

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**FOTOTERAPİ ALMIŞ YENİDOĞAN RATLARDA  
BÖBREK ve KARACİĞER APOPTOZU**

**DR.ELİF PINAR ÇAKIR**

**UZMANLIK TEZİ**

**KIRIKKALE  
2011**



**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**FOTOTERAPİ ALMIŞ YENİDOĞAN RATLARDA  
BÖBREK ve KARACİĞER APOPTOZU**

**DR. ELİF PINAR ÇAKIR**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. DİDEM ALİEFENDİOĞLU**

**KIRIKKALE  
2011**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan 'Fototerapi Almış Yenidoğan Ratlarda Böbrek ve Karaciğerde Apoptoz' isimli çalışma aşağıdaki jüri tarafından Dr. Elif Pınar ÇAKIR'ın **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/02/2011

Prof.Dr. Didem ALİEFENDİOĞLU  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD  
Jüri Başkanı

Doç.Dr. Fulya DEMİRÇEKEN  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD  
Üye

Yard. Doç.Dr. Meryem ALBAYRAK  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD  
Üye

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimleriyle yetişmemde büyük emeği olan, tez çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren, hocam ve tez danışmanım Sn. Prof.Dr. Didem Aliefendioğlu'na; uzmanlık eğitimim süresince çok değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, klinik bilgi ve deneyimlerini aktararak yetişmemde katkıda bulunan çok değerli hocalarım; Sn. Prof.Dr. Selda Bülbül, Sn. Prof.Dr. Cüneyt Ensari, Sn. Doç.Dr. Fulya Demirçeken, Sn.Yard.Doç.Dr.Cihat Şanlı, Sn.Yard.Doç.Dr.Meryem Albayrak'a; eğitimimin ilk yıllarındaki katkılarından dolayı değerli hocalarım Doç.Dr. Olcay Evliyaoğlu ve Sn. Yard. Doç. Dr. Emine Mısırlıoğlu'na teşekkürü borç bilirim. Tez çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Sn. Doç. Dr. Tutku Soyer'e, histopatolojik değerlendirmeyi yapan Kırıkkale Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sn.Doç. Dr. Oğuz Kul'a ve araştırma görevlisi H. Tarık Atmaca'ya teşekkür ederim. Bugünlere gelmemde büyük emek harcayan, fedakarlıklarını esirgemeyen anneme ve babama teşekkür ederim. Eğitimimin her aşamasında bana sevgi ve sabırla destek olan eşim ve çalışma arkadaşım Dr.Bariş Çakır'a teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Çakır Elif Pınar. Fototerapi Alan Yenidoğan Ratlarda Böbrek ve Karaciğer Apoptozu, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale 2011**

Fototerapi, indirekt hiperbilirubinemi tedavisinde bilinen en ucuz; yaygın ve noninvaziv yöntemdir. Fototerapi sırasında oluşan fotodinamik etkinin pulmoner oksijen hasarı, intraventriküler kanama, prematüre retinopatisi, iskemi/reperfüzyon hasarı ve nekrotizan enterokolit gibi birçok hastalığa neden olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada fototerapi uygulanan ratlarda karaciğer ve böbrekte apoptozu değerlendirerek sitotoksik etkinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya ağırlıkları  $7 \pm 2$  gram, 15 rat alındı. Rastgele 3 gruba ayrılan ratlardan birinci grup kontrol grubuydu. İkinci gruba LED, üçüncü gruba konvansiyonel fototerapi uygulandıktan sonra dokular TUNEL ve kaspaz aktivitesi *BAB Bs200Pro image analysis system* ile değerlendirildi. İstatiksel değerlendirmede SPSS 16 Paket program kullanıldı; apoptoz skorları yüzde olarak değerlendirildi, sonuçlar (median $\pm$ SD) olarak belirtildi. Kaspaz boyama metoduyla karaciğer ve böbrek için en yüksek apoptoz skorları konvansiyonel fototerapi alan grupta bulundu. Bu grupta karaciğer ve böbrekte apoptoz skorları sırasıyla %  $15,6 \pm 3,72$ , ve %  $10,2 \pm 1,51$  LED fototerapi alan grupta %  $3,63 \pm 1,84$ , ve %  $3,7 \pm 2,39$  ve kontrol grubunda %  $1,27 \pm 0,52$ , ve %  $1,35 \pm 0,29$  idi. Gruplar arasındaki fark anlamlıydı. Tunel boyamada en yüksek apoptoz skoru konvansiyonel fototerapi alan grupta bulundu (sırasıyla %  $1,73 \pm 0,82$  ve %  $1,2 \pm 0,16$ ). Ancak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi. Fototerapinin doku üzerine olan sitotoksik etkilerini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda fototerapinin yenidoğan rat karaciğer ve böbrek dokusunda apoptozu anlamlı oranda artırdığını saptadık. Bu etki göz önünde bulundurularak indirekt hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan fototerapi uygulamasının hassasiyetle uygulanması gereği açıktır.

**Anahtar kelimeler:** Fototerapi, fotooksidasyon, apoptozis.

## ABSTRACT

**Çakır Elif Pınar. Apoptosis Induced by Phototherapy in Newborn Rats, Kırıkkale University Medical Faculty Pediatrics Departments Speciality Thesis, Kırıkkale 2011**

Phototherapy is the cheapest, common and noninvasive method known in the treatment of indirect hyperbilirubinemia. The photodynamic effect of phototherapy is considered to cause diseases, such as pulmonary oxygen damage, intraventricular hemorrhage, retinopathy of the premature, and necrotizing enterocolitis. The study aimed to investigate the cytotoxic effect by assessing apoptosis in liver and kidney in rats which underwent phototherapy. Fifteen Wistar albino rats weighing  $7\pm 2$  grams of sexes were included in the study. All rats were in the first 7 days of life and were accommodated under standardized conditions of light and temperature. The rats were randomized into three groups (n=5) as follows: group 1, exposure to conventional phototherapy device; group 2, exposure to LED device; and group 3, control (without phototherapy). After exposure to light, the liver and kidney tissues were examined for apoptosis. Apoptotic cells were detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay, by immunohistochemistry for caspase-3, and by light microscopy. Tissue sections detected for TUNEL and caspase activity were analyzed with BAB Bs200Pro image analysis system. We detected in our study that phototherapy significantly increased apoptosis in the liver and kidney tissues of newborn rats. Therefore, it should be taken into consideration that there may be side effects while administering phototherapy.

**Key words :** Phototherapy, photooxidation, apoptosis

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii-ix
SİMGE VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xii-xiii
RESİMLER	xiv
GİRİŞ ve AMAÇ	1-2
GENEL BİLGİLER	
2.1. Bilirubin metabolizması	3-9
2.1.1. Yapısı	3
2.1.2. Biluribin sentezi	4
2.1.3. Bilirubinin plazmada taşınması	5-6
2.1.4. Bilirubinin karaciğere alınması	6-7
2.1.5. Bilirubinin konjugasyonu	7-8
2.1.6. Bilirubinin atılımı ve enterohepatik dolaşımı	8-9
2.2. Yenidoğan bebeklerde sarılık	10-65
2.2.1 Tanımı ve sıklığı	10
2.2.2. Yenidoğan sarılığının epidemiyolojisi	10-11
2.2.2.1. Genetik ve etnik faktörler	12
2.2.2.2. Maternal ve obstetrik faktörler	12-13
2.2.2.3. Bebeğe ait faktörler	14-18
2.2.2.4. Çevresel faktörler	18-19
2.2.3 Yenidoğan sarılığının etyolojisi	19-43
2.2.3.1 Fizyolojik sarılık	23-27
2.2.3.2. Patolojik sarılık	28-43



2.2.4 Yenidoğan sarılığında tanı	44-48
2.2.5 Bilirubin toksitesi	49-57
2.2.6 Yenidoğan sarılığında tedavi	57-65
2.2.6.1. Kan değişimi	58-62
2.2.6.2. Farmakolojik tedavi	63-65
2.3.Fototerapi	65-94
2.3.1 Tarihçe	67
2.3.2. Fototerapinin etki mekanizması	67-71
2.3.3. Fototerapinin etkinliğini belirleyen faktörler	72-78
2.3.4 Fototerapi sırasında dikkat edilmesi gereken unsurlar	78-81
2.3.5. Fototerapinin yan etkileri	81-91
2.3.6. Fototerapi tipleri	92-94
2.4.Apopitozis	94-119
2.4.1 Tanım ve tarihçe	94-95
2.4.2. Apopitozis morfolojisi	95-98
2.4.3. Apopitozis ve nekrozis	99-100
2.4.4.Apopitozis mekanizmaları	101-107
2.4.5.Apopitozisin genlerle kontrolü	107-112
2.4.6.Apopitozisin saptanmasında kullanılan yöntemler	112-113
2.4.6.1. Morfolojik görüntüleme yöntemleri	113-115
2.4.6.2. İmmünohistokimyasal yöntemler	115-117
2.4.6.3. Biyokimyasal yöntemler	117-118
2.4.6.4. İmmünolojik yöntemler	118-119
2.4.6.5. Moleküler biyoloji yöntemleri	119
GEREÇ ve YÖNTEM	120-124
3.1.Çalışma ekibi	120
3.2.Etik komite onayı	120
3.3.Deney hayvanları	120
3.4.Çalışmanın Tasarımı	120-121
3.5.Histopatolojik değerlendirme	121-124
3.6.İstatiksel değerlendirme	124

BULGULAR	125-134
4.1.Kaspaz-3 İmmünohistokimya Yöntemiyle Böbrek Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi	125-128
4.2. Kaspaz-3 İmmünohistokimya Yöntemiyle Böbrek Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi	128-130
4.3.TUNEL Yöntemiyle Böbrek Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi	131-132
4.4.TUNEL Yöntemiyle Karaciğer Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi	133-134
TARTIŞMA	135-143
SONUÇLAR	144
KAYNAKLAR	145-171

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>AİF</b>	: Apoptoz İçeren Faktör
<b>APA</b>	: Amerikan Pediatri Akademisi
<b>Camp</b>	: Siklik Adenozin Monofosfat
<b>CO</b>	: Karbonmonoksit
<b>CSF</b>	: Koloni Uyarıcı Faktörler
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>G6PD :</b>	: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
<b>G6PD</b>	: Glikoz 6 fosfat dehidrogenaz
<b>IGF</b>	: İnsülin Büyüme Faktörü
<b>IL-2</b>	:İnterlökin 2
<b>İVİG</b>	: İntravenöz immunglobulin
<b>MG</b>	: Miligram
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
<b>NGF:</b>	:Nöron büyüme faktörü
<b>PDA</b>	: Patent Duktus Arteriozus
<b>TNF</b>	: Tümör Nekroz Faktörü
<b>TSB:</b>	:Total serum bilirubini
<b>UDPGT</b>	: Üridildifosfat glukuronil transferaz
<b>UV</b>	: Ultraviyole

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Bilirubinün 4Z,15Z ve 4E,15E	3
2.2. Hem'den bilirubin oluşumu	5
2.3. Bilirubinün enterohepatik dolanımı	9
2.4. Serum bilirubin değerlerinin zamana göre risk değerleri	25
2.5. Herediter sferositozun periferik yayma görüntüsü	38
2.6 Kramer cilt zonları ve tahmini bilirubin değerleri	45
2.7. Yenidoğan sarılığın yaklaşım	48
2.8. Bilirubin toksisitesinin fizyopatolojisi	50
2.9. Term ve sınırda preterm yenidoğanlarda risk durumuna göre kan değişimi uygulanacak serum bilirubin düzeyleri	59
2.10. Term ve sınırda preterm yenidoğanlarda risk durumuna göre fototerapi başlanacak serum bilirubin düzeyleri	66
2.11. Fototerapinin etki mekanizması	68
2.12. Bilirubinün fotokimyasal reaksiyonları	69
2.13. Bilirubinün ışık etkisi ile lumirubine dönüşümü	71
2.14. Fototerapi lambalarının emisyon spektrumu	73
2.15. Ortalama spektral irradyans ile serum bilirubin konsantrasyonlarındaki düşüş arasındaki ilişki	74
2.16. Fare ekzokrin pankreasında apoptotik hücreler	96
2.17. Apoptoziste yolaklar	102
2.18. Hücre içi yolak	104
2.19. Hücre dışı uyaranlarla hücrenin apoptoza girmesi	105
2.20. p 53 geni ile apoptozun düzenlenmesi	109
2.21. Bcl 2 ailesinin apoptozdaki rolü	110
2.22. Kaspaz yolağı	112
2.23. Normal ve apoptotik insan lökosit hücresi	114
2.24. TUNEL metodu uygulanmış spinal kord görünüm	116

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. Yenidoğan sarılıklarının epidemiyolojisi	11
2.2. Anne sütü sarılığının etiyojisinde rol oynayan mekanizmalar	16
2.3. Neonatal hiperbilirubinemi nedenlerinin sınıflandırılması	20-22
2.4. Fizyolojik sarılık gelişiminde rol alan faktörler	23
2.5. 35. hafta yenidoğanlarda ciddi indirekt hiperbilirubinemi gelişimi açısından risk faktörleri	27
2.6. Sarılıklı bebeklerde laboratuvar incelemesi, APA önerileri 2004	47
2.7. Bilirubin tetiklediği nörolojik disfonksiyon skorum sistemi	52
2.8. Hiperbilirubinemi şiddetine göre müdahale ve takipte önerilen stratejiler	58
2.9. Rh uyumsuzluğında kan değişiminde kullanılacak kan grubu	61
2.10. Kan değişimi komplikasyonları	62
2.11. Hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlar	63
2.12. Apoptoz ve nekroz arasındaki farklar	100
2.13. Apoptozisi kontrol eden genler	108
2.14. Bcl 2 gen ailesi	109
4.1. Böbrek dokusunda kaspaz boyamayla apoptoz skoru	125
4.2. Böbrek dokusunda LED ve konvansiyonel fototerapinin etkisinin karşılaştırılması	125
4.3. Böbrek dokusunda LED fototerapinin etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması	126
4.4. Böbrek dokusunda konvansiyonel fototerapinin etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması	128
4.5. Karaciğer dokusunda kaspaz boyamayla apoptoz skoru	128
4.6. Karaciğer dokusunda LED ve konvansiyonel fototerapinin etkisinin karşılaştırılması	128
4.7. Karaciğer dokusunda LED fototerapinin etkisinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	128

<b>4.8.</b> Karaciğer dokusunda konvansiyonel fototerapinin etkisinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	128
<b>4.9.</b> Böbrek dokusunda TUNEL boyamayla apopitoz skoru	131
<b>4.10.</b> Karaciğer dokusunda TUNEL boyamayla apopitoz skoru	133

## RESİMLER

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
<b>4.1.</b> Konvansiyonel fototerapi alan grupta kaspaz-3 yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi	126
<b>4.2.</b> LED fototerapi alan grupta kaspaz-3 immünohistokimya yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi	127
<b>4.3.</b> Kontrol grubunda kaspaz-3 yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi	127
<b>4.4.</b> Konvansiyonel fototerapi alan grupta kaspaz-3 yöntemiyle karaciğer apoptotik hücrelerin gösterilmesi	130
<b>4.5.</b> LED fototerapi alan grupta kaspaz-3 immünohistokimya yöntemiyle karaciğer apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi	130
<b>4.6.</b> Konvansiyonel fototerapi alan grupta kaspaz-3 yöntemiyle karaciğer apoptotik hücrelerin gösterilmesi	131
<b>4.7.</b> LED fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi	132
<b>4.8.</b> Kontrol grubunda TUNEL yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi	127
<b>4.9.</b> Konvansiyonel fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi	131
<b>4.10.</b> LED fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi	132

## GİRİŞ VE AMAÇ

Zamanında doğmuş bebeklerin % 60 'ında, zamanından önce doğan bebeklerin % 80'inde görülen indirekt hiperbilirubinemi, hayatın ilk iki haftasında hastaneye yatışların en sık sebeplerinden biridir (1,2). Tedavi edilmemiş ciddi hiperbilirubinemi akut bilirubin ensefalopatisi, kernikterus, serebral palsi ve mental reterdasyona yol açabilmesi nedeniyle önemli bir sağlık problemidir (3).

Hiperbilirubinemi tedavisinde amaç, yüksek bilirubin seviyesini azaltmaktır. Bu amaçla kullanılan en ucuz, yaygın, noninvaziv yöntem fototerapidir.

Fototerapi, deriye uygulanan belli dalga boyundaki ışıkların, deri ve derialtı yağ dokusunda bulunan bilirubin molekülleri tarafından emilmesi sonucu oluşan fotokimyasal reaksiyonlar ile bilirubinden, suda eriyen ve karaciğerde konjugasyona uğramadan atılabilen yıkım ürünleri oluşması esasına dayanır (4). Bronzlaşma, bronz bebek sendromu, ciltte kızarıklıklar, dehidratasyon, ishal, hemoliz, deri yanıkları, retina hasarı ve laktoz intoleransı fototerapiye bağlı en sık görülen yan etkilerdir (1). Bu sık görülen yan etkilerinin yanı sıra pineal bezin uyarılmasına bağlı hipokalsemi (5,6), PDA (7), prematürelde daha belirgin olmak üzere riboflavin eksikliği (7,8), lüteinizan hormon, folikül stimule edici hormon ve büyüme hormonun düzeylerinde düşüş (9), gonadal hasar (3,10,11), immün sistemin baskılanması (12, 13), kardiyak atımda düşüş (14) gibi nispeten daha az görülen yan etkilerinin varlığından da bahsedilebilir.

Son yıllarda bu tedavi şeklinin sebep olduğu fotooksidan etkiden kaynaklanan ve uzun dönemde istenmeyen sonuçlar doğurabilecek DNA hasarı ve hücre düzeyindeki sitotoksik etkiler daha sık tartışılmaya



başlanmıştır. Literatürde yenidoğan sarılığının tedavisinde kullanılan fototerapinin fotooksidatif etkiye bağlı doku üzerindeki yan etkilerini ortaya koymaya yönelik invivo çok az sayıda çalışma mevcuttur (15).

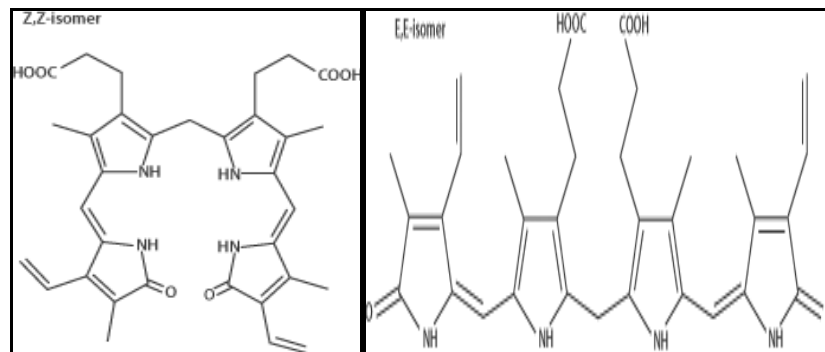
Bu çalışmada fototerapi uygulanmış yenidoğan ratlarda karaciğer ve böbrek dokusunda fotooksidatif etkiye bağlı apoptozun araştırılması amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. BİLİRUBİN METABOLİZMASI

#### 2.1.1. Yapısı

Bilirubin başlıcası hemoglobin olan sitokrom oksidaz, peroksidaz, katalaz, triptofan pirolaz gibi hemoproteinlerin yıkımı sonucu oluşan yeşil-turuncu renkli bir pigmenttir. Üç tek karbon köprüsüyle birbirine bağlanmış dört pirol halkasından oluşur. Ortadaki karbon köprüsü, 2 pirol halkasına tek olarak bağlanır, yanlardaki 2 karbon köprüsü ise diğer iki pirol halkasına çift bağla bağlanır. Bu çift bağlarda 2 farklı konfigürasyon olabilir. Bunlardan birine Z (Almanca zusammen = beraber), diğerine E (Almanca entgegen = karşılıklı) denir. Ana molekül olan hemde bu çift bağlar Z konumunda olduğu için bilirubin de 4 Z, 15 Z bilirubin IX  $\alpha$  adını alır (Şekil 1). Bu molekülün üç boyutlu yapısında, bütün polar gruplar molekül içinde bulunduğundan hidrofobik ve lipofilik bir özellik kazanır. Membranlardan geçişi kolaylaştıran bu lipofilik özellik intramoleküler hidrojen bağları sayesinde ortaya çıkar. Lipofilik özellik intrauterin dönemde plasenta yoluyla temizlenmeyi sağlarken postnatal dönemde kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmesine ve zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olur (16).

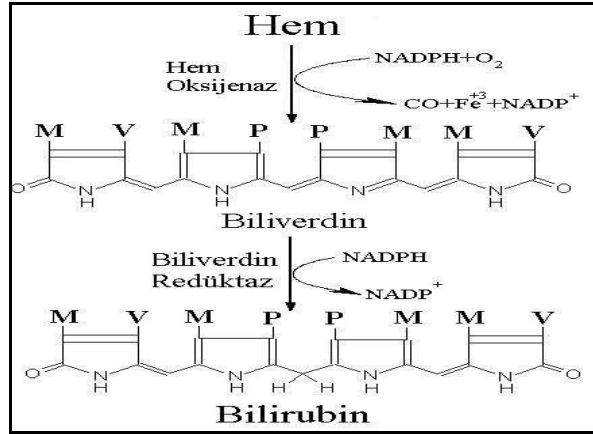


Şekil 2.1. Bilirubinün 4Z,15Z ve 4E,15E

### 2.1.2. Bilirubin Sentezi

Eritrositlerin dalak, karaciğer ve kemik iliğindeki retiküloendotelial hücreler tarafından parçalanmaları sonucunda ortaya çıkan hemoglobin, hem ve globin şeklinde katalize edilir. Hem'in katabolizması sonucu bilirubin ortaya çıkar.

Bilirubin % 75'i dolaşımda eritrositlerin yıkımından, %25'i ise myoglobulin, sitokrom, katalaz, siklooksijenaz, guanilsiklaz, nitrikoksit sentaz ve peroksidad gibi diğer hemoproteinlerin yıkımından gelir (5). Retiküloendotelial sistemde toplanan eritrositlerden önce globulin ayrılır ve aminoasit havuzuna katılır (17). Bilirubin oluşumundaki ilk basamak aynı zamanda hız kısıtlayıcı basamak olan biliverdin oluşumdur. Mikrozomal bir enzim olan hem oksijenazın etkisiyle gerçekleşen bu basamakta heminin alfa metilen bağı açılır, böylece vücutta yeniden kullanılabilen demir ve solunum yoluyla uzaklaştırılan karbon monoksit (CO) açığa çıkar ve biliverdin oluşur. Bu olay sırasında ortamda oksijen (O<sub>2</sub>) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat dehidrogenaza (NADPH) gereksinim vardır. Biliverdin suda eriyebilen ve kolayca atılabilen bir moleküldür. Memelilerde biliverdin enerji gerektiren bir basamak olan sitozolik NADPH bağımlı biliverdin redüktaz enzimi ile hızla bilirubine dönüştürülür (Şekil 2.2). Sonuçta ortaya çıkan bilirubin indirekt bilirubindir ve lipofilik olduğu için lipid hücre membranlarını kolayca geçebilme ve normal pH'da suda erimeme özelliklerine sahiptir. Bir gram hemoglobinin katabolizması 34 miligram bilirubin oluşumuna neden olur. Yenidoğanda doğumu takiben yıkım altında olan kemik iliği, dalak ve karaciğer dokusundaki eritrosit öncülleri bilirubin oluşumuna erişkindekinden daha fazla oranda katkıda bulunur (18,19).



**Şekil 2. 2.** Hem'den bilirubin oluşumu

### 2.1.3. Bilirubin Plazmada Taşınması

Hemin yıkılması ile oluşan nonkonjuge bilirubin çözünürlüğü, 7.8'in altındaki pH'larda oldukça düşük olduğu için plazmada taşınımı ancak bir taşıyıcıya bağlanarak mümkün olabilir. Nonkonjuge bilirubini taşıyan asıl molekül albumindir. Her albumin molekülü birincisi daha sıkı, ikincisi daha gevşek olmak üzere en az iki bilirubin molekülüne bağlanır. Bir gram albuminin teorik olarak bağlama kapasitesi 8,5 mg bilirubindir. Ancak ortamda bağlanmayı engelleyen ve bilirubin ile yarışmaya giren maddelerin bulunması bağlanma miktarını azaltır. Albumine gevşek bağlanma bilirubin toksisitesine olan eğilimi artırır. Albumin ile bağlanmayı etkileyen faktörler (pH düşüklüğü, uzun zincirli yağ asitleri, sülfonamidler, penisilinler, analjezikler, antienflamatuarlar, diüretikler (furosemid), sefalosporinler, heparin) serbest bilirubini arttıracakları için kernikterus riskini artırırlar. Bu maddelerin albumine bağlanma yetenekleri bilirubinden çok daha az olduğundan, bilirubini albuminden ayıramazlar, ancak bağlanma bölgelerini kapatarak serbest bilirubinin artmasına yol açarlar. Bilirubin albumine bağlanması geri dönüşlü bir reaksiyondur. Bilirubin bağlanması dinamik bir süreçtir ve her zaman albumine bağlı olan ve olmayan bilirubin miktarı dengededir (18,19,20,21). Term bir yenidoğanın normal serum albumin konsantrasyon sınırları içerisinde (3,5-5 mg/dl) maksimum 25-30 mg/dl konsantrasyondaki bilirubini taşıyacak albumin bağlanma bölgesi vardır (22).

Yenidoğanlar diğer yaş gruplarından daha düşük pH'ya ve özellikle hayatın ilk günlerinde daha düşük serum albumin konsantrasyonuna sahip oldukları için yenidoğan döneminde albuminin bilirubine afinitesinin daha düşük olması beklenir. Düşük pH bilirubinun albumin bağlanma bölgesinden ayrılmasını kolaylaştırır. Ayrıca serbest bilirubinun çözünürlüğünü de azaltarak kolayca hücrelere girişine olanak sağlar (23) .

Bilirubin serumda 4 değişik halde bulunabilir:

1. Albumine bağlı konjuge olmamış bilirubin
2. Albumine bağlanmamış serbest bilirubin
3. Konjuge bilirubin (Safra ve böbrek yoluyla atılabilir)
4. Albumine kovalan bağlı konjuge bilirubin (Delta bilirubin).

Serumda bilirubin analizi sırasında delta bilirubin ölçülemez. Konjuge bilirubin direkt bilirubin olarak ölçülürken, albumine bağlı ve serbest olan konjuge olmamış bilirubinun tamamı indirekt bilirubin olarak ölçülür. Plazmada düşük düzeyde bulunan serbest bilirubinun (indirekt bilirubin) fizyolojik rolü çok önemlidir. Serbest bilirubin; kan beyin bariyeri, karaciğer sinüzoidal membranı gibi biyolojik membranlardan geçebilir ve kernikterus gibi toksik etkilerden sorumludur (16,20,24).

#### **2.1.4. Bilirubinun Karaciğere Alınması**

Bilirubinun dolaşımdan ve vücuttan uzaklaştırılması için hepatositlere alınması gereklidir. Karaciğere gelen albumine bağlı nonkonjuge bilirubin, karaciğer hücre yüzeyinde albuminden ayrılır ve membran reseptörlerine bağlanır. Bu enerji gerektirmeyen bir basamaktır. Hepatosit içine geçen bilirubin sitozolde bulunan ligandin veya Y protein (glutatyon S-transferaz B) adı verilen reseptöre bağlanarak düz endoplazmik retikuluma taşınır. Hepatosit içindeki bir diğer reseptör olan Z proteininin (yağ asidi bağlayıcı

protein) bilirubine afinitesi zayıftır. Z proteini fetal hayatta tam gelişmiş olmasına karşın, Y proteininin ancak doğumdan sonraki 2. haftada erişkin düzeyine ulaşması yenidoğan sarılığı sebeplerinden biridir. Diğer taraftan fenobarbital gibi bazı farmakolojik maddeler de hücre içerisindeki ligandin miktarını artırır (5,25).

### 2.1.5. Bilirubinin Konjugasyonu

Yapısındaki hidrojen köprülerinden dolayı nonkonjuge bilirubin, nonpolar bir molekül olup, pH 7.4'te çözünmez durumdadır. Düz endoplazmik retikulumla gelen bilirubin, uridildifosfat glukuronil transferaz (UDPGT) enzimi yardımıyla suda eriyen iki glukuronil grubunun bilirubinin bir veya her iki propiyonik ucuna eklenmesi ile mono ve diglukuronid şekline dönüşür. Enzim eşliğinde meydana gelen bu glukuronidasyon vücudtaki en önemli detoksifikasyon mekanizmalarından biridir (26). Bilirubinin UDPGT aktivitesini dolayısıyla kendi konjugasyonunu indüklediği kabul edilir. Üridin difosfat glukuronil transferazın aktivitesini divalent katyonlar (magnezyum, kalsiyum gibi), fenobarbital, klofibrat, etanol ve ksenobiyotiklerin yanı sıra seks hormonları, glukagon, sekretin, tiroksin ve kortizol gibi hormonlar da etkilemektedir (27). Yenidoğanlarda, monoglukuronid şekli daha fazla oluşur. Yenidoğanda, özellikle premature yenidoğanlarda UDPGT aktivitesinin azlığı ya da yokluğu nedeniyle konjugasyon işlevi yetersiz olabilir, ancak 4-8 haftada artarak erişkin düzeyine ulaşır. Doğumdan sonraki ilk 48 saatte meydana gelen konjuge bilirubinin tamamı monoglukuronid şeklindedir, ancak 3. günden itibaren safraya salgılanabilen şekli olan diglukuronidler ön plana çıkarlar. Yaşamın ilk günlerinde konjuge bilirubin, total bilirubinin %12'sinden azdır. Yenidoğan bebekte total bilirubin düzeylerinin yüksek olması nedeniyle konjuge bilirubin düzeyi de erişkine göre yüksektir (25,28).

Üridin difosfat glukuronil transferazın total glukuronizasyon kapasitesi karacigerin bilirubin yükünün 100 katıdır. Bu sebeple enzim aktivitesi ancak

%1'e indigi zaman nonkonjuge bilirubin retansiyonu olur. Bu durumun klinik örnekleri Crigler Najar Sendromu ve yenidoğanda görülen sarılıklardır (17,25).

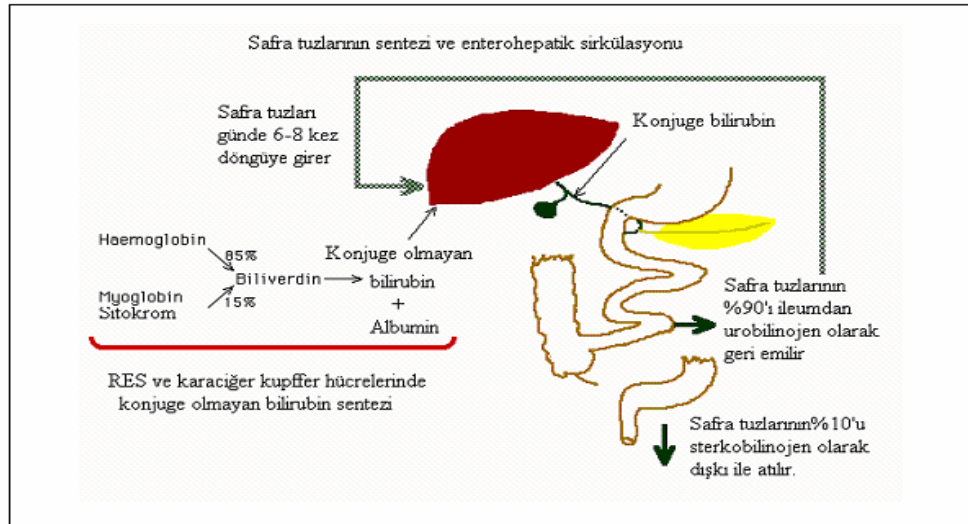
### **2.1.6. Bilirubinun Atılımı Ve Enterohepatik Dolaşımı**

Glukuronidle konjugasyon, bilirubin atılımının %90'ını oluşturur. Kalan bilirubin ise glukoz, ksiloz, taurin gibi başka maddelerle konjuge olarak veya oksidasyon, hidroksilasyon veya redüksiyon reaksiyonlarına girerek suda erir hale gelir ve atılır. Konjugasyonu tamamlanan, suda çözünebilir hale gelen bilirubin, ATP bağımlı olarak çalışan anyonik transport proteinlerinin yardımı ile safra içine salgılanarak vücuttan atılır (29). Enerji gerektiren bu işlem sonunda safra kanalındaki bilirubin konsantrasyonu, hepatosit içindekinin 100 katına kadar ulaşır (5). Bilirubinun transhepatik taşınmasında konjuge bilirubinun hepatositte kanaliküllere taşınması hız kısıtlayıcı basamaktır.

Konjuge bilirubin bağırsaktan tekrar geri emilemez ancak nonkonjuge bilirubin, safra, safra tuzları, fosfolipidler, kolesterol, tiroksin ve diğer bazı maddeler ile birlikte enterohepatik dolaşıma girer. Bilirubinun monoglukuronid ve diglukuronid formları stabil moleküller olmadığı için bağırsaktaki alkali ortamda nonenzimatik olarak, mukoza yüzeyindeki  $\beta$ -glukuronidaz ile de enzimatik olarak hemen konjuge olmamış bilirubin haline dönüşebilir. Beta glukuronidaz yenidoğanlarda başlangıçta mukozal bir enzim olarak bulunmaktayken ileri dönemlerde bakteriler tarafından oluşturulur. Oluşan bu bilirubin de karaciğere geri döner. Bağırsaktaki bilirubin en çok duodenum ve kolondan emilir. Emilen miktar, diyetin cinsine ve miktarına göre değişmekle birlikte, bağırsağa geçen bilirubinun yaklaşık %25'inin geri emildiği düşünülmektedir. Yenidoğanlarda  $\beta$ -glukuronidaz enziminin yüksek konsantrasyonda olması nedeniyle enterohepatik dolaşım erişkinlere oranla daha fazla olmaktadır. Yenidoğanda, enterohepatik dolaşımı arttıran diğer faktörler arasında; bağırsak motilitesinin az olması, içinde bol bilirubin

bulunan mekonyum pasajının gecikmesi ve bilirubini, ürobilinojene çevirecek barsak bakterilerinin bulunmaması yer almaktadır. Oral agar, kolestramin ve aktif kömür verilmesi, bağırsaktaki bilirubini bağlayarak sarılığın artmasını önleyebilir (5).

Distal barsak kesimlerine gelen bilirubin ise burada bir seri hidroksilasyon ve redüksiyon işlemleri ile ürobilinoidlere (ürobilin, ürobilinojen, sterkobilinojen, sterkobilin) dönüşür. Bu aşamada *E.coli* ve *Clostridyum perfringens* rol oynamaktadır. Oluşan ürobilinojenin de bir kısmı karaciğer tarafından reabsorbe olup enterohepatik dolaşıma girer. Böylece total hepatic bilirubin ekskresyonun hemen hepsi fekal yolla atılırken, çok küçük bir kısmı idrarla ürobilinojen olarak atılır (Şekil 2.3) (30). Yaşamın ilk günlerinde yenidoğan bağırsağının henüz bakteriler tarafından kolonize olmamış olması ürobilinoidler oluşumunu geciktirir. Bu nedenle yenidoğan ciddi bir şekilde bilirubinin enterohepatik emilim riski ile karşı karşıyadır (25,28).



Şekil 2.3. Bilirubinin enterohepatik dolanımı



## 2.2. YENİDOĞAN BEBEKLERDE SARILIK

### 2.2.1 Tanımı ve Sıklığı

Serum düzeyinin artması nedeniyle bilirubin deri ve skleralarda gözle görünür hale gelmesine sarılık denir. Serum total bilirubin (STB) seviyesi yenidoğanlarda 5–7 mg/dl'yi aştığında sarılık gözle görünür hale gelir. Sarılık yenidoğan döneminde sık karşılaşılan fakat çoğu zaman zararsız bir durumdur. Genellikle bilirubin eliminasyon ve üretimindeki dengenin geçiçi olarak bozulması sonucu ortaya çıkar (3). Hayatın ilk haftasında yenidoğanların %60-80'inde, prematürelere %80'inden fazlasında görülür (1). Ülkemizde yapılan bir araştırmada sıklığı term bebeklerde % 10.5, terme yakın bebeklerde % 25.3 olarak saptanmıştır (31). Hiperbilirubinemili hastaların % 10-15'i fototerapiye ihtiyaç duyar. Serum total bilirubin düzeyi prematüre bebeklerde term bebeklere göre daha yüksektir, daha uzun süre yüksek kalır ve nörolojik hasar birlikteliği daha fazladır (32-33).

### 2.2.2. Yenidoğan Sarılığının Epidemiyolojisi

Yenidoğanın sarılığı, genellikle aşağıdaki mekanizmaların bir veya daha fazlasının sonucu olarak ortaya çıkar.

1. Bilirubin aşırı yapımı
2. Bilirubin hepatosit içine defektif alımı ve taşınması
3. Hepatik mikrozomlarda yetersiz konjugasyon
4. Bilirubin ekskresyonunda defektler
5. Bilirubin artmış intestinal geri emilimi

Her ne kadar yenidoğanların tamamına yakını yukarıda tanımlanan mekanizmalarla fizyolojik sarılığa sahip olsa da epidemiyolojik çalışmalar

hiperbilirubineminin şiddet ve süresinin; gestasyon yaşı, doğum ağırlığı, ırk, coğrafi bölge, genetik yapı, beslenme durumu ve beslenme tipine göre belirgin olarak değişebileceğini göstermektedir (34). Yenidoğan sarılıklarının epidemiyolojisi tablo 2.1’de özetlenmiştir.

**Tablo 2. 1.** Yenidoğan sarılıklarının epidemiyolojisi (4)

<b>Etkileyen Faktörler</b>	<b>Arttıran</b>	<b>Azaltan</b>
<b>İrk</b>	Doğu Asyalı Amerika yerlisi	Siyah ırk
<b>Genetik</b>	İlk çocukta sarılık	
<b>Maternal</b>	İleri anne yaşı Hipertansiyon Diyabet Oral kontraseptif kullanımı 1. Trimester kanamaları Çinko eksikliği	Sigara
<b>Maternal ilaçlar</b>	Oksitoksin Epidural anestezi Prometazin Diazepam	Fenitoin Fenobarbital Aspirin Rezerpin Eroin Alkol Kloral hidrat
<b>Doğuma ait faktörler</b>	Kordonun geç kleplenmesi Forseps kullanımı Erken mebran rüptürü	
<b>Bebeğe ait faktörler</b>	Erkek cinsiyet Prematürite Düşük doğum ağırlığı Anne sütü ile beslenme	

### **2.2.2.1. Genetik ve etnik faktörler**

Siyah ırkta beyazlara göre fizyolojik sarılıkta serum bilirubinin en yüksek düzeyi daha düşüktür. Asya ırkında fizyolojik sarılık daha belirgin ve daha uzun sürer (35). Japon, Çinli, Kızılderili ve Yunanlılarda maksimum bilirubin düzeyinin diğer milletlere göre iki kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (36,37). Doğu Asya'lılarda UDPGT enzim geninde bazı mutasyonlar olduğu yönünde bulgular vardır (38,39). Term yenidoğanlarda sarılıklı kardeş öyküsünün hiperbilirubinemi riskini anlamlı olarak arttırdığı bilinmektedir (40,41). Crigler-Najjar ve Gilbert sendromu ile de ortaya konulduğu gibi genetik faktörler de hiperbilirubineminin gelişmesinde etkilidir.

### **2.2.2.2. Maternal ve obstetrik faktörler**

#### **Diyabet**

İnsüline bağımlı diyabetik annelerin makrozomik bebeklerinde hiperbilirubinemi daha sık görülür. Bu bebeklerde bilirubin üretimi daha fazladır, çünkü yüksek eritropoietin düzeyleri sebebiyle kırmızı seri hücrelerinin üretimi artmıştır. Ayrıca diyabetik annelerin sütündeki betaglukuronidaz aktivitesi normalin 3 katıdır (42-44).

#### **Anne yaşı**

Anne yaşı ilerledikçe indirekt hiperbilirubinemi daha sık görülür (41,42,45).

## **Sigara**

Sigara içen kadınların bebeklerinde hiperbilirubineminin daha az görüldüğü öne sürülmüştür. Bu durum sigara içen annelerde emzirme oranının daha düşük olmasıyla ilgili olabilir (36). Sigara içme uteroplental kan akımını azaltır ve fetal karboksihemoglobin düzeyini artırır. Bu da fetal dönemde glukuronil transferaz aktivitesinde bir artışa ve doğumdan sonra bilirubinün etkin klirensine yol açar (46).

## **İlaçlar**

Epidural anestezikler (özellikle bupivakain) ve indüksiyon için kullanılan oksitosinin neonatal hiperbilirubinemiye artırdığı yönünde pek çok çalışma vardır (45). Aksi yönde etkileri olduğu ya da etkili olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (36,44,47).

Narkotik ajanlar, barbitürat, aspirin, kloralhidrat, reserpin ve sodyum fenitoin verildiğinde düşük bilirubin değerleri, diazem ve oksitosinde ise yüksek bilirubin değerleri gözlenmiştir (46). Konsepsiyon zamanı oral kontraseptif kullanan annelerin bebeklerinde hiperbilirubinemi daha fazla bulunmuştur (48).

## **Doğum şekli**

Vajinal yolla doğan bebeklerde bilirubin düzeyleri sezaryenla doğanlara göre daha yüksektir. Vakum ekstraksiyonu uygulanan bebeklerde de sarılığın daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (49,50).

### **2.2.2.3. Bebeğe ait faktörler**

#### **Cinsiyet**

Erkek bebeklerde kız bebeklere oranla daha yüksek bilirubin değerleri görülür (42,45).

#### **Doğum ağırlığı ve gestasyon yaşı**

Düşük doğum ağırlığı ve küçük gestasyon yaşı hiperbilirubinemi riskini artırır (31,36,42,45). Gestasyon yaşı 36-37 hafta olan yenidoğanlar, 39-40 haftalık doğanlar ile karşılaştırıldığında, 5-7 kat fazla hiperbilirubinemi geliştirme riskine sahiptirler. Her gestasyon haftası düşüşünde, hiperbilirubinemi riski 0.6 kat artar. Pretermelerde daha yavaş artan ve daha uzun süren sarılık görülür (41). 2500 gramın altındaki bebeklerde hiperbilirubinemi daha sık görülür (43,51).

#### **Yetersiz kalori alımı ve tartı kaybı**

Gerek hayvan gerekse insan çalışmalarında düşük kalori alımı artmış bilirubin yüküyle ilişkili bulunmuştur. Doğum sonrası ilk günlerde görülen kilo kaybıyla serum bilirubin düzeyleri arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu bilinmekte; bunun nedeninin artmış enterohepatik dolaşım ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (42, 44, 52)

#### **Mekonyum pasajı**

Üç kiloluk bir bebeğin mekonyumunda 100-200 mg bilirubin olduğu tahmin edilmektedir. Bu miktar günlük hem katabolizması sonucunda

ortaya çıkan bilirubinden 3-4 kat fazladır ve mekonyum pasajındaki gecikme bilirubinde artışa sebep olur. Rektal termomete ya da fitil uygulaması ile mekonyum pasajının uyarıldığı bebeklerde yapılan iki çalışmada tepe total bilirubin düzeylerinin 1 mg/dl daha düşük olduğu gösterilmiştir (53,54).

### **Beslenme şekli**

Kazein hidrolizatlı formüllerle beslenen bebeklerde 10-18. günlerdeki bilirubin düzeyleri, standart kazeinli ya da whey proteinlerini içeren formüllerle beslenen bebeklere göre daha düşük bulunmuştur (55).

### **Anne sütü**

Anne sütüyle beslenme ve hiperbilirubinemi arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Toplam 8000 yenidoğanı kapsayan 12 çalışmanın meta analizi sonucunda, anne sütüyle beslenen bebeklerde mama ile beslenenlere göre serum total bilirubin düzeylerinin 12 mg/dl üzerine çıkma riskinin 3 kat, 15 mg/dl üzerine çıkma riskinin ise 6 kat fazla olduğu belirlenmiştir (56,57).

Anne sütü sarılığı 2-4 gün gibi erken dönemde veya 4-7 gün gibi daha geç dönemde görülebilir ve 3-12 haftaya kadar uzayabilir. Tepe değeri 10-30 mg/dl değerlerine ulaşabilir. Anne sütü sarılığının patogenezinde çeşitli mekanizmalar tartışılmıştır (Tablo 2.2). Patogenezinde rol oynayan en önemli mekanizmanın artmış intestinal geri emilim olduğu düşünülmektedir (56,58). Bir çalışmada 3 alfa-20 beta pregnandiolün anne sütündeki glukuronil transferazı inhibe ederek bilirubinin konjugasyonunu in vitro olarak önlediği bildirilmiştir (59). Anne sütünde bulunan ve konjugasyonu inhibe ettiği düşünülen diğer maddeler ise serbest yağ asitleridir. Diğer taraftan anne sütünde bulunan fazla miktardaki taurinin safra asit metabolizması üzerine

etkisinin veya anne sütündeki yüksek beta-glukuronidaz aktivitesinin enterohepatik dolaşımı artırarak sarılığın uzamasına neden olabileceği yönünde görüşler vardır. Ancak, henüz bu hipotezlerin hiçbirinin tek başına anne sütü sarılığında rol aldığı yönünde bir kanıt yoktur (60). Son yıllarda anne sütü sarılığı ile Gilbert sendromuna yol açan gen polimorfizmi arasında kurulan ilişki genetik faktörlerin de etkili olabileceğini göstermektedir (61).

