

## Demir Düzeyi ve İskemi Modifiye Albumin Iron Levels and Ischemia Modified Albumin

Yusuf Kurtulmuş<sup>1</sup>, Elif Demircan<sup>2</sup>, Funda Kırtay Tütüncüler<sup>2</sup>, Ertan Eşsizoglu<sup>2</sup>, Hakan Türkön<sup>3</sup>, Can Duman<sup>4</sup>, Coşkun Bakar<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Uzm.Dr., İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup> Arş.Gör.Dr., Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

<sup>3</sup> Yrd.Doç.Dr., Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

<sup>4</sup> Prof.Dr., Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

<sup>5</sup> Doç.Dr., Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

### Özet

**Amaç:** Demir pekçok önemli fonksiyonun yerine getirilmesinde kilit öneme sahip bir elementtir. Vücuttaki miktarı dengede kalması gereken demirin, eksikliği kadar fazlalığı da çeşitli sorunlara yol açar. Oksidatif hasar meydana gelmesinde demirin de rolü vardır. Öte yandan iskemi sırasında oluşan oksidatif serbest radikaller, albümin molekülünde bazı kimyasal değişikliklere yol açarlar. Bu koşullarda oluşan yeni albümin molekülüne "iskemi modifiye albümin - IMA" iskeiminin en erken belirteçlerindedir. Bu nedenle, vücut demir düzeyinin oksidan strese etkisini incelemek amacıyla iskemi modifiye albümin düzeylerinin yararlılığı değerlendirilmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Rutin biyokimya analizleri için başvuran 73 (13 erkek, 60 kadın) poliklinik hastasında demir ve total demir bağlama kapasitesi (TDBK) düzeyleri ile IMA ölçümlerini yaparak, aralarındaki ilişki araştırıldı.

**Bulgular:** IMA düzeylerinin ortalaması  $0.386 \pm 0.129$  ABSU, Demir düzeylerinin ortalaması  $63.6 \pm 35.7$  µg/dl, TDBK düzeylerinin ortalaması  $383.9 \pm 74.4$  µg/dl olarak saptandı.

**Tartışma:** Bu çalışmada demir düzeyleri ile IMA değerleri arasında ilişki saptanamadı. Bununla birlikte erkeklerde yaşla IMA düzeylerinde artış ve kadınlarda yaşla IMA düzeylerinde azalma dikkat çekicidir. Yaş ve cinsiyet ile IMA değişimi ileri çalışmalarla test edilmesi gereken bir bulgudur. Son olarak erkeklerde TDBK düzeylerinde yükselmenin düşük IMA düzeyleri ile gitmesi daha ileri araştırmaları gerektirmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Demir, iskemi modifiye albümin, oksidatif hasar.

### Abstract

**Objective:** Iron, for the fulfillment of many important functions is an element of key importance. The amount of iron must remain in balance in the body, otherwise as deficiency also excess up leads to several problems. Iron also plays a role in the occurrence of oxidative damage. On the other hand the oxidative free radicals during ischemia, lead to chemical changes in the albumin molecule. In these circumstances, the new albumin molecule consisting of "ischemia modified albumin - IMA" at the earliest markers of ischemia. Therefore, in order to examine the effect of iron levels of body to oxidant stress, the usefulness of ischemia modified albumin was evaluated.

**Materials and Method:** Study was conducted on the 73 (60 women, 13 men) outpatients whom applied for routine biochemical analysis. Relationship between the iron level, TIBC and IMA were investigated.

**Results:** Average of IMA levels was detected as  $0.386 \pm 0.129$  ABSU, iron levels average was detected as  $63.6 \pm 35.7$  µg/dl, and average level of TDBK was detected  $383.9 \pm 74.4$  µg/dl.

**Discussion:** In this study, relationship between iron levels and IMA couldn't determined. In addition; it was investigated that IMA levels increased with age in men on the other hand decreased with age in women. IMA change with age and gender is a finding that should be tested in future studies. Finally, a rise in TIBC levels in men with low levels of IMA is required to make further investigation.

**Key Words:** Iron, ischemia modified albumin, oxidative damage.

Kabul Tarihi:09.11.2013

### Giriş

Demir vücudumuzda çeşitli fonksiyonlar için ihtiyaç duyduğumuz bir mineraldir. Oksijen transportunun

yanında hücre büyümesi ve ayrışması için gereklidir.

