilememiştir. Hastalarımızda tedaviye başlamadan önce demir emiliminde bozukluk veya kayıp olabileceği dikkate alınarak gaitada gizli kan ve parazit araştırdımış, gastrik asidite tavin edilmiş ve akciğer grafileri çekilmiş, ancak patolojik bir bulguya rastlanılmamıştır. Tedaviye rağmen Hb değerlerinin beklenen düzeylere ulaşmasının ilacın düzensiz kullanımı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Buna rağmen hastalarımızda davranış ve zihinsel fonksiyonlarda klinik olarak düzelme gözlenmiştir.

Bu çalışmada, demir eksikliği anemisi olan çocuklarda bir aylık demir tedavisi de platelet MAO aktivitesinde artma ve idrar MN-NMN düzeylerinde azalma olduğu saptanmış, klinik olarak da davranış ve zihinsel fonksiyonlarda düzelme dikkati çekmiştir.

KAYNAKLAR

1. Aukeett MA, Parks YA, Scott PH, et al: Treatment with iron increases weight gain and psychomotor development. *Arch Dis Child* 61: 849-857,1986.
2. Balon R, Rainey MJ, Pohl R, et al: Platelet monoamine oxidase activity in panic disorder. *Psych Research* 22: 37-41, 1987.
3. Chatteraj CS Watts BN: Catesholamines and Metabolites. In Tietz NW, ed *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia, WB Saunders Company, pp: 997-1160,1986.
4. Dallman PR: Disorders of red cell production. In Oski FA, ed *Hematology of Infancy and Childhood*, Philadelphia, WB Saunders Company pp: 123-125,1974.
5. Lozoff B, Brittenham GM: The effect of short term oral iron therapy on developmental deficits in iron deficient anemic infants. *J Pediatr* 100: 351-357,1982.
6. McEwen MC, Jk Monoaimen oxidase (human serum on plasma). In Colowick SP and Kaplan NO, ed *Methods in Enzymology*, New York and London, Academic Press, pp: 692-693,1971.
7. Oski FA, Honig AS: The effects of therapy on the developmental scores of iron-deficient infants. *J Pediatr* 92: 21-24,1978.
8. Oski FA, Honig AS: Effect of iron therapy on behavior performance in nonanemic iron deficient infants. *Pediatrics* 71:877-880,1983.
9. Pandey GN, Fawcett, J, Gibbons R, et al: Platelet monoaimen oxidase in alcoholism. *Biol Psychiatr* 24: 15-24, 1988.
10. Pekcan G: İlkokul çocuklarında beslenme alışkanlıktan, demir yetmezliği anemisi, enfeksiyon ve okul başarısı arasındaki etkileşimler. *Doç.Tezi*, Ankara, 1982.
11. Psiano JJ: A simple analysis for metanephrine and normetanephrine in urine. *Clin Chim. Acta* 5: 406-414, 1960.
12. Pollitt E, Leibel RL: Iron deficiency and behavior. *J Pediatr* 88: 372-381,1976.
13. Pollitt E, Pollitt CS, Leibel RL, et al: Iron deficiency and behavioral development in infants and preschool children. *Am J Clin Nutrition* 43: 555-565,1986.
14. Silverman LM; Christenson RH, Grant GH, et al: Amino acids and proteins., In Tietz NW, ed *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia, WB Saunders Company, pp: 583-584,1986.
15. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: *Biyoistatistik Ankara Çağ Matbaası*, s: 58-64,1987.
16. Walter T, Kovalsky J, Stehel A: Effect of mild iron deficiency on infant mental development scores. *J Pediatr* 102: 519-522,1983.
17. Webb ET, Oski FA: iron deficiency anemia and scholastic achievement in young adolescent. *J Pediatr* 82:827-830,1973.
18. Woods HF, Youdim MBH, Boullin D, et al: Monoamine metabolism and platelet function in iron-deficiency anemia. In: *Iron Metabolism Excerpta Medica*, Amsterdam, North Holland Publish Co., pp: 227-247,1977.
19. Woorhes ML; Stuart MJ, Stockman JA: Iron deficiency anemia and increased urinary norepinephrine excretion. *J Pediatr* 86:542-547,1975.