**Tablo 2.2.** Anne sütü sarılığının etiyolojisinde rol oynayan mekanizmalar (36)

<b>Bilirubin temizlenmesinde azalma</b>	<b>Bilirubin barsaktan emiliminde artma</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kalori azlığı</li> <li>• Anne sütündeki inhibitör maddeler</li> <li>• Pregnandiol</li> <li>• Serbest yağ asitleri</li> <li>• Genetik</li> <li>• Diğer inhibitörler</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mekonyum pasajında gecikme</li> <li>• Ürobilinojen yapımında azalma</li> <li>• Safra asit anomalileri</li> </ul>

Anne sütü alan bebeklerde yaşamın ilk 2-4. günlerinde görülen sarılık erken anne sütü sarılığı, 4-7. günlerinde ortaya çıkan ve 3 aya kadar uzayabilen sarılık ise geç anne sütü sarılığı sendromu olarak anılmakla birlikte, ikisi aynı olayın değişik evreleri olarak kabul edilebilir (62,63).

Yaşamın ilk günlerinde anne sütüyle yetersiz beslenme ya da dehidratasyona bağlı olarak bebeğin kalori alımı sınırlanır ve bir çeşit açlık durumu ortaya çıkar. Bu bebekler açlık nedeniyle yaşamın ilk günlerinde az dışkı çıkarırlar ve bilirubin yükü fazla olan mekonyumun temizlenmesi bu sebeple uzar. Bu durum sık ve yeterli beslenme ile kısa sürede düzeltilebilir. Diğer taraftan anne sütüyle beslenmeye geç başlama, bebeğe su ya da

dekstrozlu su verilmesi beslenme sıklığını azaltacağından bilirubin düzeylerinin artmasına neden olur. Yani erken anne sütü sarılığının oluşumunda sütün kendisi değil yetersiz alımı etkindir. Kilo kaybı, dehidratasyon, hafif ateş görülebilmektedir.

Geç anne sütü sarılığı sendromu ise anne sütüyle beslenen bebeklerin yaklaşık %10-30'unda, yaşamın 5.,6. günlerinden sonra görülen, çoğunlukla 2-3 hafta bazen de üç aya kadar uzayabilen sarılıktır. Fizyolojik sarılığın normal bir varyasyonu olarak kabul edilir. Genellikle üçüncü haftada bu bebeklerde 1.5-15 mg/dl arasında değişen bilirubin değerleri saptanır. Nadiren bu düzey, sağlıklı miadında doğmuş bebeklerde, 25 mg/dl üzerine çıkarak bilirubin ensefalopatisi riskini artırabilir (1,60).

### **Prezentasyon şekli**

Makat prezentasyonunda daha fazla hiperbilirubinemi görülmektedir. Nedeni doğum travmasına bağlı ekimoz ve hematom olabilir (46).

### **Yüksek kord bilirubini**

291 bebekle yapılan bir çalışmada, kordon kanındaki bilirubin düzeylerinin, sonraki günlerde ortaya çıkacak sarılığın derecesiyle uyumlu olduğu bulunmuştur. Kordon bilirubin düzeyi 1,16 mg/dL'den düşük ise sarılık riski % 2,9 iken, 2,33 mg/dL'den büyük değerlerde risk % 85'e çıkmaktadır (64).



## **Hemolitik hastalık**

Hemolitik hastalığı olan bebekler, bilirubin ensefalopatisi bakımından hemolizi olmayan bebeklere göre, aynı TSB seviyelerinde daha büyük risk altındadırlar. Bunun nedenleri tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle Rh hemolitik hastalığı olan bebeklere fototerapi mümkün olduğunca erken başlanmalıdır (65).

## **Diğer nedenler**

Polisitemi (kordonun geç klempe edilmesi, maternofetal transfüzyon ya da ikizler arası transfüzyon sonucu) ve damar dışına kanama da (sefal hematom, iç organlara kanama gibi) hiperbilirubinemi riskini artırır (1).

### **2.2.2.4 Çevresel faktörler**

#### **Deniz seviyesinden yükseklik**

Deniz seviyesinden 3100 metre yüksekte doğarlarda, 1600 metre yüksekte doğarlara göre iki kat fazla hiperbilirubinemi görülmüştür. Neden olarak yüksek rakımda doğan bebeklerde hematokrit değerlerinin daha yüksek olabileceği düşünülmesine karşın iki grup arasında hematokrit değerleri yönünden fark bulunamamıştır (49).

#### **Fenolik deterjanlar**

Yenidoğan ünitesinde dezenfeksiyonun fenolik deterjanla yapılması sonucu iki hastanede hiperbilirubinemi epidemisi yaşanmıştır (49).

## **İlaçlar**

Yenidoğanlarda pankuronyum, sentetik K vitamini preparatlarının ve kloralhidratın verilmesi hiperbilirubinemi riskini artırır (49).

## **Serbest radikal oluşumu**

Serbest radikal oluşumunun arttığı dolaşım yetersizliği, sepsis, aspirasyon, asfiksi durumlarında total serum bilirubin düzeylerindeki günlük artışın kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (47).

## **Diğer nedenler**

Hiperbilirubinemi görülen bazı bebeklerde ve annelerinde plazma çinko düzeyleri kontrollere göre düşük bulunmuştur. Çinko eksikliğinin yenidoğanda eritrosit membranında bir bozukluğa ve hemolize yol açtığı, bu sebeple çinko eksikliği olan bebeklerde hiperbilirubineminin daha sık görüldüğü bildirilmektedir (66).

### **2.2.3 Yenidoğan Sarılığının Etyolojisi**

Yenidoğan sarılıkları biriken bilirubin cinsine göre, indirekt ve direkt bilirubin olmak üzere ikiye ayrılır. Yenidoğanda en sık görülen tip olan indirekt hiperbilirubinemi, fizyolojik sarılıkta ve bunun dışında bilirubin yapımının arttığı ya da bilirubin karaciğer hücrelerine alınmasının veya konjugasyonunun azaldığı patolojik durumlarda görülür. Direkt hiperbilirubinemi ise her zaman patolojiktir ve yenidoğan döneminde daha nadirdir. Sepsiste, intrauterin enfeksiyonlara bağlı hepatitte (toksoplazmozis, sitomegalovirüs, herpes, sifilis) direkt bilirubin, tek başına ya da indirekt

bilirubinle birlikte artar (67). Tablo 2.3'te yenidoğan sarılığının nedenlerinin sınıflandırılması görülmektedir.

Tablo 2.3: Neonatal hiperbilirubinemi nedenlerinin sınıflandırılması

#### **A) BİLİRÜBİN ÜRETİMİNDE ARTIŞ**

- Hemolitik hastalıklar
- İmmün mekanizmalı
  - Rh hemolitik hastalık
  - ABO uyumsuzluğu
  - Minör kan grubu uyumsuzluğu
- Kalıtsal
  - Eritrosit membran defektleri (herediter sferositoz, eliptositoz, stomatositoz)
  - -Eritrosit enzim defektleri (piruvat kinaz yetersizliği ,Glikoz-6 Fosfat Dehidrogenaz
  - -Hemoglobinopatiler ( alfa talasemi, beta talasemi)
  - -Anstabil hemoglobin
- Yenidoğanın travmaya uğraması
- -Vakum veya forseps uygulaması
  - Yaygın ekimoz (Sefal hematoma veya subgaleal kanama)
  - Fetal maternal transfuzyon
  - -Kordun geç klemplenmesi,
  - -İkizden ikize transfuzyon
- Diğer nedenler
- -Dissemine intravasküler koagülasyon
- -Kanama; pulmoner, abdominal, serebral, ekstravazyon
- -Polisitemi
- -Makrozomik, diabetik anne bebeği
- Yenidoğan enfeksiyonları
  - Üriner enfeksiyon
  - -Sepsis

Tablo 2.3'ün devamı

**B) KONJUGASYON VEYA ATILIM YETERSİZLİĞİ****Yetersiz veya zayıf beslenme**

- Prematürite
- Gecikmiş veya yetersiz laktasyon
- Yetersiz emzirme
- Diğer beslenme bozukluklar
- -Anne sütü sarılığı

**Enterohepatik dolanımın artması**

- İntestinal obstrüksiyon
- Mekonyum ileusu
- Mekonyum plug sendromu
- Kistik fibrozis
- -Pilor stenozu
- Hirschsprung hastalığı
- -Anne sütü sarılığı

**Hormonal bozukluklar**

- Hipotiroidizm
- Hipopitüitarizm

**Bilirubin metabolizma bozuklukları**

- Crigler-Najjar sendromu I ve II
- Gilbert hastalığı
- Lucey-Driscoll sendromu

**Biliyer tıkanıklık**

- Biliyer atrezi
- Koledok kisti
- Primer sklerozan kolanjit
- Safra taşı
- Neoplazi
- Dubin-Johnson sendromu
- Rotor sendromu

Tablo 2.3'ün devamı

**Enfeksiyon**

- -Sifiliz
- -Toksoplazma enfeksiyonu
- -Tüberküloz
- -Hepatit
- -Rubella
- -Herpes

**Metabolik hastalıklar**

- -Alfa-1 antitripsin eksikliği
- -Kistik fibrozis
- -Galaktozemi
- -Glikojen depo hastalıkları
- -Gaucher hastalığı
- -Niemann-Pick hastalığı
- -Wilson hastalığı
- -Hipotiroidizm

**Kromozomal bozukluklar**

- -Turner sendromu,
- -Trizomi 18-21

**İlaçlar**

- -Aspirin
- -Asetaminofen
- -Sulfonamid
- -Alkol
- -Rifampin
- -Eritromisin
- -Kortikosteroid
- -Tetrasiklin

### 2.2.3.1 Fizyolojik sarılık

Doğumda kordon kanında bilirubin düzeyi 1-3 mg/dL olup, 2-4. günde 5-6 mg/dL' ye yükselir ve 5-7. günde 2-3 mg/dL'ye iner. Bilirubin artış hızı 5 mg/dL/gün'den azdır. Ortaya çıkan bu geçici hiperbilirubinemi fizyolojik sarılık olarak adlandırılır (5,49,68,69). Fizyolojik sarılık, yenidoğan karaciğerinin bilirubini tutma, transport etme ve konjugasyonundaki olgunlaşma eksikliğinden kaynaklanır (Tablo 2.4.)

**Tablo 2.4.** Fizyolojik sarılık gelişiminde rol alan faktörler (18,70).

<p><b>Hepatositlerde artmış bilirubin yükü</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• -Artmış eritrosit hacmi <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Azalmış eritrosit yarı ömrü</li> <li>○ Bilirubin artmış enterohepatik dolasımı</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Bilirubin kandan karaciğere alımında bozukluk</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Azalmış ligandin</li> <li>• Y ve Z proteinlerinin başka anyonlara bağlanması</li> <li>• Yetersiz kalori alımı <ul style="list-style-type: none"> <li>İndirekt bilirubin neonatal albumine daha az bağlanması</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Bilirubin konjugasyonunda bozukluk</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Azalmış üridin difosfoglukuronozil transferaz aktivitesi</li> <li>• Artmış üridin difosfoglukoz dehidrogenaz</li> </ul> <p><b>Bilirubin atılımında bozukluk</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Yeni gelişmeye başlayan organizmada organik anyonların kanaliküllere atılımının bozuk olması</li> </ul> <p><b>Karaciğer dolaşımı</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Göbek kordonunun kesilmesiyle karaciğere gelen oksijen miktarında azalma</li> <li>- Duktus venosus açıksa portal akımın karaciğere uğramadan geçmesi</li> </ul>
--

Yapılan araştırmalarda bilinen risk faktörü olmayan yenidoğanların%95'inde TSB düzeyinin 12.9 mg/dl'yi geçmediği gösterilmekle birlikte daha sonraki çalışmalarda değişik toplumlarda 17-18 mg/dl'ye ulaşan bilirubin değerlerinin normal kabul edilebileceği bildirilmiştir (18,71). Prematürelerde pik değere ulaşma daha geç olur (5-7. günlerde) ve kaybolma süresi de daha uzundur. En yüksek tepe değer de 15 mg/dL' ye kadar ulaşabilir (1,2). Term yenidoğanların yaklaşık % 50'sinde klinik sarılık mevcuttur. Prematürelerde bu oran daha yüksektir (70). Sarılığın devam süresi termlerde 7-14 gün, pretermlerde 2-3 haftadır (67).

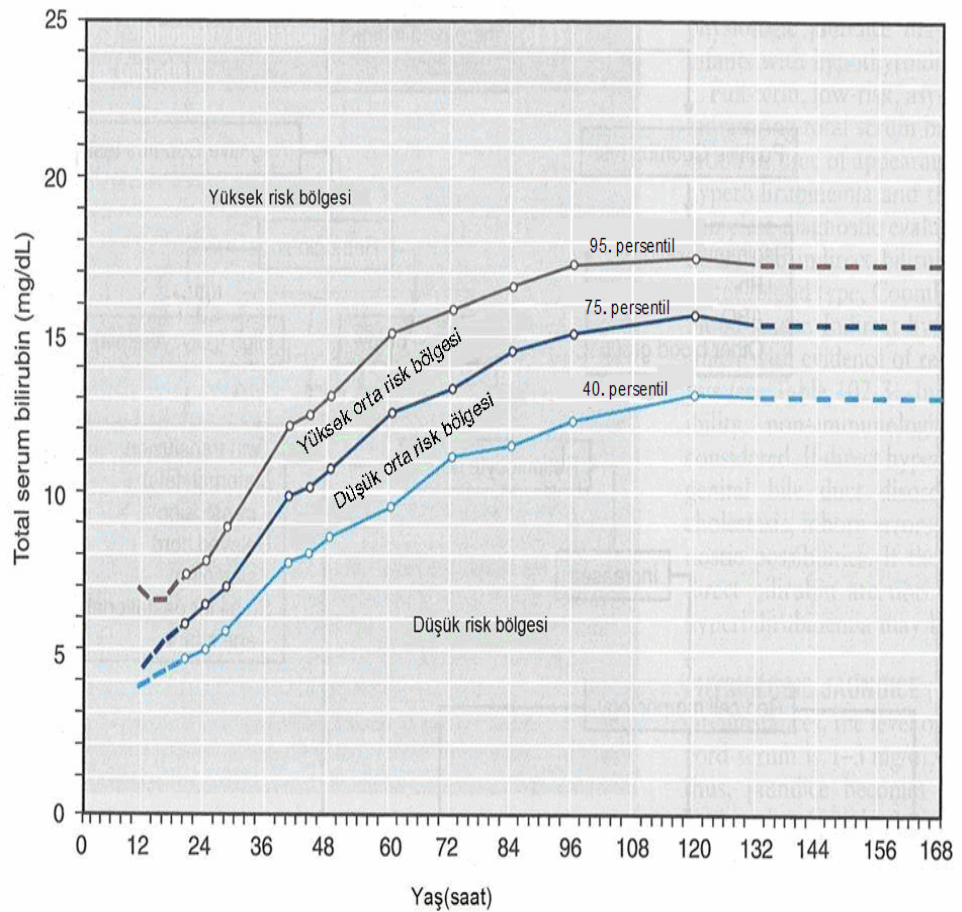
Fizyolojik sarılık iki fazda gözlenir. Faz I ilk üç gün içinde pik değerine ulaşan beşinci güne kadar bilirubinin azaldığı dönemi kapsar. Bu dönemden sonra bilirubinin iki hafta kadar 2 mg/dl civarında sabit kaldığı dönem faz II olarak adlandırılır. Faz I fazla miktarda olan bilirubin yapımının konjugasyon eksikliği ile birlikte olması nedeniyle görülür (60A). Faz II fizyolojik sarılığın mekanizması daha az bilinmekle birlikte bilirubinin hepatik alımındaki eksiklik ile birlikte devam eden aşırı bilirubin yükünden kaynaklandığı düşünölmektedir (35).

Bilirubin ensefalopatisi riskinden ötürü sarılıklı yenidoğanların incelenmesinde ve yenidoğan sarılıklarıyla mücadelede tutarlı bir yaklaşım geliştirilmesi yenidoğan bebeklerle ilgilenen hekimler için oldukça önemli bir konudur. Bu nedenle fizyolojik sayılamayacak sarılıkların önceden belirlenmesi önem arzeder. Fizyolojik sınırların üzerinde hiperbilirubinemi geliştirebilecek (riskli) bebekleri önceden belirlemek için Amerikan Pediatri Akademisi iki strateji önermiştir:

1. Sararan bebeklerin bilirubin konsantrasyonunu ölçmek ve postnatal yaş (saat)' a göre bilirubin nomogramında hangi bölgede yer aldığını belirlemek (Şekil 2.4.).
2. Ciddi hiperbilirubinemi ile ilişkili klinik risk faktörleri varlığını belirlemek.

Total serum bilirubin düzeyinin yaş (saat)' a göre belirlenen değerlerin %95' in üzerinde olması halinde ciddi hiperbilirubinemiden bahsedilir (2).

**Şekil 2.4.** Serum bilirubin değerlerinin zamana göre risk değerleri (2)





Bhutani ve arkadaşlarınca geliştirilen bu yöntemde taburcu olmadan önce bebeklerden ölçülen serum bilirubini nomogramda işaretlenerek risk belirlenmektedir. Bir bebeğin taburculuk sonrası hiperbilirubinemi geliştirme olasılığı taburculuk öncesi bilirubin değeri düşük risk bölgesindeyse % 0,6, düşük-orta risk bölgesindeyse % 3, yüksek-orta risk bölgesindeyse % 21 ve yüksek risk bölgesindeyse % 54' dür (72). Ülkemiz şartlarında da benzer nomogramlar Sarıcı ve arkadaşları (31,73) tarafından hem ABO uyumsuzluklu bebekler, hem de term ve terme yakın bebekler için geliştirilmişlerdir. Ancak bu nomogramların öngörebilme doğrulukları henüz tam olarak değerlendirilmemiştir.

Epidemiyolojik çalışmalar ciddi hiperbilirubinemi için çeşitli risk faktörlerini ortaya koymuştur. Stevenson ve arkadaşları (73) end-tidal karbon monoksit değerlerinin, beslenme metodunun ve doğum ağırlığının saatlik bilirubin nomogramında 95 persantil üzeri total serum bilirubin değerlerini öngörebildiğini belirtmişlerdir. Chou ve arkadaşları da (42) maternal ırk, anne sütü ile beslenme ve gestasyonel yaşın 38 hafta altında olmasının total serum bilirubin değerinin  $\geq 20$  mg/dl olmasını ve Amerikan Pediatri Akademisinin fototerapi kriterlerini aşan serum bilirubin değerlerini önceden gösterebilen tutarlı kriterler olduğunu saptamışlardır. Newman ve arkadaşları ise hiperbilirubinemi için en güçlü risk faktörlerinin kardeşlerde sarılık öyküsünün olması, sadece anne sütüyle beslenme, vücutta morluklar saptanması, Asya ırkı, sefalhematom, anne yaşının 25 ve üzerinde olması ve düşük gestasyonel yaş olduğunu saptamışlardır (41). Amerikan Pediatri Akademisi'nin sarılıklı bebeklerin izlem rehberinde yer alan tabloda major ve minör risk faktörleri verilmiştir, ancak bu tabloda ki risk faktörlerinin hangi kombinasyonlarda hangi oranlarda riski belirleyebildiği belirtilmemiştir (Tablo 2.5) (2).

**Tablo 2.5.** 35. hafta yenidoğanlarda ciddi indirekt hiperbilirubinemi gelişimi açısından risk faktörleri (2)

<b>Majör risk faktörleri</b>	<b>Minör risk faktörleri</b>	<b>Azalmış risk</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taburculuk öncesi TSB veya TcB yüksek risk bölgesinde ise</li> <li>• İlk 24 saatte sarılık</li> <li>• Kan grubu uyumsuzluğu, pozitif direkt coombs testi, hematolojik hastalık, artmış ETCO</li> <li>• 35-36 hafta gebelik yaşı</li> <li>• Fototerapi uygulanmış kardeş öyküsü</li> <li>• Sefalhematom</li> <li>• Kilo kaybı</li> <li>• Doğu Asya ırkı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taburculuk öncesi TSB veya TcB yüksek orta risk bölgesinde ise</li> <li>• Taburculuk öncesi sarılığın gözlenmesi</li> <li>• Sarılıklı kardeş öyküsü</li> <li>• Makrozomik infant</li> <li>• Maternal yaş <math>\geq 25</math> yıl</li> <li>• Erkek cinsiyet</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taburculuk öncesi düşük risk bölgesinde ise</li> <li>• 37-38 hafta gebelik yaşı</li> <li>• <math>\geq 41</math> hafta gebelik yaşı</li> <li>• Formula ile beslenme</li> <li>• Siyah ırk</li> <li>• Hastaneden 72 saat sonra taburculuk</li> </ul>

TSB= Total serum bilirubini, TcB= Transkutan bilirubin, ETCO= End Tidal Karbon Monoksit

Fizyolojik ve patolojik sarılık ayırımını her zaman çok kesin sınırlarla yapmak mümkün değildir. Birçok iç ve dış etken fizyolojik düzeyde olan sarılığın patolojik sarılığa dönmesine neden olabilir (19,74).

#### **Fizyolojik sarılık tanı kriterleri (2):**

1. Sarılığın ilk 24-36 saatten sonra başlaması
2. Total bilirubin artış hızının günde 5 mg/dl'den az olması
3. Total bilirubin düzeyinin term bebeklerde 12 mg/dl'yi, preterm bebeklerde 15 mg/dl'yi geçmemesi
4. Direkt bilirubin düzeyinin  $< 2$  mg/dl olması,
5. Sarılığın term bebeklerde bir haftadan az, preterm bebeklerde 10-14 günden az sürmesi

### 2.2.3.2. Patolojik sarılık

Maisels'in 1981 yılında ilk tariflendiği şekliyle patolojik sarılık tanımında; sarılığın ilk 24 saatte ortaya çıkması, bilirubin artış hızının günde 5 mg/dl'yi geçmesi, serum direkt bilirubin düzeyinin 1,5-2 mg/dl'nin üstünde olması ve sarılığın term bebeklerde bir, preterm bebeklerde ise iki haftadan daha uzun sürmesi kuralları yer almaktaydı (75). Ancak daha sonra bu tanımlara uyan tüm durumların patolojik sarılık olmayabileceği görüldü. Anne sütü sarılığı nedeniyle term bebeklerde indirekt bilirubin düzeyinin ve sarılık süresinin bu sınırları aşması bunun en güzel örneği olmuş ve daha sonraki yıllarda anne sütü ile beslenenlerde patolojik serum bilirubin düzeyi 15 mg/dl'ye yükseltilmiştir. Ancak anne sütü ile beslenen pek çok sağlıklı bebekte bu sınır da aşıldığından günümüzde term bebeklerde serum bilirubin konsantrasyonlarının 17 mg/dl'den daha yüksek olduğu durumlarda fizyolojik olmadığının düşünülmesi ve sarılık süresinin iki haftadan daha uzun sürdüğü durumlarda uzamış olarak kabul edilmesi giderek kabul görmüştür (76,77). Hatta sağlıklı, term ve anne sütü alan bebeklerde bu sınırlar daha da yükseltilebilmektedir (78). Hiperbilirubineminin yanısıra ailede hemolitik hastalık hikayesi varlığı, yenidoğanda solukluk, anemi, hepatomegali, splenomegali, kusma, letarji, beslenme problemleri, aşırı tartı kaybı, apne, bradikardi, vital bulgularda bozukluk, açık renkli dışkılama, kernikterus bulguları varlığı, idrarda bilirubin varlığı, fototerapiye rağmen bilirubin düzeyinde yetersiz düşüş veya yükselme durumlarında patolojik yenidoğan sarılığı akılda tutulmalıdır (1).

Yenidoğan bebeklerdeki patolojik sarılıkların büyük çoğunluğundan bilirubin metabolizasyon basamaklarında normal fizyolojinin dışında gelişen patolojik süreçler (artmış bilirubin üretimi, hepatik alım eksikliği, yetersiz bilirubin konjugasyonu ve artmış bilirubin enterohepatik dolaşımı) sorumludur (35).

## Rh uygunsuzluğu

Fetus ve yenidoğanın Rh hemolitik hastalığı, plasentadan geçen maternal özgül IgG Rh otoantikörlerinin eritrositlere bağlanarak progresif fetal hemoliz ile sonuçlandığı klinik tablodur (79). Her iki ebeveyninden genetik olarak geçen Rh antijenik determinantları C,c,D,d,E,e gibi kan grubu antijenlerinin üretimini ve Rh tipini belirler. Her antijen uygun şartlar altında, spesifik bir antikör cevabına yol açarken, antikör yanıtı %90 oranında D antijenine bağlı oluşur. Eritrosit üzerinde D antijeni varsa (homozigot D/D ya da heterozigot D/d), Rh (+) olarak kabul edilir ve bu antijen fetal eritrosit membranda 11. haftadan itibaren belirmeye başlar (1). Rh negatif bir anne, fetomaternal hemoraji yolu ile Rh pozitif bebeğinin RhD antijenlerine maruz kalması sonucu Rh izoimmünizasyonu gelişimi açısından risk altında kalır (79). Fetal hücreler gebeliğin herhangi bir döneminde anne dolaşımına geçebilir. Ancak en fazla geçiş doğum sırasında ya da amniyosentez sırasında travma ile olur. Annenin primer immunizasyonu için 0.5-1 ml kan yeterlidir. İlk yanıt zayıf olup, esas olarak plasentayı geçemeyen IgM antikörleri ile olmaktadır. İkinci kez Rh pozitif eritrositlere maruz kalınması durumunda ise plasentayı geçen IgG antikörleri ile yanıt oluşmakta ve fetal anemi, hidrops fetalis ve tedavi edilmemesi durumunda intrauterin fetal ölüm ile sonuçlanmaktadır (80,81). İzoimmünizasyon esas olarak ikinci veya daha sonraki Rh-pozitif gebeliklerde oluşmaktadır. Eğer anne ve fetus arasında ABO uygunsuzluğu da varsa anne dolaşımına geçen Rh(+) fetal hücreler, annenin doğal anti-A veya anti-B antikörleri tarafından hızla dolaşımdan uzaklaştırılır. Bu nedenle Rh uygunsuzluğu ile birlikte ABO uygunsuzluğu da varsa Rh sensitizasyonu daha az görülür (27). Fetusa geçen IgG anti D antikörlerin Rh(+) eritrositlere bağlanması sonucu direkt Coombs testi pozitifleşir ve bu antikörlerin miktarlarına göre fetus eritrositlerinde değişik derecelerde hemoliz olur. Hastalığın şiddeti klinik bulgu vermeyen minimal hemolizden derin anemi, eritroblastozis fetalis ve hidrops fetalis tablosuna kadar değişkenlik göstermektedir. Sensitize annenin daha sonraki gebeliklerinde hemolitik hastalığın ağırlığı giderek artar. Uygun antijenik

karsılaşmaya karsın, Rh (-) annelerin antikor oluşturma kapasitesi değişkendir (1). Hemolitik hastalığın derecesi maternal antikor düzeyine, antikorların eritrosit membranına afinitesine, fetusun yıkılan eritrositleri kompanse etme yeteneğine bağlıdır. Yalnızca IgG tipi antikorlar plasentadan geğebildiğinden, annenin sensitizasyonunu en iyi bu antikorların titresi gösterir. İmmün profilaksi uygulanmaması durumunda Rh-negatif anneden doğan Rh-pozitif bir bebekte %16 oranında Rh izoimmünizasyonu gelişim riski mevcuttur . Anti D antikor etkisiyle eritrositlerin yıkılması fetal anemiye, bu da daha fazla eritrosit yapımına yol açar. Kemik iliğindeki eritrosit yapımı, yıkımı karşılayamaz hale geldiği zaman başta karaciğer ve dalak olmak üzere ekstrameduller hematopoez başlar. Ekstrameduller eritropoezde eritrosit matürasyonu tam olmadığı için periferik dolaşıma ęekirdekli eritroid seri elemanları geğmeye başlar ve hastalık eritroblastozis fetalis adını alır.

Hidrops fetalis gelişen bebeklerde anemi ile birlikte asit, yaygın dem, plevral ve perikardiyal efüzyonlar bulunabilir. Fetal dönemde olusan bilirubin plasenta tarafından temizlendiği için doğumda bu bebeklerin bilirubin düzeyleri 5 mg/dl altındadır. Ancak ilk yarım saat içinde bilirubin hızla yükselir. Coombs testi pozitifdir. Retikülosit sayısı artmıştır. Ağır eritroblastozis fetaliste nonkonjuge bilirubinle birlikte konjuge bilirubin de artmış olarak bulunabilir. Bunun sebebi, hem konjestif kalp yetmezliğine bağlı olarak gelişen karaciğer konjesyonu, hem de ekstrameduller hematopoezin sinuzoidlere yaptığı bası sonucu karaciğerin atılım fonksiyonunun azalmasıdır (5).

Rh sistemi genlerinin 1. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunduğu bilinmektedir (82). Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle, amniyosentezle veya koryon villusta Rh geninin olup olmadığının birinci trimesterde bile saptanması mümkün olabilmektedir (83).

Prenatal dönemde immunize olmamış ve eşi Rh(+) olan tüm Rh(-) annelere 28. gestasyon haftasında indirekt Coombs testi yapılır; test negatifse anneye 300 µg anti D immunglobulin yapılır. Standart doz olarak uygulanan 300 µg IgG 30 ml'ye kadar fetal kanda korumayı sağlayacak dozdur. Bu doz miadında olan doğumların %99'unda profilaksi sağlamaya yeterlidir. Anti D IgG'nin doğumdan sonraki 72 saat içinde uygulanması ise ampirik bir uygulama olup, 13 güne kadar olan uygulamalarda kısmen de olsa koruyucu etki sağladığı gösterilmiştir (84). Antenatal ve postnatal anti-D immunglobulin uygulaması ile Rh hemolitik hastalığı insidansı azalmaktadır. Günümüzde her 1000 canlı doğumda 1-6 oranında görüldüğü bildirilmektedir (85). İndirekt Coombs testi pozitifse, fetus eritroblastozis fetalis açısından değerlendirilir. Bu amaçla annede anti D titresi ölçülür. Annede yüksek IgG anti D titreleri sensitizasyonu gösterir, ancak fetal hemoliz derecesi için her zaman doğru bilgi vermez. Amniyon sıvısında bilirubinin spektrofotometrik ölçümü ile hemolizin derecesi daha iyi belirlenebilir. Uygulanan seri ultrasonografilerde, hidropsun erken belirtileri (assit, ödem) saptanabilir. İmmunize anne, gebeliği süresince 2-3 haftada bir indirekt coombs testi ile izlenir (1). Alloimmünizasyon bir kez oluştuğundan sonra fetus anemi açısından risk altında kalmaktadır. Fetal anemi non-invaziv olarak orta serebral arter ölçümü ile monitorize edilmekte ve gerektiğinde intrauterin transfüzyon (İUT) uygulanabilmektedir. Dikkatli bir monitorizasyon ve uygun zamanlarda gerçekleştirilen transfüzyonlar ile gebelik 37-38. haftaya kadar getirilmeye çalışılmaktadır. İUT uygulamaları ile anemisi olan fetusların sağ kalım oranları belirgin olarak artmıştır (85).

Ağır hemolitik hastalığı olan bebeğin doğumunda kordon mümkün olduğunca çabuk klampe edilmeli, derhal resüsitasyona başlanmalıdır. Ciddi anemi varsa hemen 0 Rh(-) eritrosit süspansiyonu ile parsiyel kan değişimi yapılarak hemoglobin düzeyi yükseltilmelidir. Kordon hemoglobini 12 gr/dl altında, kordon bilirubini 5 mg/dl üzerinde olan vakalarda acil kan değişimi yapılmalıdır. Daha az etkilenmiş bebeklerde bilirubin yükseliş hızı izlenmeli ve kan değişimine buna göre karar verilmelidir (27). Rh uyuşmazlığında,

anemi ve sarılık en önemli iki sorunu oluşturmaktadır. Direkt coombs testi pozitif, kord kanı bilirubini 5 mg/dL veya üzerinde, hemoglobini 10 g/dL veya altında olan bebeklere acil kan değişimi uygulanmalıdır .Bunun dışındaki değerler kan değişimi dışı yöntemlerden; fototerapi ve fenobarbital tedavisi ile yakından izlenmelidir. Rh uyuşmazlığında sarılık, anemi ve kernikterus dışında hipoglisemi, akciğerlerde kanama, koagülasyon bozuklukları, uzamış sarılık görülebilmektedir (1).

### **ABO uyumsuzluğu**

Hemolize yol açan kan grubu uyuşmazlıkları içinde en sık görüleni ABO uyuşmazlığıdır. Sık görülmesine rağmen gerek intrauterin gerekse postnatal dönemde ciddi sorunlara yol açmaz. Daha önce sensitize olmamış bir annenin ilk gebeliğinde de ortaya çıkabilir (5). Anti A ve anti B antikorları Ig A, Ig M ve Ig G yapısındadır. A ve B kan grubunda olanlarda bulunan anti A ve anti B antikorlar çoğunlukla Ig M yapısında olduklarından plasentayı geçmezler; O kan grubunda olanlarda ise çoğunlukla Ig G yapısındadır. Bu nedenle, ABO hemolitik hastalıkta genellikle anne O, fetus A veya B grubundadır (86). O grubu annelerde doğal IgG anti A ve anti B antikorlarının varlığı ilk gebelikte ve önceden sensitizasyon olmadan da ABO hemolitik hastalığı oluşmasını sağlar. Gebeliklerin yaklaşık %15'inde anne O grubu, bebek A veya B grubundadır. Buna karşın, gebeliklerin yalnızca %3'ünde eritrosit-antikor reaksiyonu saptanır, önemli hemoliz ise canlı doğumların %1'inden azında görülür (1).

ABO uyuşmazlığında bilirubinin yükselme hızı Rh uyuşmazlığına göre yavaştır. Nadiren ağır hemoliz, sarılık ve kernikterusa yol açar. ABO uyuşmazlığına bağlı hemolitik hastalığın, Rh uyuşmazlığına kıyasla daha hafif geçmesinin başlıca nedenleri şunlardır (5):

1. Annede oluşan ABO antikorlarının çoğu IgM cinsinden olduğu için plasentadan geçmez. Ancak O grubu annelerde, A ve B gruplarına karşı gelişen antikorların bir kısmı IgG cinsinden olduğu için plasentadan geçer.
2. Fetal A ve B antijenlerinin antijenik özellikleri zayıftır.
3. Annede oluşan antikor plasentadaki A ve B antijenleri tarafından tutulduğu için fetal dolaşıma girmez.
4. Eritrositler üzerinde bulunan A ve B antijenleri diğer doku hücreleri üzerinde, ayrıca dolaşımda serbest olarak da bulunduğundan fetusa geçen antikorlar eritrositlere ulaşmadan diğer antijenler tarafından tutulur.

ABO hemolitik hastalığında spesifik tanı koydurucu bir test yoktur. Laboratuvarda hemoglobin genellikle normal veya normale yakın bulunur. Sarılığın ilk 24-36 saat içinde ortaya çıkması, anne serumunda yüksek titrede Ig G yapısında anti A/B antikor varlığının gösterilmesi, periferik yaymada sferositlerin, polikromazinin ve çekirdekli eritrositlerin görülmesi tanıda önemlidir. Vakaların ancak %33'ünde Coombs testi pozitifliği saptanabilir(86).

Sarılık ilk 24 saatte başlar, nadiren şiddetli olur, anemi genellikle hafiftir, çoğunlukla fototerapi ile kontrol altında tutulabilir. Bazı vakalarda sarılık kısa sürede kernikterusa neden olabilecek derecede ağır olabilir. Hidrops fetalis oldukça nadirdir . Hastalarda hafif anemi (10–12 g/dL), retikulositoz (%10-15), polikromazi vardır ve direkt coombs testi zayıf pozitifdir. Etkilenen hastaların % 10–20'sinde serum bilirubin düzeyi 20 mg/dL'ye yükselebilir (1). Semptomatik ABO uygunsuzluğunu önceden tahmin etmek her zaman mümkün değildir.

Klinik olarak belirgin hemolitik hastalık bulguları göstermeyen bebeklerde ABO uyuşmazlığı olmayan bebeklere göre hiperbilirubinemi insidansı, maksimum bilirubin değeri ve retikülosit sayısı daha yüksek, hemoglobin değeri daha düşük bulunmuştur. Bu bebeklerde takipte uzamış anemi saptanmıştır. Bu durum ABO uyuşmazlıklarında belirgin hemolitik



hastalık bulguları görülmesi de eritrosit yıkımının olduğunu göstermektedir (86).

### **Alt grup uyumsuzlukları**

Eritrositlerin üzerinde 100'den fazla antijen bulunmasına rağmen bunların çok az bir kısmı hemolitik anemi ve sarılığa neden olur (5). Yenidoğan hemolitik hastalığı vakalarının yaklaşık %3'ünden sorumlu olan Duffy, Kidd ve MNS antijenleri Rh sisteminin daha az antijenik komponentleridir. Patofizyoloji Rh ve ABO uygunsuzlukları ile aynıdır (1,5). Hastalığın spektrumu subklinik hemolizden, aktif hemoliz ve kan değişimi gerektiren hiperbilirubinemiye kadar değişir. ABO ve Rh sistemi hariç tutulursa, anti K en sık meydana gelen antikordur. K(-) kişilerde anti K oluşumu sıklıkla K(+) kan uygulamasından sonra meydana gelmektedir. On üç bin gebede yapılan bir çalışmada, anti K'ya bağlı hemolitik hastalık sıklığı 1/1000 olarak bulunmuştur ( 87,88). Nadir de olsa anti Kell hemolitik hastalığa bağlı hidrops fetalis olguları bildirilmiştir (87). Yenidoğanın hemolitik hastalığı içerisinde Rh uygunsuzluğuna bağlı izoimmunizasyonunun, RhoGAM kullanımıyla azalması sonucunda, minör kan grubu uygunsuzlukları giderek ön plana çıkmaya başlamıştır (39).

### **Eritrosit enzim defektleri**

En sık görülenleri glikoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD), pürivat kinaz ve glikoz fosfat izomeraz eksikliğidir. Eritrositlerde enerji üretimi esas olarak aerob ve anaerob glikolize bağlı olup oksidatif fosforilasyon kullanılmaz. Bu nedenle, glikoliz sürecinde meydana gelen aksamalar eritrosit fonksiyonlarını ve ömrünü etkiler (5,19).

Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz eksikliği en yaygın enzim eksikliğidir ve dünyada 400 milyondan fazla insanı etkilemektedir. Bu enzim eksikliği insidansı Akdeniz ülkelerinde, Afrika'da ve Çin'de daha yüksek olmakla birlikte bütün ırklarda ve etnik gruplarda tanımlanmıştır (89,90). Kernikterus gelişen yenidoğan bebeklerin % 31,5'inde hiperbilirubineminin nedeninin Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliği olduğu bildirilmiştir (49). Ülkemizde Çukurova bölgesinde G6PD görülme oranı %5,8 - %8,5 arasında değişmekle birlikte, Haberal ve arkadaşlarının İzmir bölgesinde yaptıkları bir çalışmada bu oran % 0,5 olarak bulunmuştur (91,92). Türkiye genelinde ise %1 oranında G6PD eksikliği olduğu bildirilmiştir (93).

Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz geni X kromozomu üzerinde bulunur ve 90'dan fazla mutasyon tespit edilmiştir. Enzimin bu kadar varyantının bulunması, hemolitik hastalığın genis bir spektruma sahip olmasına yol açar (21). Etkilenen erkek bebeklerde enzim eksikliği komplettir. Tarama testleri ile enzim eksikliği olan erkek bebekler bulunabilirler. Fakat heterozigot kızlarda enzim aktivitesi oldukça geniş farklılıklar gösterir, bu nedenle tarama testleri ile tanı alamayabilirler. G6PD eksikliği olan bazı bebeklerdeki hemoliz çok belirgin değildir, anemi ve retikülositoz gelişmeyebilir. Yapılan çalışmalarda G6PD eksikliği olan bebeklerde hem döngüsünde belirgin bir artış olmasına rağmen, akut hemolizi olanlar dışında, hiperbilirubinemiden sorumlu tek mekanizma hemoliz değildir. G6PD eksikliği olan bebeklerde bozulmuş konjugasyon da hiperbilirubinemi patogeneğinde rol oynar (49).

Hekzos monofosfat yolunun önemli bir enzimidir ve G6PD bu yolda ilk adımı katalize eder (19,70). Hekzos monofosfat yolu iki geri dönüşümsüz oksidatif reaksiyondan oluşur ve bunu bir seri geri dönüşümlü şeker-fosfat dönüşümü izler. Döngüde direkt olarak hiç ATP üretilmez ve tüketilmez. Bu reaksiyon hücre sitozolünde gerçekleşir. Bu yol biyokimyasal bir redüktan olarak görev yapan NADPH'nin hücre gereksiniminin büyük bölümünü oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) glutatyon aracılığıyla

detoksifikasyonunu sağlar. Heksoz monofosfat yolu ayrıca nükleotid sentezi için gerekli riboz fosfatları üretir ve diyet ile alınan beş karbonlu ribozların metabolik kullanımını sağlar (70). Yetmezlik sonucunda oluşan oksidatif stres, eritrosit membran lipidlerini peroksidasyona uğratmak ve hemoglobini okside etmek suretiyle hemolize neden olur.

Diğer yaş gruplarına göre yenidoğan döneminde G6PD eksikliğinin klinik bulguları daha ciddi bir şekilde ortaya çıkabilir ve yenidoğanlarda anemiden çok hiperbilirubinemi dikkat çekicidir. Gebeliğin sonuna doğru eritrosit kitlesindeki hızlı artış nedeniyle, dolaşımda genç eritrositler sayısal olarak oldukça fazladır. Bu nedenle kordon kanında G6PD aktivitesi yüksek olarak bulunabilir. Bu, G6PD eksikliği tanısını dışlamaz (94). Ancak yenidoğanda dolaşımdaki eritrositlerin %10'u yaşlı eritrositlerdir; bu da erişkine göre yüksek bir orandır (eriskinde %1). Buradan da daha çok yaşlı eritrositlerin parçalandığı sonucu çıkmakta; bu fizyolojik yıkım sonucu bilirubin üretimi artmakta ve yenidoğan döneminde fizyolojik olarak karaciğerde konjugasyon yetersiz olduğu için, bu bebeklerde sarılık ön plana çıkan bir bulgu olmaktadır (95). Klasik olarak oksidatif etkenle karşılaştıktan 24-48 saat sonra hemoliz bulguları ortaya çıkar. Annenin bu etkenlerle karşılaştığı durumlarda, transplasental ya da doğumdan hemen sonra anne sütü ile geçiş olabileceğinden hemoliz erken dönemde de başlayabilir. Preterm infantlarda hemoliz spontan olarak da tetiklenebilir. Bazı antibakteriyeller, antimalaryal ilaçlar, naftalin inhalasyonu, göbek sterilizasyonunda kullanılan antiseptik maddeler, naftalin inhalasyonu ve K vitamini analogları hemolizi başlatan başlıca etkenlerdir. Bu maddelerle karşılaşan yenidoğanda hemoliz bulguları ve anemi hemen görülmez, ancak birinci haftadan sonra hemoliz belirginleşir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hiperbilirubinemi, G6PD eksikliği olan yenidoğanlarda 2-4 kat daha fazla görülmektedir. G6PD eksikliğine bağlı meydana gelmiş kernikterus vakaları bildirilmiştir (96-98). G6PD eksikliğinin yaygın olduğu toplumlarda kordon kanında araştırma yapılarak etkilenmiş bebekler erken

dönemde tespit edilerek sarılığa bağlı meydana gelecek nörotoksisiteden korunabilir (39).

Prüvat kinaz eksikliği tüm etnik gruplarda görülebilir ve G6PD eksikliğine göre daha seyrek görülür. Pirüvat kinaz eksikliği daha ziyade Kuzey Avrupa ülkelerinde görülür. Otozomal resesif geçen bu hastalıkta sarılık yenidoğan veya süt çocukluğu döneminde ortaya çıkabilir (5,7). G6PD eksikliğinin aksine sarılık, anemi ve retikülositoz bulguları başlangıçtan beri vardır. Sarılık kan değişimi gerektirecek kadar yüksek düzeylerde olabilir. Enzim eksikliği sadece niteliksel değildir, bazen de yapı bozukluğu ya da stabilizasyon yetersizliği şeklinde ortaya çıkar ve hemolize neden olabilir. Piruvat kinaz enzim eksikliği, uzamış sarılıklı ve sferositozu olmayan, coombs testi negatif hemolitik anemili bebeklerde düşünülmesi gereken bir durumdur (19).