Yetersiz miktarda demir alımı, demir eksikliği anemisine yol açarken, fazla miktarda demir alımı ise hemokromatozis tablosu ile giden demir toksikasyonuna yola açar. Demir gibi geçiş metalleri, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i, bilinen en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikaline (OH<sup>-</sup>) dönüştürebilir. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak adlandırılır (1). Oksijen taşınmasında görevli demir miktarının artışı ve demir bağlama kapasitesinde düşme de iskemik kalp hastalıklarının gelişimi için risk olarak kabul edilmektedir (2,3). Ancak Morkedal ve ark.'ları iskemik kalp hastalığı riski için serum demirinin artışının özellikle erkeklerde belirleyici olduğunu, oysa kadınlarda total demir bağlama kapasitesi (TDBK) artışının daha önemli olduğunu öne sürmüşlerdir (4). Diyete fazladan demir eklenmesi oksidatif hasarı arttıran bir faktördür. Artmış demir havuzu olasılıkla hidroksil radikali üretimini arttırarak bu etkilere sebep olur. Reaktif oksijen ürünlerini üretme potansiyeli nedeniyle, aterosklerotik kalp hastalığı ile aşırı demirin artışının ilişkisinin olup olmadığı uzun zamandır ilgi uyandıran bir konudur. Ancak reaktif oksijen ürünleri oluşturmaya neden olan, transferrin ya da ferritindeki gibi bağlı olan demirden ziyade, dolaşımdaki katalitik demir olarak da tanımlayabileceğimiz serbest demirdir (5). Öte yandan antioksidan destek bu hasarı normalize eder (3). Yine santral sinir sistemindeki hipoksik iskemik patolojilerde demir artışı ve TDBK'nde azalma santral sinir sisteminde gelişen oksidatif hasarda demirin önemli bir aktör olduğunu düşündürmektedir (6). Ancak demir eksikliği de dâhil anemiler iskemik kalp hastalığı için bir diğer risk faktörüdür ve demir fazlalığı kadar eksikliğinin de oksidan stres oluşturmaktaki rolü tartışılmaya açıktır. (7). Diğer taraftan, reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuna yol açan demirin desferoksamin ile şelasyonu, serum demir düzeylerini düşürse de oksidatif stres parametrelerinde ya da myokardial infarkt boyutunda düşme sağlayamamıştır (8).

İskemi sırasında oluşan oksidatif serbest radikallerin albuminde yaptığı kimyasal değişikliklerden dolayı, albuminin kobalt bağlama kapasitesi düşer. Bu yeni albumin molekülü de iskemi ile modifiye olmuş albumin (iskemi modifiye albumin - IMA) olarak adlandırılır. Kobalt bağlama yeteneğini kaybetmiş bu yeni albumin molekülünün oluşumu, iskeminin en erken belirteçlerindedir (9). Demir artışının yolaçtığı oksidatif stresin bir sonucu olarak talessemi hastalarında da iskemi modifiye albuminin yükseldiği ve bu parametrenin oksidatif stres için yeni bir belirteç olarak öne çıktığı da saptanmıştır (10).

Bu gözlemlerden yola çıkarak vücut demir durumunun oksidan strese etkisini araştırabilmek için yeni bir biyobelirteç olan iskemi modifiye albuminin bu çalışmada kullanılmasına karar verilmiştir. Rutin biyokimya analizleri için üniversite hastanemize başvuran poliklinik hastalarında demir ve TDBK ölçümleri ile beraber IMA düzeylerini de saptayarak aralarındaki ilişki incelendi.

## Gereç ve Yöntem

Rutin biyokimya analizleri için üniversite hastanesine başvuran 73 (13 erkek, 60 kadın) poliklinik hastası araştırmaya dâhil edildi. Kan örnekleri demir düzeyinin en yüksek olduğu sabah saatlerinde alındı. Hastalardan koruyucu içermeyen biyokimya tüplerine 9 ml kan alınarak yarım saat içinde 2500 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örneklerinde demir ve TDBK ölçümü hemen, IMA ölçümü ise serum örnekleri -80 °C'de saklanarak 4 hafta içinde çalışıldı.