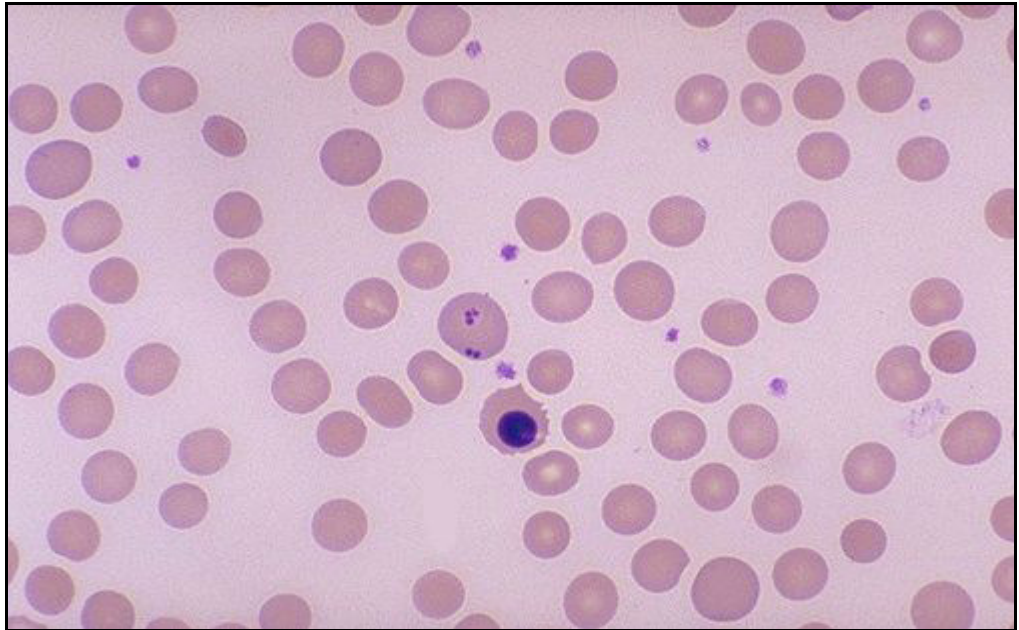
### **Eritrosit membranının kalıtsal defektleri**

Hücre membranlarındaki lipid tabaka, integral proteinler aracılığıyla biyolojik fonksiyonların yapılmasından sorumludur. Bu aynı zamanda hücre iskeleti proteinlerinin yapışması için bir bölgedir. Böylece asıl membran fonksiyonu olan şekil ve stabilite sağlanmış olur. Membran hücre iskeleti bölümündeki bazı anormallikler eritrositlerdeki morfolojik defektler ile sonuçlanabilir. Anormal şekilli eritrositler dolaşımdan RES tarafından çekildiğinden bu defektlerin bir çoğu bir derece hemolitik anemiye neden olabilir.

Herediter sferositoz, eliptositoz, infantil piknositoz ve diğerleri yenidoğan döneminde hemoliz ve sarılıkla bulgu verebilir. Yenidoğan döneminde tanı koymak zordur, çünkü bu dönemde eritrosit şekil ve boyutları oldukça farklılık gösterebilir. Herediter sferositozluların %75'i otozomal dominant kalıtım gösterdiği için ailede anemi, sarılık, safra kesesi taşı varlığı,

splenektomi öykülerinin pozitifliği tanıyı destekler. Ağır anemi ve hidrops fetalis, herediter sferositoz ile band 3 ve spektrin proteinine ait defektif genler birlikteliğinde karşımıza çıkabilir (49).

Kalıtsal sferositoz ozmotik stres altında frajil hale gelen sferositik eritrositlerle karakterizedir. Eritrosit zarının iskeletini oluşturan *spektrin* ve *ankrin* isimli proteinler arasındaki ilişkide bozukluk sonucunda eritrositten zar parçacıkları ayrılmakta, eritrosit yüzeyi/eritrosit hacmi oranı küçülmekte, eritrosit küre şeklini almaktadır. Otozomal dominant geçer, fakat olguların %10- 25'inde anne veya babasında sferositoz bulunmaz. Sferositozlu bebeklerin yaklaşık %50'sinde sarılık gelişir ve genellikle fizyolojik sarılık olarak değerlendirilir. Ancak, yenidoğan döneminde anemi ve kan değişimi gerektirecek derecede hiperbilirubinemi de olabilir. Aile hikayesinin olması tanıyı desteklemesi açısından önemlidir. Kesin tanı, periferik kan yaymasında sferositik eritrositlerin (şekil 5) görülmesi ve inkübasyonlu osmotik frajilite testleri ile konur. ABO hemolitik hastalığında da mikrosferositler görülebileceği için Direkt Coombs testi ile immunizasyondan ayırt edilmelidir (46).



**Şekil 2.5.** Herediter sferositozun periferik yayma görüntüsü (99)

Kalıtsal eliptositoz ve stomasitoz, yenidoğan bebekte seyrek görülen hemoliz sebeplerindedir. Osmotik frajilitenin artması sonucunda hemoliz olur ve hiperbilirubinemi meydana gelir (46).

Geçici bir eritrosit membran anomalisi olan infantil piknositozda ise kan değişimi gerektirecek düzeyde hiperbilirubinemi olabilir. Ancak infantil piknositoz geçici bir hastalıktır ve birkaç ay içinde kendiliğinden kaybolur (46).

### **Crigler Najjar Tip 1**

İlk olarak 1952'de tanımlanan, klinik olarak ciddi seyirli, kronik fakat hemolitik olmayan bir indirekt hiperbilirubinemi sendromudur. Otozomal resesif geçiş göstermesine karşın, genetik heterojenite sık görülür. UGT1A1 geni üzerindeki beş eksonundan herhangi birinde bir veya daha fazla mutasyon ile veya genin kodonlamayan veya intron bölgelerindeki mutasyonlar ile ortaya çıkar. Uridindifosfoglukuronat glukuronil transferaz aktivitesi hemen tamamen yoktur. Tanı karaciğer biyopsisinde histoloji normal iken enzimin gösterilemeyişi ile konur. Yaşamın ilk 2-3 gününde ağır hiperbilirubinemiye neden olur ve genellikle etkilenen bebeklerde kan değişimine ihtiyaç vardır. Beyin hasarı riski vardır. Fenobarbital etkisizdir veya çok az etki gösterir. Genç eriskin dönemde tüm tip 1 hastalarda kernikterus gelişir. Ortotopik karaciger transplantasyonu bazı vakalarda başarılı olurken, gelecekte kesin tedavi gen terapisi ve enzimin genetik olarak üretilip yerine konması olarak gözükmektedir (1,75).

### **Crigler Najjar Tip 2**

Tip 1'in aksine UDPGT aktivitesi kısmen var olduğu için, daha hafif derecede hiperbilirubinemi görülür. UDPGT1A geninde oluşan rastgele bir

mutasyon sonucu olduğu düşünölmektedir. İndirekt hiperbilirubinemi genelde yaşamın ilk 3 gününde olur ve bilirubin düzeyleri 1.5-22 mg/dl arasında değişebilir. Hiperbilirubinemi bazen tip 1 ile karışacak düzeyde yüksek olabilir. Oral fenobarbitale 7-10 gün içinde cevap alınmasıyla tip 1den ayırt edilebilir (1,75).

### **Gilbert sendromu**

Gilbert sendromu olanlarda hafif, benign, kronik, tekrarlayan indirekt hiperbilirubinemi vardır, ancak karaciğer hastalığı veya aşırı hemolizi destekleyen kanıtlar yoktur. Otozomal dominant veya resesif olarak kalıtım gösterir. Tipik olarak klinik bulguları puberteden sonra ortaya çıkar ve açlık veya araya giren hastalıklarla bulgular belirir. UGT1A1 promotor bölgesindeki mutasyonun neden olduğu gösterilmiştir (49). Serum bilirubin düzeyinde 2-3 mg/dl gibi ılımlı yükselişle karakterizedir. Sıklığının %2-6 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Üridin difosfat glukuronil transferaz (UDGPT) aktivitesinin %50 azalması ve karaciğere bilirubin alımında bozukluk ile karakterizedir. Elektron mikroskopisinde not edilen minör değişiklikler dışında karaciğer histolojisi ve fonksiyonları normaldir. Özel bir tanı testi olmamasına rağmen safra asidi koliglisilin düzeyleri düşük, buna karşılık kenodeoksikolik asit düzeylerinin normal oluşu tanıyı destekler. Gilbert sendromlu çocukların yenidoğan döneminde daha ağır hiperbilirubinemi geçirip geçirmeyecekleri hakkında kesin bir bilgi yoktur (1,5,100, 101).

### **Lucey Driscoll sendromu**

Geçici ailevi neonatal hiperbilirubinemi olarak da adlandırılan bu sendromda, hayatın 2-3. gününde başlayan sarılık 2-3 hafta kadar devam edebilir. Nedeni tam bilinmemekle birlikte, annede glukuronil transferazı inhibe eden bir faktör bulunduğu üzerinde durulmaktadır. Bu faktör

doğumdan sonra yavaş yavaş azalmaya başlar ve 14. günden sonra kaybolur (5,67).

### **Hipotiroidizm**

Uzamış sarılığın önemli sebeplerindendir. Tarama programlarıyla erken yakalanmaya başlanmıştır. Hipotiroidili hastaların %10'unda sarılık görülebilir ve hatta bu sarılık hipotiroididen şüphelenmek için ilk bulgu olabilir. Bu hastalarda UDPGT aktivitesinde düşüklük, bilirubin karaciğere alınımının bozulması ve ligandin konsantrasyonlarındaki düşüklük sebep olarak ileri sürülmektedir (1,4,100). Tiroid hormonu tedavisi ile sarılık hızla düzelir. Benzer şekilde hipopituitarizmlili çocuklardaki sarılık da hipotiroidizme sekonderdir (1).

### **Metabolik bozukluklar**

Galaktozemi, tirozinemi ve hipermetioninemi yenidoğan döneminde sarılıkla bulgu verebilir. Bu hastalıklarda sarılık karaciğer hasarına bağlı olduğundan başlangıçtaki indirekt bilirubini takiben direkt bilirubin de yükselir. Klinik tabloya; kusma, kilo kaybı, hepatosplenomegali gibi bulgular eşlik edebilir. Tanı spesifik laboratuvar testleriyle konur (27).

### **Enfeksiyonlar**

Bakteriyel sepsiste gerek endotoksinler aracılığıyla olan hemoliz, gerekse bilirubin metabolizmasının bozulmasıyla birlikte indirekt hiperbilirubinemi görülebilir. Tamamen sağlıklı bir yenidoğanda sadece indirekt hiperbilirubinemi olması enfeksiyonu düşündürmez. Direk ve indirekt hiperbilirubineminin birlikte görüldüğü durumlarda, başta konjenital sifiliz, toksoplazma, rubella, sitomegalovirus, herpes simpleks ve koksaki virus



enfeksiyonları olmak üzere çeşitli enfeksiyonlar akla gelmelidir (102). Bugüne kadar bazı çalışmalarda açıklanamayan sarılığın yenidoğanlarda bakteriyel enfeksiyon ile ilişkili olabildiği bildirilse de (103), Amerikan Pediatri Akademisi bu enfeksiyonların araştırılmasını önermemektedir (2).

İndirekt hiperbilirubinemiye sebep olan ve sık karşılaşılan enfeksiyonlardan biri de idrar yolu enfeksiyonlarıdır. Sarılık ile geçirilmiş idrar yolu enfeksiyonu son 20 yıldır tanımlanmakta olup birçok çalışmada % 7-35' lere kadar değişen oranlarda sıklık bildirilmiştir (104).

### **Hemoglobinopatiler**

Yenidoğanda predominant Hb ( $\alpha_2, \lambda_2$ ) zincirleri taşıyan HbF olduğundan, beta zincir defektleri yenidoğanda görülmez. Ancak alfa zincir hastalıkları yenidoğan döneminde sık meydana gelir. Homozigot alfa talasemi erken yenidoğan döneminde anemi, hemoliz, hidrops fetalis, ölü doğum veya doğumdan kısa bir süre sonra ölüme neden olabilir (49). Alfa talasemi grubundaki hastalıklar, hemoglobin alfa zincir sentezindeki anormallikleri temsil eder. Bu zincirdeki sentez iki çift alfa geni tarafından belirlenir. Dört genden bir veya bir kaçının eksik olduğu durumlar alfa talasemi hastalıkları ile sonuçlanır. Eğer dört gen yok ise hasta alfa zinciri oluşturamayabilir ve böylece HbA ya da HbF oluşturamaz. Bebek genelde ölü doğar ya da doğumdan birkaç saat sonra ölümlle sonuçlanan ciddi hidrops ile doğar (105,106). Fetal eritropez ve hemoglobin F yapımı için alfa zincir hemoglobinopatileri in utero ortaya çıkar (1). Orak hücreli anemi, hemoglobin F'in HbS üzerinde polimerizasyonu ve oraklaşmada inhibitör etkisi olduğundan yenidoğanda klinik bulgu vermez (49).

## **Polisitemi**

Bir gram hemoglobinin yıkımı sonucunda 35 mg bilirubin açığa çıkar. Bu bilgi ışığında yüksek hemotokrit değerleri yenidoğan sarılığı için bir risk faktörüdür. Artmış eritrosit hacmi karaciğere artmış bilirubin yüküne neden olur. İkizden ikize kanamalar, anneden fetusa kanamalar, umbilikal kordonun geç klemplenmesi gibi durumlarda bebeğe gelen eritrosit volümü artacağından bilirubin yükü artar (49).

## **Bilirubinin enterohepatik dolaşımının artması**

Pilor stenozu ya da ileus gibi bağırsak obstruksiyonu olan durumlarda mekonyumun bağırsaktan geçiş zamanı uzar. Yaşamın ilk günlerinde intestinal bilirubini ürobilinojene çevirecek bakteriyel flora henüz oluşmamış olduğu için, bebekte beta-glukuronidaz aktivitesi artmış olarak karşımıza çıkar. Tüm bu sebepler enterohepatik dolaşımın artmasına ve bilirubin yüküne neden olur (49).

## **Kanın damar dışına sızması**

Sefalhematom, aşırı deri ezikliklerinde veya anne kanının yutulmasında damar dışına çıkan kan, yenidoğanda karaciğer bilirubin yükünü arttırabilir. Küçük prematüre bebeklerde intrakranial kanama bilirubin oluşumunu arttırır. Sarılık genellikle 3–5. günde fark edilir (49).

#### 2.2.4. Yenidoğan Sarılığında Tanı

Sarılık, yenidoğanlarda çok sık görülür ve hangi bebeklerin kalıcı hasar açısından riskli olduğunu belirlemek ve hangi bebeklerin tedavi edilmesi gerektiğine karar vermek büyük önem taşır. Hiperbilirubineminin yönetilmesinde, gerekli bilgilerin toplanması, ayrıntılı fizik muayene, düşük doğum ağırlığı ve prematürite gibi risk faktörlerinin belirlenmesi, laboratuvar incelemeleri, 48 saatten önce taburcu edilenlerin 1-3 gün içinde tekrar çağırıp serum total bilirubine bakılması, hiperbilirubineminin ayırıcı tanısının yapılması ve tedavi şekline karar verilmesi şeklinde bir disiplin izlenmelidir (2,10,107,108,109). Yenidoğan sarılığında erken tanı ve tedavi ile istenmeyen kötü sonuçların önüne geçilebilir. Tedavisi gecikilen olgularda kernikterus gibi mortalite ve uzun dönem sekel oranı yüksek olan durumlarla karşılaşılabılır. Yenidoğan sarılıklarının tedavisinde amaç temelde santral sinir sisteminde bilirubin toksisitesine bağlı oluşabilecek kalıcı bozuklukları önlemektir (36).

Yenidoğan sarılığı ile gelen bir olguyu değerlendirirken tanıda ilk ve en önemli adım sağlıklı bir öykü almaktır. Öyküde özellikle sarılığın kaçınıcı gün başladığı ve nasıl geliştiği sorgulanmalıdır. Doğumda veya ilk 24 saat içinde görülen sarılıklarda; hemoliz, gizli kanamalar ve sepsis yada konjenital enfeksiyonlar düşünülmelidir. Serum bilirubin seviyesinin 0,5 mg/dL saatten hızlı artması, solukluk, anemi, retikulositoz, hepatosplenomegali ve pozitif aile hikayesi olması hemoliz bulgularıdır. 2-10. günlerde görülen sarılıklar genellikle fizyolojik sarılıklardır. Crigler–Najjar sendromuna bağlı sarılıklar da bugünlerde başlayabilir. Erken anne sütü sarılığı da 2–3. günlerde başlar. Üçüncü günden sonraki sarılıklarda bakteriyel sepsis, üriner sistem enfeksiyonu ön plandadır. Polisitemi erken sarılığa neden olur. Birinci haftadan sonra gelişen sarılıklarda; geç anne sütü sarılığı, septisemi, konjenital safra kanalı atrezisi, galaktozemi, hipotiroidi, kistik fibrozis, konjenital hemolitik anemi (eritrosit membran ve enzim defektleri) olabilir.

Nadiren fizyolojik sarılık da uzayabilir ki, bu durumda hipotiroidi ve pilor stenozu araştırılmalıdır.

Antenatal ve perinatal bakım ile doğum anamnezi, beslenme şekli ve miktarı mutlaka araştırılmalıdır. Ailede sarılık öyküsünün varlığı ve annenin gebeliğinde geçirdiği hastalıklar, bebeğin tartısı, doğum tartısına göre tartı kaybı, yeterli beslenip beslenmediği, idrar ve dışkılama sayısı özellikle sorgulanmalıdır. Muayene ışıklı ortamda yapılmalı, sarılık düzeyi inspeksiyonla ve parmakla bastırınca ortaya çıkan renge bakılarak tahmin edilmeye çalışılmalıdır. Transkutanöz bilirubinometreler de aynı amaçla kullanılabilir (110)

Sarılığın tanısında ilk bulgu vücut renginin sararmasıdır. Deriye parmakla bastırılınca ortaya çıkan renk daha iyi bilgi verir. Sarılık ilk olarak yüzde ortaya çıkar ve baştan ayağa doğru (sefalokaudal) yayılım gösterir. Kramer sarılığın sefalokaudal yayılımı ve serum bilirubin düzeyleri arasında ilişki olduğunu yayınlamıştır (111). Kramer tarafından oluşturulan risk bölgeleri şekil 2.6.'da görülmektedir.

Vücut bölgesi	Bilirubin düzeyi (mg/dl)
1	4-8
2	5-12
3	8-16
4	11-18
5	>15

**Şekil 2.6.** Kramer cilt zonları ve tahmini bilirubin değerleri (111)

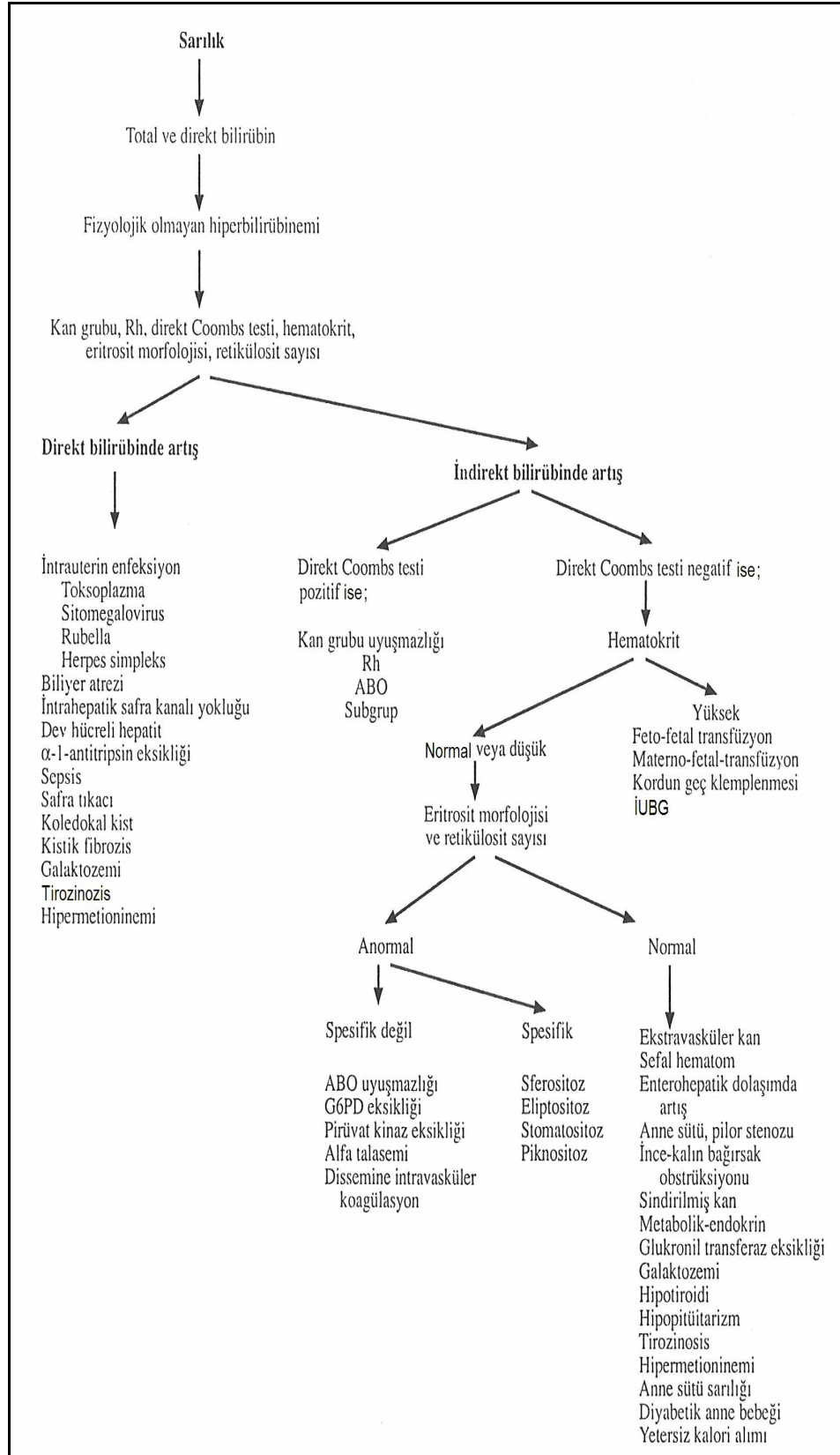
Ciltte gözlenen sarılığın meme başı seviyesinin altında olması durumunda fizik bulgular ve bilirubin düzeyi arasındaki ilişkinin güvenilirliğinin azaldığı bildirilmiştir. Meme başı seviyesinin üzerinde ise TSB değerinin 12 mg/dl altında olduğu söylenebilir (112-114). Sarılığın gözle değerlendirilmesi; ırklar arası cilt renginin değişmesi, hızlı yükselen bilirubin düzeylerinde henüz ciltte depolanmamış olması, gözlemciye göre değişkenlik göstermesi gibi nedenlerle TSB konsantrasyonunu tahmin etmede tek başına etkili bir yöntem değildir (112,115-117).

Sarılık nedeni araştırılırken laboratuvar incelemelerinde faydalanılabilir, ancak tüm yapılan laboratuvar çalışmalarına rağmen sarılıklı bebeklerin %95'inde neden bulunamaz (18). Amerikan Pediatri Akademisi (APA) gebelik haftası 35 haftanın üzerinde olan sarılıklı bebeklerde laboratuvar incelemelerinin hangi durumlarda yapılması gerektiğini belirten bir klavuz yayınlamıştır (Tablo 2.6) (2).

**Tablo 2.6.** Sarılıklı bebeklerde laboratuvar incelemesi, APA önerileri 2004 (2)

<b>ENDİKASYON</b>	<b>İNCELEME</b>
Sarılığın ilk 24 saatte ortaya çıkması	TkB ve/veya TSB ölçümü
Yasa göre yüksek bilirubin degerleri	TkB ve/veya TSB ölçümü
Fototerapi alıyorsa veya TSB hızlı yükseliyor ise hikaye ve fizik muayene ile açıklanamıyorsa	Eğer kord kanından alınmadıysa kan grubu ve direk Coombs testi Tam kan sayımı ve periferik yayma Direk (konjuge) bilirubin ölçümü retikülosit sayımı, G6PD testi ve yapılabiliyorsa ETCOc* bakılabilir. TSB ölçümlerini bebegın yasına göre 4-24 saat aralıklarla tekrarla
TSB değerlerinin kan değişim düzeylerine yükselmesi veya fototerapiye yanıt vermemesi durumunda	Retikülosit sayımı, G6PD, albumin, ve yapılabiliyorsa ETCOc ölçümü yapılmalı
Direk (konjuge) bilirubin yüksekse	İdrar incelemesi, idrar kültürü al, eğer hikaye ve fizik muayene destekliyorsa sepsis yönünden değerlendir
Sarılık 3 haftadan uzun sürmüşse veya bebek hasta ise	Total ve direk bilirubin ölçümü Eğer direk bilirubin yüksekse, kolestaz nedenleri yönünden araştıır. Tiroid ve galaktozemi tarama sonuçlarını kontrol et ve bebeği hipotiroidizm bulguları yönünden değerlendir

\* Ekspirasyon havasındaki karbonmonoksit düzeyi



**Şekil 2.7** Yenidoğan sarılığına yaklaşım (1)

### 2.2.5 Bilirubin Toksikitesi

Bilirubin düzeyi fizyolojik sınırların dışına çıkıp serumda aşırı yükseldiğinde bilirubin toksisitesi gelişir. Bilirubin toksisitesinin santral sinir sistemi üzerinde akut olarak görülen klinik ve patolojik etkileri bilirubin ensefalopatisi, kronik veya kalıcı sekelleri kernikterus olarak tanımlanır (2). Kernikterus bir Almanca kelime olup ileri düzey sarılık sonucu ölen bebeklerin, bazal ganglionlarının sarı renge boyanması durumları için kullanılmıştır. Nonkonjuge bilirubinin beyini sarıya boyadığı ilk kez 1847'de Harvieux tarafından tanımlanmıştır. Kernikterus terimi ise bazal gangliyonların sarıya boyanması anlamında ilk kez 1903'te Schmorl tarafından kullanılmıştır (118).

Nörotoksiteden primer sorumlu olan albümine bağlı olmayan serbest indirek bilirubindir (119). Bilirubin nöronların içine girer, oksidatif fosforilasyon ve ATP sentezini bozarak hücrelerin ölümüne neden olur. Beyinde etkilenen başlıca bölgeler bazal ganglionlarda özellikle subtalamik nükleus ve globus pallidus, hipokampus, genikulat cisimler, inferior kollikulus, okulomotor, vestibüler, koklear ve olivar nükleuslar, serebellumda dentat nükleus ve vermistir. Histopatolojik olarak etkilenen bölgelerde sarıya boyanma, doku nekrozu, nöronal kayıp ve glial hücre artışı meydana gelir. Beyinde oluşan nöropatolojik değişiklikler ve kernikterusun klinik bulgularının ağırlığı beyne geçen bilirubin miktarına göre değişir. Beyne geçen bilirubin miktarı da, bebeğin doğum ağırlığı, serbest bilirubin miktarı ve bilirubine maruz kalma süresi ile doğru orantılı olarak artar (1,49,120-122).



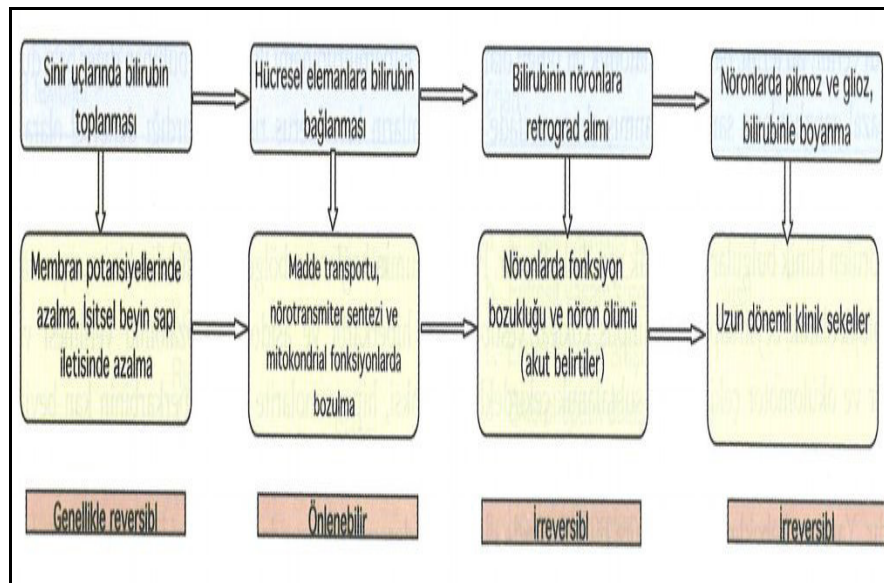
Bilirubin ensefalopatisi riski üzerine etkili 4 parametre bulunmaktadır (5,19,122,123) (Şekil 2.8):

1. İndirekt ve total serum bilirubin düzeyi: Nörotoksisite primer olarak serbest bilirubin (SB) düzeyi ile ilişkilidir. SB' nin kan beyin bariyerini geçişi yavaş bir durumdur. Bu sebeple yüksek SB düzeyleriyle karşılaşmak kadar bu yüksek düzeylerle karşılaşma süresi de önemlidir.

2. Bilirubinün serumda bağlanması: Albumine bağlanarak taşınır. Primer bağlama yüzeyleri doyduka, bağlanmamış, SB konsantrasyonu artışa geçer.

3. Kan-beyin bariyerinin bilirubine geçirgenliği: İndirekt bilirubin oldukça lipofilik olup albuminin olmadığı durumlarda kolaylıkla kan beyin bariyerine geçer. Asfiksi, hiperozmolalite ve hipoglisemi, hipoksi, prematürite kan beyin bariyerinin geçirgenliğini artırarak kernikterusa predispozisyon oluşturmaktadır.

4. Hedef hücrenin hassasiyeti: Bilirubinün düşük konsantrasyonlarında anti oksidan etkileri bilinmekle beraber yüksek değerlerde toksiktir (122).



Şekil 2.8 Bilirubin toksisitesinin fizyopatolojisi (122)

Sarılıklı pretermilerin otopsilerinde ki bulgulara dayanılarak elde edilen insidans değeri % 2– 16 arasındadır. Ciddi nörolojik bozukluğu olan kernikteruslu olguların prognozu kötüdür. Bunların % 75' inden fazlası kısa sürede ölürlür. Yaşayanların % 80' inde bilateral koreatetos, kas spazmları vardır. Mental retardasyon, sağırılık, spastik kuadriparaziler sıktır. Sağlıklı term bebeklerde ve hemoliz yokluğunda serum total bilirubin düzeyi 25 mg/dL' nin altında iken nadiren görülür. Sağlıklı anne sütü alan term bebeklerde, serum bilirubin düzeyi 30 mg/dL' yi aştığında kernikterus görülür (1,117,123).

Kernikterus belirti ve bulguları genelde term bebekte doğumdan 2-5 gün sonra, prematüre bebeklerde ise 7. günden sonra ortaya çıkar. Fakat hiperbilirubinemi yenidoğan döneminin herhangi bir zamanında bu sendroma yol açabilir. Erken dönem bulguları sepsis, asfiksi, hipoglisemi, intrakranial kanama ya da diğer sistemik hastalık bulgularından ayırt edilemeyebilir (1,123).

Bu amaçla “bilirubin tetiklediği nörolojik disfonksiyon” (BIND) skorlama sistemi geliştirilmiştir (124,125) (Tablo 2. 7).

**Tablo 2.7.** Bilirubin tetiklediği nörolojik disfonksiyon skorum sistemi (124,125)

<b>KLİNİK</b>	<b>1 Puan</b>	<b>2 Puan</b>	<b>3 Puan</b>
<b>Mental durum</b>	Uyuklama, emmede zayıflık	Letarji, iritabilite	Semikoma, konvulziyon
<b>Kas Tonusu</b>	Hafif azalmış	Hiper/hipotoni, Hafif kemer pozisyonu	Belirgin azalma / artma, opustotonus, bisiklet hareketi
<b>Ağlama</b>	Yüksek sesli	Tiz sesli seyrek ağlama	Durdurulamayan/sadece uyararla ağlama

1-3 puan = minimal ensefalopati belirtileri

4-6 puan = progresif fakat reversibl ensefalopati belirtileri

7-9 puan = ileri, çoğunlukla irreversibl ensefalopati (tedaviyle ciddiyesi azaltılabilir)

Akut bilirubin ensefalopatisinin erken fazında ağır sarılığı olan bebekler letarjik ve hipotonik hale gelir ve emmeleri bozulur. Orta faz stupor, özellikle ekstansor kas gruplarını ilgilendiren hipertoni ve iritabilite ile karakterizedir. Bebeğin ateşı olabilir. Bunu uyuklama ve hipotoni takip edebilir. Hipertoni, retrokollis (boynun arkaya yaylanması) ve opustotonus (gövdenin arkaya yaylanması) şeklinde ortaya çıkabilir. Bu spastisite değildir, çünkü tonus artışı kortikospinal değil ekstrapiramidal kökenlidir (124). Bu evrede acil kan değişimi bazı vakalarda merkezi sinir sistemi değişikliklerini geri döndürebilir. Büyük bir olasılıkla merkezi sinir sistemi hasarının irreversibl olduğu faz, belirgin retrokollis, opistotonus, tiz sesle ağlama, beslenememe, apne, ateş, derin stupor-koma, bazen konvulziyon ve koma ile karakterizedir (1). Ciddi belirtilerin ortaya çıktığı term bebeklerin çoğu kaybedilir, yaşıyanların bir kısmında ise 2-3 ay içinde kısmi bir iyileşme görülür. Fakat yaşamın ilk yılında derin tendon reflekslerinde artma, opistotonus, kas rijiditesi, anormal hareketler ve konvulziyonlar tekrarlama

eğilimindedir. İkinci yılda opistotonus gerilerken, düzensiz ve amaçsız hareketler, kas rijiditesi ve bazı bebeklerde hipotoni yavaş yavaş artar. Üçüncü yılda bilateral koreatetoz, ekstrapiramidal bulgular, konvulziyon, mental gerilik, dizartrik konuşma, yüksek frekanslı işitme kaybı, şaşılık, yukarıya bakış anomalisi ve diş enamel displazisinin eşlik edebildiği nörolojik sendrom tablosu oturur. Bazı bebeklerde piramidal bulgular, hipotoni ve ataksi de görülebilir (126). Klasik bulguların gözleendiği bebeklerde, hayatın ileriki yıllarında kronik postkernikterik bilirubin ensefalopatisi gelişir. Yüz eritroblastozisli olgunun incelendiği bir çalışmada, yenidoğan döneminde minimal ya da hiç bulgusu olmayan bebeklerin %10'unda sonradan postkernikterik bilirubin ensefalopatisinin klinik bulgularının ortaya çıktığı gözlenmiştir (124).

Hangi bebekte hangi indirekt ya da serbest bilirubin düzeyinin toksik olacağı hala ön görülememekle birlikte, sağlıklı term bir bebekte kernikterus, hemoliz olmadan 25 mg/dl'nin altında çok nadir görülmektedir. Daha önceden sağlıklı, anne sütüyle beslenen bebeklerde kernikterus, bilirubin düzeyleri 30 mg/dl'yi aştığında görülmüştür. Ayrıca toksik etkilerin ne kadar süre sonunda çıktığı da henüz bilinmemektedir (1). ABD'de en geniş veritabanını oluşturan 33272 canlı doğumu 8 yıl boyunca izleyen "Ulusal Perinatal İşbirliği Projesi"nde 20 mg/dl bilirubin düzeyinin altındaki bebeklerde, mental (IQ) ve işitsel gelişime olumsuz bir etkisinin olmadığı, daha yüksek bilirubin düzeylerinin ise minor motor bozuklukla ilişkisi olduğu gösterilmiştir (127). Sağlıklı bir bebekte kan-beyin bariyerinden sadece serbest olan indirek bilirubin geçerken, sepsis, asidoz, hipertermi, aşırı hemoliz, düşük doğum ağırlığı, hipoalbüminemi ve asfiksi gibi kan-beyin bariyerinin bozulduğu durumlarda albümine bağlı olan direk bilirubin de beyne geçer ve bilirubin ensefalopatisi riskini arttırır. Çok immatür bebeklerde 8 mg/dl indirek bilirubin kernikterus yol açarken, sağlıklı, term, normal ağırlıktaki bebeklerde 25 mg/dl'ye kadar kernikterus görülmeyebilir. Ancak hangi bilirubin düzeylerinde bilirubin toksisitesi gelişeceği hala tam olarak belirlenebilmiş değildir (20,118,121,122). Tanımlanmış kernikterus vakalarında başlıca risk

faktörlerinin; bebeklerin erken izlem olmaksızın 48 saat içinde taburcu edilmesi, ilk 24 saatte sarılığı olan bebekte bilirubin ölçümünün yapılmaması, hiperbilirubinemi için mevcut risk faktörlerinin bilinmemesi, klinik değerlendirme ile sarılığın şiddetinin tahmin edilememesi, sarılık varlığı ile ilişkili şüphe eksikliği, artmış bilirubin düzeylerinin varlığında belirgin sarılığa veya fototerapi başlatılmasına rağmen serum bilirubin düzeyinin ölçümündeki gecikme ve sarılık, kötü beslenme veya letarji ile ilişkili konularda ailenin kaygılarına yeterli yanıt verilmemesinin olduğu bildirilmiştir (123).

Son yıllarda kernikterus sıklığında artış olması nedeniyle Amerikan Pediatri Akademisi “35 gestasyon haftası ve üstündeki yenidoğanlarda hiperbilirubineminin tedavisi” başlıklı bir klavuz yayınlamış ve şiddetli hiperbilirubinemi ve olası kernikterusu önlemek ve en aza indirmek amaçlanmıştır (2). Bu klavuzun önerileri aşağıda belirtilmiştir.

### **Birincil önleme**

- a) İlk birkaç günde 8-12 saatte bir anne sütü ile beslenme önerilmeli ve desteklenmelidir.
- b) Şekerli su veya su verilmesi önlenmelidir.

### **İkincil önleme**

- a. Sarılığın tanımlanması ve değerlendirilmesi için protokoller oluşturulmalıdır.
- b. Tüm gebe kadınlar ABO ve Rh uygunsuzluğu açısından taranmalıdır.
- c. Anne kan grubu bilinmiyor veya Rh(-) ise kord kanından D.Coombs, kan grubu
- d. Anne O Rh(+) ise kord kanından D.Coombs, kan grubu bakılmalıdır.

e. Klinik değerlendirme: sarılık 8-12 saatte bir klinik açıdan değerlendirilmelidir.

### **Laboratuvar değerlendirmesi**

a. İlk 24 saatte sarılığı olanlarda total bilirubin ölçülmelidir. Tekrarı TSB alanına, bebeğin yaşına ve sarılığa bağlıdır.

b. TSB veya hastanın yaşına göre veya belirgin sarılık durumunda yapılmalıdır.

c. Tüm bilirubin değerlerini hastanın saat cinsi yaşına göre değerlendirilmelidir.

### **Sarılığın nedeni**

a. Fototerapi alan veya TSB hızla artan hastada bunlar fizik muayene ve öykü ile açıklanamıyorsa nedenler araştırılmalıdır.

b. Direkt bilirubin artışı varsa tam idrar tetkiki, idrar kültürü alınmalı ve sepsis araştırılmalıdır.

c. Üç hafta devam eden sarılıkta kolestaz açısından direkt bilirubin bakılmalı, tiroid fonksiyon testleri ve galaktozemi taraması yapılmalıdır.

d. Direkt bilirubin artışında kolestaz araştırılmalıdır.

e. Fototerapi alan ve aile öyküsü olan bir bebekte G6PD ölçülmelidir.

### **Taburculuk öncesi riskin değerlendirilmesi**

a. Özellikle <72 saat de taburcu olanlar başta olmak üzere tüm yenidoğanlar taburculuk öncesi sarılık açısından değerlendirilmelidir.

b. AAP; sistematik risk değerlendirmesinde TSB ile taburculuk öncesi bilirubin ölçümünü veya klinik risk faktörlerinin değerlendirilmesi; bunun metabolik tarama kanları ile eş zamanlı alımını önermektedir.

- c. TSB düzeyi normograma yerleştirilmelidir (Şekil-3).

### **Hastane politikaları ve işlemleri**

a. Taburculuk anında ailelere sarılık ve nedenleri, bebeklerin sarılık açısından takibi ve bunun nasıl yapılacağını içeren yazılı ve sözel bilgi verilmelidir.

b. Risk durumu ve taburculuk zamanına göre uygun bir izlem belirlenmelidir.

<24 saat taburcu ise : 72. saatte

24-48 saatte taburcu ise 96.saatte

48-72 saatte taburcu ise 120. saatte görülmelidir

c. Şiddetli sarılık açısından risk faktörleri varsa ve uygun izlemin sağlanamayacağı düşünülen ailelerde en yüksek risk periyodu geçinceye kadar taburculuk ertelenmelidir.

d. Sarılık ile ilgili en ufak şüphemiz varsa mutlaka TSB düzeyi ölçülmelidir.

### **Tedavi**

a. Endike olduğunda fototerapi veya kan değişimi ile bebekler tedavi edilmelidir.

b. Yoğun fototerapiye rağmen TSB düşmüyorsa, hemoliz olma olasılığı yüksektir.

c. Fototerapi ve kan değişimi kaynakları kullanılırken, direkt bilirubin, totalden çıkarılmamalıdır.

d. TSB >25mg/dL ve daha yüksek ise yoğun fototerapi için uygun bir hastaneye sevk edilmelidir.

e. Kan değişimi deneyimli personel tarafından yenidoğan yoğun bakım ünitesinde tam monitörizasyon ile gerçekleştirilmelidir.

f. İzimmün hemolitik anemide fototerapiye rağmen TSB artıyorsa IVIG verilmelidir ve gerekirse 12 saatte tekrarlanabilir.

Sonuç olarak AAP şu mesajları özellikle vurgulamaktadır

- 1) Başarılı bir anne sütü uygulamasını önerin ve destekleyin
- 2) Taburculuk öncesi şiddetli hiperbilirubinemi açısından risk değerlendirmesi yapın
- 3) Risk değerlendirmesine göre erken ve uygun izlem sağlayın
- 4) Endike olduğunda fototerapi veya kan değişimi ile sarılığı tedavi edin.

### **2.2.6 Yenidoğan Sarılığında Tedavi**

Yenidoğan döneminde sarılık sık rastlanılan bir bulgu olup, erken tanı ve tedavi ile istenmeyen sonuçların önüne geçilebilir. Tedavisi geciken olgularda kern ikterus gibi mortalite ve uzun dönem sekel oranı yüksek olan durumlarla karşılaşılabılır. Yenidoğan sarılıklarının tedavisinde amaç temelde santral sinir sisteminde bilirubin toksisitesine bağlı oluşabilecek kalıcı bozuklukları önlemektir (5). Günümüzde yenidoğan sarılığı tedavisinde kan değişimi, fototerapi ve çeşitli farmakolojik ajanlar kullanılmaktadır. *Amerikan Pediatri Akademisi Hiperbilirubinemi Alt Komitesi*'nin term ve terme yakın yenidoğanlarda (>35 hafta) hiperbilirubineminin şiddetine göre müdahale ve önerdiği takip stratejileri Tablo 2.8'de gösterilmiştir. Hastanın beslenmesi ve hidrasyonu düzeltilmelidir. Ayrıca hayatın ilk üç gününde verilecek emzirme desteği ile sarılık sıklığında azalma sağlandığı da bilinmektedir (72,115,127). Son yıllarda yoğun ve etkin fototerapi uygulamaları ve medikal tedavi kombinasyonları ile kan değişim gereksinimi son derece azalmıştır.



**Tablo 2.8.** Hiperbilirubinemi şiddetine göre müdahale ve takipte önerilen stratejiler (2)

<b>72 saatten önce</b> <b>Şiddetli hiperbilirubinemi</b>	<b>Bilirubin artış hızı ve</b> <b>B/A oranının izlenmesi</b>	<b>Müdahaleler</b>
TSB>75 prs	TSB>14 mg/dl; <0,20mg/dl/saat	Nutrisyonel destek
TSB>95 prs	TSB>17mg/dl;>0,20mg/dl/saat	Fototerapi
TSB>98 prs	TSB>20 mg/dl; B/A oranı<7	Yoğun fototerapi
TSB>99.9 prs	TSB>25 mg/dl; B/A oranı>7	Yoğunfoto/kan değişimi
TSB>99.99 prs	TSB>30 mg/dl; B/A oranı>7	Yoğunfoto/kan değişimi

TSB: Total serum bilirubini B:A Bilirubin albumin oranı

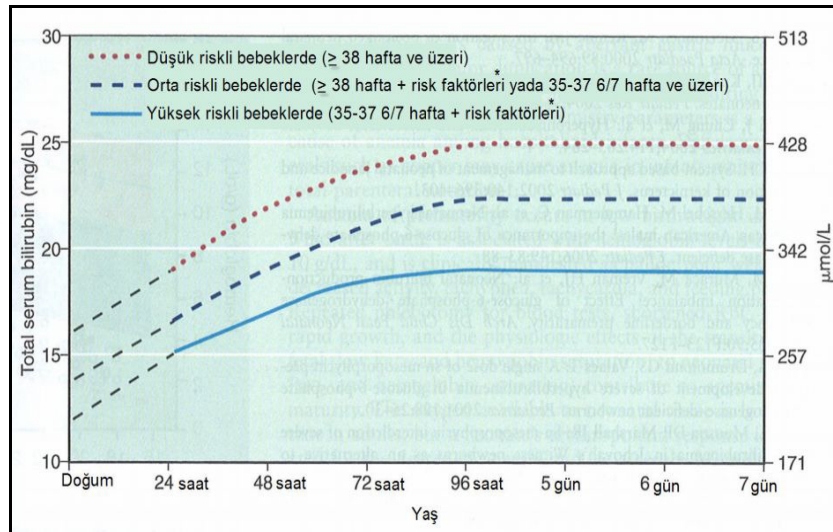
Son yıllarda bilirubin antioksidan özelliğinin saptanması, bu özelliğın antioksidan sistemleri yeterince gelişmemiş yenidoğanlardaki önemini anlaşılması ve bilirubin, virulan pnömokoklar üzerine toksik etkisinin gösterilmesiyle yenidoğan sarılıklarında uygulanan tedavi rejimleri tekrar gözden geçirilmeye başlanmıştır. Yenidoğan bebeklerin plazmalarındaki bilirubini ne kadar azaltmalıyız? Acaba fototerapi ve kan değişimini gereğinden fazla mı uyguluyoruz? Hekimlerin “vigintofobi”si (yirmi korkusu, bilirubin düzeyi 20 mg/dl’yi aşınca kan değişimi yapılmalıdır inancı) doğru mudur? gibi sorular hastaların tedavisinde sınırlarımızı bilmemiz gerektiğinin altını çizmektedir (128).