Demir ve TDBK Cobas 610 otomatik analizör cihazında kolorimetrik olarak analiz edildi. Demir ölçümü için, transferrine bağlı olan demir önce taşıyıcı proteininden ayrılır; askorbat ile indirgendikten sonra FerroZine ile reaksiyona sokulur. Renk yoğunluğu demir konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür. Doymamış demir bağlama kapasitesi ölçümünde ise ortama sabit miktarda demir eklenir ve transferrindeki boş bölgelere bağlanması sağlanır. Artan ortam demiri FerroZine ile renk oluşturur. Oluşan rengin yoğunluğu doymamış demir bağlama kapasitesi ile ters orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür. Demir ve Doymamış demir bağlama kapasitesi ölçümlerinin toplamı TDBK'ni verir. Serumda IMA ölçümü Bar-Or ve arkadaşlarının tanımladığı yöntemle göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Serum IMA ölçümü için 200µl hasta serumu, 50µl kobalt klorid ile karıştırıldı ve 10 dakika süreyle inkübe edildi. İnkübasyon aşamasından sonra albumine bağlanmayan kobaltı belirlemek için ölçüm küvetine 50µl ditiyotreitöl (DTT) eklenerek karıştırıldı ve bu şekilde ditiyotreitölün, albumine bağlanmamış kobalt ile renkli kompleks oluşturması sağlandı. 2 dakika sonra reaksiyonu durdurmak için 1 ml serum fizyolojik eklendi. Oluşan renkli kompleks 470 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Yine aynı yöntemle ancak DTT konulmamış örnek körüne karşı sıfırlandıktan sonra çıkan sonuçlar absorban üitesi (ABSU) olarak verildi (11).

Araştırmanın verileri bilgisayara aktarılmış ve analizler yapılmıştır. Tanımlayıcı değişkenler ortalama ve standart sapma ile gösterilmiştir. IMA ile yaş, demir ve TDBK arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile karşılaştırılmıştır. Erkeklerdeki IMA ile yaş, demir ve TDBK arasındaki ilişki Spearman Korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0,05$  kabul edilmiştir.

## Bulgular

Araştırmaya dâhil edilen 73 (13 erkek, 60 kadın) hastanın yaş ortalaması  $41.8 \pm 18.6$  idi. IMA düzeylerinin ortalaması  $0.386 \pm 0.129$  ABSU, demir düzeylerinin ortalaması  $63.6 \pm 35.7$   $\mu\text{g/dl}$ , TDBK düzeylerinin ortalaması  $383.9 \pm 74.4$   $\mu\text{g/dl}$  olarak saptanmıştır (Tablo 1).

IMA ile demir ve demir bağlama kapasitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanamamıştır (sırasıyla  $r = -0,027$ ,  $p = 0,822$ ;  $r = 0,156$ ,  $p = 0,187$ ) (Grafik 1,2; Tablo 2). Demir ve TDBK düzeyleri arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon ( $r = -0,487$ ,  $p = 0,000$ ) ile Yaşla TDBK düzeyleri arasında negatif yönde orta düzeyde korelasyon ( $r = -0,347$ ,  $p = 0,003$ ) saptanmıştır (Tablo 2). Erkeklerde yaş ile IMA düzeyleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon ( $r = 0,567$ ,  $p = 0,04$ ), kadınlarda yaş ile IMA düzeyleri arasında negatif yönde zayıf korelasyon ( $r = -0,341$ ,  $p = 0,008$ ) saptanmıştır (Tablo 3). Kadınlarda TDBK ile yaş ve demir arasında negatif yönlü zayıf korelasyon saptanmıştır (sırasıyla  $r = -0,291$ ,  $p = 0,024$ ;  $r = -0,377$ ,  $p = 0,003$ ). Erkeklerde TDBK ile IMA arasında negatif yönlü güçlü korelasyon saptanmıştır ( $r = -0,668$ ,  $p = 0,013$ ).

**Tablo 1.** Hastaların IMA, Demir ve TDBK düzeyleri

	IMA	Demir $\mu\text{g/dl}$	TDBK $\mu\text{g/dl}$
	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD
Poliklinik Hastaları (n=73)	0.386 $\pm$ 0.129	63.6 $\pm$ 35.7	383.9 $\pm$ 74.4

**Tablo 2.** Hastaların yaş, IMA, demir ve TDBK değerleri arasındaki ilişki

n=73	Yaş		IMA		Demir		TDBK	
	r	P	R	p	r	p	r	p
Yaş	<b>1,0</b>	---						
IMA	-0,028	0,81	<b>1,0</b>	---				
Demir	0,007	0,95	-0,027	0,82	<b>1,0</b>	---		
TDBK	<b>-0,347</b>	<b>0,00</b>	-0,156	0,18	<b>-0,487</b>	<b>0,0001</b>	<b>1,0</b>	---

r: Pearson korelasyon analizi

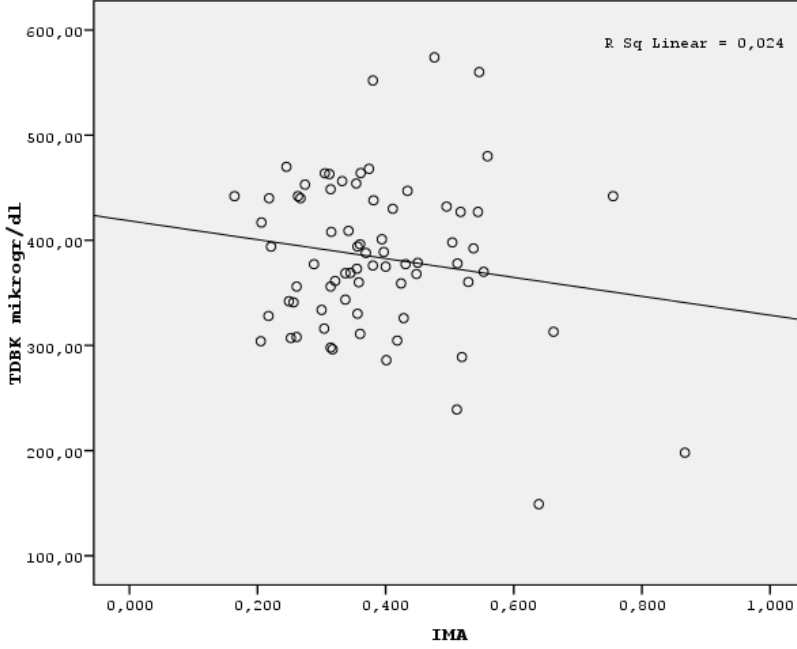
**Tablo 3.** Cinsiyete göre hastaların yaş, IMA, demir ve TDBK değerleri arasındaki ilişki

Kadın n	Yaş		IMA		Demir		TDBK	
	r	P	R	p	r	p	r	p
Yaş	<b>1,0</b>	---						
IMA	<b>-0,341</b>	<b>0,00</b>	<b>1,0</b>	---				
Demir	-0,006	0,96	-0,084	0,52	<b>1,0</b>	---		
TDBK	<b>-0,291</b>	<b>0,02</b>	0,081	0,53	<b>-0,377</b>	<b>0,00</b>	<b>1,0</b>	---
Erkek n								
Yaş	<b>1,0</b>	---						
IMA	<b>0,567</b>	<b>0,04</b>	<b>1,0</b>	---				
Demir	-0,209	0,49	0,013	0,96	<b>1,0</b>	---		
TDBK	-0,319	0,28	<b>-0,668</b>	<b>0,01</b>	-0,450	0,12	<b>1,0</b>	---