### **2.2.6.1 Kan değişimi**

İlk kez Wallerstein tarafından ortaya konan ve 1951 yılında Diamond ve arkadaşları tarafından geliştirilen kan değişimi tekniğı, Rh uygunsuzluğu nedeniyle meydana gelen hiperbilirubinemi kontrol etmek ve kernikterustan korunmak için uygulanan ilk tedavi yöntemidir (25). Kan değişiminde amaç

anneden geçen IgG tipi antikorların fetal eritrositleri yıkması sonucu yükselen bilirubin düzeylerini düşürmek, dolaşımdaki duyarlı eritrositleri uzaklaştırarak aşırı bilirubin oluşumunu önlemek, kandan antikorları uzaklaştırmak ve hemolizin neden olduğu anemiye düzeltmektir (1,32). Kan değişimi özellikle herhangi bir nedenle hemolizi süren bebeklerde yararlıdır. Kan değişimi (KD) ile bebeğin eritrositlerinin % 85'den fazlası yenilenirken, serum bilirubin değerleri de % 50 düşürülmüş olur (3).

Kan değişimine bebeğin doğum ağırlığı, gebelik haftası, hemoglobin değeri, bilirubin düzeyi, bilirubinün yükselme hızı ve bilirubin/albumin oranı gibi faktörler dikkate alınarak karar verilmelidir. Amerikan Pediatri Akademisi'nin kan değişimi sınırı için önerdiği bilirubin değerleri Şekil 2.9' da verilmiştir.



**Şekil 2.9** Term ve sınırda preterm yenidoğanlarda risk durumuna göre kan değişimi uygulanacak serum bilirubin düzeyleri (1)

Kord kanında hemoglobinin <12 gr/dl ve/veya serum bilirubininin >4 mg/dl ise, serum bilirubin düzeyindeki artış hızı hayatın ilk 6 saatinde saatte 0.5 mg/dl'den sonraki 18 saatinde saatte 1mg/dl'den fazla ise kan değişimi yapılır. Kan değişimi sınırları, asfiktik doğum, uzamış hipoksi, asidoz, hipotermi, hipoglisemi, sepsis, menenjit, hipoalbuminemi, diabetik anne

varlığı gibi durumlarda yukarıda belirtilen sınırların 2 mg/dl altındadır (19,129). Total serum bilirubin (TSB)>30mg/dl, ve yoğun fototerapiye rağmen TSB'de düşüş <0.5mg/dl/saat ise kan değişimi yapılmalıdır. Öncesinde albümin infüzyonu, ABO/Rh hastalığında IVIG verilebilir (2).

Yenidoğanda kan değişimi genellikle göbek veninden veya periferik bir venden yapılır. Kateter olarak 5 Fr veya 8 Fr kateterler kullanılabilir. Kateter kanın rahat rahat alınıp verilebileceği bir derinliğe kadar ilerletildikten sonra ucuna 4 yollu musluk takılır. Bir yol taze kanın gelişi, bir yol bebekten alınan kanın atılması için kullanılır. Term yenidoğanlarda kanın 10 ml, çok düşük doğum tartılı bebeklerde ise 5 ml alınıp verilmesi yeterli olur. Hemodinamik dengesizlikleri önleyebilmek için bu işlem yavaş yapılmalıdır. Yavaş yapılan kan değişiminde her alıp verme 3-5 dakika sürer. Bu işlem bebeğin kan volumünün iki katı değiştirilene dek sürdürülür. Bebekten alınan ilk 10 ml kan, biyokimyasal inceleme için laboratuara gönderilirken, son 10 ml kan da aynı amaçla kullanılır. Bu kanlarda hematokrit, bilirubin, sodyum, potasyum, kalsiyum, kan şekeri ve bebek oksijen alıyorsa kan gazı bakılır. Profilaktik antibiyotik kullanılmasına gerek yoktur (130) . Kan değişimi sırasında bilirubin ekstravasküler alandan plazmaya çekilir ve ekstravasküler alan ve plazmada bulunan bilirubin arasındaki kısmi denge devamlı korunur (18,131). Kan değişimi sonrasında serum bilirubin değeri kan değişimi öncesinin %45'i kadarken 30-60 dk içinde tekrar denge oluşur ve serum bilirubini tekrar yükselerek (rebound etki oluşturarak) kan değişimi öncesi değerlerin %60'ına ulaşır (18,131). Kan değişimi ile uzaklaştırılan bilirubin miktarı, hem dokularda depolanmış ve dolaşıma yeniden girecek olan bilirubin miktarına, hem de hemoliz oranına göre değişir (132). Donör kanında antikoagülan olarak kullanılan sitrat fosfat dekstroz daki sitratın bebeğin kalsiyum iyonları ile şelat oluşturması hipokalsemiye neden olabileceği için kan değişimi sırasında kalsiyum glukonat infüzyonu gerekebilir. Ayrıca işlem sırasında verilen sıvılardaki yüksek glukoz konsantrasyonlarına bağlı artmış insülin üretimi ciddi hipoglisemilere neden olabilir (133). Bankada 4 günden daha fazla bekletilmiş kanlar aşırı potasyum yüküne sahiptir. Bu nedenle

eritrositlerin yıkanması ya da uygun plazma ile resüspanasyonu gereklidir (100). Bazı olgularda serum bilirubin konsantrasyonunu yeterince düşürebilmek için işlemin tekrarlanması gerekir.

Kan değişimi için seçilecek kan grubu, hemolitik hastalığın cinsine göre değişir. Rh uyumsuzluğuna bağlı hastalarda ABO grubu uygun Rh negatif kan kullanılır. ABO uyumsuzluğunda ise O grubu, bebeğin Rh grubuna uygun kan kullanılır (3)

**Tablo 2.9.** Rh uyumsuzluğunda kan değişiminde kullanılacak kan grubu (3)

Anne kan Grubu	Bebek kan Grubu	1. Seçenek	2. Seçenek	3. Seçenek	4. Seçenek
A Rh (-) B Rh (-) AB Rh (-)	A Rh (+)	A Rh (-)	O Rh (-) Eritrosit, A grubu plazma	O Rh (-)	
A Rh (-) B Rh (-) AB Rh (-)	B Rh (+)	B Rh (-)	O Rh (-) Eritrosit, B grubu plazma	O Rh (-)	
A Rh (-) B Rh (-) AB Rh (-)	AB Rh (+)	AB Rh (-)	A Rh (-) Eritrosit, AB grubu plazma (yoksa A Rh (-)	B Rh (-) eritrosit AB grubu plazma (yoksa B Rh (-)	O Rh (-) eritrosit, AB plazma (yoksa O Rh (-)
O Rh (-)	A Rh (+)	O Rh (-) eritrosit, A grubu plazma	O Rh (-)	-	-
O Rh (-)	B Rh (+)	O Rh (-) eritrosit, B grubu plazma	O Rh (-)	-	-
A Rh (-) B Rh (-) O Rh (-)	O Rh (+)	O Rh (-)	-	-	-

Term yenidoğanlarda kan değişimi sırasında mortalite oranı %0.1-0.5 arasında değişmektedir (134). Kan değişimi sırasında komplikasyon oranı %2-12 arasında olup, bunlar tablo 8'de özetlenmiştir (1,32,134). Jackson ve arkadaşlarının yapmış olduğu, 15 yıla uzanan retrospektif bir çalışmada değişik hastalıkları olan 106 bebeğin %2 si kan değişiminden sonra ölüyor, %12'si ciddi komplikasyonlar geliştirmiştir. Bunların içinde diğer yönlerden sağlıklı olan 81 bebeğin tümü yaşamış yalnızca birinde nekrotizan enterokolit gelişmiştir (135). Bu nedenle kan değişiminin, yoğun fototerapinin yetersiz kaldığı veya serum bilirubin konsantrasyonunu 48 saat içinde 25 mg/dl ye ulaşması beklenen artış hızındaki hemolizli bebeklerde, yani işleme bağlı

komplikasyon ve ölüm riskinin bilirubin ensefalopatisi riskini aşacağı durumlarda kullanılması önerilmektedir (67).

**Tablo 2.10.** Kan değişimi komplikasyonları

<p><b>Kana bağlı komplikasyonlar</b></p>	<p>Aşırı heparinizasyon Graft versus host hastalığı Hemoliz Hiperpotasemi ve aritmi Hipoglisemi Hipokalsemi ve tetani Metabolik asidoz Hemoglobin S içeren hücrelerin oraklaşması Trombositopeni Enfeksiyon (hepatit, CMV, HIV, bakteriler vb)</p>
<p><b>Katetere bağlı komplikasyonlar</b></p>	<p>Kalp aritmileri Emboli Enfeksiyon (sepsis, omfalit, tromboflebit, karaciğer absesi) İntravasküler kateter kaybı Nekrotizan enterokolit Periferik iskemi ve nekroz Renovasküler hipertansiyon Tromboz Damar perforasyonu</p>
<p><b>İşleme bağlı komplikasyonlar</b></p>	<p>Kanama Hava embolisi Mekanik, termal veya ozmotik eritrosit hasarına bağlı hemoliz Hipotermi İntrakranial kanama Hipo/hipervolemi Trombositopeni</p>

### 2.2.6.2. Farmakolojik tedavi

Hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlar, (tablo 2.11) bilirubin atılımını hızlandırarak, enterohepatik dolaşımı azaltarak veya bilirubin oluşmasını engelleyerek etki gösterebilirler. En çok kullanılan ajanlar fenobarbital, intravenöz immunglobulin (İVİG) ve metalloporfirinlerdir.

**Tablo 2.11.** Hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlar

<b>A-</b>	<b>Bilirubin atılımının hızlandırılması</b>
•	Fenobarbital
•	Etanol
•	Klorokin
•	Antihistaminikler
•	Klofibrat
•	Antipirin
<b>B-</b>	<b>Bilirubin oluşumunun engellenmesi</b>
•	Kalay protoporfirin ve mezoporfirin
•	Çinko protoporfirin ve mezoporfirin
	<b>C-Enterohepatik dolaşımın engellenmesi</b>
•	Agar
•	Aktif kömür
•	Kolestiramin
•	Polivinil pironidil
•	Bilirubin oksidaz
<b>C-</b>	<b>Diğer</b>
•	İntravenöz immunglobulin
•	Sık beslenme

## **Fenobarbital**

UGT enzim aktivitesini artırarak bilirubin karaciğere alımını, konjugasyonunu ve ekskresyonunu artıran fenobarbital; hem profilaktik amaçlı olarak anneye, hem de tedavi amaçlı olarak bebeğe uygulanmaktadır. Antenatal dönemde 100 mg fenobarbitalin yenidoğan bebekte hiperbilirubinemiye %50 oranında azalttığı gösterilmiştir (136). Fototerapiyle birlikte fenobarbital kullanılmasının yalnızca fototerapi kullanılmasına göre bir üstünlüğü yoktur. Yenidoğan sarılığında fenobarbital 5 mg/kg/gün dozunda kullanılır ve etkisi 2 gün sonra başlar (18,137,138). 5 gün süreyle 5 mg/kg/gün verilir. Üçüncü günden itibaren etkisi başlar, 5. gün maksimum etki gözlenir (19,22).

Yenidoğan sarılığı yaygın bir problem olsa da, tedavisi karmaşıktır ve sağlıklı bakımın sağlanması için çeşitli yollar mevcuttur. Sarılıklı bir bebekte erken tanı, uygun yaklaşım, doğru takip ve yeteri tedavi sağlanması durumunda komplikasyon oranı oldukça düşmektedir.

## **İntravenöz İmmunglobulin**

Kontrollü çalışmalar Rh ve ABO hemolitik hastalıklarında İVİG uygulamasının, kan değişimi gereksinimini azalttığını göstermiştir (139-141). Veriler sınırlı olsa da anti C ve anti E gibi diğer Rh tipindeki hemolitik hastalıklarda da İVİG kullanımı yararlı olabilir. İVİG'in hemolitik hastalıkta retikuloendotelial hücrelerdeki Fc reseptörlerini bloke ederek hemolizi engellediği düşünülmektedir. Amerikan Pediatri Akademisi hemolitik hastalık varlığında; eğer total serum bilirubin değeri yoğun fototerapiye rağmen yükseliyorsa ya da total serum bilirubin seviyesi kan değişimi sınırının 2-3 mg/dl içindeyse, İVİG kullanımını önermektedir (2,18).

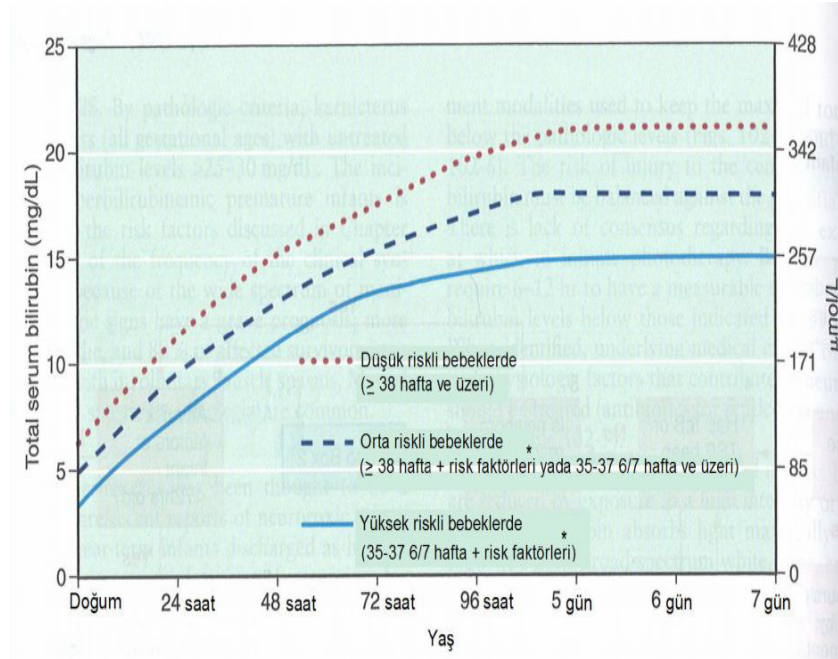
## **Metalloporfirinler**

Bazı metalloporfirinler hem oksijenaz enzimini ve hem metabolizmasını kompetitif olarak inhibe ederek bilirubin yapımını azaltırlar. Bunlardan Kalay(Sn)-mezoporfirininin özel mavi ışıklı fototerapiden daha etkili olduğu, hiperbilirubinemiye etkin bir şekilde önleyebileceği veya tedavi edebileceği kanıtlanmıştır (141-144). Ancak metalloporfirinler henüz rutin kullanımda değildir.

### **2.3. FOTOTERAPİ**

Yaklaşık 50 yıl kadar önce, güneş ışınları alan sarılıklı bebeklerin deri renginde sarılığın azalması gözlemine dayanan ve günümüzde modern cihazlarla, belli dalga boylarındaki ışık ve ışık enerjisinin tedavi amacıyla kullanılması esasına dayanan bir tedavi yöntemidir (145). Hemen hemen tüm yenidoğanlarda serum bilirubin konsantrasyonunun yükselmesini durdurur veya azaltır. Bunu hemoliz varlığından, matüriteden veya derinin pigmentasyon derecesinden bağımsız olarak yapar (146). Fototerapi ile kan değişim oranlarının, dolayısıyla morbiditenin belirgin azalması, kolay ulaşılabilir olması ve komplikasyonlarının az olması nedeni ile fototerapi bütün dünyada yenidoğan hiperbilirubinemisinin tedavisinde ilk seçenek olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (147). Hangi bilirubin düzeyinin patolojik olduğu ve hangi sınırlardan sonra sonra tedavi edilmesi gerektiği konusunda bugüne kadar yapılan yüzlerce çalışma ışığında bazı tablolar hazırlanmıştır. Bunlardan en sonuncusu Amerikan Pediatri Akademisi'nin önerdiği tablodur (Şekil 2.10) (2).





**Şekil 2.10.** Term ve sınırda preterm yenidoğanlarda risk durumuna göre fototerapi başlanacak serum bilirubin düzeyleri (2)

\* Risk faktörleri: İzoinmun hemolitik anemi, G6PD eksikliği, asfiksi, belirgin letarji, vucut ısısı düzensizliği, sepsis, asidoz, < 3 g/dL albumin

Gestasyon yaşı 35 haftanın üstünde olup, fototerapi için hastaneye yatırılan bebeklerde yoğun fototerapi ile ilk 24 saatte %30-40 arasında bir düşüş görülür. En belirgin azalmanın ilk 4-6 saatte olduğu bu yöntemde, en az 0.5-1 mg/dl/saat düşüş beklenir. Standart fototerapi sistemlerinde ilk 24 saatte %6-20 arasında bir düşüş görülür (2).

Fototerapinin ne zaman sonlandırılacağı konusunda bir standart yoktur; bebeğin yaşına ve sarılığın sebebine göre değişir. Amerikan Pediatri Akademisi'nin önerisine göre fototerapi için hastaneye yatırılan bebeklerde; fototerapi total serum bilirubini 13-14 mg/dl düzeyine gerilediğinde kesilmelidir. Hemolitik hastalığı olan bir bebekte, fototerapi 3-4 günlük olmadan kesilirse; ilk 24 saatte rebound bilirubin düzeyi kontrol edilmelidir (2).

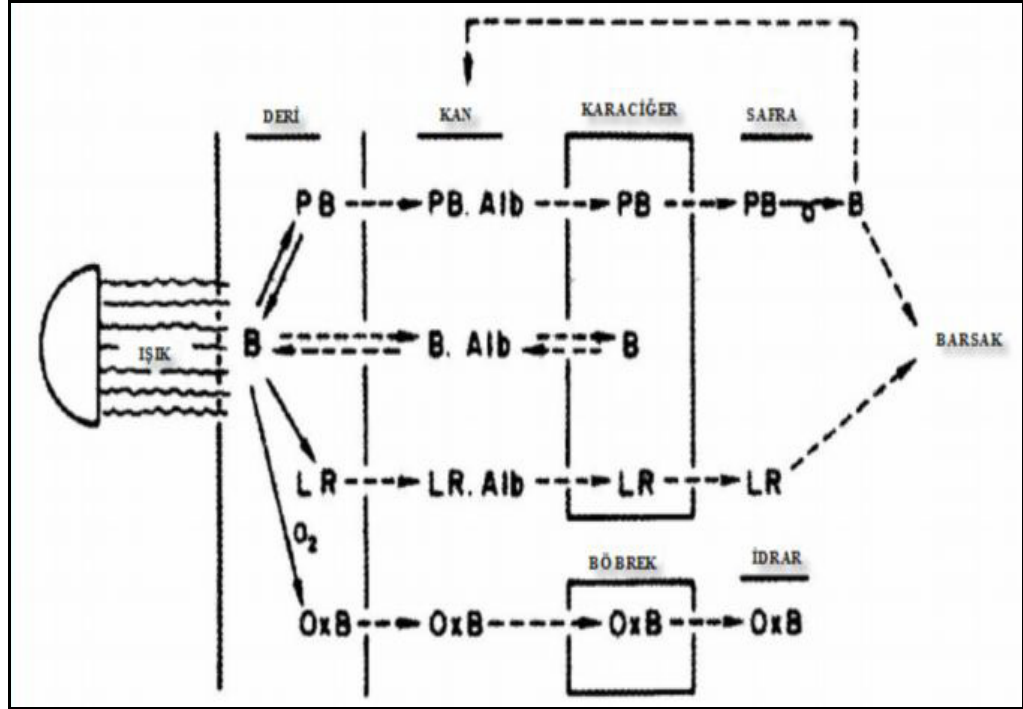
### 2.3.1. Tarihçe

Eski Romalılar ve Yunanlıların sağlıklarını sürdürmek ve terapötik fayda sağlamak için güneş banyoları yaptıkları bilinmektedir (145). İlk kez 1956 yılında İngiltere Essex'de Rochford Hastanesi'nde Hemşire Jean Ward, güneşli havalarda pencere kenarına bırakılan sarılıklı yenidoğanların güneş ışığına maruz kalan açık kısımlarında sarılığın azaldığını fark etmiştir. Daha sonra aynı hastanenin doktorları, sarılıklı yenidoğanlardan alınan ve kazara güneşe maruz bırakılan serum örneklerinde bilirubin değerlerinin hızla azaldığını görmüşlerdir. Bu iki gözlemden hareketle aynı hastanenin doktorları olan Cremer ve Perryman ışığın bilirubin üzerine etkisi olabileceğini düşünerek hiperbilirubinemi tedavisinde ilk defa fototerapiyi kullanmaya başladılar (6,148). Ancak fototerapinin yaygın olarak kullanılması, 1968 yılında Lucey ve arkadaşları fototerapinin yenidoğan sarılığı tedavisindeki etkinliği ve güvenilirliği konusunda yayın yaptıktan sonra başlamıştır (149).

### 2.3.2. Fototerapinin Etki Mekanizması

Fototerapi, bilirubini daha az lipofilik olan, suda eriyen, nörotoksik olmayan foto-ürünlere çevirerek zehirsizleştirir. Bu şekilde dönüşüme uğramış bilirubin karaciğerin konjugasyon sistemini atlar ve daha fazla metabolik olaylara gereksinim kalmadan vücuttan uzaklaştırılır. Bir bebeğe fototerapi uygulanması aslında bir ilaç molekülü verilir gibi enerji yüklü parçacıkların (fotonların) infüzyonunun yapılmasıdır. Yani bir tür deri yolu ile uygulanan ilaç gibidir. Bu fotonlar, ilaç moleküllerinin reseptörlerine bağlanması gibi, deride ve derialtı yağ dokusunda bilirubin molekülleri tarafından emilir. Yani esas olay, bilirubinin foton absorbe etmesidir. En fazla absorbe edilen fotonlar 450 nm dalga boyundaki mavi fotonlardır. Daha sonra, 510 nm dalga boyundaki yeşil fotonlar gelir. Gün ışığının dalga boyu 550-600 nm arasında olduğundan etkisi daha azdır (5,150). Fototerapi ile bilirubin etkileşimi muhtemelen deri hücrelerinde değil, en etkin olarak

yüzeysel kapillerlerde ve interstisyel aralıkta gerçekleşir (33). Şekil 2.11'de fototerapinin etki mekanizması görülmektedir.



**Şekil 2.11.** Fototerapinin etki mekanizması (19)

B: Bilirubin PB: Fotobilirubin LR: Lumirubin OxB: Bilirubin oksidasyon ürünleri  
Alb:Albümin

İndirekt bilirubinin fototerapi ile vucuttan uzaklaştırılması birbirleriyle ilişkili 3 mekanizma ile meydana gelir. Bu mekanizmalar:

- 1) Bilirubinün ışık etkisiyle foto değişimi
- 2) Ciltte oluşan foto-ürünlerin kan dolaşımına geçmesi
- 3) Kan dolaşımındaki foto-ürünlerin karaciğer ve böbrekler aracılığıyla vücuttan uzaklaştırılmasıdır.

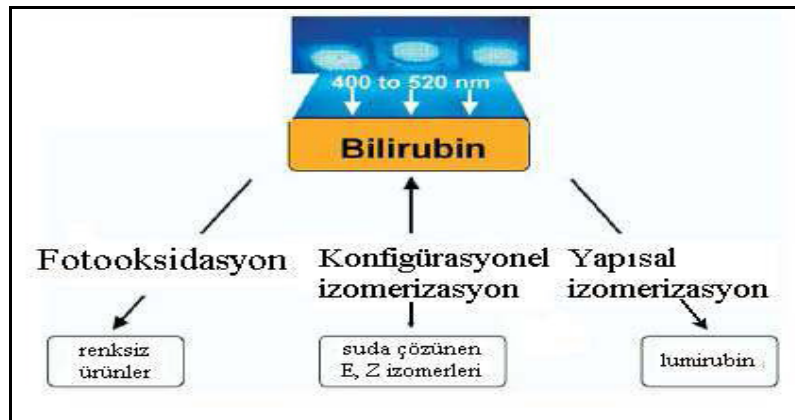
Yukarıda bahsedilen üç mekanizmadan birincisinin bir grup fotokimyasal reaksiyondan oluştuğu bilinmekte ve bilirubinun fototerapi ile vucuttan uzaklaştırılması sırasında hız sınırlayıcı basamak olduğu düşünülmektedir (151).

Absorbe edilen foton ile bilirubin uyarılmış hale gelir ancak bu durumda fazla kalmaz ve tekrar eski haline dönebilmek için enerji kaybeder. Bu enerji kaybı 3 şekilde olabilir:

- 1) Foton emisyonu (floresans): Nadiren meydana gelir.
- 2) Isı üretimi: En sık meydana gelen olaydır.
- 3) Fotokimyasal reaksiyon

İlk iki olay sonucunda bilirubin molekülünde herhangi bir değişiklik olmazken, fotokimyasal reaksiyonlar sonucu bilirubin molekülü değişir. Bu değişiklik 3 şekilde meydana gelebilir (Şekil 2.12):

- 1) Fotooksidasyon.
- 2) Konfigurasyonel (geometrik) izomerizasyon.
- 3) Yapısal izomerizasyon.

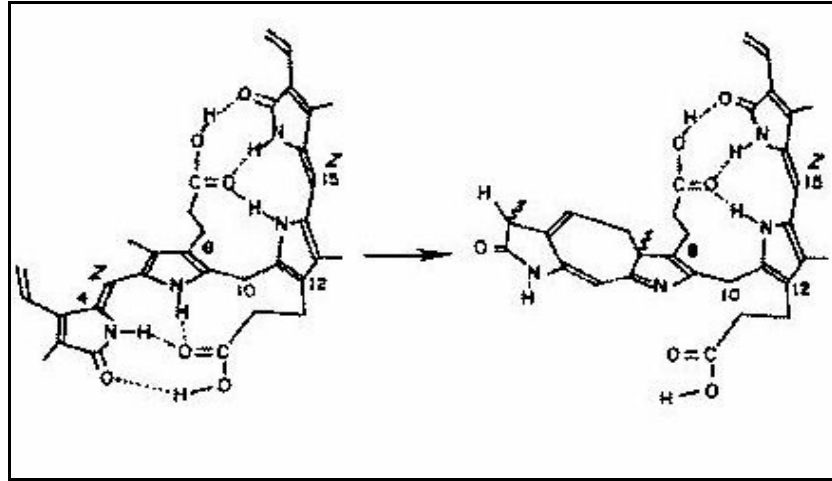


Şekil 2.12. Bilirubinun fotokimyasal reaksiyonları

İzomerler aynı moleküler yapıda ancak farklı fiziko-kimyasal özellikleri olan maddelerdir. Fototerapi sırasında ilk meydana gelen reaksiyon bilirubin kimyasal yapısı değişmeden şeklinin değişmesine neden olan, geometrik şekilli konfigürasyonsel izomerizasyondur. Bu yapı çift bağlı bileşiklerde meydana gelir. Bilirubin molekülünde biri C4 karbon atomunda, diğeri C15 atomunda olmak üzere iki adet çift bağ bulunur. Bu izomerler Z ve E harfleri ile gösterilir ve fototerapi ile dört adet konfigürasyonel fotoizomer oluşabilir. Bilirubin doğal formu olan indirek bilirubin (bilirubin IX) 4Z, 15Z yapısındadır. Konfigürasyonel izomerizasyon sırasında, dış pirol halkalarını ortadaki halkalara bağlayan çift bağlardan biri çözülür, dıştaki halka 180° döner ve yeniden çift bağ oluşur. Yeni oluşan bu bilirubin izomerine 4Z, 15E (fotobilirubin) izomeri denir. 4Z,15E izomeri geri dönüşümlü olup, karanlıkta çok hızlı bir şekilde tekrar stabil konumdaki indirek bilirubine şekline dönüşür. Bilirubin diğer izomerleri 4Z 15E, 4E 15Z ve 4E 15E olarak adlandırılır (Şekil 16). Bu izomerler fotokimyasal olarak geri dönüşümlüdürler ve birbirlerine dönüşebilirler (152). İzomerlerin hemen hemen hepsi deri, derialtı dokusu ve kapillerler içinde oluşurlar (152). E konumundaki çift bağ taşıyan izomerlerin suda çözünürlükleri fazladır. Bilirubin albumine bağlı olduğu halde bile izomerizasyon devam eder. Suda erir hale gelen bu izomerler plazma ile karaciğere, oradan safraya taşınır. Safra asitleri ile tekrar eski formuna dönerler ve barsaklara ZZ şeklinde atılırlar. Birkaç saat fototerapi sonrasında serumda oluşan başlıca izomer 4Z 15E izomeridir. Serumdaki tüm bilirubin % 20' sine kadar oluşabilir (152). Serumdaki 4Z 15E izomerin miktarı, kullanılan ışığın rengi ile ilişkili olup yoğunluğuyla ilişkili değildir. Diğer bir deyişle ışığın rengini değiştirmeden, yoğunluğunu arttırarak dengedeki serum 4Z 15E izomer miktarı değiştirilemez. Bilirubin eliminasyonu % 80 geometrik izomerizasyon yolu ile olur (5).

Yapısal izomerizasyonda pirol halkası üzerindeki CH=CH<sub>2</sub> (vinil) grubu, komşu diğer pirol halkası ile birleşerek 7 karbonlu yeni bir halka oluşturur. Bu yapıya lumirubin, siklobilirubin veya fotobilirubin II adı verilir (Şekil 15). 4E, 15Z yapısındaki lumirubin, bilirubin yapısal izomeridir Daha

polar olan bu izomerin de suda çözünürlüğü daha fazladır. Lumirubinin önemli bir özelliği irreversibl olması, yani esas bilirubine geri dönememesidir. Bu özelliği nedeniyle, fototerapinin yoğunluğu arttıkça oluşan lumirubin miktarı da artar. Dolayısıyla uzun süreli fototerapi sırasında bilirubinin esas atılma yolu lumirubin olur. Lumirubin oluşumu, bilirubin eliminasyonunda hız kısıtlayıcı basamaktır.



Şekil 2.13. Bilirubinin ışık etkisi ile lumirubine dönüşümü (19)

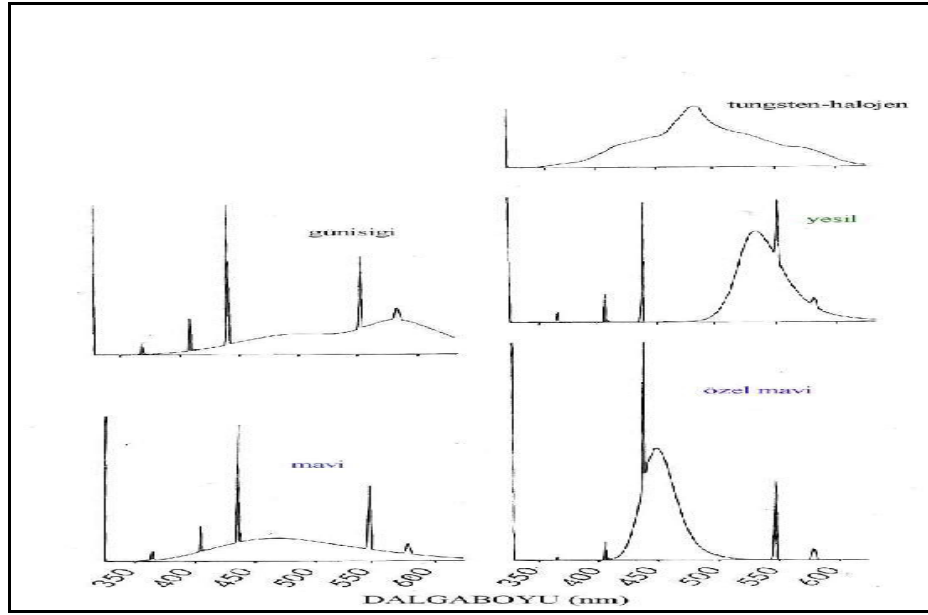
Lumirubin oldukça polardır ve safradan çok idrarla atılır. Total bilirubinin %2-6'sı lumirubine dönüşür ve stabil bir yapıdadır (Şekil 2.13 ). Bilirubinin fototerapi ile az bir kısmı lumirubine dönüştüğü halde, serumdan bilirubinin temizlenmesinin asıl nedeni, stabil yapıdaki lumirubin oluşumudur. Her iki izomer yapıdaki bilirubinler indirek bilirubinin aksine konjugasyona ihtiyaç duymadan başlıca karaciğer yolu ile atılır (26).

Fotooksidasyon ise in vitro ortamda oldukça etkili olmasına rağmen sarılıklı bir yenidoğandaki etkisi oldukça sınırlıdır. Tek bir oksijen atomunu içeren bu reaksiyon sonucunda biliverdin, dipirol ve monopirol gibi renksiz ürünler açığa çıkar ve konjugasyona gerek kalmaksızın karaciğer ve dalaktan atılır. Bu dönüşüm muhtemelen yavaş gerçekleşmekte ve bilirubinin temizlenmesine çok küçük bir katkı sağlamaktadır (6,100,153,154)

### 2.3.3. Fototerapinin Etkinliğini Belirleyen Faktörler

#### Işığın dalga boyu

Cilt ve kan dolaşımındaki bilirubinin degradasyonu için gerekli ışık kaynağının dalga boyu 400-520 nm arasında olmalıdır. Bu etki  $460\pm 10$  nm civarında en fazla olmaktadır. Albumine bağlı bilirubin 460 nm'de pik absorpsiyon yaparken, bağlı olmayan bilirubin 440 nm'de pik absorpsiyon yapar. Pek çok çalışmada mavi ışığın bilirubin absorpsiyon spektrumunda etkili ışık olduğu gösterilmiştir. Mavi ışık altındaki yenidoğanların cilt rengini değerlendirmek zor olabileceği ve bazen mavi ışığın sağlık personelinde başdönmesi ve bulantı gibi yan etkilere yol açabileceği göz önüne alınarak fototerapi ünitelerine beyaz ışık da eklenmiştir (151). Dünyada yaygın olarak 420-480 nm arası ışık yayan özel mavi lambalar kullanılmaktadır. F20T12/BB olarak adlandırılan bu özel lambalar F20T12/B olarak adlandırılan normal mavi lambalardan daha etkilidirler. Teorik olarak daha uzun dalga boyları cildi daha iyi geçmektedirler ve 525 nm dalga boyundaki yeşil ışığın kullanımının daha etkin fototerapi sağlayacağı düşünülmektedir. Ancak klinik olarak pratikte kullanılan dar band mavi ışıklı fototerapiden üstünlüğü gösterilememiştir (155). Ebbesen ve ark. (156) yaptıkları bir çalışmada pretermelerde turkuaz renkli floresan lambaların bilirubin miktarını mavi renkteki floresan lambalara göre daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Şekil 2. 16'da fototerapi lambalarının emisyon spektrumunu görülmektedir.



**Şekil 2.14.** Fototerapi lambalarının emisyon spektrumu.

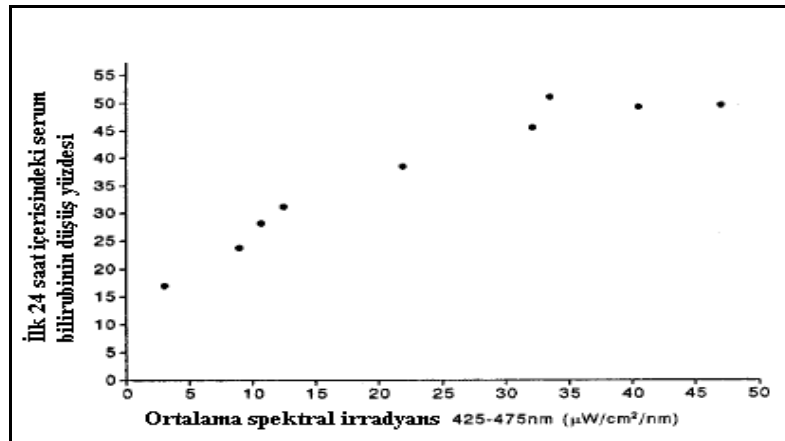
Günışığı, mavi, özel mavi ve yeşil floresan lambaların spektrumu Cary 118 spektrofotometresi ile ölçülmüştür.

### İşığın irradyans miktarı

İşığa maruz kalan vucut yuzeyinde 1 cm<sup>2</sup> lik alana düşen foton sayısıdır. İrradyans  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  birimiyle ifade edilir (151). İrridyans bir anlamda ışık yoğunluğudur ve fototerapinin etkinliğini belirler. Son 10 yılda optimal fototerapi için önemi en fazla vurgulanan faktörler, ışığın dalga boyu ve irradyasyon miktarıdır (157). İrradyans arttıkça serum bilirubinindeki azalma hızı da artar. Etkili fototerapi için enerji yoğunluğu bilirubin yıkımı için minimal efektif olarak ölçülenin üstündeki bir seviyede olmalı ve aynı zamanda belli bir seviyeyi de aşmamalıdır. Yapılan çalışmalarda irradyans miktarıyla bilirubinün degradasyon hızı arasında  $30\text{-}40 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ ' ye kadar doğru orantı olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.17) (36). Ancak çoğu fototerapi ünitesinde minimal efektif dozun hemen üzerinde yaklaşık  $6 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  irradyans verilir (26). Standart fototerapi ünitesi için  $8\text{-}18 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  enerjiye ihtiyaç vardır. Yoğun fototerapi için spektral irradyansın  $\geq 30 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  olması gerekir. Spektral irradyans ne kadar yoğunsa bilirubin o kadar hızlı düşer.



Fakat bu düşüş  $30 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ 'den sonra sabit kalır. Işık enerjisini ölçmede her dalga boyu için farklı radyometreler kullanılır. Enerjileri azalan lambalar değiştirilmelidir. Yenidoğan pratiğinde sıkça kullanılan tekli, ikili, üçlü fototerapi ifadeleri, fototerapi için kaç tane cihaz kullanıldığını ifade etmektedir, yoksa belli bir hedef doz veya irradyans düzeyine işaret etmemektedir. Hedef irradyans düzeyi ve bunu sağlayacak fototerapi dozu açısından tekli veya çoklu fototerapinin standart bir tanımı bulunmamaktadır. Üçlü fototerapi ile ışığa maruz kalan yüzey alanı daha fazla olduğundan, doğal olarak fototerapi etkinliği de tekli fototerapiye göre fazla olur (32, 154,158,159). Klinik kullanımda irradyans spektrometrelerle ölçülür. Her üretici belirli bir ışık kaynağına yönelik spektrometre ürettiği için birden fazla markada fototerapi cihazı bulunduran klinikler için spektrometrelerin kullanımı pahalı ve zordur. Aynı fototerapi cihazının irradyansının iki ayrı marka spektrometre ile ölçülmesi neticesinde birbirleriyle uyumsuz, ayrı değerler elde edilebilir (2). Her tipte ışık kaynağının değerlendirilmesini sağlayabilecek, altın standart olarak kullanılacak evrensel ölçüm cihazı maalesef mevcut değildir.



**Şekil 2.15.** Ortalama spektral irradyans ile serum bilirubin konsantrasyonlarındaki düşüş arasındaki ilişki (160)

### **Işık kaynağı ve hasta arasındaki mesafe**

Yenidoğan ve ışık kaynağı arasındaki mesafe arttıkça cilde aktarılan enerji miktarı azalmaktadır. Bu mesafe kullanılan ışık kaynağının cinsine göre değişmekle birlikte en fazla 50 cm, yenidoğanın vücut ısısının sürekli takip edilmesi şartıyla en az 10 cm' dir (161,162). Işık kaynağını yenidoğana yaklaştırmak irradyansı artırır (163). Işık kaynağının yenidoğana uzaklığı ne kadar az ise özellikle özel mavi lambaların etkinliği o kadar artmaktadır. Bunun için bebeğe küvözde değil kotta iken fototerapi uygulamak floresan lambaları daha fazla yakınlaştırma olanağı verdiğiinden daha uygundur. Bebeği çıplak olarak yatırıp lambalar 10 cm'ye kadar yakınlaştırılabilir. Ancak halojen fototerapi lambalarının ısı yanıklarına yol açma riski daha fazla olduğu için hastaya olan uzaklığına dikkat etmek gerekir. Tüm lambalar emniyet açısından pleksiglas bir koruyucu icine alınmalıdır.

### **Işınlanan vücut yüzey alanı**

Işınlanan vücut alanı arttıkça total bilirubin düşüş hızı artar (160). Tek başına yenidoğana üstten veya alttan fototerapi uygulamak total vücut yüzeyinin % 30' una yeterli fototerapi verilmesini sağlar. Fototerapi tedavisi sırasında birden fazla cihaz kullanmak yenidoğan servislerinde nadir olmayan bir durumdur. Yeterli ışınlanan vücut yüzey alanına erişmek için uygun bir metoddur (151). Ayrıca Amerikan Pediatri Akademisi ışınlanan vücut yüzey alanını arttırmak için yenidoğanın içerisinde yattığı sepet veya ısıtıcı yatağın çevresinin alüminyum folyo ile kaplanmasını önermektedir (2). Yine yatağa beyaz örtü serilmesi bebeğin ışık almayan bölgelerine ışığı yansıtma da yardımcı olabilir (146). Çoğunlukla alt bezinin kaldırılması gerekmezse de kan değişimine yakın TSB değerlerinde bilirubin değerlerinde önemli bir azalma elde edilinceye kadar bez çıkarılabilir.

## **Fototerapide kullanılan ışık kaynaklarının tipi**

Kullanılan ışık kaynağının tipi de ışınlanan vücut yüzey alanı miktarını değiştirmektedir. Floresan tüplü ışık kaynakları, halojen spot lambalar, fiberoptik ışık düzeniyle birlikte kullanılan halojen lambalar ve yüksek yoğunluklu LED lambalar günümüzde kullanılmakta olan ışık kaynaklarıdır. Her tür ışık kaynağının avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Kullanılan ışık kaynağına göre irradyans farklı olduğundan etkinlikleri de değişiklik göstermektedir. Son zamanlarda kullanıma giren galyum nitrit LED (Light Emitting Diodes) fototerapiler mavi ve mavi-yeşil spektrumunda yüksek irradyansa sahiptirler ve aşırı ısı üretimine yol açmazlar. Bu araçların ömrü uzun ve maliyeti etkindir (151). Halojen lambaların irradyansı yeterli olmakla birlikte sadece merkezde en yüksek irradyansa ulaşırlar. Bu araçların ışığı kullanıcıları rahatsız etmez, ancak önemli derecede ısı üretimine neden olurlar. Üretici firmanın en az mesafe konusundaki önerilerine uyulmalıdır. Aksi takdirde yanıklar oluşturabilirler (1) Floresan tüp fototerapi cihazları birkaç tane floresan lambadan oluşur. Bu fototerapi ünitelerinde gün ışığı, mavi, süper (özel) mavi veya kombine şekilde bulunur. Süper mavi ışıklara en etkili olanıdır. 425–475 nm arasında benzer dalga boylarında olmalarına rağmen, bu üç ışık tipi arasında irradyansları açısından belirgin farklılıklar olabilir. Bu araçlar mümkün olduğunca bebeğe yakın tutulmalıdır. Beşikteki term bebeğe 10 cm mesafeden uygulandığında hem normal vücut ısısı korunmakta, hem de 50  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  gibi yüksek irradyans değerlerine ulaşılabilir (154). Fototerapide esas etkiyi floresan tüplerden yayılan mavi ışık oluşturmakta, mavi ışık bebeğe bakım verenleri rahatsız ettiği için mavi lambaların yanında beyaz lambalar da konulmaktadır. Fiberoptik fototerapi aralarında tungsten-halojen lambalardan çıkan ışıklar fiberoptik kablolar içeren plastik bir kısım içine gönderilir. Plastik kısım ısınmadığından direk olarak bebeğin altına konabilir veya bebek bunlarla sarılabilir. Bunların spektral gücü düşük olduğundan genellikle üstten de fototerapi verilmelidir (6,33153). Prematüre bebeklerde fototerapi cihazların kombine kullanmanın daha faydalı olduğu bulunmuştur. Kombine fototerapi ile bu hastalarda daha

hızlı bilirubin düşüşü sağlandığı, tedavi süresinin kıaldığı ve kan değişimi oranının azaldığı tespit edilmiştir (60).

### **Hidrasyon**

Fazla sıvı vermenin bilirubin düzeyini etkilediğine dair bir kanıt yoktur. Yüksek bilirubin düzeyleri ile başvuran bazı yenidoğanlar aynı zamanda hafif dehidrate olduklarından sıvı desteğine ihtiyaç duyarlar. TSB değerlerinde azalmaya yol açacak foto yan ürünleri idrar ve safra ile atıldıklarından yeterli hidrasyonun sağlanması FT etkinliği açısından yararlı gibi gözükse de rutin IV sıvı desteği dehidratasyon bulguları yoksa gereksizdir.