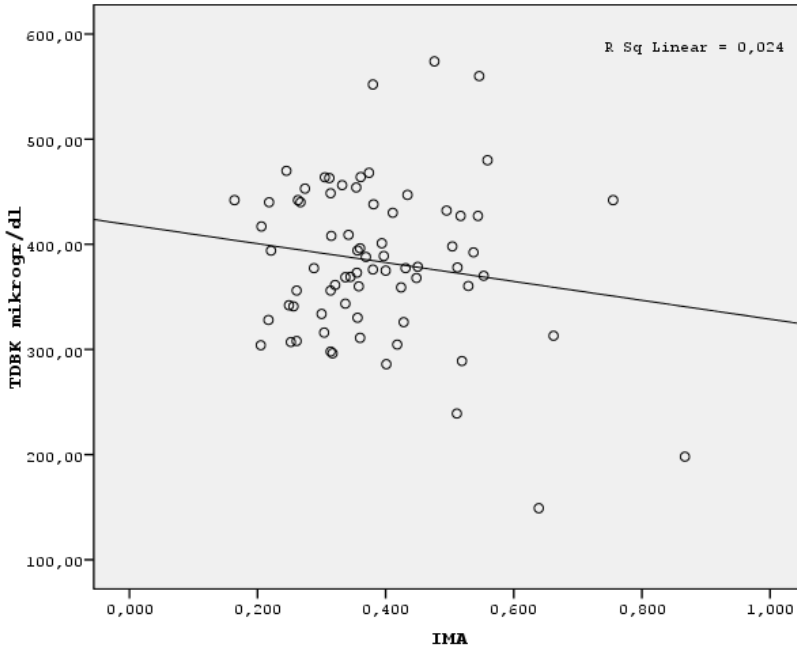
r: Pearson korelasyon analizi

\*: Spearman Korelasyon analizi

**Grafik 1.** Demir ile IMA değerleri arasındaki ilişki (tüm hastalar n=73)



**Grafik 2.** TDBK ile IMA değerleri arasındaki ilişki (tüm hastalar n=73)



## Tartışma

Önceleri sadece erken bir kardiyak belirteç olarak öne çıkan ve acil servislerde hasta sınıflamada yardımcı bir parametre olarak gösterilen IMA'nın son dönemlerde farklı kullanım alanlarına girdiği görülmektedir (2,3, 7). IMA son zamanlarda oksidatif stres için belirteç

olarak önerilmeye başlanmıştır (12). Diğer yandan son çalışmalar inflamasyon sürecinde de arttığına vurgu yapmaktadır (13,14). Öte yandan demir artışının yol açtığı oksidatif hasarın iskemi modifiye albümini yükselttiği ve bu bağlamda iskemi modifiye albüminin demirin yol açtığı oksidatif hasarı belirlemede yeni bir belirteç olarak öne çıkabileceği de tartışılmaktadır

(10). Bununla beraber yüksek demir düzeyleri zararlı oksijen radikali oluşumunu arttırmakla beraber yüksek demir depolarının artmış iskemik strokla ilişkisi saptanamamıştır (15). Öte yandan IV demir uygulamasının hemodiyaliz hastalarında oksidatif streste artmaya ve iskemi modifiye albümin düzeylerinde artışa yolaçmakla beraber bu artışın demir uygulamasının bir sonucu mu olduğu yoksa altta yatan hastalığın belirtilerinden biri olup olmayacağı tartışmalıdır (16).

Bu çalışmada demir düzeyleri ile IMA değerleri arasında ilişki saptanamamıştır. Bu sonuç serbest demir düzeyleri bilinmeksizin sadece serum demir düzeyi ölçümü ile iskemi hakkında yorum yapılamayacağı fikrini desteklemektedir (5). Ayrıca demirin yolaçacağı oksidan stres durumlarında IMA'nın kullanılabilirliği daha fazla sorgulanması gereken bir konudur. İlerleyen yaşla TDBK düzeylerinin azalması, yaşla azalan protein düzeylerinin doğal bir sonucu olarak yorumlanabilir (17). Hastalarda transferrin düzeyleri de ölçülmüş olsaydı, ilerleyen yaşla azalan transferrin düzeylerine ilişkin bulgu bu sonucu daha güçlü destekleyebilirdi. Öte yandan erkeklerde yaşla IMA düzeylerinin artışı, erkeklerde yaşla artan kardiyak problemlerle artan IMA'nın ilişkisinin araştırmasının gerekliliğini düşündürmektedir. Yine kadınlarda yaşla azalan IMA düzeyleri iskemik kalp hastalığı için azalan bir risk potansiyeli vadetmektedir. Her ne kadar literatürde cinsiyet ve yaşın IMA düzeylerini etkilemediği vurgulansa da mevcut çalışmaların acil servise başvuran akut koroner sendrom düşünülen hasta popülasyonunda yapılması ve bu nedenle de vaka sayılarının ve niteliğinin toplumu yansıtacak düzeyde olmaması, bulgularımızın ileri çalışmalarla test edilmesi gerektiğini göstermektedir (18). Son olarak erkeklerde TDBK düzeylerinde yükselmenin düşük IMA düzeyleri ile gitmesi, erkeklerde iskemik durumlar açısından TDBK düzeylerinin koruyucu olup olmadığının incelenmesi gerektiği düşünülmektedir..