### **Cilt kalınlığı, pigmentasyonu**

Cilt kalınlığı ve pigmentasyon derecesi fototerapi verimliliğini etkileyebilir (164).

### **Tedavi başlangıcındaki total bilirubin seviyesi**

Tedavi başlangıcı sırasındaki total bilirubin seviyesi ne kadar yüksekse uygulanan fototerapiye yanıt olarak bilirubin hızı o kadar yüksek olur (2).

### **Fototerapi süresi**

Fototerapinin sürekli veya aralıklı verilmesi konusu tartışmalıdır. Aralıklı ve sürekli fototerapinin karşılaştırıldığı çalışmalar farklı sonuçlar doğurmuştur. Bazı çalışmalarda aralıklı tedavinin etkinliği gösterilememiştir, ancak bunun, ışığın kapatıldığı intervallerin süresinden kaynaklanabildiği

düşünülmektedir. Bilirubinun fotoizomerizasyonu primer olarak deride olur ve deriden uzaklaştırılan bilirubin yerine yeni bilirubin oturması için bir-üç saat gerekir, bu nedenle bir saatten fazla fototerapiye ara vermek çok fazla anlamlı değildir. Beslenme ve ziyaret saatlerinde bebeğin gözlerinin açılarak fototerapiye bir saatten daha az süre ara verilmesi, fototerapinin etkinliğini düşürmez (5,148,165,166).

Deride, fotoizomerizasyon yoluyla uzaklaştırılan bilirubin yerine yeni bilirubin oturması için 1-3 saat gerektiği göz önüne alınırsa, 1 saatten fazla fototerapiye ara vermenin fototerapinin verimliliğini azaltacağı düşünülmektedir. Eğer yenidoğanın plazma bilirubin seviyesi kan değişimi sınırlarına yaklaşıyorsa fototerapi sürekli olarak verilmelidir (2).

#### **2.3.4. Fototerapi Sırasında Dikkat Edilmesi Gereken Unsurlar**

Fototerapi sadece bir lambayı açmak demek değildir. Fototerapi etkinliği uygun bakım ile sağlanır. Uygun bakım ile potansiyel yan etkiler ve komplikasyonlar da azalır (6,10,159,167) .

1. Retinal hasardan korumak için göz bandı kullanılmalıdır. Bantlar gözyaşı akışına izin vermek, ödem ve enfeksiyonu önlemek, görme uyarısını sağlamak, aile ile göz teması sağlamak için aralıklı olarak çıkarılmalıdır. Bu bantların aşağı kayarak burun kanatlarına bası yapması ile apne oluşması, göz irritasyonu, korneal sıyrılma, nazal tıkanma ve konjunktivit yapma riski vardır.

2. Kullanılan fototerapi cihazının tipi de dikkate alınarak tedavi gören yenidoğanla fototerapi cihazı arasında uygun mesafe sağlanmalıdır. Çok yakın yerleşimli cihaz bebeğin vücut ısısının artmasına ve hatta cilt

yanıklarına, uzak yerleşimli cihaz ise etkin olmayan fototerapi verilmesine neden olur.

3. Genital hasar riskine karşı testisler örtülmelidir. Amerikan Pediatri Akademisi bilirubin seviyesi kan değişimi düzeylerine yaklaşmış bebeklerde bezin çıkarılmasını önermektedir.

4. Vücut ısı 2 saat aralıklarla ölçülmelidir.

5. Mümkün olan en fazla vücut alanının ışınlara maruz kalmasını sağlayabilmek için olanakların tümü kullanılmalıdır. Alt ve üstten birlikte fototerapi uygulaması veya bebeğin içinde bulunduğu sepetin kenarlarına ve altına yansıtıcı düzenekler yerleştirilmesi ışınlanan vücut alanının artmasını sağlar.

6. İnsensibl sıvı kaybını takip edebilmek ve önleyebilmek için bebekler her gün tartılmalıdırlar. Eğer gününe göre düşük tartı gözlenirse hastanın aldığı sıvı miktarı artırılmalıdır.

7. Bilirubin ölçümü en fazla 12 saat arayla yapılmalıdır. Ancak prematüre bebekler, hemolizi olanlar ve yaşamın ilk 72 saatinde tedavi gerektiren bebeklerde yakın bilirubin izlemi yapılmalıdır.

8. Bebeğin monitörizasyonu amacıyla kullanılan *pulse oksimetre* ve ısı problemleri fototerapi ışınlarından etkilenmektedirler. Eğer kullanılacaklarsa üzerleri alüminyum folyo ile kapatılmalıdır.

9. Fototerapi kesildikten sonraki gün serum bilirubin düzeyi rebound etki açısından tekrar değerlendirilmelidir.

10. Eğer yenidoğana tek yönden fototerapi veriliyorsa 6 saatlik aralarla bebeğin pozisyonu değiştirilmelidir.

11. Yenidoğanda fotosensitizan ilaç kullanılmamasına dikkat edilmelidir.

12. Serum bilirubin düzeyini değerlendirmek amacıyla yenidoğandan kan alınırken fototerapi lambaları söndürülmelidir. Lambalar açık bırakılırsa çıkacak olanlaboratuar sonucu etkilenebilir.

13. Lumirubin gibi foto ürünlerinin idrar ve bağırsaktan atılabilmesi için enteral beslenme ve hidrasyon yeterli olmalıdır. Bebek indirek bilirubinden dolayı çıkarılan siyah ve sulu gaitanın oluşturacağı perianal irritasyondan korunmalıdır.

14. Kan değişimi adayı olanlarına spektral irradiyansı 30  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  olan yoğun fototerapi verilmelidir.

15. Kan ürünleri ve total parenteral beslenme sıvıları fototerapi alan yenidoğanlara dikkatle verilmelidirler. Bu ürünler fototerapi ışınlarından etkilendikleri ve yapıları bozulduğu için verildikleri setler alüminyum folyo ile sarılarak veya ışığa dirençli setler kullanılarak bu sorun önlenir.

Son zamanlarda gelişmiş ülkelerde, bebeklerin fototerapi için uzun süre hastanede yatmalarını önlemek için evde fototerapi uygulaması denenmektedir. Jackson ve arkadaşlarının fizyolojik sarılıklı 32 bebekle yaptığı çalışmada, evde fototerapi uygulanan bütün bebeklerin serum bilirubinin düştüğü ve hospitalizasyona gerek kalmadığı bildirilmektedir. Maliyet açısından oldukça karlı olan bu çalışmada aile memnuniyetide (anne ve bebeğin ayrılmasına gerek kalmadığı için) oldukça yüksek saptanmıştır

(168). Ancak evde fototerapide yetersiz hemşire bakımı sebebiyle bazı komplikasyonlar olabileceği için bu yöntemin kullanılabilirliği halen tartışmalıdır. Bu komplikasyonların içinde gözlerin iyi kapatılamaması sonucu olabilecek korneal abrazyon, aşırı sıvı kaybı, vücut ısısı labilitesi ve bilirubin düzeyindeki etkin olmayan azalma sayılabilir (169).

### **2.3.5. Fototerapinin Yan Etkileri**

Hiperbilirubineminin tedavisinde 50 yıla yakın zamandır milyonlarca bebekte kullanılan fototerapi nispeten güvenli ve basit bir tedavi yöntemi olmakla birlikte az da olsa bazı yan etkileri olabilir. Nadiren ciddi komplikasyonlar da gelişebilir (6)

#### **Retina hasarı**

Yüksek yoğunlukta ışığın yenidoğanların gözündeki etkileri halen tam olarak bilinmemekle beraber hayvan deneyleri devamlı ışıkla retinal dejenerasyonun oluşabileceğini göstermektedir. Bu yüzden fototerapi uygulanan tüm yenidoğanların gözleri opak materyalle hasara karşı kapatılmalıdır. Fiberoptik fototerapi de bu korumayı gerektirir (146). Retina sarı-yeşil ışığa, mavi-mor ışıktan daha hassastır (170). Mavi ışığın da retinada fotokimyasal hasara neden olduğu düşünülmektedir (171). Erişkinlerde retinanın mavi ışığa maruz kalmasını takiben renkli görmenin bozulduğu, ileri vakalarda prematur maküler dejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (172). Preterm infantlarda parlak mavi ışıkla tedavi sonrasında premature retinopatisi sıklığında artış olabileceği düşünülmüş ancak yapılan kontrollü çalışmalarda bu düşünce ispatlanamamıştır (173-175).



## Dehidratasyon ve ishal

Fototerapi sırasında bağırsak geçiş süresi yarıya düşer. Sulu, yumuşak, hafif yeşil dışkı gözlenir. Nitrojen, sodyum ve potasyumun fekal atılımı artar. Dışkıyla kaybedilen sıvı miktarı normale göre 2-3 kat artar (176). Fototerapi alan bebeklerde bağırsaklarda geçici laktaz eksikliği geliştiği gözlenmiştir. Artan indirekt bilirubin bağırsak epiteli fırçamsı kenarında laktaz aktivitesini kısıtlar ve sonucta laktoz hidrolize edilemez ve emilimi azaldığı için ishale neden olur (177). Dışkıda meydana gelen değişikliklerin nedeni olarak, fototerapi alan bebeklerde vazoaktif intestinal peptid sekresyonunun artmış olması öne sürülmüştür (5). Kontrol grubunun aldığıyla eşit kalorige süt ile beslenen ve fototerapi alan infantların kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az tartı alabildikleri gösterilmiştir. Ayrıca yenidoğanın maturasyonuna da bağlı olarak ciddi sıcaklık kontrollerine rağmen fototerapi sırasında insensibl sıvı kaybının 2-3 kat arttığı gösterilmiştir (178,179). Fototerapi alan bebeklerde sıvı ihtiyacı arttığı için dehidratasyon gelişimi önlenmelidir. Hidrasyonun doğrudan serum bilirubin seviyesini azalttığı yolunda delil yoktur, ancak dehidratasyon önlenmelidir. Konjuge bilirubin suda çözünür ve vücuttan idrar, safra ve gaita yolu ile atılır. Uygun hidrasyon yeterli idrar, safra ve gaita çıkışını sağladığı için dolaylı olarak konjuge olmayan bilirubin atılımını sağlar. İdeal olarak sıvı gastrointestinal motiliteyi uyarmak için enteral olarak verilerek, bilirubin enterohepatik reabsorpsiyonu engellenir (146). Boo ve ark.'nın yaptıkları çalışmada sağlıklı term ve ciddi hiperbilirubinemisi olan yenidoğanlarda yoğun fototerapi ile ilk 4 saat sonunda meydana gelen bilirubin seviyesindeki azalmanın oral sıvı tedavisi alan grupla intravenöz sıvı tedavisi alan grup arasında fark olmadığını göstermişlerdir. Ancak her iki grupta da bilirubin düşüş hızı Amerikan Pediatri Akademisi'nin önerdiği fototerapi sırasında erişilmesi gereken ideal bilirubin düşüş hızının üzerindedir (2,180). Mehta ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise fototerapi alan ve intravenöz sıvı desteği verilen, serum osmolalitesi >290 mOsmol/kg olan term yenidoğanların bilirubin değerlerinin

sıvı desteği almayan ve fototerapi alan term yenidoğanların bilirubin değerlerine göre anlamlı derecede hızlı düştüğü gösterilmiştir (181).

### **Deri döküntüsü**

Fototerapi alan bebeklerde toplu iğne başı büyüklüğünde geii eritematöz döküntüler olabilir. Bu döküntüler fotosensitizasyon ile ilişkili deri mast hücrelerinden salınan histamin nedeniyle meydana gelir (5).

Direkt bilirubin artışına bağlı purpura ve büllöz döküntüler oluşabilir. Bilirubin işık duyarlaştırıcı olduğu için konjenital eritropoetik porfiride fotosensitivite ve şiddetli bl oluşumuna neden olabilir ve fototerapi bu hastalıkta kontendikedir (151).

### **Gastrointestinal sistem üzerine etkileri**

Fototerapi sonucu artan nitrik oksit düz kasları relakse eder. Nitrik oksit ve bağırsağa atılan indirekt bilirubin nedeniyle bağırsak salgıları artar. Buna bağlı olarak sulu dışkılama, ishal ve siyah-yeşil gayta çıkışı görülebilir. Oksijen kullanımında artma, solunumda hızlanma, karında distansiyon gelişebilir (100,182). Karın distansiyonunun fazla ağlama nedeniyle hava yutulması, göz bandına bağlı oryantasyon kaybı ve bandın lokal irritasyonu veya bandın vagal uyarı yoluyla gastrointestinal otonomik fonksiyonlara direkt etkisi ile oluşabileceği belirtilmiştir (183).

Fototerapi alan çok düşük doğum ağırlıklı bir bebekte ileus tanımlanmıştır (184). Raghavan ve ark.'nın Avustralya' da yaptıkları bir çalışmada çok düşük ağırlıklı yenidoğanlarda indirekt hiperbilirubinemi nedeniyle fototerapi uygulanan grupta fototerapi uygulanmayanlara göre daha yuksek sıklıkta ileus görüldüğü bildirilmektedir (187).

## **Trombositopeni**

Fototerapi alan bebeklerde hemoliz artabilir. Ayrıca fototerapi sırasında trombositlerin yıkımı da hızlandığından, kemik iliği kompensasyonu yetersiz kalırsa trombositopeni gelişebilir (185). *In vitro* mavi ışığa maruz kalan trombositlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma olduğu gösterilmiştir (186).

## **Bronz bebek sendromu**

Bu sendromda serum, idrar ve cilt birkaç saat içinde kahverengi siyah bir görünüm alır. Kolestaz nedeniyle biliyer ekskresyonun yetersiz kaldığı ve safra pigmentinin foto-ürünlerle birlikte retansiyonu sebebiyle olduğu sanılmaktadır. Lumirubinin yıkılmasıyla ortaya çıkan kahverengi pigmentler, tipik deri döküntüsünün rengini verir. Ayrıca serumda artan koproporfin ve foto yıkım ürünlerinin bu tabloya neden oldukları ileri sürülmüştür (146). Bu sendromun geliştiği tüm yenidoğanlar sekelsiz iyileşirler, yalnız literatürde bir term yenidoğan ölmüş, otopsisinde kernikterus saptanmıştır. Kolestazlı veya konjuge hiperbilirubinemili hastalarda fototerapi kullanılmaması tavsiye edilir (5,146).

## **Cilt yanıkları**

Kullanılan fototerapi cihazlarının düzenli bakımlarının yapılması gerekmektedir. Ultraviyole filtrelerinin zamanında değiştirilmemesine bağlı cilt yanıklarının geliştiği görülmüş ve rapor edilmiştir.

## **Hemoliz**

Mavi ışığın *in vitro* olarak oluşturduğu oksidatif incinme eritrosit membran ATP'az aktivitesi ve potasyumun kaybına, lipit peroksidasyonu ile eritrosit membran lizisine neden olur. Ratlarda fototerapi sonrası eritrosit ozmotik frajilitesinin arttığı gösterilmiştir. Bazı hastalarda görülen fototerapiye bağlı eritrosit hasarının nedeni oksidatif incinme sonucu oluşan lipit peroksidasyonudur (100,151,158,188).

## **Hipokalsemi**

Fototerapi alan pretermelerde hipokalsemi görülebilir. Bu etki fototerapi ile uyarılan pineal bezden melatonin salgılanmasının azalması ile açıklanmaktadır (5,6).

## **Patent duktus arteriosus (PDA)**

Fototerapi alan 1000 g'ın altındaki bebeklerde PDA riski artmıştır. Bu bebeklerde PDA'nın cerrahi olarak kapatılması da, almayanlara oranla 2 kat daha fazla gözlenir. Tam olarak belli olmamakla beraber, duktus düz kaslarının içindeki kontraktıl proteinlerin oksidasyonu, direkt nitrik oksit benzeri etki ve oksijene bağlı kontraksiyonun önlenmesi gibi mekanizmalar neden olabilir (189). Ancak fototerapi ile PDA arasında ilişki olmadığını çalışmalar da vardır (190).

## **Riboflavin eksikliği**

Riboflavin insan vücudundaki enzim sistemlerinin kullandığı bir koenzim olup, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlarda çeşitli fotokimyasal

reaksiyonlarda fotoreseptör olarak kullanılır. Bilirubin ile aynı dalga boyundaki ışıktan etkilenir. İn vitro olarak indirekt bilirubinin fotooksidasyonunu arttırır (191). Knobloch ve ark. (7) çalışmalarında, fototerapi alan yenidoğanlarda kan riboflavin seviyesinin hipovitaminoza yol açacak kadar düştüğünü ve oral riboflavin uygulaması ile fototerapi süresinin kısaldığını göstermişlerdir. Riboflavin seviyesindeki düşme, eritrositlerin NADPH sentez yeteneğini, G6PD ve glutatyon redüktaz aktivitelerini azaltarak, hücreyi oksidatif strese duyarlı hale getirir. Ancak oksidatif hasarı engelleyecek olan riboflavin düzeyi bilinmemektedir. Yenidoğanlarda riboflavin konsantrasyonu fototerapiye başladıktan 18 ile 24 saat içinde üçte bir oranında azalır. Günlük 0.3 mg riboflavin desteği ile bu azalmanın engellenebileceği düşünülmektedir (191). Bu etki ciltleri daha ince olan prematürlerde daha belirgindir (8).

### **Endokrin yan etkiler**

Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde hipokalsemi gelişebilir (6). Nedeni tam olarak bilinmemekle lüteinizan hormon, folikül stimule edici hormon düzeyinin azaldığı ve büyüme hormonunun normal gecelik yükselmesinde blokaj olduğu, fototerapi kesildikten sonra bunun normale döndüğü gösterilmiş, ancak nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (9).

### **Büyüme gelişme üzerine etkiler**

Fototerapi alan bebeklerin uzun süreli izlemlerinde, fototerapinin bebeklerin büyümesi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bu bebeklerde ilk haftada tartı alımı yavaştır ancak daha sonra aradaki fark kapanır ve ileri yaşlarda da herhangi bir fark görülmez (5,6).

### **Gonadal hasar**

Fototerapi ışınları skrotum cildi ve belki de overlere penetre olduklarından gonadal hasar yapma riski nedeniyle fototerapi sırasında gonadların örtülmesi önerilmektedir (10,32). Ülkemizden Koç ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada fototerapi uygulanmış yenidoğan ratların postnatal 24. haftada testislerinde histolojik olarak dejeneratif değişiklikler saptanmıştır (192).

### **Oksidatif stres**

Yüksek enerjili ışık, gelişmekte olan bir bebekte potansiyel olarak tehlikeli olabilir. Fototerapiye bağlı potansiyel toksik etkiler indirek bilirubinun fotodinamik reaksiyonları fotooksidasyonla duyarlandırması sonucu hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi serbest radikaller ve bunların metabolitlerinin oluşmasına bağlı olarak gelişebilir. Bu metabolitlerin oluşturduğu oksidatif stres lipit peroksidasyonuna neden olur. Bu olay doymamış yağlardaki çift bağlarda gerçekleşir. Işık reaksiyonları, UV ışıklarını absorbe eden polipeptit zincirlerdeki aromatik amino asitlerde serbest radikal oluşumuna da yol açar. Sonunda hücre zarları ve nükleik asitler gibi önemli organik bileşikler zarar görür (11,100,193).

Ayrıca fototerapinin yenidoğan döneminde gerekli olabilecek antioksidanların kan dolaşımı ve dokulardan uzaklaştırılmasına neden olarak oksidatif strese neden olabileceği de ileri sürülmektedir (11,193).

Ayçiçek ve arkadaşları 34 sağlıklı term bebeği aldıkları bir çalışmada 3 ila 10 gün arasında fototerapi uygulanmış bebeklerde serum ürik asit, C vitamini, malon dialdehit (MDA) ve total bilirubin düzeylerini düşük; buna

karşılık serum total oksidatif stres indeksi, lipid hidroperoksit ,düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (194).

Yine ülkemizden Atıcı ve arkadaşları, fototerapinin antioksidan sistemler üzerine etkilerini inceledikleri bir araştırmada fototerapi uygulanmış, sağlıklı, term, 56 bebek ve 55 kontrol grubu hastayı karşılaştırmışlar; fototerapi uygulanan grupta total antioksidan kapasite ve MDA düzeyini kontrol grubuna göre daha yüksek; G6PD düzeyinin ise daha düşük olduğunu bulmuşlar ve bu sonuçlar ışığında fototerapinin antioksidan bir strese yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir (195).

Başka bir çalışmada fototerapi almış yenidoğan eritrositlerinde ATP az aktivitesinin ciddi düzeyde azaldığı ve lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir (196).

Fototerapinin yol açtığı oksidatif stresin hücre lipid, protein yapıtaşları ve DNA üzerinde oluşturduğu hasarın özellikle çok düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda bronkopulmoner displazi,intraventriküler kanama, iskemi reperfüzyon hasarı, premature retinopatisi, nekrotizan enterokolit , akut tubuler nekroz ve PDA gelişimine altyapı hazırladığı düşünülmektedir(197,198,199).

Yeni LED teknolojili fototerapi cihazlarının fotooksidasyon etkisini minimuma indireceği düşünülmektedir (198).

### **Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri**

Fototerapinin periferik kan akımını azaltıp kardiyak outputu değiştirdiği ve stroke volümü azalttığını ileri süren çalışmalar vardır. Fototerapinin bu etkisinin artmış cilt sıcaklığının sempatik aktiviteyi artırıp kardiyak vagal

aktiviteyi bastırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Stroke volümdeki çok küçük oynamalar bile çok küçük pretermelerde doku perfüzyonunu bozması açısından önemlidir (14, 200, 201,202).

Konvansiyonel fototerapinin fiberoptik fototerapiye göre daha fazla beyin kan akımını attırdığı rapor edilmiştir (203).

### **Fototerapinin genetik materyal üzerine etkileri**

Fototerapi lambalarının yaydığı ışıkların spektrumunda görünür ışık yanında, görünmeyen ultraviyole (UV) ışıkları da bulunmaktadır (204,205). UV ışıkların genetik etkileri; moleküler düzeyde olabileceği gibi (DNA, kromatit ve kromozom), hücre, doku ve organlar düzeyinde de olabilir (206,207). DNA, UV ışınlanmasında birinci dereceden biyolojik bir hedefdir (208). UV'nin prokaryot (bakteriler) ve ökaryot hücreler üzerinde genotoksik etkisi çok iyi bilinmektedir (209-212). Çocuk-erişkin ve sadece erişkinleri içeren hasta gruplarında, psöriyazis ve bir kısım genetik geçişli cilt hastalıklarını psöralen ve/veya UV ışıkları ile tedavisinden sonra UV'nin genotoksik, mutajen ve kanserojen olduğu gösterilmiştir (213-216).

Fototerapide kullanılan yüksek etki gücüne sahip görünür ışığın in vitro olarak DNA zincir kırıkları ve DNA hasarının bir göstergesi olan kardeş kromatid değişimini arttırdığı ve mutasyonlara yol açtığı rapor edilmiştir (217).

Micrococcus bakterileri üzerine bilirubin ekleyip 450 nm'de mavi floresan ışık uyguladığında, fotoreaktivasyonun DNA molekül yapısını ve DNA aktivitesini değiştirdiği ve DNA kırıkları oluşturduğu bildirilmiştir (218).

450–465 nm dalga boylarındaki mavi ışığa maruz bırakılan HeLa hücrelerinde DNA hasarı olduğu bildirilmiştir (219).



Kültüre edilmiş V-79 Çin hamster böbrek hücreleri 300-700 nm'de mavi, yeşil ve kırmızı ışık yayan ışık üç ayrı ışığa maruz bırakılmış, mavi ışığın göreceli olarak yeşil ve kırmızı ışığa göre tek zincir kırıklarından daha fazla sorumlu olduğu ve yine kardeş kromatid değişiminin mavi ışık bandında diğerlerine göre iki kat daha fazla olduğu rapor edilmiştir (220).

UV'ye yakın ışık (405 nm) ve mavi ışık (434 nm) kullanılarak Çin hamster over hücreleri ile yapılan başka bir çalışmada hücrelerde oluşan DNA kırığının ve kırıkların tamirindeki yetersizliklerin her iki ışık grubunda da aynı miktarlarda anlamlı düzeyde olduğu ve korelasyon gösterdiği tespit edilmiş, DNA'nın, görünür ışığın indüklediği hücre ölümü için önemli bir hedef olduğu iddia edilmiştir (221).

Başka bir çalışmada yetişkin fare hücreleri 24 saat boyunca 400-600 nm ışık yayan floresan ışığa tabi tutulmuş, bu hücrelerde kromatid kırıklarının arttığı saptanmış; ortama C vitamini eklenmesiyle kırıklar azalmıştır. Kromatid kırıklarının sorumlusunun hücre veya kültür ortamında bulunan hidrojen peroksit olabileceği düşünülmüştür (222).

İnsan lenfosit hücre kültürleri, tepe ışık yayılımı 450 nm olan mavi lamba ışıklarına maruz kaldığında DNA yıkım ürünlerinin arttığı gösterilmiş, en fazla mutajenik aktivitenin 450 nm'de olduğu rapor edilmiştir. Yine insan lenfosit hücre kültürleri ve floresan ışıkla yapılan başka bir çalışmada, tek iplikçikli DNA kırıkları gösterilmiştir (223,224).

İnsan fibroblast kültürleri gün ışığı, mavi ışık ve özel mavi ışık ile ışınlanmış, bilirubin ya da riboflavin gibi ışığa duyarlılığı arttıran hücre içi kromoforlar varlığında fototerapinin mutajenik etkilerinin daha kolay ve daha hızlı olduğu, bu maddelerin varlığında 30-40 kat daha fazla kromozom hasarı meydana geldiği, ayrıca DNA hasarının özel mavi ışıkla daha fazla arttığı rapor edilmiştir (217).

Glioblastom hücreleri değişik bilirubin konsantrasyonlarında ve bilirubin olmadan,  $450\pm 10\text{nm}$ 'de ışık yayan mavi ve yeşil fototerapi lambalarına maruz bırakılmış, DNA'larda tek ve çift zincir kırıkları olduğu, ışık yıkım ürünlerinin artan süre ile birlikte daha çok arttığı, bilirubin konsantrasyonu arttıkça yıkımın daha fazla olduğu görülmüştür (225). *In vitro* olarak yapılan çalışmalarda görünür ışık spektrumunun DNA hasarı, DNA sentez inhibisyonu ve hücre yaşam süresinin azalmasında çok etkili olduğu gösterilmiştir (226). Floresan ışıklara bağlı *in vitro* genotoksisite doza bağımlı olarak artmakta ve en çok mavi ışıkta görülmektedir (225).

Literatürde, fototerapide kullanılan floresan ışığın yenidoğanda genotoksik etkilerini *in vivo* olarak inceleyen çok az sayıda çalışma mevcuttur. Daha çok kardeş kromatid değişimi yöntemi ile yapılan bu çalışmalar genellikle az sayıda ve homojen olmayan olgu grupları ile yapılmış ve standart yöntemler kullanılmamıştır. Dolayısıyla çalışma sonuçları birbiriyle uyumsuz ve çelişkilidir (227-234). Ayçiçek ve arkadaşları konvansiyonel fototerapi ve sürekli yoğun fototerapi uygulanmış term bebekler ve kontrol grubunu karşılaştırdıkları bir çalışmada periferik mononükleer hücrelerde DNA hasarı araştırmış; konvansiyonel fototerapi ve sürekli yoğun fototerapi alan grupta mononükleer hücrelerde kontrol grubuna göre anlamlı oranda artmış DNA hasarı bulmuşlardır (235).

### **Bağışıklık sistemi üzerine etkileri**

Literatürde fototerapinin immün sistem üzerine baskılayıcı etkileri olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (12,13)

Kurt ve arkadaşları, fototerapi uygulanmış 21 term bebeği kontrol grubuyla karşılaştırdıkları çalışmalarında fototerapi almış grupta kontrol grubuna göre serum TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL8 düzeyinde anlamlı oranda düşüş saptamışlardır (13).

### 2.3.6 Fototerapi Tipleri

#### Floresan lambalar

Soğuk beyaz, mavi, özel mavi, turkuaz ve yeşil ışık veren tipleri vardır. En yaygın kullanılan tipi özel mavi ışık yayan F20 T12/BB ve TL52/20W (Philips, The Netherlands) 'dır (236). Mavi ışık bebeğin siyanozunu gizleyebileceği, çalışanlarda mide bulantısı, baş dönmesi, vertigo gibi etkilere yol açtığı için son yıllarda % 50 oranda beyaz ışıkla kombine edilen türleri daha çok kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu kombinasyon bir miktar da olsa fototerapinin etkinliğini azaltmaktadır. Kırk santimetreden uygulandıklarında özel mavi ışık yayan cihazın irradyansı  $24 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  iken kombine ışık kaynağının irradyansı  $11 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  dir (237,238). Özel mavi lambalar mavi-yeşil spektrumunda ışık sağladıklarından daha etkindirler ve cilde daha iyi penetre olup bilirubin tarafından üst düzeyde emilebilirler (130).

#### Halojen lambalar

Halojen lambalarla bir veya birden çok metal halojen ışık sistemi kullanılarak çok yüksek bir etkinlik (  $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ 'yi aşan ) sağlanabilir. Ancak bu sistemle çok miktarda ısı üretildiğinden özellikle yakın uygulamalarda bebeklerde termal yanıklara ve personelde gereğinden fazla UV maruziyetine sebep olur (239).

#### Fiberoptik sistemler

Fiberoptik sistemler 1980li yılların sonundan itibaren kullanıma girmişlerdir (240). Tungsten- halojen bir lambadan gelen terapötik ışık fiberoptik bir kablodan geçerek plastik bir minderin içindeki fiberler tarafından

yansıtılır. Bebek minderin üzerinde yatarken bebeğe alttan fototerapi uygulanır. Bu tedavi sırasında göz bandı uygulanmasına gerek kalmaz ve bebeğin ısı dengesinin sağlanması kolaylaşır (241,242). Etkinliği oldukça yüksektir ( $35 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ ). Ancak oldukça küçük bir vücut yüzey alanı üzerinde etkin olması dezavantajdır. Konvansiyonel yöntemlere yardımcı olarak kullanılabilir (239,243,244).

### **LED fototerapi (*high intensity gallium nitride lightemitting diodes* /Yüksek yoğunluklu galyum nitrit yayan diiyotlar)**

Yeni bir teknolojinin ürünü olan LED fototerapinin konvansiyonel fototerapi yöntemlerine göre pek çok üstünlüğü vardır. Özellikle yüksek yoğunluklu mavi ışık LED leri  $470\pm 60$  nm dalga boyunda ışık yayarlar ve bu, bilirubin pik soğurulma spektrumuyla örtüşmektedir. LED cihazlar elektrik enerjisinin ışık enerjisine standart fototerapi cihazlarından daha verimli bir şekilde dönüştürürler. Daha uzun ömürlüdürler (ortalama 20000 saat) ve bu da bu cihazları daha düşük maliyetli yapar. Standart fototerapi cihazlarına göre daha az ısı yaydıkları için ısıya bağlı yanık, dehidratasyon gibi yan etkiler daha az görülür. Çok az UV ve kızıl ötesi ışın yaydıkları için bebeğe daha yakın uygulanabilir.

Küvöze monte edilerek, battaniye içine konularak veya esnek bir silikon devre içine konularak kullanılabilirler (239,245,246).

İndirekthiperbilirubinemi tedavisinde LED fototerapinin floresan ve halojen lambalardan daha etkin olduğunu gösteren pek çok invitro ve invivo çalışma vardır. Günümüzde  $100 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ lik irradyansa sahip cihazlar vardır ( 245,247,248).

Ancak yüksek yoğunluklu LED fototerapinin güvenilirliği ile ilgili yeterli kontrollü çalışma olmadığından dikkatle kullanılmalıdır (239).

## **2.4. APOPİTOZİS**

### **2.4.1. Tanım ve Tarihçe**

Apopitozis, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasar görmüş hücrelerin, çevredeki komşu hücrelere zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen, enerji bağımlı, programlı bir hücre ölüm şeklidir (249- 251). Yunanca kökenli bir kelime olup, apo (ayrı) ve ptozis (düşen) kelimelerinin birleşmesinden oluşmuştur. Homer tarafından ağaçların sonbaharda yaprak dökümünü tanımlamak için kullanıldığından, hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır (252,253).

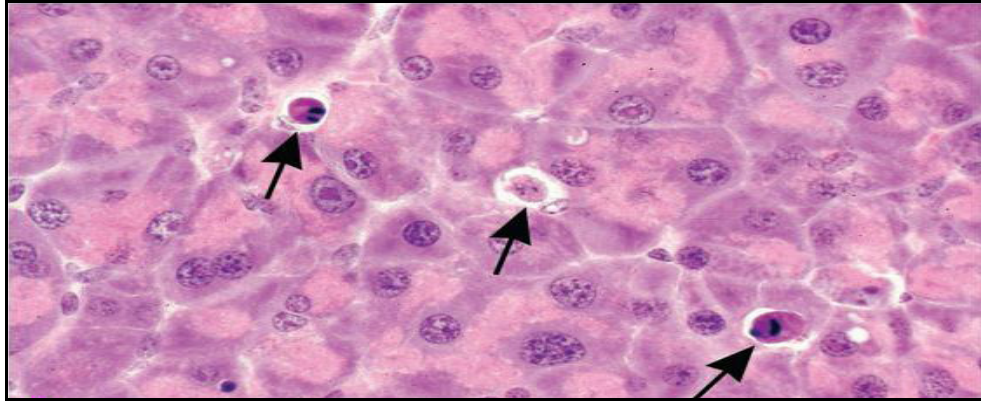
Apopitozis, hem hücresel homeostazisin devamlılığı hem de hücre çoğalması ve farklılaşmasında çok önemli olan hücre eliminasyonu için gerekli fizyolojik bir işlemdir ve hücrenin kendi genetik yapısında kodlanmış program sonucu oluşmaktadır. Aynı zamanda hücrenin intiharı olarak da adlandırılmaktadır ve dokulardaki hücre sayısını kontrol altında tutmak için en önemli sistemlerden biri olarak kabul edilmektedir (249-251). Apopitozis ile organizmada hasar görmüş veya tehlike potansiyeli olan hücrelerin, çevreye zarar vermeksizin ortadan kaldırılır. Bu işlem hem çok hücreli organizmaların normal gelişim süreci olan embriyogenezis sırasında, hem de erişkinlerde nerdeyse bütün dokularda hücresel çoğalma ve yenilenme arasındaki homeostatik dengenin ve doku içeriğinin kararlılığının korunması için gereklidir (254). Fetusda normal doku gelişiminin temel özelliğidir. Embriyo döneminden başlayarak tüm yaşam boyunca apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü vardır. Organizmadaki hücreler bir yandan sentez edilirken bir yandan da hücre ölümü gerçekleşir (255,256). Programlı hücre

ölümü embriyonik gelişim sürecinin ve normal hücre döngüsünün bir parçasıyken; uygun olmayan apoptozis alzheimer, AIDS, huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar, otoimmün hastalıklar ve bazı kanser türleriyle ilişkilendirilmiştir (257,258).

Hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin keşfedilmesi ve ilk olarak "nekrozun" tanımlanmasıyla başlamıştır. Morfolojik olarak ayrı bir hücre ölüm biçimini tanımlamak için, 1972 yılında ilk defa Kerr, Wyllie ve Currie tarafından „apoptozis“ terimi kullanılmıştır (259,260). John Kerr ve Andrew Wylie günümüzde apoptozisi keşfedenler olarak kabul edilmektedirler. Kerr, yoğun kromatin parçaları içeren ve organelleri iyi korunmuş çekirdek kümeleri tanımlamıştır. Dokuda tek tek hücrelerin azalması ile karakterize bu hücre ölümüne apoptozis adı verilmiştir (259). Wylie, olgunlaşmamış timus hücrelerinin glukokortikoidlere maruz bırakıldığında apoptozise uğradıklarını saptamıştır. Wylie bu çalışmada, apoptotik hücre DNA'sının elektroforetik jel ayrımını yaparak, hücrede DNA bütünlüğünün kalmadığını, apoptotik hücre için karakteristik olan merdiven tarzında DNA bantlarının oluştuğunu göstermiştir (251).

#### **2.4.2. Apoptozis Morfolojisi**

Apoptozis, klasik hücre ölüm şekli olan nekrozisden morfoloji ve mekanizma açısından daha özgün bir hücre ölümüdür. Yapılan çalışmalarda, ışık ve elektron mikroskopunda apoptozis sırasında oluşan morfolojik değişiklikler tanımlanmıştır. Apoptozda asıl morfolojik olay, çekirdeğin yoğunlaşması ve parçalara ayrılmasıdır (261) (Şekil 2.16).



**Şekil 2.16.** Fare ekzokrin pankreasında apoptotik hücreler

\* Oklar fare ekzokrin pankreasında kondanse sitoplazma ve hiperkromatik boyanmış nükleer kromatin parçaları şeklinde apoptotik hücreleri göstermektedir (262).

Hematoksilen-eozin ile boyanmış dokularda, apoptoz tek hücreyi veya hücre kümelerini tutar. Apoptotik hücreler oval veya yuvarlak, yoğun eozinofilik sitoplazmalı, dens nükleer kromatin parçaları ile birlikte görülür. Apoptoz 30– 60 dakika gibi kısa bir sürede tamamlanır. Hücre küçülmesi ve apoptotik cisimlerin oluşması hızlıdır ve parçalar hızla fagosite edilir, parçalanır veya lümene dökülür. Histolojik kesitlerde görünür olmadan önce dokuda anlamlı apoptoz meydana gelebilir. Apoptoz, nekrozdaki farklı olarak inflamasyon oluşturmaz ve bu da histolojik olarak saptanmasını güçleştirir (263,264).

Apoptotik hücrelerin ortaya çıktığı kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde, bu hücrelerin etrafında parlaklık göze çarpmaktadır. İmmun elektroforez yapıldığında '*ladder pattern*' olarak tarif edilen merdiven şeklinde bir görünüm ortaya çıkar (265). Elektron mikroskopunda apoptoz sırasında, kromatinin yoğunlaşması, sitoplazmanın büzülmesi, plazma zarının kabarması, mitokondri dış zarında şişme, mitokondrial membran aralığına sitokrom c ve bir oksidoredüktaz ile ilişkili flavoprotein olan Apoptozis İndükleyici Faktör (AİF) salınımı en önemli morfolojik değişikliklerdir (266).

## Hücre büzülmesi

Apopitozisin erken evresinde hücreler birleşme bölgelerinden ayrılır, organellerini kaybederek boyutları küçülmeye başlar, sitoplazmaları yoğunlaşır. Bu büzüşmenin nedeni plazma membranında bulunan Na, K, Cl taşıyıcı sistemin fonksiyonunu yitirmesi nedeniyle hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin ortadan kalkmasıdır. Organeller normal olmalarına rağmen göreceli olarak daha sıkı bir hal alırlar. Bunu takiben kabarcıklaşmalar oluşur ki bu yapılar 'zeiozis' adını alırlar (266-268).

## Apopitotik cisimlerin oluşumu

Hücre hacminin azalmasını ve organellerin küçülmesini takiben zarda tomurcuklaşmalar oluşur ve hücre sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apopitotik cisimciklere parçalanır. Bu aşamada organel bütünlükleri korunur. Zardaki tomurcuklaşma ve parçalara ayrılma olayında transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır. Apopitotik cisimlerin bir kısmı yoğun olarak hücre organellerini içerirken, bir kısmında çekirdek kalıntıları yer alır.

Bu cisimler genellikle hücreler arası alanlarda gözlenirler. Karaciğer ve böbrek üstü bezi korteksinde sinüzoidleri çevreleyen hücrelerde ve parankim hücreler arasında gözlenebilirler. Bazen kan damarlarına girebilirler. Apopitotik cisimler hızlıca makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Fagosite edilmeyen apopitotik cisimler daha sonra şişer ve dejenere olurlar (269).

## Kromatin kondansasyonu

Apopitozun en karakteristik özelliğidir. Kromatin nükleer membranın altında iyi sınırlı, yoğun kitleler olarak kümelenir. Çekirdek değişikliklerine, endojen kalsiyum-magnezyum bağımlı nükleazların aktivasyonu neden olur.



Bu nükleazlar bazı hücrelerde sürekli olarak bulunurken bazılarında apoptozisten önce görülürler (270). Kromatindeki değişikliklerin başlamasının hemen öncesinde sitozolik  $Ca^{++}$  düzeyinde önemli bir artış olmaktadır. Kromatin kondansasyonu, nukleozomlar arasındaki bağlantı bölgelerinin ayrılması ile karakterizedir (268). Endonükleaz enzimi DNA' yı 200 baz çiftlik parçalara ayırır. Bu kırılmalar jel elektroforezde merdiven paterninin oluşmasına neden olur. Normalde bir hücrede birbirini takip eden 7 kırılma onarılırken, apoptoziste yaklaşık 300 000 kırılma meydana gelir ve hücre onarımı yapılamaz (263-271).

### **Apoptotik cisimler ve hücrelerin fagositozu**

Apoptotik hücrelerin tanınması, plazma zarındaki değişikliklerle olur. Fosfolipitler, yani iç tabakada bulunan fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin ile dış tabakada bulunan fosfatidilkolin sağlam bir hücrede asimetrik olarak dağılmıştır. Bu asimetri ATP'ye bağlı translokaz ile aktif olarak korunmaktadır. Apoptoz sırasında ya ATP translokaz yetmezliği ya da diğer enzim sisteminin aktivasyonu sonucu fosfatidilserin dış yüzey tabakaya yerleşir. Bu durum apoptotik cisimciğin fagositozu için bir uyarıdır. Fagositik hücrelerin reseptörleri fosfatidilserin ile bağlanarak fagositoz uyarılmış olur (265). Yakındaki komşu hücreler, parankimal hücreler ve makrofajlar, apoptotik cisimleri fagosite eder. Apoptotik cisimcikler lizozomlar içinde parçalanır, komşu hücreler ise proliferatif olarak apoptotik hücrenin boşluğunu doldurur (272) Apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanması ve inflamasyon oluşumunu uyarmaksızın, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosite edilirler (266).

### 2.4.3. Apoptozis ve Nekrozis

Hücre ölümü nekroz ve apoptoz olmak üzere başlıca iki şekilde meydana gelir. Apoptozisi daha iyi anlamak için bir başka ölüm şekli olan nekroz ile kıyaslayarak incelemek daha doğru olacaktır. Nekroz ve apoptoz arasında biyolojik ve morfolojik belirgin değişiklikler vardır. Tablo 12'de bu farklılıklar görülmektedir.

Hücre içi ATP seviyesi hücrenin apoptozis veya nekroz ile öleceğine yön vermektedir. Bu da apoptozisin erken fazında mitokondrinin önemini göstermektedir. Mitokondrinin ciddi olarak hasar gördüğü durumlarda, apoptotik yol için gerekli olan enerji sağlanamamakta ve hücre nekroz ile ölmektedir (275).