## Kaynaklar

1. Kaya H, Delibaş N, Babar Y, Serteser M, Tahan V, Arı F.F; Gebelikte Demir Tedavisiyle Serbest Radikal Oluşumu ve Antioksidan Tedaviyle Karşılanması. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi 1996; 3(3):59-63.
2. van Asperen IA, Feskens EJ, Bowles CH, Kromhout D. Body iron stores and mortality due to cancer and ischaemic heart disease: a 17-year

- follow-up study of elderly men and women. *Int J Epidemiol* 1995;24(4):665-70.
3. van Jaarsveld H, Kuyl JM, Wiid NM. Ischemia/reperfusion injury is aggravated by an iron supplemented diet and is partly prevented by simultaneous antioxidant supplementation. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1994;86(3):273-85.
4. Mørkedal B, Laugsand LE, Romundstad PR, Vatten LJ. Mortality from ischaemic heart disease: sex-specific effects of transferrin saturation, serum iron, and total iron binding capacity. The HUNT study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2011;18(5):687-94.
5. Steen DL, Cannon CP, Lele SS, Rajapurkar MM, Mukhopadhyay B, Scirica BM, Murphy SA, Morrow DA. Prognostic Evaluation of Catalytic Iron in Patients with Acute Coronary Syndromes. *Clin Cardiol* 2013 Feb 3. Doi: 10.1002/clc.22089. [Epub ahead of print]
6. Shouman BO, Mesbah A, Aly H. Iron metabolism and lipid peroxidation products in infants with hypoxic ischemic encephalopathy. *J Perinatol*. 2008;28(7):487-91.
7. Zeidman A, Fradin Z, Blecher A, Oster HS, Avrahami Y, Mittelman M. Anemia as a risk factor for ischemic heart disease. *Isr Med Assoc J* 2004;6(1):16-8.
8. Chan W, Taylor AJ, Ellims AH, Lefkovits L, Wong C, Kingwell BA, Natoli A, Croft KD, Mori T, Kaye DM, Dart AM, Duffy SJ. Effect of iron chelation on myocardial infarct size and oxidative stress in ST-elevation-myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;5(2):270-8.
9. Aran T, Unsal MA, Güven S, Kart C, Cetin E, Alver A. Carbondioxide Pneumoperitoneum Induces Systemic Oxidative Stres: a clinical study. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2012;161(1):80-83.
10. Awadallah SM, Atoum MF, Nimer NA, Saleh SA. Ischemia modified albumin: an oxidative stress marker in  $\beta$ -thalassemia major. *Clin Chim Acta* 2012;413(9-10):907-10.
11. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia - a preliminary report. *J Emerg Med* 2000;19:311-5.
12. Ustun Y, Ustun YE, Ozturk O, Alanbay I, Yaman H. Ischemia-modified albumin as an oxidative stress marker in preeclampsia. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 2011;24(3): 418-21.
13. Marta MMF, Duarte a, João BT, Rocha AB, Rafael N, Moresco C, Thiago Duarte D, Ivana BM, Da Cruz A, Vânia L, Loro AB, Maria RC Schetinger.

Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. *Clinical Biochemistry* 2009;42:666-71.

14. Kaefler Michelle K, Sílvia JP, José AM De Carvalho, Dievan B Da Silva, Aline MB, Adriane CC, Marta MMF Duarte, Rafael NM. Association between ischemia modified albumin, inflammation and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry* 2010;43:450-4.
15. Ekblom K, Hulldin J, Stegmayr B, Johansson I, Van Guelpen B, Hallmans G, Weinehall L, Johansson L, Wiklund PG, Marklund SL. Iron stores and HFE genotypes are not related to increased risk of ischemic stroke. A prospective nested case-referent study; *Cerebrovasc Dis* 2007;24(5):405-11.
16. Malindretos P, Sarafidis PA, Rudenco I, Raptis V, Makedou K, Makedou A, Grekas DM; Slow

intravenous iron administration does not aggravate oxidative stress and inflammatory biomarkers during hemodialysis: a comparative study between iron sucrose and iron dextran. *Am J Nephrol* 2007;(6):572-9.

17. Gacar MN (eds). Sağlık Bilimlerinde Yaşlılık; Yaşlanma Biyokimyası ve Apoptozis. Duman C, Gacar G, Özer N. Nobel Tıp Kitabevleri; 2009:69-92.
18. Özdem S, Çete Y, Dönmez L, Başarıcı İ, Baktır A, Akbaş H, Gültekin M. Sağlıklı Yetişkinlerde ve Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Serum İskemi Modifiye Albumin (IMA) Düzeyleri. *Türkiye Acil Tıp Dergisi* 2005;5(4):169-74.

#### **İletişim:**

Uzm. Dr. Yusuf Kurtulmuş  
İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Biyokimya Laboratuvarı. Yenişehir, İzmir, Türkiye  
Tel: +90.532.4640025  
e-mail: dryusuf@istanbul.com