**Tablo 2.12.** Apoptoz ve nekroz arasındaki farklar(254, 273,274)

<b>ÖZELLİK</b>	<b>NEKROZ</b>	<b>APOPTOZ</b>
<b>Yol açan nedenler</b>	İskemi Hipertermi Hipoksi Litik viral enfeksiyon Toksik meddelerin yüksek konsantrasyonları Şiddetli oksidatif stres	Büyüme faktörü eksikliği Hücre yaşlanması HIV Kanser ilaçları Radyasyon Yüksek doz glikokortikoid Fas veya TNF-1 reseptör aktivasyonu Sitotoksik T lenfositler Çok şiddetli olmayan oksidatif stres
<b>Temel farklar</b>	KontROLSÜZ mekanizma Hücrelerin gruplar halinde ölmesi Patolojik şartlarda oluşma	Kontrollü mekanizma Hücrelerin tek tek ya da birkaçının birarada ölmesi Fizyolojik şartlarda oluşma
<b>Morfolojik özellikler</b>	Hücre zarı bütünlüğünün kaybı Hücre şişmesi Kromatinin nükleusun her yerinde yaygın olması Organel disintegrasyonu Mitokondriyal değişiklik var Büyük vakuollerin oluşumu Hücre lizisi	İntakt hücre zarı Hücre küçülmesi Kromatinin nükleer membranın hemenaltında yoğunlaşması Organel disintegrasyonu yok Mitokondriyal değişiklik yok Büyük vakuollerin oluşumu yok Hücrenin intakt mitokondri, çekirdek, ribozom ve diğer organelleri içeren apoptotik cisimlere parçalanması
<b>Biyokimyasal özellikler</b>	ATP gerektirmeyen pasif süreç + 4 °C'de gerçekleşebilir DNA rastgele parçalanır (jel elektroforezde smear görüntüsü) Postlitik DNA fragmentasyonu (Ölümün geç evresinde)	ATP gerektiren aktif süreç + 4 °C'de gerçekleşmez DNA internüklozomal alanlarda 180 kb baz çiftinin katları olacak şekilde parçalanır (jel elektroforezde merdiven görüntüsü) Preolitik DNA fragmentasyonu (Ölümün erken evresinde)

#### 2.4.4. Apoptozis Mekanizmaları

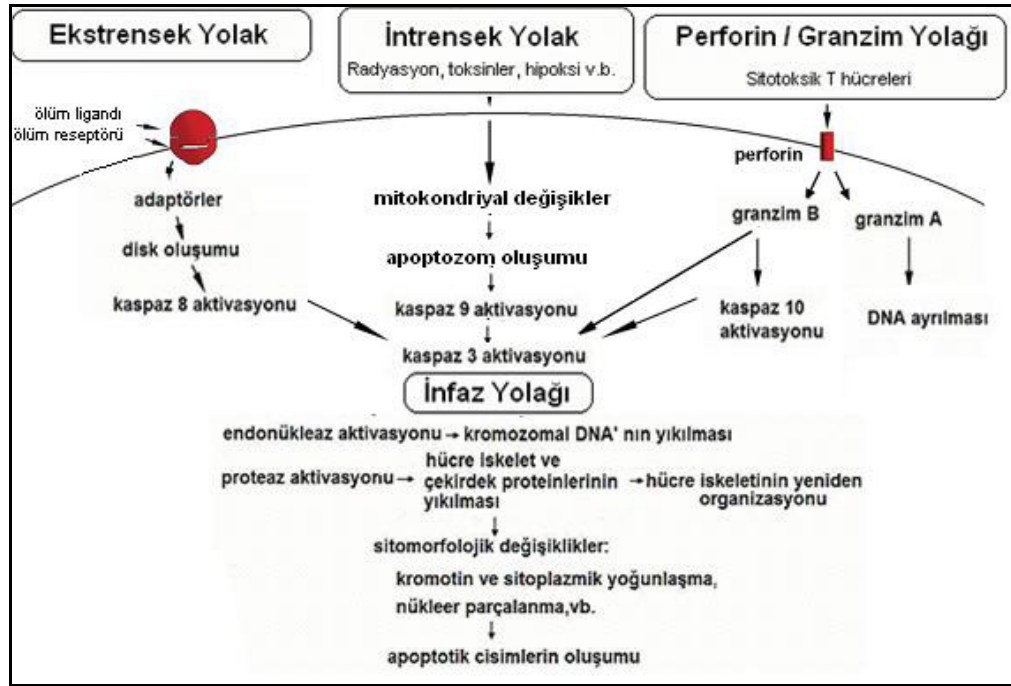
Apoptozis süreci; DNA hasarına genlerin yanıtı, hücre membranı tarafından ölüm sinyallerinin alınması (Fas ligandı), hücreye doğrudan proteolitik enzim girişi (granzim) olmak üzere üç farklı şekilde işleyebilir (276). Apoptoz sürecinde belli başlı üç anahtar bileşen vardır. Bunlar; Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteindir. Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur. (277,278)

Tümör nekroz faktörü (TNF), nöron büyüme faktörü (NGF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), IL-2 gibi maddelerin ortamda azalması, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), glukokortikoidler, radyasyon, ilaçlar, Fas/FasL, sFas proteinleri, virüsler hücre dışı uyarı yoluyla hücreyi apoptozise götürebilir (276). Bu uyarılar hücre içinde Ca artışına neden olarak cAMP gibi hücre içi ikincil habercileri aktive edebilmektedir. Örneğin sitoplazmik Ca<sup>++</sup> miktarındaki artış, c-fas, c-myc, sıcak şok proteini gibi mRNA basamaklarını harekete geçirir. Ayrıca apoptoziste etkili endonükleaz, transglutaminaz gibi enzimleri de aktive eder. Bunlar da kromatinde parçalanmaya, hücre iskeletinde ve sitoplazmik proteinlerde değişikliklere neden olur. Sitoplazmik kalsiyum, kalmoludine bağlanırsa apoptozis inhibe edilebilir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmalarda, apoptozise iki ana yolağın neden olduğu gösterilmiştir:

- 1) Hücre içi veya mitokondriyal yolak
- 2) Hücre dışı veya ölüm reseptör yolak

Bununla birlikte bu iki yolun birleştği ve birbirlerini etkileyebildiklerine dair kanıtlar vardır. T hücre aracılı sitotoksiteyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren ek bir yolak (Perforin/Granzim yolağı) da mevcuttur. Bu yolak apoptozisi hem Granzim A hem de Granzim B aracılığı ile tetikleyebilir. Hücre dışı, hücre içi ve Granzim B yolakları aynı son noktada yani infaz yolağında birleşirler. Bu yolak kaspaz-3 ayrımıyla başlatılır ve DNA parçalanması, hücre iskeletinin ve çekirdek proteinlerinin yıkılması, proteinlerin çapraz bağlanması, apoptotik cisimlerin oluşması, fagositik hücre reseptörleri için ligandların ekspresyonu ve son olarak da hücrenin fagositik hücreler tarafından fagositozu ile sonuçlanır (Şekil 2.17.) (279).



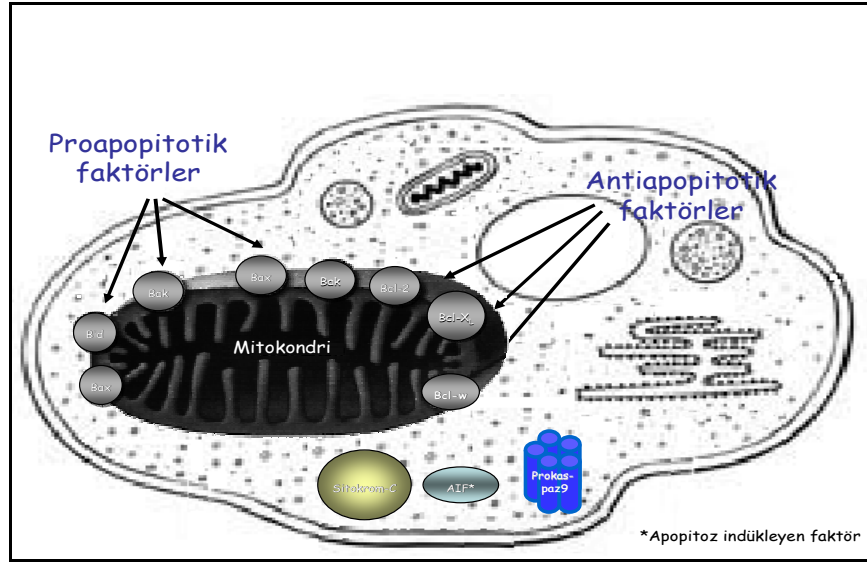
Şekil 2.17. Apoptoziste yollar (280).

### 1) Hücre içi veya mitokondriyal yolak

Hücre içi yolak doğrudan hücre içi hedeflere etki eden reseptörden bağımsız uyarının farklı bir düzenini içerir ve mitokondriyal başlangıçlı bir dizi olayı kapsar. Hücre içindeki pozitif veya negatif bir sinyal, intrasek yolağı başlatabilir. Negatif sinyaller büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve hormonların

eksikliğini içerir. Pozitif sinyaller ise radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikallerdir.

Hücre ölümünün düzenlenmesinde mitokondri önemli görevler üstlenir. Bcl-2 ailesinin bazı üyeleri mitokondri membranının dış yüzeyinde yer alır ve bu yolağın kontrolünde önemli rol oynarlar. Bcl-2 gen ailesi üyeleri, kendi içlerinde birbirlerine karşı çalışarak apoptozu uyarıcı veya engelleyen bcl-2 proteinlerini kodlarlar. Bu proteinlerden pro-apoptotik olanlar (Bax, Bak, Bok, Bad, bid, Bim, Bmf) apoptozu uyarırken anti-apoptotik olanlar (Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w) apoptozu engellerler (252, 281, 282). Bcl-2 gen ailesi üyelerinin oranı, hücrelerin yaşamasını veya ölmesini belirler. Tümör baskılayıcı protein p53, Bcl-2 ailesi proteinlerinin düzenlenmesinde kritik bir role sahiptir. Bunların ekspresyon düzeyleri ve aktivasyon aşaması sitokrom c, prokaspaz-2, -3, -9, AİF (apoptoz içeren faktör), endonükleaz G, Smac/DIABLO gibi apoptozu açan moleküllerin salınımına etki eder. Bütün bu faktörler Bax/Bak kanalları ya da mitokondriyal membrandaki spesifik olmayan porlar tarafından serbestlenir. Bax proteini, sitozolde bulunmakta ve apoptotik uyarı alınmasını takiben mitokondri membranına bağlanmaktadır. Burada küçük delikçiklerin oluşumu indüklenerek seçimli iyon geçirgenliği bozulmakta ve sitokrom c (sit C) ile apoptozis indükleyici faktör mitokondriden sitoplazmaya salınmaktadır. Salınan sit C, sitoplazmik bir protein olan apoptotik proteaz aktive edici faktör (APAF-1) ile bağlanmakta ve yapıya ATP'nin ve prokaspaz 9'un eklenmesiyle apoptozom adlı kompleks oluşmaktadır. Daha sonra prokaspaz 9, aktif kaspaz 9'a dönüşerek efektör kaspazlardan prokaspaz 3'ü aktive etmekte ve hücre apoptozise gitmektedir (Şekil 2.18.). Sitokrom C'nin, mitokondriden sitozole salımı, apoptozisin geriye dönemeyen bir döneme girdiğinin göstergesi olarak görülmektedir (283- 287)



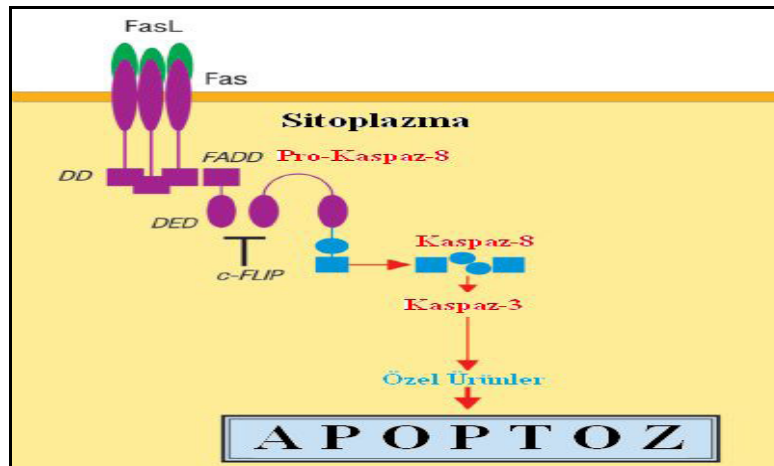
Şekil 2.18. Hücre içi yolak

### 1) Hücre dışı yolak veya ölüm reseptör yolak

Apopitozisin salgıdan bağımsız bu mekanizması, hücre zarı üzerinde bulunan 'ölüm reseptörlerinin' aktivasyonu ile ilişkilidir (Şekil 2.21). Bu mekanizma, bir immün tepki sonunda aktive olmuş T hücrelerinin uzaklaştırılması, virüs ile enfekte hedef hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi ve patolojik durumdaki hücrelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynar (252, 288).

Bu yolak ölüm ligandının kendi reseptörüne bağlanması ile başlatılır. Şu ana kadar, ölüm reseptör ailesinin insanda en az sekiz tanesi tanımlanmıştır. Bunlar; Fas (CD95), TNF-R1, DR-3 (Apo-3, WSL-1, TRAMP), DR-4 (TRAIL-R1), DR-5 (TRAIL-R2), DR-6, EDA-R (ektodermal displazi reseptörü) ve NGF-R'dir. Apoptotik işaretin uyarıcısı olan Fas ligandı (FasL) da TNF ailesinin bir üyesidir. Özellikle sitotoksik T hücreleri ve *Natural Killer* hücreleri üzerinde bulunur. Hücre dışı yolak, tümör nekrozis faktör (TNF) reseptör gen ailesinin üyeleri olan ölüm reseptörlerinin (Fas, tümör nekrozis faktör reseptör (TNFR), interferon (IFN) ve *TNF-related apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) receptors* aktive olması ile apopitozisi başlatır (289). Bu

reseptörlerin, hücre dışında sistinden zengin bağlanma bölgeleri (domain), sitoplazmik tarafta ise 80 aminoasitten oluşan ölüm bağlantı bölgesi (death domain) adı verilen bağlanma bölgeleri vardır. Ölüm bağlantı bölgeleri sitoplazmik adaptör proteinlere bağlanarak, ölüm sinyalinin hücre yüzeyinden hücre içine aktarımında kritik rol oynar (290). Hücre dışı yolakta ardarda gelişen olaylar en iyi Fas/FasR ve TNF- $\alpha$ /TNFR1 modelleri ile tanımlanmıştır. Bu yolak virüsle infekte hedef hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi gibi birçok patolojik durumda hücrelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynar. Fas ligandının, FasR (CD95) reseptörüne bağlanması sonucunda sitoplazmik uzantısı olan FADD (Fas-associated death domain), TNF ligandının TNF reseptörüne bağlanması ile de sitoplazmik kısım olan TRADD (TNF reseptör associated death domain) sitoplazmik adaptör proteinlere bağlanır (291). Prokaspaz-8" in oto-katalitik aktivasyonuna neden olarak ölüm başlatıcı sinyal kompleksi (death-inducing signaling complex, DISC) oluşturulur ve apoptozisin infaz fazı tetiklenir (292).



Şekil 2.19. Hücre dışı uyarımlarla hücrenin apoptoza girmesi.

### 1) Perforin/granzim yolağı

Sitotoksik T lenfositler, hedef hücrelerini ekstrensek yolak ve transmembran delik açan perforin adında bir molekülü sekrete edip sonradan salgılanan sitoplazmik granüllerin bu deliklerden hücre içine geçişini içeren



bir bilinmeyen yolak vasıtasıyla öldürebilirler. Serin proteazlar olan granzim A ve granzim B bu granüllerdeki en önemli bileşenlerdir.

Granzim B, proteinleri aspartat kalıntılarına ayırır, prokaspaz-10' u aktive eder ve ICAD (Inhibitor of Caspase Activated DNase) gibi faktörleri ayırabilir. Bid' in özgün bölünmesi ve Sit C' nin salınmasıyla ölüm sinyalinin gücünü arttırmak için mitokondriyal yolağı da kullanabilir ve ayrıca direkt olarak kaspaz-3' ü aktive de edebilir.

Granzim A da sitotoksik T hücre ile başlatılmış apoptoziste önemlidir ve kaspaz bağımsız yolağını aktive eder. Granzim A hücre içindeyken DNase NM23-H1 vasıtasıyla DNA kodlarını aktive eder ve bir tümör baskılayıcı gen üretir. Bu DNase tümör hücre apoptozisini uyarma yoluyla kanseri engellemede immün denetleme yönünden önemli bir role sahiptir. Nükleozom toplayıcı protein (The nucleosome assembly protein) SET normalde NM23-H1 genini inhibe eder. Granzim A proteaz, SET kompleksini ayırır, böylece NM23-H1' in inhibisyonu kalkar, apoptotik DNA' nın yıkımı gerçekleşir (262).

## 2) İnfaz yolağı

Hücre içi ve hücre dışı yolaklarının ikisi de apoptozisin son yolağı olarak düşünülen infaz (execution) fazında sonlanırlar. Bu fazı başlatan infaz kaspazlarının aktivasyonudur. İnfaz kaspazları, nükleer materyali parçalayan, sitoplazmik endonükleazı, nükleer ve sitoplazmik hücre iskelet proteinlerini parçalayan proteazları aktive ederler. Kaspaz-3, kaspaz-6, kaspaz-7 efektör veya "infazcı" kaspazlar olarak iş görürler. Hücre içindeki birçok substratı ayırır ve sonunda hücrede apoptozise ait morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olurlar (293).

Kaspaz-3' ün en önemli infaz kaspazı olduğu ve herhangi bir başlatıcı kaspazla (kaspaz-8, kaspaz-9, kaspaz-10) aktive olduğu düşünülmektedir. Kaspaz-3 özellikle endonükleaz CAD' ı aktive eder (87ftk). Takiben CAD çekirdekdeki kromozomal DNA' yı parçalar ve kromatin yoğunlaşmasına neden olur. Kaspaz-3 ayrıca hücre iskeletinin tekrar düzenlenmesini ve hücrenin apoptotik cisimcikler içinde parçalanmasını uyarır (294).

Apoptotik hücrelerin fagositozu apoptozisin son bileşenidir ve bu hücrelerin yüzeyinde fosfolipid asimetrisi ve fosfatidilserinin dış yüzeye çıkması ve onların parçaları bu fazın ayırıcı özelliğidir. Hücrelerin dış yüzeylerinde fosfatidilserinin ortaya çıkışıyla noninflamatuvar fagositik tanıma kolaylaşır ve hücreler erkenden ortadan kaldırılırlar. İnflamatuvar olmayan cevaptan esas olarak bu sürecin erken, etkili gerçekleşmesi ve hücrenel bileşenlerin salınmaması sorumludur (262).

#### **2.4.5. Apoptozisin Genlerle Kontrolü**

Apoptozun genetik mekanizması ilk kez *Caenorhabditis elegans* isimli nematodun gelişim aşamalarında belirlenmiştir (295).

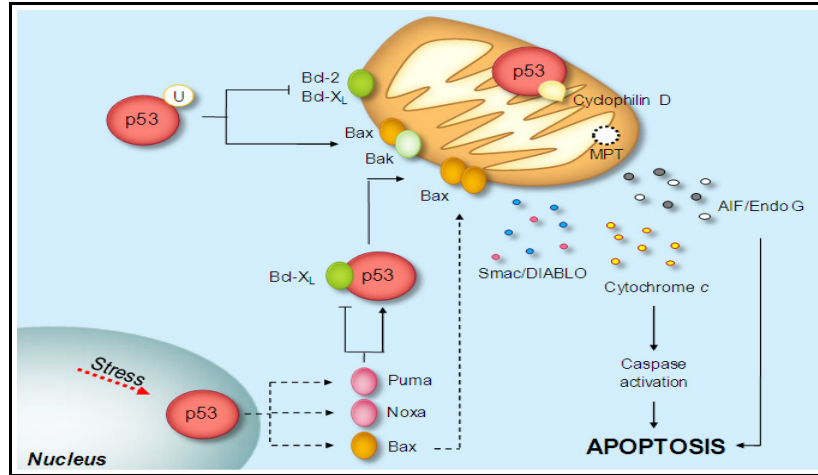
Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır (265) ( tablo 2.13 ). İnsanda apoptozun düzenlenmesi, p53 ile başlayan ve kaspazlara kadar devam eden bir süreçtir.

**Tablo 2. 13.** Apoptozisi kontrol eden genler

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
Bcl-2 <ul style="list-style-type: none"> <li>• BHRL-1</li> <li>• bcl-xl</li> <li>• bcl-w</li> <li>• bfl-1</li> <li>• brag-1</li> <li>• mcl-1</li> <li>• A1</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nr-13</li> <li>• ras onkogeni</li> <li>• Ced-9</li> <li>• p35</li> <li>• A20</li> </ul>	Bcl-2 <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bad</li> <li>• Bax</li> <li>• Bak</li> <li>• Bcl-xS</li> <li>• Bid</li> <li>• Bik</li> <li>• Hrk1</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• c-myc</li> <li>• p53, p21</li> <li>• fas (CD95/APO1)</li> <li>• (ICE)</li> <li>• LOH (MTS1/CDK41)</li> </ul>

### p 53 geni

Bir tümör süpressör gen olarak çalışan p53 mutasyona uğradığı ya da bulunmadığı zaman hücre yaşamı uzar. Toksik olaylar neticesinde gelişen hücre hasarı p53'ü aktive eder. p53 protein ürünü DNA'ya doğrudan bağlanarak hasarı tanır. Ardından da p 21 genini harekete geçirerek G1'de hücre siklusunun durmasını indükler veya tamir için gerekli zamanı kazanır ya da hasar fazlaysa apoptoza yönlendirir (şekil 2.20). p53'ün bir diğer görevinin Bax/Bax, Bax/Bcl-2, Bcl-2/Bcl-2 gruplarının oranlarını düzenlemek olduğu düşünülmektedir. p53'ün apoptozisi indüklemesi Bax'ın ekspresyonunu artırması böylece Bcl-2/Bax oranını değiştirmesi yoluyla gerçekleşir. Papillom virüsü, adenovirüs tip 12 gibi virüsler ya p53'ü inaktive ederek ya da Bax'a bağlanarak apoptozisi bloke eder ve karsinogeneze yol açarlar (265, 296)



Şekil 2.20. p 53 geni ile apoptozun düzenlenmesi (297)

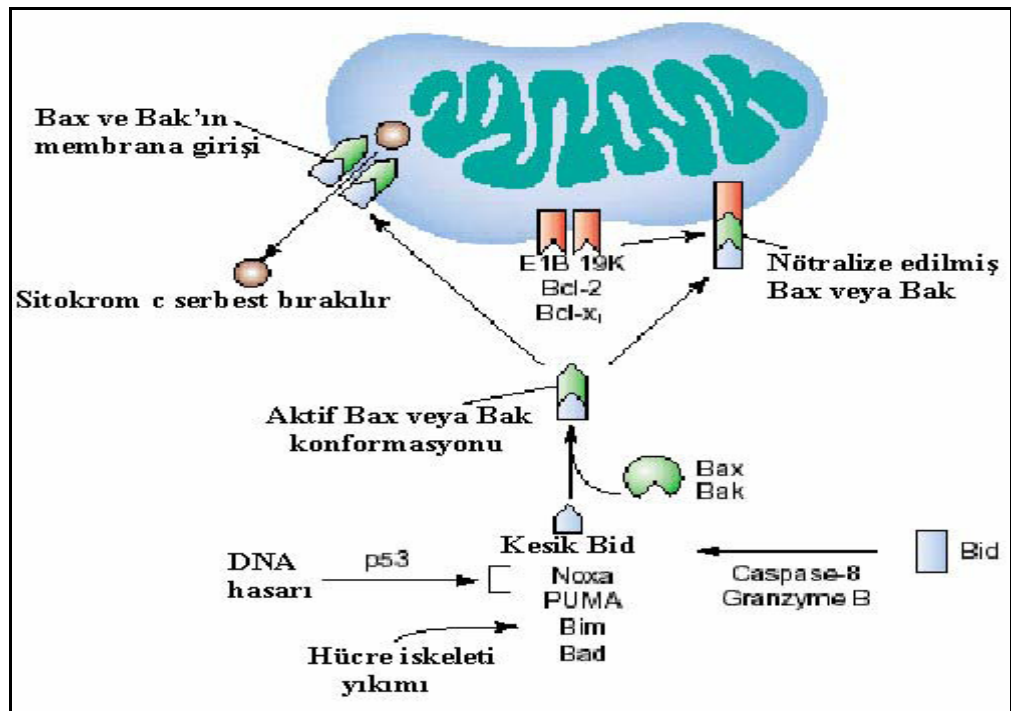
### Bcl-2/Bax gen ailesi

Apoptozun regülasyonu Bcl-2/Bax gen ailesi ile sağlanır. Bu ailenin 20 üyesi vardır; bu genlerden bazıları antiapoptotik, bazıları ise proapoptotik genlerdir (Tablo 2.14). (280, 297). Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo veya hetero-dimerler oluştururlar. Bcl-2, Bax ile heterodimer oluşturduğunda Bcl-2 etkisini antagonize ederler. Proapoptotik ve antiapoptotik genlerin oranları hücrenin apoptozise gidip gitmeyeceğine karar verir. Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanı sıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de yer alırlar. (265)

Tablo 2.14. Bcl 2 gen ailesi (280, 297)

Antiapoptotik	Proapoptotik
Bcl-2	Bax Bmf
Bcl-XL	Bak Hrk
Bcl-w	Bok Noxa
Bcl-B	Bid Puma
Boo	Bim Spike
A1	Bik BNIP3
Mcl-1	Bad Bcl-Xs
	Blk

Bcl-2, 24–26 kDa'luk protein kodlar. Oluşan protein, mitokondrinin dış membranı üzerinde yerleşmiştir. Bu proteinler iyon alış-verişini düzenler ve membranın parçalanmasına karşı koruyucu etki yaparlar. Antiapoptotik genler içinde yer alan Bcl-xL'in mitokondriyal hasarı engellediği ileri sürülmektedir. Bu sayede apoptoz inhibisyonu gerçekleşmektedir. Bcl-2 ailesinin bir diğer ilginç özelliği de reaktif oksijen düzeylerinin apoptoz üzerindeki etkilerini pro-oksidan gibi davranarak kontrol etmesidir. Bax proteinleri sitoplazmada da bulunur. Apoptotik sinyalin alınmasından sonra Bax proteinleri, mitokondri zarının geçiş poruna bağlanırlar. Membranda oluşan değişiklikler sonucunda sitokrom c ve AIF (Apoptozis Inducing Factor) gibi mitokondri zarı içinde yer alan faktörler sitoplazmaya geçerler. Şekil 2. 21'de Bcl 2 ailesinin apoptozdaki rolü özetlenmektedir (298).



Şekil 2.21. Bcl 2 ailesinin apoptozdaki rolü (298)

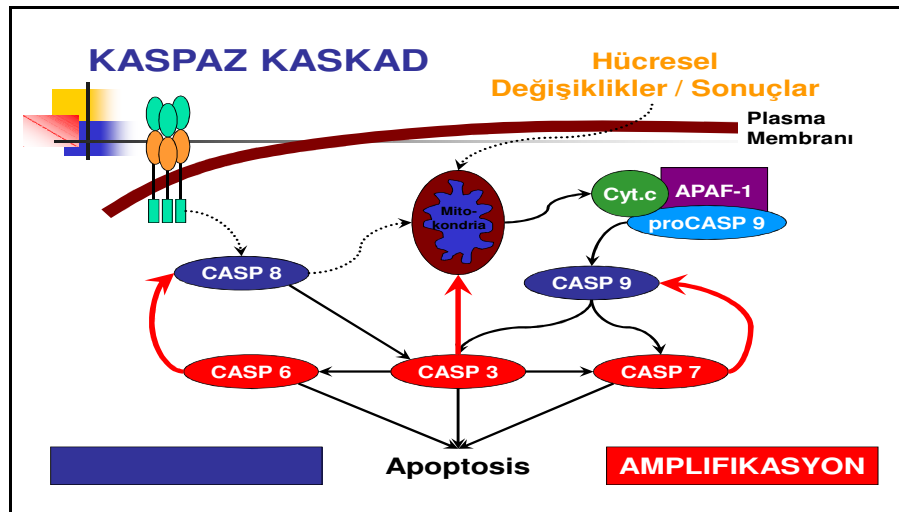
## Kaspaz ailesi

İlk olarak 1993'te tanımlanmıştır. Kaspazlar, sistein proteazlardır ve aspartik asitten sonraki peptid bağına kırarlar. Hücrede inaktif olarak bulunurlar ve proteolitik olarak birbirlerini aktifleştirerek bir hiyerarşi içerisinde çalışırlar (299, 300).

Kaspazlar iki grupta incelenir. Başlatıcı kaspazlar olan 2, 8, 9, 10 ve muhtemelen 11'dir. Diğer grup ise efektör kaspazlar olan 3,6 ve 7'dir. Kaspaz sisteminin hangi yolda ilerleyeceği apoptozisin başlangıcına bağlıdır.

Effektör kaspazlar kaskatın alt basamaklarında yer alır ve nükleus, sitoplazma ve hücre iskeletinde yer alan yapısal ve düzenleyici çok sayıda substrat üzerinde direkt olarak etkilidir. Bazı durumlarda başlatıcı kaspazlar efektör kaspazlar şeklinde fonksiyon görerek zayıf şekilde başlayan apoptozisin artmasını sağlayabilir. Bununla birlikte efektör kaspazlar sadece başlatıcı kaspazların aktivasyonu ile aktive olmakla kalmaz, diğer proteazlar olan katepsinler, kalpainler ve granzimler ile de aktifleşebilirler (299). Kaspazlar dış ve iç hücre ölüm sinyallerine göre farklı şekilde uyarılırlar. Hücre içi uyarı ile kaspaz 8, mitokondrial uyarı ile kaspaz 9 aktifleşir. Her iki yol da sonuçta efektör kaspaz olan prokaspaz 3'ü kaspaz 3'e dönüştürür. Aktif kaspaz 3 kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz inhibitörünü "ICAD (*inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease*)" inaktifleştirir ve böylece ICAD'ın bağladığı kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz "CAD (*caspase-activated deoxyribonuclease*)" serbestleşir. Oligonükleozomal DNA fragmentasyonuna ve apoptozis ile ölüme neden olur. Kaspazlar diğer proteinleri parçalayarak apoptozise özgü değişikliklerin oluşumuna; plazma membranında cepçiklerin oluşumuna, apoptotik cisimlerin oluşumuna, hücresel paketlenme (*cellular packaging*) oluşumuna, makro molekül sentezinin durması ve hücre yaşam sinyallerinin bitmesine yol açarlar (299, 300). Kaspaz yolunun kontrolü hücrede endojen kaspaz inhibitörleri

tarafından sıkıca kontrol altında tutulmaktadır. Bu inhibitörler 7 üyesi olan IAP (*inhibitors of apoptosis*) familyası, c-FLIP (*FADD-like ICE-inhibitory protein*), BAR (*bifunctional apoptosis regulator*) ve ARC (*apoptosis repressor with CARD*) olarak sayılabilir. Hemen tüm kaspaz inhibitörleri dokuya özeldir. Örnek olarak c-FLIP kas, lenfoid doku ve testiste kaspaz 8 ve 10'a spesifiktir, BAR beyinde kaspaz 8 ve ARC kalp ve iskelet kasında kaspaz 2 ve 8'e spesifiktir ve hemen tüm kaspaz inhibitörleri kaspaz 3 ve 7'nin aktif formuna bağlanma eğilimindedir. Aynı zamanda c-FLIP, BAR ve ARC ölüm reseptörlerinden kaspaz 8'e giden sinyallerin engellenmesinden sorumludur (299). Şekil 2.22'de kaspaz yolağı görülmektedir.



Şekil 2. 22. Kaspaz yolağı

#### 2.4.6. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Apoptozis ile ilgili çalışmaların hızla artmasına karşın apoptozisi saptamak ve değerlendirmek kolay olmamaktadır (301). Özellikle tek bir hücrede apoptozis olayı saatler içinde geliştiğinden, apoptotik süreçteki hücreyi morfolojik olarak tanımlamak ve kantifiye etmek zor olmaktadır (302). diğGenellikle çalışmaların güvenilirliğini arttırmak için farklı yöntemlerin birkaçının bir arada kullanılması önerilmektedir (303).

1972 yılında, apopitozis saptandığında hücrenin morfolojik görünümüne göre karar verilmişti. Günümüzde morfolojik değerlendirmelerin yanısıra apopitozise özgü aktivasyonlar moleküler düzeyde belirlenebilmektedir. 1990'lı yıllarda DNA kırıklarının saptanması ve apopitotik hücrelerde aktif kaspazların belirlenmesi ile tanınan apopitozis daha sonraki yıllarda fosfatidilserin translokasyonunu belirleyen yöntemlerle saptanmaya başlandı. 2000li yıllarda ise keratin 18'in kırıldıktan sonraki formunu saptayan antikörlerin kullanılması ile daha da özgünleşti. Günümüzde apopitozisin belirlenmesinde kullanılan yöntemler şöyledir:

1. Morfolojik görüntüleme yöntemleri
2. İmmünohistokimyasal yöntemler
3. Biyokimyasal yöntemler
4. İmmünolojik yöntemler
5. Moleküler biyoloji yöntemleri

#### **2.4.6.1. Morfolojik görüntüleme yöntemleri**

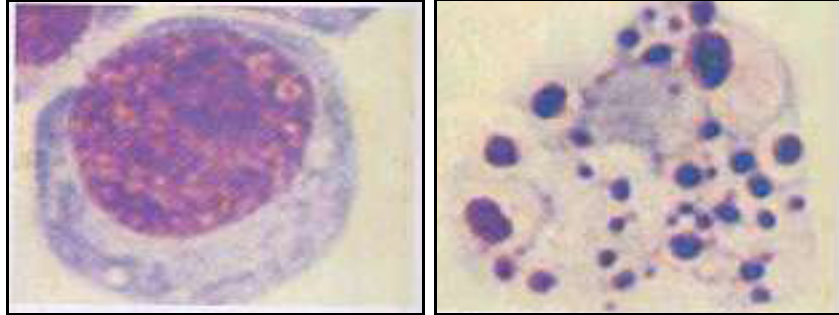
##### **Işık mikroskobu kullanımı**

**Hematoksilen boyama:** Hematoksilen boyama (HB) hem hücre kültürü çalışmalarında hem de doku boyamalarında kolaylıkla kullanılabilir. Apopitotik hücrelerin saptanmasında genellikle ilk metod olarak başlanması uygundur ve çeşitli açılardan (örn. ilk değerlendirme, maliyet) diğer metodlara karşı avantaj sağlar. Hematoksilen boyamada, hematoksilen boyası kromatini boyadığından apopitotik hücreler nukleus morfolojisine göre değerlendirilir. Apopitozise özgü değişiklikler iyi bir boyama yapılmışsa kolayca gözlenebilir.

Gözlenebilen değişiklikler şunlardır: hücre küçülmesi veya sitoplazmik küçülme, kromatinin kondanse olması ve nukleus zarının periferinde



toplanması, nukleusun küçülmesi veya parçalara bölünmesi (304-306).(Şekil 2.23)



**Şekil 2.23.** Nomal ve apoptotik insan lökosit hücresi

**Giemsa boyama:** *Giemsa* ile boyamada hematoksilenle boyamada da olduğu gibi nukleus morfolojisi esas alınarak apoptotik hücreler tanınır. Sitoplazma sınırları hematoksilen boyamaya göre daha iyi seçilebilmekle birlikte hematoksilen boyamaya belirgin bir üstünlüğü yoktur(304-306).

### Floresan mikroskobu kullanımı

Floresan boyalar DNA'ya bağlanabildiklerinden hücrenin kromatini dolayısıyla nukleusu görünür hale gelebilir. Eğer hücre kültürü çalışmasında kullanılırlarsa, canlı hücre ile yaşayan hücrenin ayırımına olanak tanır. Oysa, hematoksilen ya da Giemsa boyamanın kullanıldığı örneklerde hücrelerin tamamı yöntemin prensibi gereği zaten ölmektedirler. Canlı ve ölü hücre ayırımı yapabilmek için, canlı veya ölü tüm hücreleri boyayabilen bir boya (örn. *Hoechst* boyası) ile sadece ölü hücreleri boyayabilen bir başka boya (örn. *propidium iyodür*) beraber kullanılır. Bu yöntemlerde canlılığın belirleyicisi, hücrenin plazma membranının (hücre zarının) intakt olup olmadığıdır. Membranı intakt olan (canlı) hücreler *propidium iyodür* gibi sadece membran bütünlüğü bozulmuş (ölü) hücreleri boyayan bir boya ile boyanmazlarken, *Hoechst* boyası gibi ölü veya canlı tüm hücrelere girebilen

boyalar ise ortamdaki tüm hücreleri boyayarak ölü veya canlı hücre ayırımına olanak sağlarlar. Bu şekilde boyanan hücreler bir floresan mikroskobu ile tanınabilirler. Ölü hücrelerin apoptozisle mi yoksa nekrozisle mi öldüklerinin ayırımı nukleus morfolojisine bakılarak yapılır (304).

### **Elektron mikroskobu kullanımı**

Apoptozisi değerlendirmede en değerli yöntemdir. Morfolojik değişikliklerin en doğru olarak gözleendiği yöntem budur. Mitokondrinin durumu, plazma membranı ve nukleus membranının bütünlüğü daha net değerlendirilir. Elektron mikroskobu çalışmalarında, apoptotik hücrede, sitoplazmik küçülme, kromatin kondansasyonu ve fragmentasyonu seçilmesine olanak verir (304-306).

### **Faz kontrast mikroskobu kullanımı**

Bu tür mikroskop kültür ortamında, hücre topluluğunu incelemek amacıyla kullanılır (304-306).

## **2.4.6.2. İmmünohistokimyasal yöntemler**

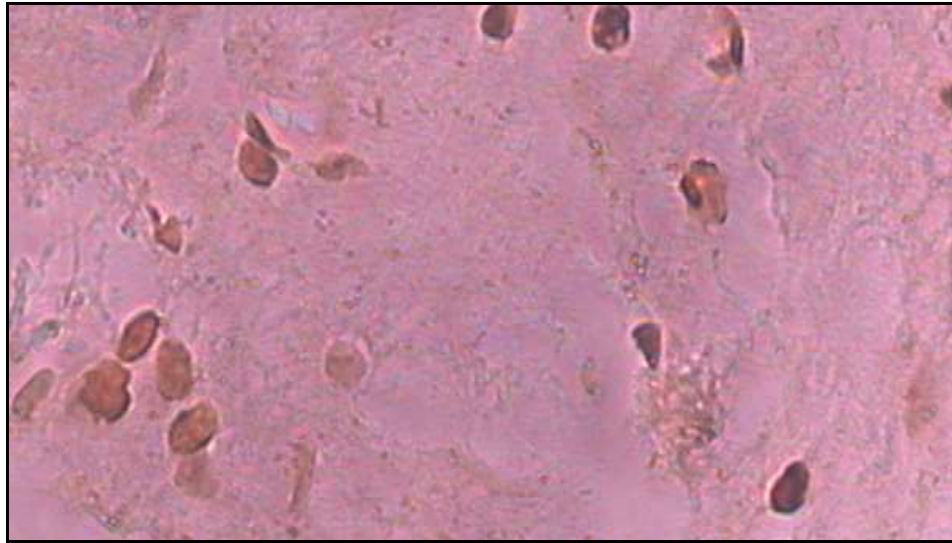
### **Anneksin V yöntemi**

Normal hücrelerde hücre zarının sitoplazmik yüzünde fosfatidilserin bulunmaktadır. Eğer hücre apoptozise giderse normalde iç yüzde yerleşmiş olan PS molekülleri hücre zarının dış yüzüne transloke olurlar. Dış yüze transloke olan PS'ler, floresan bir madde ile işaretlenmiş Anneksin V kullanılarak görünür hale getirilirler. Böylece apoptotik hücreler saptanmış olur (304, 305).

## TUNEL yöntemi

Bu yöntemin ismi *Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin Nick End Labeling* kelimelerinin kısaltmasından kaynaklanmaktadır. DNA kırıklarının *in situ* olarak tanınmasını sağlar. Parafin bloklar, donmuş kesitler, kültürü yapılmış solüsyon halindeki veya ya da lameller üzerinde büyütülmüş hücrelerde apoptozisin varlığı bu metotla saptanabilir (Şekil 2.24) (304-305).

DNA'lar hızla parçalanmakta olduklarından, birdenbire hücre içerisindeki kromatin ağ bütünlüğünü kaybetmekte ve 3'-OH içeren DNA parçacıklarının sayısı çok yükselmektedir. TUNEL yönteminde terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) enzimi, ortama eklenen biotin dUTP'yi (2'-deoksiuridin 5'-trifosfat), parçalanmış DNA parçacıklarının serbest 3'OH uçlarına transfer etmektedir. Biotin ile işaretlenmiş DNA parçacıklarına, streptavidin gibi spesifik bir molekülün bağlanıp DNA fragmantasyonlarının uçlarında çözünmeyen renkli bir substrat oluşumunun gerçekleşmesiyle apoptotik hücre tanımlanmaktadır (307,308)



Şekil 2.24. TUNEL metodu uygulanmış spinal kord görünüm

### **M 30 Yöntemi**

M30 yönteminde apopitotik hücreler sitokeralin 18'in kaspazların etkisiyle kırılması sonucu ortaya çıkan yeni antijenik bölgenin immünohistokimyasal yöntemle boyanması prensibine göre belirlenir. Sadece sitokeratin 18'i eksprese eden dokularda kullanılması mümkündür. Bu dokular epitelyal kaynaklı dokulardır (304, 305).

### **Kaspaz-3 Yöntemi**

Kaspaz-3 yöntemi ile sadece apopitotik hücrelerde oluşan aktif kaspaz-3 IHC metoduyla belirlenebilir. Bunun için, dokunun kaspaz-3 eksprese ettiğinin bilinmesi ya da çalışılan dokuda apopitozise yol açan ajanın kaspaz-3'ü kınp kırmadığının bilinmesi gerekir. Ancak, bu bilinirse apopitotik hücreler bu metodla tespit edilebilirler (304).

### **2.4.6.3. Biyokimyasal yöntemler**

#### **Agaroz jel elektroforezi**

DNA kırıklarının gösterilebildiği bir başka yöntemdir. Apopitoziste DNA, 180 baz çifti ve bunun katlarına karşılık gelen noktalardan kırıldığı için merdiven görüntüsü oluşur. Bu bulgu apopitozisin karakteristik özelliğidir ve nekroziste görülmez. O yüzden apopitozisi nekrozisten ayırmada faydalı yöntemlerden biridir (304, 305).

### ***Western blotting***

Apoptozise özgü bazı proteinlerin eksprese olup olmadıklarının (örn. bcl-2) ya da kınılıp kırılmadıklarının (örn. kaspaz-3) saptanması mümkündür. Sitokrom c'nin mitokondriye çıkıp çıkmadığının belirlenmesi de bu metotla belirlenebilir. Yanlız, sitokrom c tespitinde önce alt-fraksiyonlama yapılarak hücrelerin mitokondriyal ve sitoplazmik fraksiyonları ayrılır. Ardından, normalde sitoplazmik fraksiyonda bulunması beklenmeyen sitokrom c'nin bu fraksiyonda tespit edilmesi halinde hücrelerin apoptozise gittikleri anlaşılır (304).

### ***Flow sitometri***

*Flow sitometri* yardımıyla, işaretlenmiş antikor kullanılarak apoptoziste eksprese olduğu bilinen her hangi bir hücre yüzey proteininin saptanması mümkündür. Böylece apoptotik hücreler belirlenebilir. Kolay uygulanabilir olması, aşırı uzun zaman almaması ve kantitatif sonuç verebilmesi açısından kullanışlıdır (304,305).

## **2.4.6.4. İmmünolojik yöntemler**

### ***ELISA***

*ELISA* ile gerek kültürü yapılmış hücre populasyonlarında gerekse insan plazmasında DNA parçalanmasını tespit etmek mümkündür. Aynı şekilde M 30 düzeylerinin ölçümü de mümkündür (304).

## **Fluorimetrik Yöntem**

Kültürü yapılmış hücrelerde kaspaz aktivitesinin tayin edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde ilgili kaspazın antikorunun bulunduğu "plate"lere hücre lisatlarının konulması ile kaspaz molekülleri tutulur, ve sonra ortama kaspazların parçaladığı ve kendisine floresan bir maddenin tutunduğu bir substrat ilave edilir. Ortamdaki kaspaz aktivitesiyle orantılı olarak ortaya çıkan şiddeti fluorimetre ile ölçülerek kaspaz aktivitesi saptanır (304).

### **2.4.6.5. Moleküler biyoloji yöntemleri**

#### ***DNA Microarrays***

DNA *microarray* teknolojisi henüz çok yeni ve çok pahalı bir yöntemdir. Fakat, yakın bir gelecekte tıp pratiğini radikal bir biçimde değiştirme iddiası taşıyan bu teknoloji ile aynı anda ve kısa bir süre içinde (önceden aylarca sürerken) yüzlerce hatta binlerce genin ekspresyon derecelerinin (mRNA'lannın) tespiti mümkün olabilecektir. Böylece, apoptozise özgü hücre yüzey ölüm reseptörlerinin ekspresyon durumları hakkında geniş bilgi edinme olanağı doğacaktır (304).

## GEREÇ ve YÖNTEM

### 3.1. Çalışma Ekibi

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Farmakoloji ve Kırıkkale Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalları tarafından yürütülmüş, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

### 3.2. Etik Komite Onayı

Çalışma için Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan onay alınmıştır (Karar no:08/22).

### 3.3. Deney Hayvanları

Bu çalışmaya 7 günlük, ağırlıkları  $7\pm 2$  g, her iki cinsten, 15 adet albino Wistar rat alındı. Ratlar standart laboratuvar şartları olan  $23 \pm 2$  °C sabit oda sıcaklığında,  $\% 60 \pm 5$  nem oranında ve 12 saat gece, 12 saat gündüz şartlarında, annelerinin yanında anne sütü ile beslendi.

### 3.4. Çalışmanın Tasarımı

Ratlar rastgele 3 gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: 24 saat boyunca, otuz cm mesafeden, 30  $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  yoğunlukta, 460 nm dalga boyunda LED fototerapi (Bilitron 3006, Fanem, Brasil) uygulandı.

Grup 3: 24 saat boyunca, otuz cm mesafeden, 550 nm dalga boyunda, 20  $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$  yoğunlukta standart fototerapi (Philips 'TL' 20W/52 Low Pressure) uygulandı.

Yirmidört saat süre sonunda tüm deneklere ketamin anestezisini takiben median laparotomi yapıldı ve böbrek ve karaciğerden doku örneği alındı. Sonrasında abdominal aortadan kanatılarak sakrifiye edildiler. Deneyde standart cerrahi aletler kullanıldı.

### **3.5. Histopatolojik Değerlendirme**

#### **Doku takibi prosedürü**

Sistemik nekropsi sonrası alınan karaciğer ve böbrek dokuları %10'luk nötral formalinde 48 saat tespit edildikten sonra çeşme suyu altında yıkandı ve sırasıyla %50, %70, %80, %90, %96 ve absolu alkol serilerinde 2 saat bekletilerek dehidrasyon yapıldı. Dokular, sırasıyla ksilen, ksilen-parafin ve parafin istasyonlarında 2 saat bekletilerek parafin emdirildikten sonra yine parafin içerisine bloklandı. Rotary mikrotomda 4-5  $\mu\text{m}$  kalınlığında 5'er adet kesilen dokular trietoxypopilaminsilan kaplı adeziv lamlar üzerine alınarak 45 °C'de etüv içerisinde bir saat süreyle tutuldu.

#### **Kaspaz 3 protokolü**

Kesitler ksilolde deparafinize edildikten sonra absolu alkol, %96, %80, %70, %50' lik dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidrasyon yapıldı.



Ardından 5 dk boyunca akan suyun altında yıkandı. % 0,1 lik Proteinaz K ile 7 dk süreyle *antijen retrieval* işlemi yapıldıktan sonra iki farklı fosfat tampon solüsyonunda 5 er dakika kesitler yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için %3' lük hidrojen peroksitte 5 dk bekletildi. Ardından iki farklı fosfat tampon solüsyonunda 5 er dakika tekrar yıkandı. Kesitler 5 dk süreyle normal keçi serumunda bekletildi ve üzerileri dökülerek yıkama işlemi olmaksızın kaspaz 3 (1: 100 dilusyon, Neomarkers, RB-1197-B0, USA) primer antikoru ile 60 dk süreyle inkübe edildi. İşlemler sonunda iki farklı fosfat tampon solusyonunda 5 er dakika yıkama işleminden sonra biyotinli sekonder anti-mouse antikorda 15 dk inkübe edildi. Tekrar iki farklı fosfat tampon solüsyonunda 5 er dakika kesitler yıkandı. Peroksidaz işaretli Streptavidin solusyonunda 15 dk süreyle inkübasyon işleminden sonra iki farklı fosfat tampon solüsyonunda 5 er dakika yıkandı. Ardından 20 mikrolitre *aminoethyl carbasole* (AEC) kromojeni 1 ml AEC substrat solüsyonu ile karıştırıldı ve mikroskop altında takip edilerek sonlandırıldı. Preparatlar Nikon E 600 ışık mikroskopunda değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak germinal merkezleri belirgin tonsil kesitleri kullanıldı.

### **Caspase 3 immunoperoxidaz boyama prosedürü**

İmmunohistokimyasal incelemeler için caspase 3 antikoru (Caspase3, CPP32 Ab-4, Thermo Fisher Scientific, Fremont, CA) ve ticari streptavidin / biotin immunoperoxidase kiti (LSAB 2 sistem, HRP, DacoCytomation, Danimarka) kullanıldı. 3 (triethoxyl) propylamine (APES) ile hazırlanan adeziv lamlara alınan kesitler, ksilol ile deparafinize edilip, sırasıyla absolü alkol, % 95 ve % 70'lik alkol ve suda 10'ar dakika tutularak rehidre edildi. % 3'lük hidrojen peroksitte 5 dakika süreyle endojenaz peroksidaz aktivitesi giderildi. Sonrasında, 10mM sitrat buffer'da (pH 6, Neomarkers AP-9003) 10 dakika kaynatılarak formol tespitinde proteinler arası oluşan metil köprüleri ayrıldı ve antijen geri alma işlemi uygulandı. Oda ısısında 10-20 dakika soğutulduktan sonra PBS ile yıkanan kesitler protein bloke edici serumla 5 dakika muamele

edildi (Labvision Corp., Fremont, CA). Daha sonra, 20°C 'de sırasıyla 1/50 sulandırmada rabbit anti-human caspase 3 antikorunda 50 dakika, biotinle işaretli polivalent sekonder antiserumla 10 dakika, streptavidin-peroksidaz enzimi ile 10 dakika inkübe edildi. Kesitler, renk reaksiyonu için *aminoethyl carbasole* (AEC) kromojeni ile (Labvision Corp., Fremont, CA) 15 dakika, karşıt boyama için de Mayer'in hematoksileni ile 1-2 dakika süreyle boyamaları yapıldıktan sonra su bazlı yapıştırıcı ile yapıştırıldı ve immunopozitif reaksiyonların değerlendirilmesi için ışık mikroskopta incelenerek mikrofotografları çekildi.

### **TUNEL yöntemi**

Dört-5 µm kalınlığındaki doku kesitlerinden parafinin uzaklaştırılması amacıyla, 60 C de ısıtılan kesitler 3 seri ksilolde yıkandı ve absolu, % 96, %90, %70, %60 dereceli alkol ve iki seri distile suda rehidre edildikten sonra formolde tespit edilmiş ve parafine gömülmüş dokularda Tunel tekniğinin uygulanabilmesi için Tunel kit prosedürüne (in situ apopitosis detection kit ,Biogen, katalog no S7101 Roche, Germany ) uygun şekilde 10 mM Tris/HCl ile pH 7.4-8 20µg/ml proteinaz K ile dokular enzimatik sindirime tabi tutuldu. İşaretleme aşamasında; Tunel apopitosis kit içerisinde bulunan TUNEL-enzim solusyonundan her bir kesit için 5µl alınarak, 45 µl TUNEL-label solusyonuyla karıştırılarak kullanılıncaya kadar buz aküsü üzerinde bekletildi. Test edilecek herbir kesit üzerine hazırlanan karışımdan 50µl eklendi ve karanlık bir ortamda 37 C, 60 dakika süreyle inkübe edildi. Fosfat *buffer* solusyonunda 3 kez yıkandıktan sonra apopitosis sinyalinin varlığı yönünden mikroskopik incelemeye uygun kromojen sinyallerinin görünebilmesi için floresan mikroskop altında kontrol edildi ve POD converter ile ışık "Sinyal değiştirme" işlemi gerçekleştirildi. Bu amaçla, kesitlerin etrafındaki fazla fosfat tampon solusyon silindikten sonra 50 µl converter POD eklendi ve 37 C'de 30 dakika inkübe edildi. Fosfat buffer solusyonunda 3 kez yıkandıktan sonra her bir kesite 50-100 µl AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) kromojen- substrat

karışımı eklendi ve renk reaksiyonu gelişimi mikroskop altında kontrol edilerek sonlandırıldı. *Mayer's* hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı ve pozitif reaksiyonlar ışık mikroskobu altında incelenerek mikrofotoğrafları çekildi. Negatif kontrol için ayrılan kesitlere yalnızca TUNEL-label solusyonu uygulandı. Pozitif kontrol için ise, dokular 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 mg/ml BSA içerisinde hazırlanan 3000 U/ml– 3 U/ml rekombinant DNase I ile 15-25°C de 10 dakika inkübe edildi. Böylelikle, işaretleme prosedürü öncesinde kontrollü olarak apoptotik hücrelerdeki benzer DNA kırıkları oluşturuldu.

### **İmmunopozitif reaksiyonların kantitatif olarak değerlendirilmesi**

Doku kesitleri, TUNEL metodu ve kaspaz immünohistokimyasal boyama işlemlerinden sonra ışık mikroskobunda değerlendirildi. Her bir doku için nekroz içermeyen alanlardan 100 adet resim çekildi ve dokulardaki apoptotik aktivite skoru BAB Bs200Pro imasinge analysis system ile analiz edildi.

### **3.6. İstatiksel Değerlendirme**

İstatistiksel analiz için SPSS 16.0, Windows yazılım programı kullanıldı. Verilerin analizinde grup sayıları beşer rattan oluştuğu için non-parametrik testlerden Kruskal – Wallis testi ve bağımsız iki grup arasında fark olup olmadığını test etmek için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. %95 güvenilirlikle analizler yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak  $p < 0.05$  kabul edildi.

## BULGULAR

### 4.1.Kaspaz-3 İmmünohistokimya Yöntemiyle Böbrek Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi

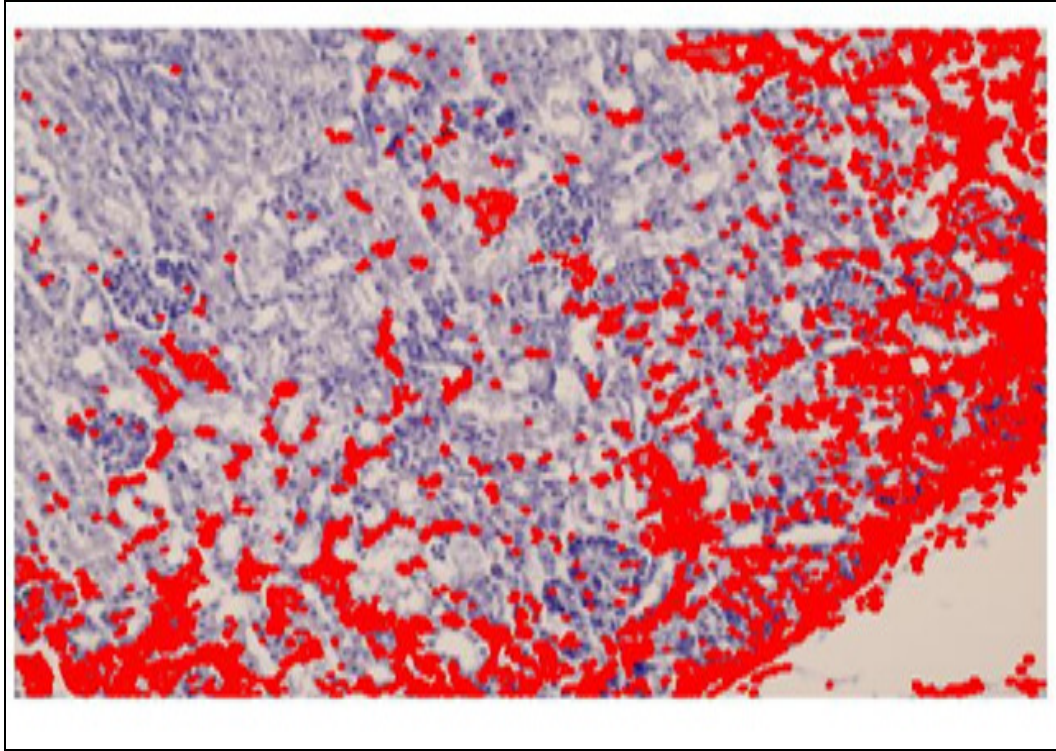
Kaspaz boyama metoduyla böbrek için en yüksek apoptoz skoru konvansiyonel fototerapi (Resim 4.1) alan grupta bulundu ( $10,02 \pm 1,51$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $3,7 \pm 2,39$ ) (Resim 4.2) ve kontrol grubu ( $1,35 \pm 0,29$ ) (Resim 4.3) izlemekteydi ( $p=0,004$ ). Gruplar arasındaki fark anlamlıydı (Tablo 4.1) Bu farkın hangi iki gruptan kaynaklandığını anlamak için Mann-Whitney U testi kullanıldı (Tablo 4.2., 4.3., 4.4.).

**Tablo 4.1.** Böbrek dokusunda kaspaz boyamayla apoptoz skoru

	N	ORTALAMA	ORTANCA	STANDART SAPMA	MİNİMUM	MAKSİMUM	P
1	5	1,35800	1,43	0,299032	0,98	1,68	0,004
2	5	3,70360	3,45	2,339436	1,72	7,658	
3	5	10,00200	8,95	4,158760	1	11,24	
<b>TOPLAM</b>	15	4,35453	2,22	3,826277	0,98	11,24	

**Tablo 4.2.** Böbrek dokusunda LED ve konvansiyonel fototerapinin etkisinin karşılaştırılması

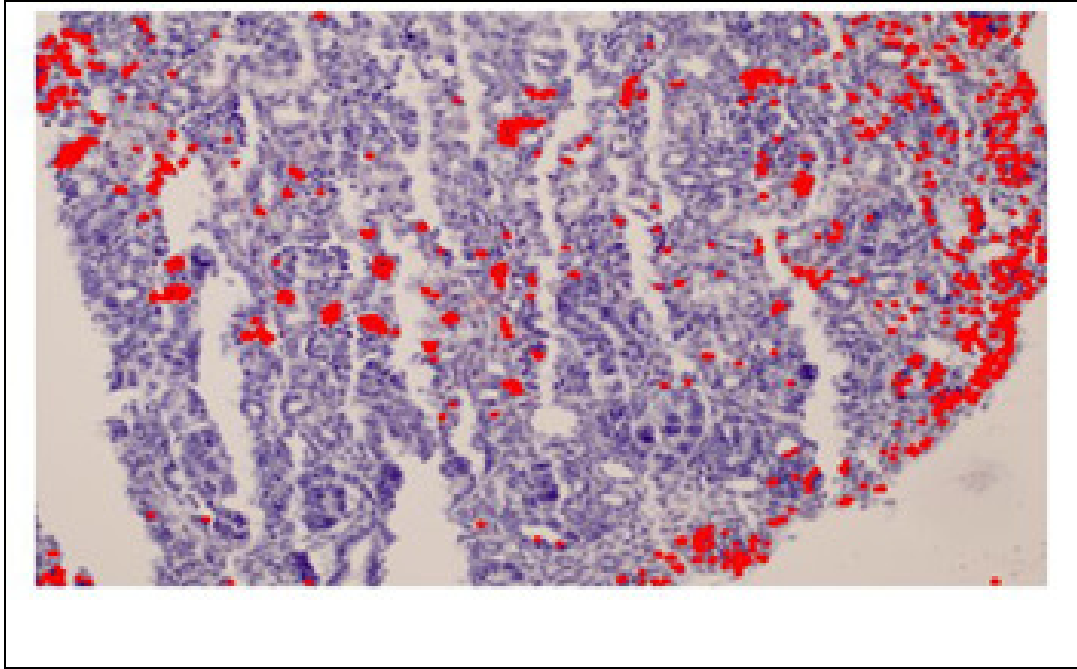
Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks	p
Böbrek 2	5	3	15	0,008
3	5	8	40	
Total	10			



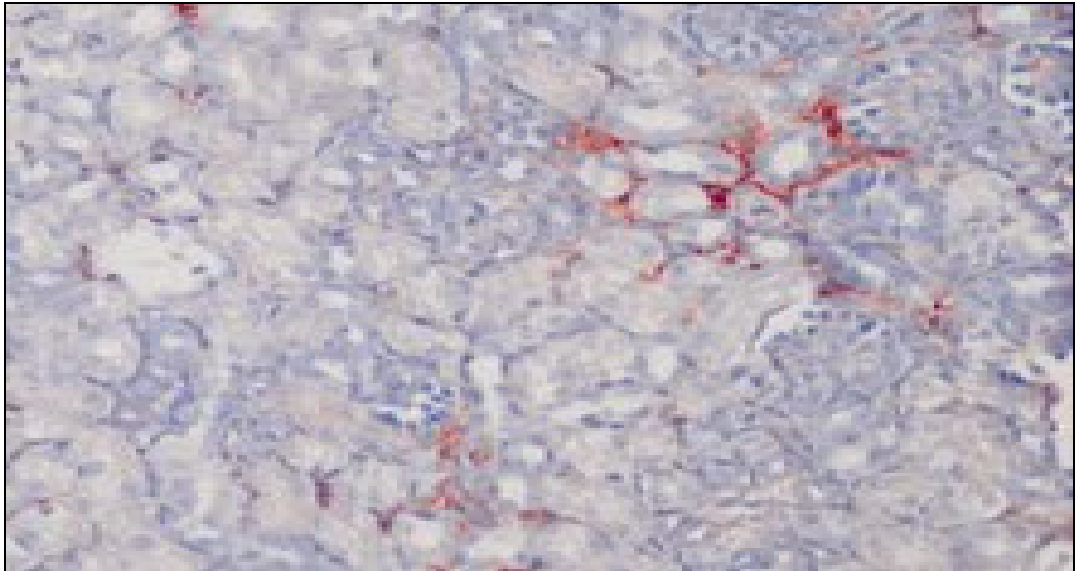
**Resim 4.1.** Konvansiyonel fototerapi alan grupta kaspaz-3 yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi

**Tablo 4.3.** Böbrek dokusunda LED fototerapinin etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks	p
Böbrek				
1	5	3	15	0,008
2	5	8	40	
Total	10			



**Resim 4.2.** LED fototerapi alan grupta kaspaz-3 immünohistokimya yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin değerlendirilmesi



**Resim 4.3.** Kontrol grubunda kaspaz-3 yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi

**Tablo 4.4.** Böbrek dokusunda konvansiyonel fototerapinin etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks	p
Böbrek 1	5	3	15	0,008
3	5	8	40	
Total	10			

#### 4.2. Kaspaz-3 İmmünohistokimya Yöntemiyle Karaciğer Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi

Kaspaz boyama metoduyla karaciğer için en yüksek apoptoz skoru konvansiyonel fototerapi (Resim 4.4) alan grupta bulundu ( $15,6 \pm 3,72$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $3,63 \pm 1,84$ ) (Resim 4.5) ve kontrol grubu ( $1,27 \pm 0,52$ ) (Resim 4.6) izlemekteydi ( $p=0,004$ ). Gruplar arasındaki fark anlamlıydı (Tablo 4.5). Bu farkın hangi iki gruptan kaynaklandığını anlamak için Mann-Whitney U testi kullanıldı (Tablo 4.6., 4.7., 4.8.).

**Tablo 4.5.** Karaciğer dokusunda kaspaz boyamayla apoptoz skoru

	N	ORTALAMA	ORTANCA	STANDART SAPMA	MİNİMUM	MAKSİMUM	P
<b>1</b>	5	1,27400	0,78	1,526950	0,32	3,97	0,004
<b>2</b>	5	3,63200	2,52	1,846160	2,16	6,52	
<b>3</b>	5	1,56400	1,6	3,723090	9,95	19,53	
<b>TOPLAM</b>	15	6,84867	3,97	6,92800	0,32	19,53	

**Tablo 4.6.** Karaciğer dokusunda LED ve konvansiyonel fototerapinin etkisinin karşılaştırılması

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks	p
Karaciğer 2	5	3	15	0,008
3	5	8	40	
Total	10			

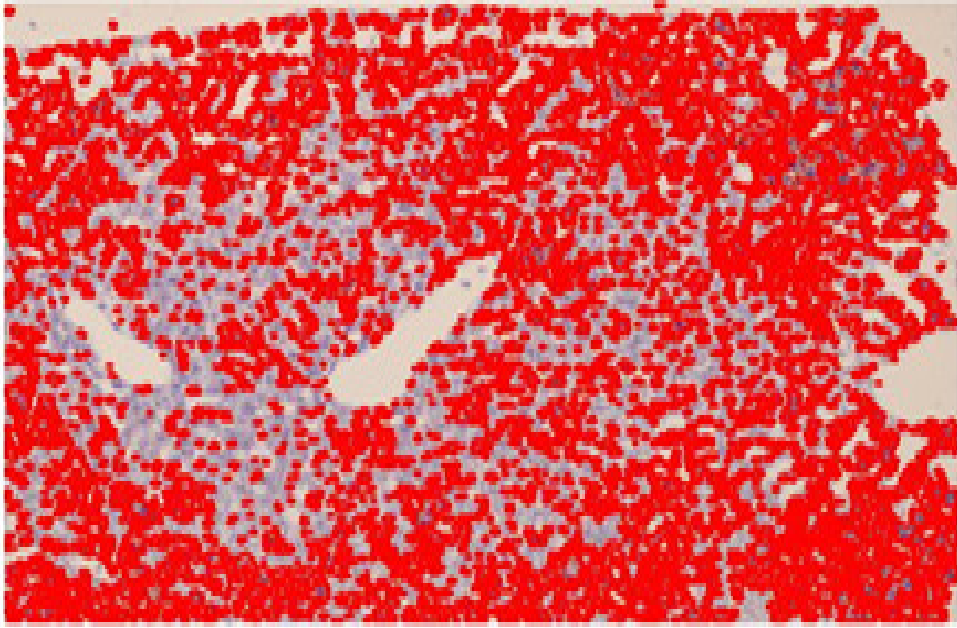
**Tablo 4.7.** Karaciğer dokusunda konvansiyonel fototerapinin etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks	p
Karaciğer 1	5	3	15	0,009
3	5	8	40	
Total	10			

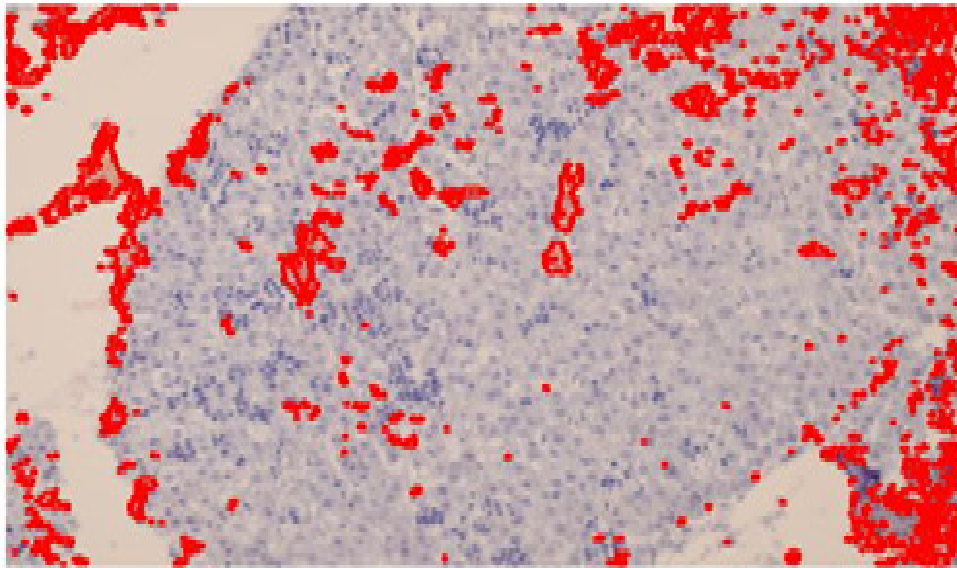
**Tablo 4.8.** Karaciğer dokusunda LED fototerapinin etkisinin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Grup	N	Mean Rank	Sum of Ranks	p
Karaciğer 1	5	3,60	18	0,047
2	5	7,40	37	
Total	10			





**Resim 4.4.** Konvansiyonel fototerapi alan grupta kaspaz-3 yöntemiyle karaciğerde apoptotik hücrelerin gösterilmesi



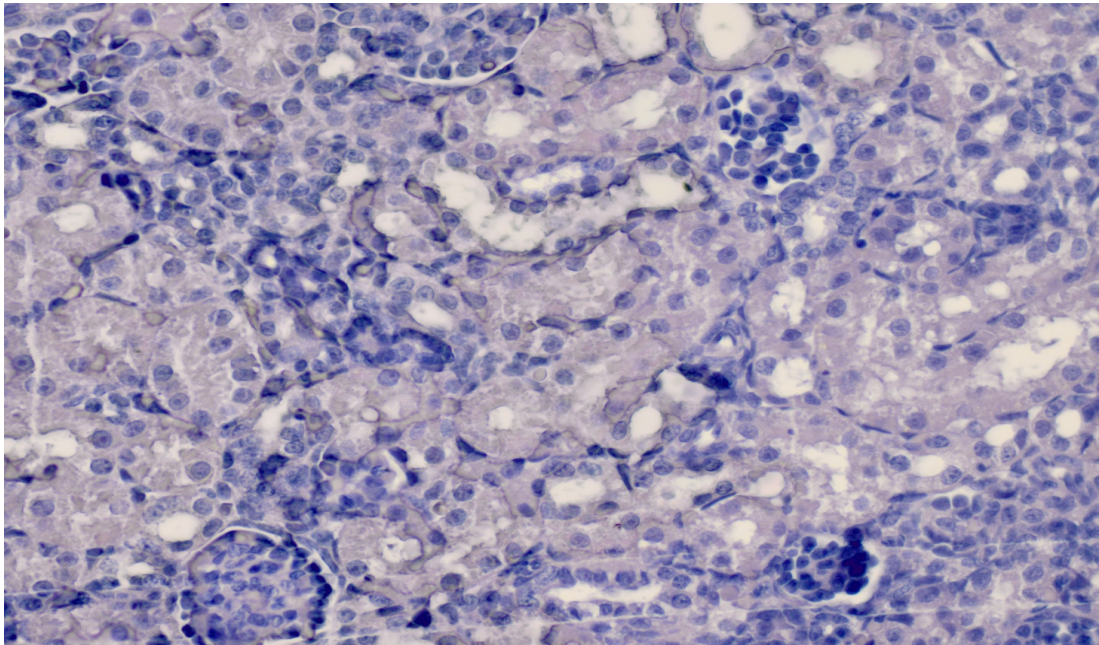
**Resim 4.5.** LED fototerapi alan grupta kaspaz-3 yöntemiyle karaciğerde apoptotik hücrelerin gösterilmesi

### 4.3.TUNEL Yöntemiyle Böbrek Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi

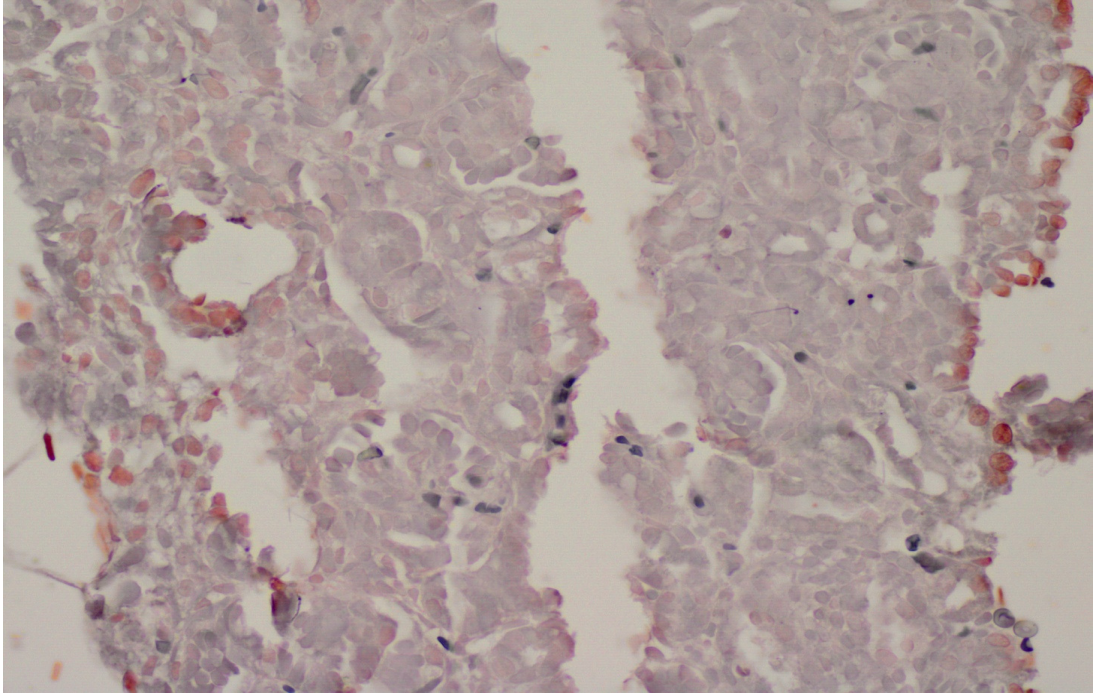
TUNEL boyama metoduyla böbrek için en yüksek apoptoz skoru konvansiyonel fototerapi (Resim 4.6) alan grupta bulundu ( $1,2 \pm 0,16$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $0,8 \pm 0,69$ ) ( Resim 4.7 ) ve kontrol grubu ( $0,1 \pm 0,07$ ) izlemekteydi ( $p= 0,498$ ) (Tablo 4.9). Ancak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

**Tablo 4.9.** Böbrek dokusunda TUNEL boyamayla apoptoz skoru

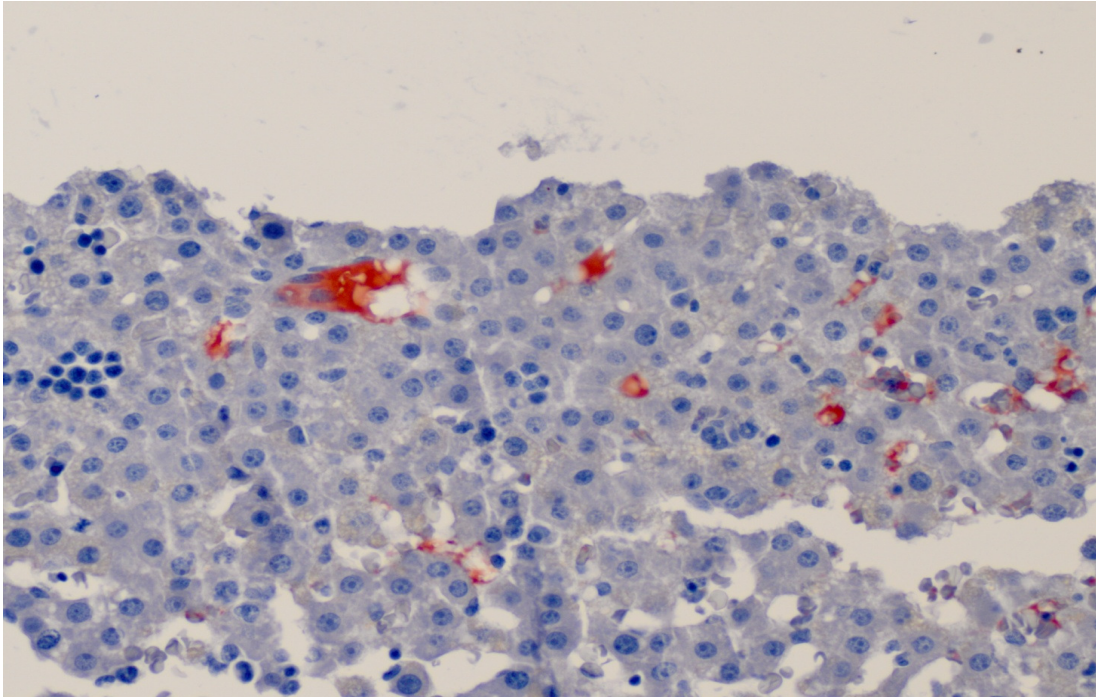
	N	ORTALAMA	ORTANCA	STANDART SAPMA	MİNİMUM	MAKSİMUM	P
1	5	1,27400	0,78	1,526950	0,32	3,97	0,004
2	5	3,63200	2,52	1,846160	2,16	6,52	
3	5	1,56400	1,6	3,723090	9,95	19,53	
<b>TOPLAM</b>	15	6,84867	3,97	6,92800	0,32	19,53	



**Resim 4.6.** Konvansiyonel fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi



**Resim 4.7.** LED fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle böbrekte apoptotik hücrelerin gösterilmesi



**Resim 4.8.** Kontrol grubunda TUNEL yöntemiyle böbrek apoptotik hücrelerin gösterilmesi

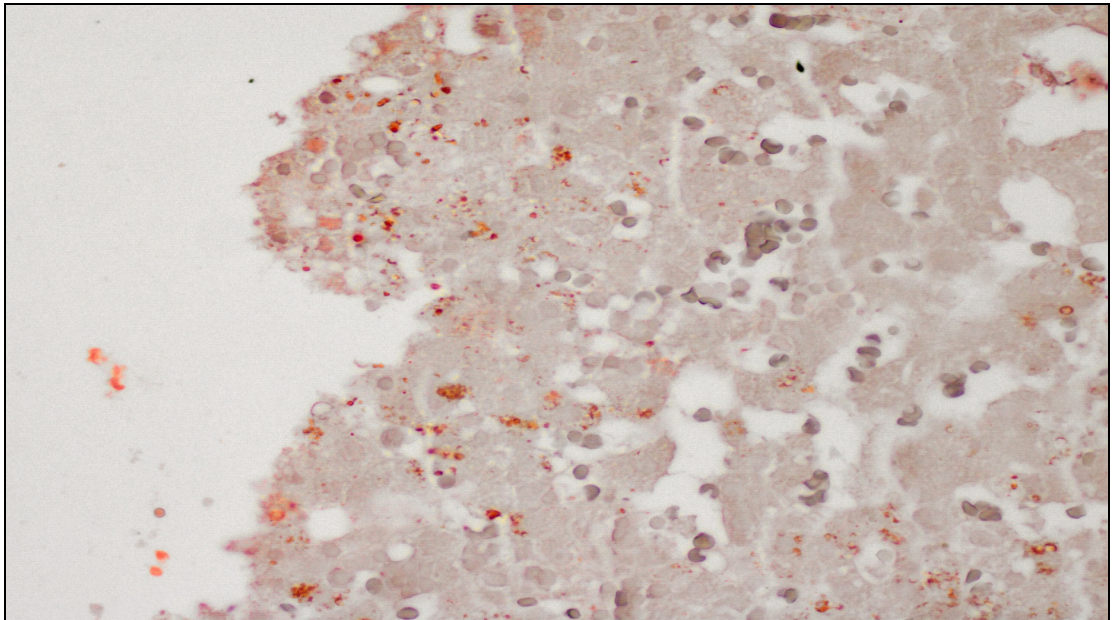


#### 4.4.TUNEL Yöntemiyle Karaciğer Apoptotik Hücrelerin Değerlendirilmesi

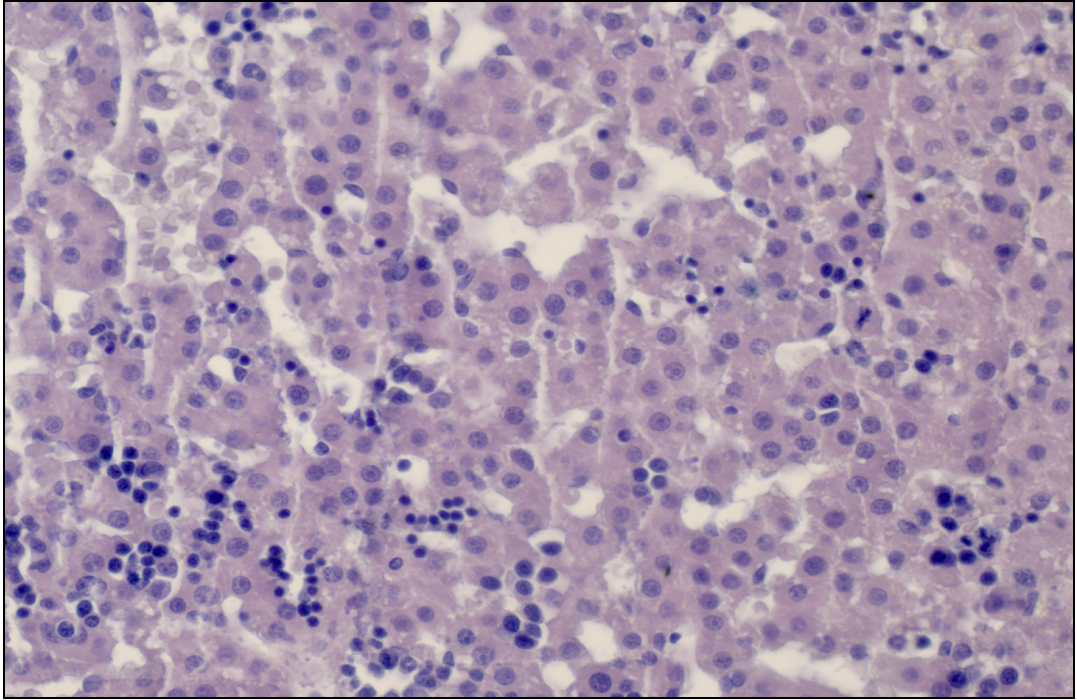
TUNEL boyama metoduyla karaciğer için en yüksek apoptoz skoru konvansiyonel fototerapi (Resim 4.9) alan grupta bulundu (% 1,73±0,82). Bunu LED fototerapi alan grup (0,46±0,009) ( Resim 4.10 ) ve kontrol grubu (0,19±0,16) izlemekteydi (p= 0,51) (Tablo 4.10). Ancak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

**Tablo 4.10.** Karaciğer dokusunda TUNEL boyamayla apoptoz skoru

	N	ORTALAMA	ORTANCA	STANDART SAPMA	MİNİMUM	MAKSİMUM	P
1	5	1,27400	0,78	1,526950	0,32	3,97	0,004
2	5	3,63200	2,52	1,846160	2,16	6,52	
3	5	1,56400	1,6	3,723090	9,95	19,53	
<b>TOPLAM</b>	15	6,84867	3,97	6,92800	0,32	19,53	



**Resim 4.9.** Konvansiyonel fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle karaciğer apoptotik hücrelerin gösterilmesi



**Resim 4.10.** LED fototerapi alan grupta TUNEL yöntemiyle karaciğer apoptotik hücrelerin gösterilmesi

## TARTIŞMA

İndirekt hiperbilirubinemi zamanında doğan bebeklerin %60'ında, erken doğan bebeklerin %80'inde hayatlarının ilk günlerinde gözlenen bir sorundur. Tüm dünyada yenidoğan hastaneye yatışlarının en sık nedenlerinden biridir. Çoğu olguda kolayca çözülebilir bir problem olmakla birlikte bebeklerin bir kısmında ciddi hiperbilirubinemi gelişebilmekte; akut bilirubin ensefalopatisi, kernikterus, serebral palsi ve mental retardasyona yol açabilmektedir (1, 2, 32). Toksikitede rol oynayan serbest indirekt bilirubin düzeylerinin özellikle yaşamın ilk haftası içinde çok yüksek düzeylere ulaşabilmesi ve bu dönemde kan beyin bariyerinin yetersizliği nedeniyle santral sinir sistemi zedelenmesinin önüne geçebilmek için sıklıkla ve bazen de yoğun olarak uygulanan bir tedavi şeklidir.

Hiperbilirubinemi tedavisinde amaç, etyoloji ne olursa olsun yüksek bilirubin seviyesini azaltmaktır (1). İlk olarak 1958'de Cremer ve arkadaşları floresan ışığa maruz kalan bebeklerde serum bilirubin seviyesinin düştüğünü gözlemledikten sonra, fototerapi tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Böylece fototerapi, çok ciddi bazı komplikasyonları olan kan değişimi oranlarını belirgin bir şekilde azaltmıştır (4-6). Fototerapi indirekt hiperbilirubinemi tedavisinde bilinen en ucuz, yaygın, kolay uygulanabilir ve *noninvaziv* olduğuna inanılan bir tedavi yöntemidir.

En sık görülen yan etkiler bronzlaşma, ciltte kızarıklıklar, dehidratasyon, ishal, hemoliz, deri yanıkları, retina hasarı ve laktoz intoleransı olarak bildirilmektedir (1). Ayrıca, Pineal bezin uyarılmasına bağlı hipokalsemi (5,6) PDA (7), prematürelde daha belirgin olmak üzere riboflavin eksikliği (7,8), lüteinizan hormon, folikül stimule edici hormon ve büyüme hormonu düzeylerinde düşüş (9), gonadal hasar (10,11,32), immün

sistemin baskılanması (12,13) ve kardiyak atımda azalmaya (14) sebep olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır.

Etkin bir yöntem olan fototerapinin uygulanması sırasında ortaya çıkması muhtemel tüm bu yan etkilerin hepsi tedavisi kolay ve geçici yan etkilerdir. Bu istenmeyen etkilerin hiçbiri tedavinin sürdürülmesini engelleyecek nitelikte değildir. Fototerapinin uzun dönemde ortaya çıkabilecek istenmeyen etkileriyle ilgili veriler henüz yeterli düzeyde değildir. Ancak son yıllarda bu tedavi şeklinin sebep olduğu fotooksidan etkiden kaynaklanan ve uzun dönemde mutajenik/karsinojenik sonuçlar doğurabilecek hücre düzeyindeki sitotoksik etkiler ve DNA hasarı daha sık tartışılmaya başlanmıştır. Yakın zamanda yapılan deneysel bir çalışmada fototerapinin apoptozu tetiklediği gösterilmiştir. Apoptozis hem patolojik hem de fizyolojik şartlarda oluşabilen bir süreçtir ve oksidatif mekanizmaların vital organ apoptozisine neden olduğu iyi bilinmektedir (309). Fototerapi uygulanan ratlarda abdominal organlarda apoptozisin varlığını araştırdığımız bu çalışmada bulgularımız öne sürülen bu görüşleri destekler niteliktedir. Hem konvansiyonel hem de LED fototerapi uygulanmış yenidoğan ratlarda karaciğer ve böbrek dokusunda apoptozun kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığını saptadık.. Bu sonuçlar fototerapinin fotooksidatif etki ile hücre ve doku düzeyinde apoptotik yolları tetikleyebileceğini desteklemektedir.

Fototerapi uygulaması ile fotooksidasyon ve apoptozis gelişimi arasındaki ilişkide fototerapi sırasında açığa çıkan yüksek enerjili ışığın, sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Fototerapide kullanılan UV ışınları lipidler, karbonhidratlar, proteinler, bilirubin gibi vücut bileşenlerinin yapısındaki çift bağları okside ederek serbest oksijen, hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi serbest radikallerin oluşumuna sebep olur. Oluşan bu serbest radikaller de hücre zarları ve nükleik asitler gibi önemli bileşenlere zarar vererek hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olur (100,192,193).

Çalışmamızda konvansiyonel fototerapi alan gruptaki apopitoz skoru LED fototerapi alan gruba göre daha yüksekti. Fototerapinin etkinliği gestasyonel yaş, postnatal yaş, doğum ağırlığı, sarılığın nedeni, başlangıç bilirubin düzeyi gibi bebeğe ait faktörlerin yanında verilen ışığın gücü, spektrumu, dalga boyu ve ışığa maruz kalınan vücut yüzey alanına da bağlıdır (2,6,148). Etkinlik yanında istenmeyen etkiler açısından da bu değişkenler rol oynayabilir. Çalışmamızda iki grup arasında uygulanan fototerapilerde kullanılan ışınların dalga boyu ve irradyansları farklılık göstermektedir. Christensen ve ark. (225)'nin çalışmasında glioblastom hücreleri değişik bilirubin konsantrasyonlarında ve değişik dalga boylarında ışık yayan mavi ve yeşil fototerapi lambalarına maruz bırakılmış; floresan ışıklara bağlı in vitro genotoksitenin en çok mavi ışıkta görüldüğü ve doza bağımlı olarak arttığı saptanmıştır (225). Bu nedenle bizim çalışmamızda fototerapi almış yenidoğan rat dokularında tespit ettiğimiz apopitoz oranındaki farklılığın, farklı dalga boyundaki ışık yayan lambaların fotooksidatif etkilerinin farklı olmasından ileri gelebileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde Keiichiro ve arkadaşlarının çalışmasında da konvansiyonel fototerapi alan gruptaki artmış apopitoz oranı da dalga boyundaki farklılık ile ilişkilendirilmiştir.

Gathwala ve ark. (196, 310) güvenilir bir tedavi şekli olan fototerapinin, bir fotodinamik stres kaynağı olduğunu ve lipid peroksidasyonunu artırabileceğini, yenidoğanlardaki pek çok ciddi hastalığın oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonundan kaynaklandığını, dolayısıyla fototerapi endikasyonlarına ve tedavi yoğunluğuna daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliği yenidoğanları oksidan strese karşı dayanıksız kılmaktadır. Serbest radikal hastalıkları olarak da tanımlanan bronkopulmoner displazi, intraventriküler kanama, iskemi reperfüzyon hasarı, prematüre retinopatisi, nekrotizan enterokolit, akut tubuler nekroz ve PDA'nın oluşumunda oksidatif stres önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle fototerapinin yol açtığı oksidatif stresin hücre lipid, protein yapıtaşları ve DNA üzerinde oluşturduğu hasarın



özellikle çok düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda bu hastalıkların gelişimine altyapı hazırlayabileceği tartışılmaktadır (197-199).

Fototerapinin fotooksidatif etkisini açıklarken kullanılan bir diğer mekanizma da bilirubin, vitamin C, ürik asit gibi antioksidan özelliği bilinen moleküllerin fototerapi sırasında azaldığı ve bunun oksidatif stresi kolaylaştırabileceği şeklindedir (192,193). Ayçiçek ve arkadaşları 34 sağlıklı term bebeği aldıkları bir çalışmada 3 ila 10 gün arasında fototerapi uygulanmış bebeklerde serum ürik asit, C vitamini, malon dialdehit (MDA) ve total bilirubin düzeylerini düşük; buna karşılık serum total oksidatif stres indeksi, lipid hidroperoksit düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (197).Yine ülkemizden Atıcı ve arkadaşlarının, fototerapinin antioksidan sistemler üzerine etkilerini inceledikleri araştırmada fototerapi uygulanmış, sağlıklı, zamanında doğmuş, 56 bebek ve 55 kontrol grubu hastayı karşılaştırılmış; fototerapi uygulanan grupta total antioksidan kapasite ve MDA düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek; G6PD düzeyinin ise daha düşük olduğu bulunmuş ve bu sonuçlar ışığında fototerapinin antioksidan bir strese yol açabileceği ileri sürülmüştür (195). Çalışmamızda apopitozun araştırıldığı dokularda oksidan stres belirteçlerine bakılmamakla birlikte kliniğimizde yapılan ve henüz yayınlanmamış bir çalışmada aynı çalışma grubundaki ratların ince bağırsaklarında doku düzeyinde oksidan hasar belirteci olan total sülfhidril düzeyinin (TSH) kontrol grubuna göre anlamlı oranda artmış olarak bulunması da fototerapinin oksidan strese yol açabileceği görüşünü destekler niteliktedir (311 Tutku Hoca bildiri). Yine başka bir çalışmada fototerapi almış yenidoğan eritrositlerinde ATP az aktivitesinin ciddi düzeyde azaldığı ve serbest radikallerin dolaylı göstergesi olan lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir (196).

Fototerapideki apopitozun fotooksidasyonla oluşan serbest oksijen radikallerinin varlığı yanısıra oluşabilecek DNA hasarının tamir ve önlenmesinin bozulmasıyla da ilişkili olabileceği öngörülmektedir.

Fototerapinin DNA üzerinde olumsuz etkileri *invitro* olarak gösterilmiştir (1). Fototerapi lambalarının yaydığı ışıkların spektrumunda görünür ışık yanında, görünmeyen ultraviyole (UV) ışıkları da bulunmaktadır (204,205). Ultraviyole ışınların moleküler düzeyde etkileri olabileceği gibi (DNA, kromatit ve kromozom), hücre, doku ve organlar düzeyinde de etkili olabileceği bilinmektedir (206,207). Özellikle DNA, UV ışınlanmasında birinci dereceden biyolojik bir hedeftir (208). Ultraviyole ışınların prokaryot ve ökaryot hücreler üzerinde genotoksik etkisi çok iyi bilinmektedir (209-212). Erişkin hastalar yanı sıra hücre kültürü ile yapılan ve fototerapinin DNA hasarı yapıcı etkileri olduğunu gösteren ayrıca uzun dönemde istenmeyen etkilerinin ortaya çıkabileceğini öngören birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin çocuk-erişkin ve sadece erişkinleri içeren hasta gruplarında, psöriyazis ve bir kısım genetik geçişli cilt hastalıklarının psöralen ve/veya UV ışıkları ile tedavisinden sonra araştırılmış, UV'nin genotoksik, mutajen ve kanserojen olduğu gösterilmiştir (213-216). Yine insan lenfosit hücre kültürleri ile yapılmış bir başka çalışmada, tepe ışık yayılımı 450 nm olan mavi lamba ışınlarına maruz kaldığında DNA yıkım ürünlerinin arttığı gösterilmiş, en fazla mutajenik aktivitenin 450 nm'de olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde lenfosit hücre kültürleri ve floresan ışıkla yapılan başka bir çalışmada, tek iplikçikli DNA kırıkları gösterilmiştir (223,224). DNA hasarının bir göstergesi olan kardeş kromatid değişiminin arttığına gösterildiği bir çalışmada fototerapinin *invitro* olarak DNA zincir kırıklarına ve DNA hasarının da mutasyonlara yol açtığı rapor edilmiştir (217). Tüm bu çalışmaların sonuçları fototerapiye bağlı olarak DNA hasarlanmasının olabileceğini desteklemektedir. Çalışmamızda DNA hasarlanması araştırılmamış olduğu için bu görüşü destekleyebilecek bir bulgu elde edilmemiştir.

Bir önceki paragrafta tanımlanan çalışmaların tamamı ortamda bilirubininin bulunmadığı çalışmalardır. Ancak Christensen ve arkadaşlarının (225) bilirubin varlığında gerçekleştirdiği bir çalışmada ise insan kültür hücrelerinde farklı dozlarda bilirubin konsantrasyonlarına ve farklı lambaların kullanıldığı fototerapiye maruz bırakıldıktan sonra, alkali elüsyon tekniği ile

DNA zincir kırıkları ölçülmüştür. Bu çalışmada, bilirubin yokluğunda fototerapinin, hücrelerin DNA'larında kırıklara neden olduğu tespit edilmiştir. Bilirubin varlığında ise fototerapi sonrası uzun ömürlü toksik foto-ürünler oluşmuş ve DNA zincir kırıkları sıklığı daha da artmıştır. Çalışmanın sonucu bilirubin varlığında oksidan stresin ve zararlanmanın daha da artacağı düşüncesine sebep olmaktadır. Bizim çalışmamız bilirubinsiz ortamda gerçekleştirilmiştir bu nedenle oluşabilecek hasarlanmanın bilirubinli ortamda daha da belirgin olabileceği düşünülebilirse de de hem serbest hem de bağlı bilirubinin antioksidan özelliğinden bahseden yayınlar da bulunmaktadır. (312, 313).

Buraya dek özetlenen çalışmaların hepsi invitro çalışmalardır. Bu çalışmaların rehberliğinde yapılan çok az sayıda klinik çalışma da bu bulguları destekler niteliktedir. Ayçiçek ve arkadaşlarının konvansiyonel fototerapi ve sürekli yoğun fototerapi uygulanmış term bebekler ve kontrol grubunu karşılaştırdıkları bir çalışmada periferik mononükleer hücrelerde DNA hasarı araştırılmış; konvansiyonel fototerapi ve sürekli yoğun fototerapi alan grupta mononükleer hücrelerde kontrol grubuna göre anlamlı oranda artmış DNA hasarı bulunmuştur (235). Bu çalışma bizim çalışmamızdan farklı olarak konvansiyonel ve LED fototerapiye bağlı etkileri karşılaştırmaktan ziyade uygulanan fototerapinin yoğunluğunun araştırılması üzerine kurgulanmıştır ancak benzer şekilde fototerapinin istenmeyen etkileri gözlenmiştir..

Çoğu çalışmada fototerapi yoğunluğu ile zararlanma ilişkisi araştırılırken çok az sayıda çalışmada fototerapi süresinin etkileri karşılaştırılmıştır. Klinik uygulama açısından bebeğin bilirubin düzeylerine göre fototerapi uygulanma süresi değişmekte birlikte başlangıçtan itibaren en az 24 saat süre ile devam edilmektedir. O nedenle bizim çalışmamızda da 24 saat süreyle fototerapi uygulanması hedeflenmiştir. Çalışmanın başlangıcında farklı süre uygulamalarının karşılaştırılması da planlanmakla

birlikte teknik olanaksızlıklar (ratların bakımlarının daha uzun süre sağlanamaması) nedeniyle bu plan gerçekleştirilememiştir. Ülkemizden bildirilen bir çalışmada fototerapinin ve uygulanma süresinin etkileri karşılaştırılmıştır. Sarılıklı ve zamanında doğmuş 22 bebeğin alındığı bu araştırmada fototerapinin sarılıklı yenidoğanlarda KKD sıklığını artırdığını ve bu artışın fototerapi süresi ile orantılı olduğu tespit edilmiştir (Fototerapi uygulanan hiperbilirubinemili yenidoğanlarda fototerapiye maruz kalma süresi ile genotoksite arasındaki ilişki Hasan kahveci yan dal uzmanlık tezi).

Önceki çalışmaların hemen hepsi fototerapinin uygulanımı sırasında ortaya çıkan akut etkileri rapor etmiştir. Fototerapiye bağlı istenmeyen etkilerin uzun dönem sonuçlarını görmek amacıyla planlanan tek çalışma ise 1998 yılında Tsai FJ ve ark. (234) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada fototerapinin DNA hasarı yapıcı etkisi KKD metoduyla incelenmiştir. Beş günden fazla fototerapi uygulanan bebeklerin (n=8) fototerapi sonrası KKD sıklığının sağlıklı bebeklerdeki (n=8) KKD sıklığına göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve 1 yıl sonra 6'sında KKD sıklığının normale döndüğü gösterilmiştir. Ancak bu çalışmanın sonuçları hasta sayısının azlığı nedeniyle dikkatle yorumlanmalıdır.

Fototerapinin invivo sitotoksik etkilerinin gösterildiği çok az sayıda çalışma mevcuttur ve bu çalışmaların pek çoğu hücre düzeyindedir. Bizim çalışmamız ise fototerapinin tetiklediği apoptozisin invivo olarak gösterildiği 2. çalışma olması ve bu etkilerin doku düzeyinde gösterilmesi açısından önem taşımaktadır. Literatürdeki benzer ilk ve tek çalışma Keiichiro ve arkadaşlarınca gerçekleştirilmiş olup Mayıs 2008'de yayınlanmıştır. Bu çalışmada bizim araştırmamıza benzer şekilde 4 günlük yenidoğan ratlara 72 saat boyunca konvansiyonel ve LED fototerapi uygulanmış ve rat incebağırsağında Tunel ve kaspaz boyama metoduyla apoptoz bakılmıştır. Sonuçta LED ve konvansiyonel fototerapi alan grupta kontrol grubundakilere göre anlamlı oranda yüksek apoptoz saptanmış ve bu sonucun fototerapinin

sitotoksik etkisinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. (314). Çalışmamızın sonuçları bu çalışma ile benzer özellikler taşımakla birlikte fototerapiye bağlı etkilerin ince bağırsak gibi doku dolaşımının ve apopitoza eğilimin daha yüksek olduğu bir organda değil de karaciğer ve böbrek gibi apopitozun nispeten az görüldüğü organlarda gözlenmesi açısından ayrı bir önem taşımaktadır. Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda fototerapi 24 saat süreyle uygulanmıştır. Daha önce de vurgulandığı gibi fototerapi uygulanma süresinin doku üzerindeki olumsuz etkiyi artırabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda farklı uygulanma sürelerinin etkileri karşılaştırılmamakla birlikte en azından 24 saatlik uygulamada bile apopitotik etkinin ortaya çıkabileceğinin saptanmış olması önemlidir. Ayrıca çalışmamız fototerapinin solid organlar üzerindeki etkisini ortaya koymaya yönelik literatürdeki ilk çalışma olması açısından da önem taşımaktadır. Özellikle diğer organlarla karşılaştırıldığında apopitoz gelişiminin beklenmediği karaciğerde bu etkinin gözlenmiş olması dikkat çekicidir .

Son zamanlarda kullanıma giren galyum nitrit LED fototerapi cihazları mavi ve mavi-yeşil spektrumunda yüksek irradyansa sahip cihazlardır (151). Literatürde bu cihazların etkinliği, güvenliği ve muhtemel yan etkileriyle ilgili az sayıda çalışma vardır. Ancak bu cihazların konvansiyonel cihazlara göre daha az UV ışını yaymalarından yola çıkılarak daha az DNA hasarına yol açabileceği düşünülmektedir (225,315). Ülkemizden bildirilen ve LED fototerapi ve konvansiyonel fototerapi cihazlarının yan etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada Karadağ ve arkadaşları konvansiyonel ve LED fototerapi almış sarılıklı term bebeklerin fototerapi öncesi ve sonrası KKD sıklıklarına bakmışlar KKD sıklığının LED ve konvansiyonel fototerapi alan grupta kontrol grubuna göre anlamlı oranda arttığını ancak LED ve konvansiyonel fototerapi alan grupta KKD açısından fark olmadığını bulmuşlardır (316). Ancak Karadağ ve arkadaşlarının çalışmalarında çalışmamızın aksine LED ve konvansiyonel fototerapi alan grupta DNA hasarı açısından fark gözlenmemiş olması apopitoza neden olan olaylar zincirinin DNA hasarından ziyade oksidan stresle tetiklenebileceğini

düşündürmektedir. Ayrıca aynı denek grubundan elde edilen ince bağırsaklarda oksidan stres belirteci olan TSH yüksekliği de bu görüşü destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda fototerapi uygulanan yenidoğan ratların karaciğer ve böbrek dokularında apoptozisin belirgin derecede arttığı gözlenmiştir. Ayrıca indirekt hiperbilirubinemi tedavisine yeni girmiş ve daha etkin bir şekilde bilirubin düzeylerini düşürmeye yarayan ancak olası yan etkileri çok iyi bilinmeyen LED fototerapinin konvansiyonel fototerapiye göre daha az apoptoza yol açtığı gösterilmiştir. Apoptozis hem patolojik hem de fizyolojik şartlarda oluşabilen bir süreçtir. Deneysel bir çalışma olması nedeniyle bu organlarda fototerapi ile ortaya çıkan apoptozisin klinikte ne gibi sonuçlara yol açabileceğini öngörmemiz mümkün değildir. Bu amaca yönelik klinik ve uzun dönem çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Ancak yine de bu etkiler göz önünde bulundurularak indirekt hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan fototerapi uygulamasının hassasiyetle uygulanması gereği açıktır.

## SONUÇLAR

Fototerapi almış yenidoğanlarda böbrek ve karaciğer dokusunda apopitoz saptamayı amaçladığımız bu çalışmada şu sonuçlara varılmıştır.

1)Kaspaz boyama metoduyla böbrek için en yüksek apopitoz skoru konvansiyonel fototerapi alan grupta bulundu ( $10,02\pm1,51$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $3,7\pm2,39$ ) ve kontrol grubu ( $1,35\pm0,29$ ) izlemekteydi ( $p=0,004$ ). Gruplar arasındaki fark anlamlıydı.

2) Kaspaz boyama metoduyla karaciğer için en yüksek apopitoz skoru konvansiyonel fototerapi alan grupta bulundu ( $15,6\pm3,72$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $3,63\pm1,84$ ) ve kontrol grubu ( $1,27\pm0,52$ ) izlemekteydi ( $p=0,004$ ). Gruplar arasındaki fark anlamlıydı.

3)TUNEL boyama metoduyla böbrek için en yüksek apopitoz skoru konvansiyonel fototerapi alan grupta bulundu ( $1,2 \pm0,16$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $0,8\pm0,69$ ) ve kontrol grubu ( $0,1\pm0,07$ ) izlemekteydi ( $p=0,498$ ) (Tablo 4.9). Ancak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

4) TUNEL boyama metoduyla karaciğer için en yüksek apopitoz skoru konvansiyonel fototerapi alan grupta bulundu ( $1,73\pm0,82$ ). Bunu LED fototerapi alan grup ( $0,46\pm0,009$ ) ve kontrol grubu ( $0,19\pm0,16$ ) izlemekteydi ( $p=0,51$ ). Ancak gruplar arasındaki fark anlamlı değildi.

## KAYNAKLAR

1. Piazza A.J., Stoll B.J., Jaundice and hyperbilirubinemia in the newborn. In: Behrman R.E., Kliegman R.M., Jenson H.B. (eds) Nelson Textbook of Pediatrics. Saunders Comp. Philadelphia (18th edition) 2007;756-765.
2. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia .Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics. 2004;114;297-316.
3. London IM, West R, Shemin D *et al.* (1950) On the origin of bile pigment in normal man. *J Biol Chem* 184, 351–358.
4. Macmillian JA, De angelis CD, Feigin RD. Oski's pediatrics In: Cashore JW. Jaundice lippincott Co 2000;197-206.
5. Dağoğlu T, Ovalı F. İndirekt hiperbilirubinemi. Dağoğlu T. Neonatoloj İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. 2007(50);517-536.
6. Stokowski LA. Fundamentals of phototherapy for neonatal jaundice. *AdvNeonatal Care*. 2006;6:303-312.
7. Knobloch E, Hodr R. Metabolism of bilirubin and riboflavin in the course of phototherapy for hyperbilirubinemia in the newborns. *Czech Med* 1989;12:134-44.
8. Sisson TR: Photodegradation of riboflavin in neonates. *Fed Proc* 46: 1883-1885, 1987
9. Kehyayan E, Galdi I, Pellicciotta G, Girardi AM, Caviezel F. Effect of phototherapy on plasma levels of GH, LH and FSH in the newborn. *J Endocrinol Invest*. 1985;8:561-565.
10. Cohen SM. Jaundice in the full-term newborn. *Pediatr Nurs*. 2006;32:202-208.
11. Koç H. Altunhan H. Dilsiz A. Kaymakçı A., Duman I., Oran B., Erkul I., Testicular Changes in Newborn Rats Exposed to Phototherapy *Pediatric and Developmental Pathology* 2, 333–336, 1999
12. Wang CH., Ma FT., Li YZ., The study advancement about oxidative stres reaction induced by phototherapy. *Chin J Birth Healty Heredity* 2006;12:13-15



13. Kurt A.,Aygün AD., Kurt N.Ç, Gödekmerdan A. Use of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia affects cytokine production and lymphocyte subsets Neonatology 2009;95; 262-266
14. Benders M.J, Van Bel F. Van de Bor M.,Cardiac output and ductal reopening during phototherapy in preterm infants Acta Paediatrica 1999;88:1014-1019.
15. Keiichiro T, HashimotoH, TachibanaT Ishikawa H,Ohki T. Apoptosis in the small intestine of neonatal rat using bluelight-emitting diode devices and conventional halogen-quartz devices in phototherapy. Pediatr Surg Int May-2008
16. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK: Neonatal hyperbilirubinemia. N Eng J Med 344(8):581-590, 2001.
17. Tiribelli C, Ostrow JD. New concepts in bilirubin chemistry, transport and metabolism. Report of the international bilirubin workshop, April 6-8, 1989 Trieste, Italy. Hepatology 11:303-313, 1990
18. Gürsoy T, Yigit S: Yenidogan sarılığı. Hacettepe Tıp Dergisi 35: 143-153, 2004
19. Alpay F. Sarılık. Türk Neonatoloji Derneği, Yurdakök M., Erdem G.(ed) Neonatoloji (ikinci baskı) 2004: 559-579.
20. Ostrow JD, Pascolo L, Brites D, Tiribelli C: Molecular basis of bilirubin-induced neurotoxicity. Tr Mol Med 10(2):65-71, 2004
21. Robertson A, Karp W, Borderson R. Bilirubin displacing effect of drugs used in neonatology. Acta Paediatr Scand 1991;1119-1127.
22. Ostrea EM, Ongtengco EA, Tolia VA, Apostol E. The occurrence and significance of the bilirubin species, including delta bilirubin, in jaundice infants. J Paediatr Gastroenterology nutr 1988;7:511-516.
23. Notorianni L. Plasma protein binding of drugs in pregnancy and in neonates. Clin Pharmacokinet 1990;18:20-36.
24. Ahlfors CE, Wennberg RP Bilirubin-albumin binding and neonatal jaundice. Semin Perinatol 2004;28:334-339.
25. Hansen R. Fetal and neonatal bilirubin metabolism. In: Maisels M.J., Watchko J.F. (eds). Neonatal Jaundice Monographs in Clinical

- Pediatrics. Singapore: Harward Academic Publishers 2000; 3-20.
26. <http://www.emedicine.com/med/topic227.htm> (Bilirubin, Impaired conjugation)
  27. Özalp. Yenidogan Sarılıkları. *Katkı Pediatri Dergisi* 1995; 16: 667- 744
  28. Stevenson D.K. Dennergy P.A., Hintz S.R. Understanding newborn jaundice. *Perinatol* 2001; 21: 521-524.
  29. Koolman J, Röhm KH. Color atlas of biochemistry, New York, Thieme Flexibook 1996; 181
  30. Cowford JL, House SC, Gollan JL. Formation, hepatic metabolism and transport of bile pigments: A status report. *Sem Liver Dis* 1998;8: 105-118.
  31. Sarıcı Ü., Serdar M.A., Korkmaz A. et al. Incidence, course and prediciton of hyperbilirubinemia in near-term and term newborns. *Pediatrics* 2004; 113: 775-780.
  32. Madan A, MacMahon JR. Neonatal hyperbilirubinemai. In Taeush HW, Ballard RA, Gleasun CA, eds. *Avery's Disases of the Newborn*. Philadelphia: Elsevier– Saunders, 2005:1226-1256.
  33. Watchko JF, Maisels MJ. Jaundice in low birthweight infants: pathobiology and outcome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2003;88:455-458
  34. Bracci R, Buonocore G, Garosi G, Bruchi S, Berni S. Epidemiologic study of neonatal jaundice. *Acta Pediatr Scan* 1989;360: 87-92.
  35. Gartner LM. Neonatal Jaundice. *Pediatr Rev* 1994; 15:442-432.
  36. Linn S, Schoenbaum SC, Monson RR. Epidemiology of neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 1985;75: 770-778.
  37. Johnson JD, Angelus P, Aldrich M, Skipper BJ. Exagerated jaundice in Navajo neonates; the role of bilirubin production. *Am J Dis Child* 1986;140:889-891
  38. Kaplan M., Hammerman C., Maisels M.J. Bilirubin genetics for the nongeneticist: Hereditary defects of neonatal bilirubin conjugation. *Pediatrics* 2003; 111: 886-893
  39. Akaba K., Kimura T., Sasaki A. et al. Neonatal hyperbilirubinemia and

- mutation of the bilirubin uridine diphosphate glucuronyl transferase gene: a common missense mutation among Japanese, Koreans and Chinese. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 46: 21-26.
40. Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence risk of neonatal hyperbilirubinemia in siblings. *Am J Dis Child*. 1988; 142:1065-9.
  41. Newman T.B., Xiong B., Gonzales V.M., Escobar G.J. Prediction and prevention of extreme neonatal hyperbilirubinemia in a mature health maintenance organization. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000; 154(11): 1140-1147.
  42. Chou S.C., Palmer R.H., Ezhuthachan S. et al. Management of hyperbilirubinemia in newborns: Measuring performance by using a benchmarking model. *Pediatrics* 2003;112: 1264-1273
  43. Jahrig D., Jahrig K., Stiete S., et al. Neonatal jaundice in infants of diabetic mothers. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1989; 360: 101-107.  
Berk M.A., Mimouni F., Miodovnik M., Hertzberg V., Valuck J. Macrosomia in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *Pediatrics* 1989; 83(6): 1029-1034.
  44. Johnson C.A., Liese B.S., Hassanein R.E. Factors predictive of heightened third-day bilirubin levels: a multiple stepwise regression analysis. *Fam Med* 1989; 21(4): 283-287.73
  45. Newman T.B., Escobar G.J., Gonzales V.M. et al. Frequency of neonatal bilirubin testing and hyperbilirubinemia in a large health maintenance organisation. *Pediatrics* 1999; 104; 1198-1203.
  46. MacMahon JR, Stevenson DK, Oski FA. Bilirubin. In: Taeusch HM, Ballard RA,(eds). *Avery's Diseases of the Newborn*, 7th ed, Philadelphia: A Division of Horcourt Brace Company, 1998,pp 995-1020.
  47. Oral E., Gezer A., Çagdas A., Pakkal N. Oxytosin infusion in labor: the effect different indications and the use of different diluents on neonatal bilirubin levels. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 267(3): 117-120.
  48. Friedman L, Lewis PJ, Clifton P, Bulpitt CJ. Factors influencing the

- incidence of neonatal jaundice. *Br Med J* 1978;1:1235-1237
49. Maisels MJ. Jaundice. In MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, eds. *Awery's Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005:68-784.
  50. Ding G., Zhang S., Yao D. et al. An epidemiological survey on neonatal jaundice in China. *China Med J(Engl)* 2001; 114(4); 344-347
  51. Özkan H. Hiperbilirubinemi Risk Faktörleri. *Güncel Pediatri* 2008;6:119-120.
  52. Maisels JM, Giffort K. Neonatal jaundice in fullterm infants. *Am J Dis Child* 1983;137:561-562.
  53. Cotterell BH, Anderson GC. Rectal or axillary temperature measurement effect on plasma bilirubin and intestinal transit of meconium. *J Pediatr Gastroenterology and Nutr.* 1984;3:734-739
  54. Weismann LE., Meremstein GB, Digirol M, Collins J., Frank G, Hudgins C. The effect of early meconium evacuation on early onset hyperbilirubinemia. *Am J Dis Child* 1983;137:66-69.
  55. Gourley R, Gourley MD, Kreamer B. Neonatal jaundice and diet. *Arch pediatr Adolesc Med* 1999;153:184-188
  56. Maisels M.J., King E. Length of stay, jaundice and hospital readmission. *Pediatrics* 1998; 101: 995-998.
  57. Seidman D.S., Stevenson D.K, Ergaz Z. Hospital readmission due to neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 1995; 96: 727-729.
  58. Schreider AP. Breast milk jaundice in the newborn A real entity. *JAMA* 1986; 255: 3270-3274.
  59. Poland R.L. Breast-milk jaundice. *J Pediatr* 1981; 99(1): 86-88. ,
  60. Gourley R.G. Breastfeeding, neonatal jaundice and kernicterus. *Semin Neonatol* 2002; 7: 135-141
  61. Monaghan G, McLellan A, McGeehan A, Li Volti S, Mollica F, Salemi I, Din Z, Cassidy A, Hume R, Burchell B. Gilbert's syndrome is a contributory factor in prolonged unconjugated hyperbilirubinemia of

- the newborn. *J Pediatr.* 1999 ; 134:441-6.
62. McDonagh AF, Chem C. Is bilirubin good for you? *Perinatol* 1990;17:359-367.
  63. Gartner L.W. Breastfeeding and jaundice. *Perinatol* 2001; 21: 525-529.1986.;255;3270-3278
  64. Wong RJ, Desandre GH, Sibley E, Stevenson DK. Neonatal Jaundice and liverdiseases.In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC (eds). Neonatal-Perinatal Medicine.Diseases of the Fetus and Infant, 8th edition Mosby Elsevier 2006,pp1419-65
  65. Alpay F, Öztürk A. Yenidogan sarılığı. *Türkiye Klinikleri J Ped Sp Iss* 2(7): 689-697, 2004.
  66. Pintov S., Kohelet D., Arbel E., Goldberg M. Predictive inability of cord zinc, magnesium and copper levels on the development of benign hyperbilirubinemia in the newborn. *Acta Paediatr* 1992 ; 81(11): 868-869.
  67. Can G, İnce Z, Çoban A. Yenidoğanda sarılık. Neyzi O, Ertuğrul T (edi). *.Pediatri*, 3.baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2002,s 402-420
  68. Blanchette V, Doyle J, Schmidt B, Zipursky A. Hematology . İn:Avery GB,Fletcher MA, Macdonald MG (Eds). *Neonatology: Pathophysiology andManagement of the Newborn.* Philadelphia : JB Lippincott Co, 1994:952-98.
  69. Gardner LM. Neonatal Jaundice. *Pediatrics in review* 1994 ;15:422-431
  70. Wong RJ, Desandre GH, Sibley E, Stevenson DK. Neonatal Jaundice and liverdiseases.In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC (eds). Neonatal-Perinatal Medicine.Diseases of the Fetus and Infant, 8th edition Mosby Elsevier 2006,pp1419-65.
  71. Muensch BR, Sysiok et al. Disulfite bends are a requirement for Kell Ann Cartwright Blood Group Antigen Integrity. *Br J Hematol* 1983;54:573-578.
  72. V.K. Bhutani, L. Johnson, E.M. Sivieri Predictive Ability of a Predischarge Hour-specific Serum Bilirubin for Subsequent

- Significant Hyperbilirubinemia in Healthy Term and Near-term Newborn Pediatrics 1999;103:6-14.
73. Sarıcı SU, Yurdakök M, Serdar MA, Oran O, Erdem G, Tekinalp G, Yiğit S. An early (sixth-hour) serum bilirubin measurement is useful in predicting the development of significant hyperbilirubinemia and severe ABO hemolytic disease in a selective high-risk population of newborns with ABO incompatibility. Pediatrics 2002;109:e53
  74. Meredith L. Hyperbilirubinemia in the Term Newborn. Am Fam Physician 65:599-606, 2002.
  75. Maisels MJ. Neonatal jaundice. In : Avery GB, ed. Neonatology, pathophysiology and Management of the Newborn, 2 th ed. Philadelphia JB Lippincott, 1999, pp 765-819.
  76. McMahon JR, Stevenson DK, Oski FA. Management of neonatal hyperbilirubinemia. In: Taeusch HW, Ballard RA, eds. Avery's Disease of the Newborn , Philadelphia, WB Saunders, 1998, pp 1033-1043.
  77. Halamek LP, Stevenson DK. Neonatal jaundice. In: Fanaroff AA, Martin RJ, eds, Neonatal Perinatal Medicine. Disease of the fetus and infants, St. Louis , Mosby-Year Book, 1997 , pp 1345-1389
  78. Newman TB, Maisels MJ. Evaluation and treatment of jaundice in the term infant: a kinder, gentler approach. Pediatrics 1992;89:809-818.
  79. Harkness UF, Spinnato JM. Prevention and management of RhD isoimmunization. Clin Perinatol 2004;31:721-42.
  80. Bowman JM. Hemolytic disease (erythroblastosis fetalis). In: Creasy RK, Resnik R (eds). Maternal-fetal medicine. 4th edition. Philadelphia: WB Saunders;1999.p736-67.
  81. Moise Jr KJ. Management of Rhesus alloimmunization in pregnancy. Obstet Gynecol 2002;100:600-11
  82. Le van Kim C., Mouro I., Cherif-Zahar B. et al. Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide. Proc Natl Acad Sci USA. 1992; 89(22): 10925-10929.
  83. Fisk N.M., Bennett P., Warwick R.M. et al. Clinical utility of fetal

- RhDtyping in alloimmunized pregnancies by means of polymerase chainreaction on amniocytes or chorionic villi. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171(1): 50-54.
84. Gruslin-Giroux A., Moore T.R. Erythroblastosis fetalis. In: Fanaroff A.A.,Martin R.J. (eds). *Neonatal perinatal medicine, Disease of the fetus and infant (sixth ed)* St Louis: Mosby Year Book, 1997; 300-311.
  85. Moise Jr K. Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy. *Obstetrics and Gynecology* 2002;100:600-11.
  86. Falterman CG, Richardson CJ. Transfusion reaction due to unrecognized ABO hemolytic disease of the newborn infant. *J Pediatr.* 1980 ;97:812.
  87. Can G, İnce Z, Çoban A. Yenidoğanda sarılık. Neyzi O, Ertuğrul T (edi). *Pediatrici*, 3.baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevi, 2002,s402-20.
  88. Merlob P., Reisner S.H., Zaizov R. Neonatal anti-Kell isoimmune hemolytic disease with spherocytes. *Pediatr Hematol Oncol* 1986;3(2): 175-178.
  89. Ruoslahti E, Estes T, Seppala M. Binding of bilirubin by bovine and human alpha-fetoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1979; 578(2): 511-519.
  90. Kawade N, Onishi S. The prenatal and postnatal development of UDPglucuronyl transferase activity towards bilirubin and the effect of premature birth on this activity in the human liver *Biochem J* 1981 ;15: 196(1): 257-60.
  91. Narlı N, Satar M, Özlü F, Yapıcıoğlu H, Özcan K. Çukurova Üniversitesi yenidoğan yoğun bakım ünitesi'ne yatırılan hiperbilirubinemili bebeklerin etiyolojik yönden değerlendirilmesi. *Ç.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi* 2004;29:51-55.
  92. Haberal Ş, Özkan H, Oğuz A, Gülay H, Sarıgül F. Neonatal indirek hiperbilirubinemili olguların retrospektif incelenmesi. *D.E.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi* 1996;10:86-89.
  93. Say B, Ozand P, Berkel I, Çelik N. Erythrocyte glucose-6-phosphate

- dehydrogenase deficiency in Turkey. *Acta Paediatr* 1965;54:319.
94. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood* 1994; 84: 3613-3636.
  95. Vales T. Neonatal jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Maisels M.J., Watchko J.F. Neonatal jaundice monographs in clinical pediatrics. Singapore: Harward Academi Publishers, 2000; 62-72.
  96. Nair P.A., Al Khusaiby S.M. Kernicterus and G6PD deficiency-a case series from Oman. *J Trop Pediatr* 2003; 49(2): 74-77.
  97. MacDonald M.G. Hidden risks: early discharge and bilirubin toxicity due to glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Pediatrics* 1995; 96(4 Pt 1): 734-738.
  98. Washington E.C., Ector W., Abboud M., Ohning B., Holden K Hemolytic jaundice due to G6PD deficiency causing kernicterus in a female newborn. *South Med J* 1995; 88(7): 776-779.
  99. Jacqueline HC, Bernadette FR. *Clinical Hematology Atlası*.W.B. Saunders Company, Philadelphia,1999;127.
  100. Macmillian JA, De angelis CD, Feigin RD. Oski's pediatrics In: Cashore JW. *Jaundice* lippincott Co 2000, 197-206.
  101. Bancroft JD, Kreamer B, Gourley Gr. Gilbert syndrom accelerates development of neonatal jaundice. *J Pediatr* 1998;132:656-60.
  102. Yiğit Ş. İndirekt hiperbilirubinemiler ve sarılıklı yenidoğan bebeğe yaklaşım, *Katkı Pediatri Dergisi* 16:680-700, 1995.
  103. Linder N, Yatsiv I, Tsur M, et al. Unexplained neonatal jaundice as an early diagnostic sign of septicemia in the newborn. *J Perinatol* 1988; 8: 325-7.
  104. Hannam S, MacDonell M, Rennie JM. Investigation of prolonged neonatal jaundice. *Acta Paediatr* 2000;89:694-697.
  105. Köksal N. Hemolitik anemi. *Uludag Üniversitesi Tıp Fakültesi, Neonatoloji BD, Bursa. Türkiye Klinikleri J Ped* 2:747-753, 2004.
  106. Olivieri NF. Fetal erythropoiesis and the diagnosis and treatment of hemoglobin disorders in the fetus and child. *Semin Perinatol* 21: 63-



- 69, 1997.
107. Stanley Ip, MD, Mei Chung, MPH, John Kulig An Evidence-Based Review of Important Issues Concerning Neonatal Hyperbilirubinemia. *Pediatrics*. 2004;114:130-153.
  108. Petrova A, Mehta R, Birchwood G, Ostfeld B, Hegyi T. Management of neonatal hyperbilirubinemia: pediatricians' practices and educational needs. *BMC Pediatr*. 2006;6:6.
  109. Bhutani VK, Johnson LH, Schwoebel A, Gennaro S. A systems approach for neonatal hyperbilirubinemia in term and near-term newborns. *J Obstet Gynecol*
  110. Çoban A. Indirekt hiperbilirubinemi tedavisi. *Güncel Pediatri Dergisi* 4(Suppl 1):1114-117, 2006.
  111. Neon Kramer LI: Advancement of dermal icterus in the jaundiced newborn. *Am J Dis Child* 118: 454-458 *atal Nurs*. 2006;35:444-455.
  112. Porter ML, Dennis BL: Hyperbilirubinemia in the term newborn. *Am Fam Physician* 65:599-606, 2002
  113. Knudsen A, Brodersen R: Skin colour and bilirubin in neonates. *Arch Dis Child* 64(4):605-609, 1989
  114. Riskin A, Weinger MA, Bader D: How accurate are neonatologists in identifying clinical jaundice in newborns. *Clin Pediatr* 42:153-158, 2003
  115. Bhutani VK, Gourley GR, Adler S, Kreamer B, Dalin C, Johnson LH: Noninvasive measurement of total serum bilirubin in a multiracial pre-discharge newborn population to assess the risk of severe hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 106(2):e17, 2000
  116. Johnson L, Bhutani VK: Guidelines for management of the management of the jaundiced term and near-term infant. *Clin Perinatol* 25(3):555-574, 1998
  117. Johnson L, Brown AK, Bhutani VK: System based approach to management of neonatal jaundice and prevention of kernicterus. *J Pediatr* 93:488-494, 2002
  118. Juretschke L.J. Kernicterus: Still a concern. *Neonatal Netw* 2005;

.24(2): 7

119. Ip S., Glicken S., Kulig J. et al Management of neonatal hyperbilirubinemia. Rockville, MD: US Department of Health and Human Services, Agency for Healthcare Research and Quality; 2003. AHRQ Publication 03-E011.-19.
120. Wennberg RP, Ahlfors CE, Bhutani VK, Johnson LH, Shapiro SM. Toward understanding kernicterus: a challenge to improve the management of jaundiced newborns. *Pediatrics*. 2006;117:474-485.
121. Watchko JF. Neonatal hyperbilirubinemia--what are the risks? *N Engl J Med*. 2006 4;354:1947-9194.
122. Vural M. Bilirubin Nörotoksitesisi. *Güncel Pediatri* 2008;6:112-113.
123. American Academy of Pediatrics. Neonatal Jaundice and Kernicterus. *Pediatrics* 2001; 108:763-5.
124. Volpe J.J. Bilirubin and brain injury. In: Volpe J.J. (ed). *Neurology of the newborn*: WB Saunders; 2001: 521-546.
125. Johnson L., Brown A.K., Bhutani V.K. BIND-a clinical score for bilirubin induced neurologic dysfunction in newborns. *Pediatrics* 1999;104: 746.
126. Dennery P.A., Seidman D.S., Stevenson D.K. Neonatal hyperbilirubinemia. *N Engl J Med* 2001; 22; 344(8): 581-590.
127. Maisels MJ, Yeung CY: Discussion: Genetics, biochemistry and physiology of bilirubin. *J Perinatol* 21:35-39, 2001
128. Watchko J.F. Vigintiphobia revisited. *Pediatrics*. 2005; 115(6): 1747-1753.
129. Watchko JF. Exchange transfusion in the management of neonatal hyperbilirubinemia. In: Maisels MJ, Watchko (eds). *Neonatal Jaundice Monographs in Clinical Pediatrics*. Singapore: Harwood Academic Publishers; 2000.p.169-76
130. Hiperbilirubinemide Tedavi (Cilt:6 Sayı : 1 March 2008) Betül Acunaş
131. Maisels MJ: Epidemiology of neonatal jaundice. In: Maisels MJ, Watchko JF eds. *Neonatal Jaundice. Monographs in clinical pediatrics*. Amsterdam, The Netherlands: Harwood academic

publishers 2000: 37-49

132. Odell GB, Cohen SN, Gordes eh. Administration of albumin in the management of hyperbilirubinemia by exchange transfusions. *Pediatrics* 30: 613-621,1962.
133. Rubaltelli FF, Griffith PF. Management of hyperbilirubinemia and prevention of kernicterus. *Drugs* 1992;43:864-872
134. Halamek LP, Stevenson DK. Neonatal jaundice and liver disease, In Fanaroff AA, Martin RJ (eds). *Neonatal Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Newborn*. St Louis; Mosby 2002; 1309-1350.
135. Jackson JC. Adverse events associated with Exchange transfusion in healthy and ill newborns. *Pediatrics* 1997;99:724-724.
136. Trevett T.N., Dorman K., Lamvu G. Moise K.J. Jr. Antenatal maternal administration of phenobarbital for the prevention of Exchange transfusion in neonates with hemolytic disease of the fetus and newborn. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192(2): 478-482
137. Bhutani VK, Johnson L, Keren R: Diagnosis and management of hyperbilirubinemia in the term neonate for a safer first week. *Pediatr Clin NAm* 51: 843-861, 2004
138. Drummond GS, Kapsas A: Chemoprevention of severe neonatal hyperbilirubinemia. *Semin Perinatol* 28:365-368, 2004
139. Rubo J., Albrecht K., Lasch P. et al. High-dose intravenous immune globulin therapy for hyperbilirubinemia caused by Rh hemolytic disease. *J Pediatr* 1992; 121: 93–97.
140. Hammerman C., Kaplan M., Vreman H.J., Stevenson D.K. Intravenous immune globulin in neonatal ABO isoimmunization: Factors associated with clinical efficacy. *Biol Neonate* 1996; 70 : 69 –74.
141. Desandre G.H., Wong R.J., Morioka I., Contag C.H., Stevenson D.K. The effectiveness of oral tin mesoporphyrin prophylaxis in reducing bilirubin production after an oral heme load in a transgenic Mouse model. *Biol Neonate* 2005 ; 3; 89(3): 139-146 [Epub ahead of print].
142. Dennery PA. Metalloporphyrins for the treatment of neonatal jaundice.

- Curr Opin Pediatr 2005; 17(2): 167-169.78
143. Martinez J.C., Garcia H.O., Otheguy L.E., Drummond G.S., Kappas A. Control of severe hyperbilirubinemia in full-term newborns with the inhibitor of bilirubin production Sn-mesoporphyrin. *Pediatrics* 1999;103(1): 1-5.
  144. Kappas A. A method for interdicting the development of severe jaundice in newborns by inhibiting the production of bilirubin. *Pediatrics* 2004; 113: 119-123.
  145. Mcdonagh AF. Phototherapy: From Ancient Egypt to the New Millennium. *Journal of Perinatology* 2001; 21:S7–S12.
  146. Halomek LP, Stevenson DK. Neonatal Jaundice and Liver Disease. In Fanaroff AA, Martin RJ. *Neonatal-Perinatal Medicine Vol 2. Disease of the fetus and infant* 6th ed. St. Louis, USA; Mosby 1997;45:1365-9.
  147. Tan KL, Boey KW. Efficacy of phototherapy in non-haemolytic hyperbilirubinemia. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;293:1361-1263.
  148. Cremer RJ, Perryman PW, Richards DH. Influence of light on the hyperbilirubinaemia of infants. *Lancet*. 1958; 24:094-1097.
  149. Lucey J, Ferreiro M, Hewitt J. Prevention of hyperbilirubinemia of prematurity by phototherapy. *Pediatrics* 1968;41:1047.
  150. McDonagh AF, Lightner DA. 'Like a shrivelled blood orange'--bilirubin, jaundice, and phototherapy. *Pediatrics*. 1985;75:443-455.
  151. Vreman HJ, Wong RJ, Stevenson DK. Phototherapy: Current methods and future directions. *Seminars In Perinatology* 2004;28(5):326-33.
  152. Akçalı M., Sarılıklı yenidoğanlarda fototerapi öncesi ve sonrası paraoksanaz, arilesteraz, total oksidan/antioksan durumun değerlendirilmesi 2009; Uzmanlık tezi.
  153. Okada H, Masuya K, Kurono Y, et al. Change of bilirubin photoisomers in the urine and serum before and after phototherapy compared with light source. *Pediatr Int*. 2004;46:640-644.
  154. Maisels, M. Jeffrey. A primer on phototherapy for the jaundiced newborn. *Contemporary Pediatrics*. 2005;6:38-57.

155. Maisels MJ, McDonagh AF: Phototherapy for neonatal jaundice. *N Engl J Med* 358:920-928, 2008.
156. Ebbesen F, Agati G, Pratesi R. Phototherapy with turquoise versus blue light. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003;88:430-1.
157. Dicken P, Grant LJ, Jones S. An evaluation of the characteristics and performance of neonatal phototherapy equipment. *Physiol Meas* 2000;21:493-503.
158. Galla A, et al. Sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes in newborns treated with phototherapy and vitamin E. *Acta Paediatr*. 1992;81:820-823.
159. Garg AK, Prasad RS, Hifzi IA. A controlled trial of high-intensity double-surface phototherapy on a fluid bed versus conventional phototherapy in neonatal jaundice. *Pediatrics*. 1995;95:914-916.
160. Tan KL: The pattern of bilirubin response to phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatr Res* 16:670-674, 1982.
161. Minetti, M., C. Mallozzi, A.M. Di Stasi, et al., Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352:2, 165-74.
162. Minetti, M., C. Mallozzi, A.M. Di Stasi, et al., Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352:2, 165-74
163. Hart G, Cameron R. The importance of irradiance and area in neonatal phototherapy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005 Sep;90(5):F437-40. Epub 2005 May 4.
164. Ente G, Klein SW: Hazards of phototherapy. *N Engl J Med* 1970;283:544-45
165. Maisels MJ. Neonatal jaundice. In: Sinclair JC, Bracken MB, editor(s). *Effective Care of the Newborn Infant*. Oxford: Oxford University Press, 1992:507-19.
166. Mc Donagh AF Sunlight induced mutation of bilirubin in a long distance runner. *The New England J Med* 1986;314:121-2.
167. Facchini FP, Bianchi MO, Silva BA. Intensive phototherapy treatment

- for severe haemolytic disease of the newborn. *J Pediatr (Rio J)*. 2000;76:387-390.
168. Jackson CL, Tudehope D, Willis L, Law T, Venz J. Home phototherapy for neonatal jaundice- technology and teamwork meeting consumer and service need. *Aust Health Rev*. 2000; 23(2): 162-8.
169. Halomek LP, Stevenson DK. Neonatal Jaundice and Liver Disease. In Fanaroff AA, Martin RJ. *Neonatal-Perinatal Medicine Vol 2. Disease of the fetus and infant 6th ed*. St. Louis, USA; Mosby 1997;45: 1365-1369.
170. Behrman RE, Hsia DYY. Summary of a symposium on phototherapy for hyperbilirubinemia. *The Journal of Pediatrics*. 1969; 75:718-726.
171. Ham WT, Mueller HA, Sliney DH. Retinal sensitivity to damage from shortwavelength light. *Nature* 1976; 260: 153-5.
172. Arden GB, Berninger T, Hogg CR, Perry S. A survey of colour discrimination of German ophthalmologists. *Ophthalmology* 1991; 98: 567-75.
173. Hommura S, Usaki Y, Takei K, et al. Ophthalmic care of very low birth weight infants, report 4: clinical studies of the influence of light on the incidence of ROP. *Nippon Ganka Zasshi* 1988; 92: 456.
174. Reynolds JD, Hardy RJ, Kennedy KA, Spencer R, van Heuven WA, Fielder AR. Lack of efficacy of light reduction in preventing retinopathy of prematurity. Light Reduction in Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *N Engl J Med* 1998; 338: 1572-6.
175. Seiberth V, Linderkamp O, Knorz MC, Liesenhoff H. A controlled trial of light and retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol* 1994; 118: 492-5
176. Wu PY, Moosa A. Effect of phototherapy on nitrogen and electrolyte levels and waterbalance in jaundiced preterm infants. *Pediatrics*. 1978 Feb;61(2):193-8.
177. Bakken AF: Temporary intestinal lactase deficiency in light treated jaundiced infants. *Acta Paediatr* 1977;66:91.

178. Oh W, Karecki H: Phototherapy and insensible water loss in newborn infant. *Am J Dis Child* 1972;124:230.
179. Wu PYK, Hodgman JE: Insensible water loss in preterm infants: Changes with postnatal development and non-ionizing radiant energy. *Pediatrics* 1974;54:704
180. Boo NY, Lee HT. Randomised controlled trial of oral versus intravenous fluid supplementation on serum bilirubin level during phototherapy of term infants with severe hyperbilirubinemia. *J Paediatr Child Health* 2002;38:151-155.
181. Mehta Mehta S, Kumar P, Narang A. A randomized controlled trial of fluid supplementation in term neonates with severe hyperbilirubinemia. *J Pediatr.* 200 Dec;147(6):781-5.
182. [No authors listed] Use of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. Fetus and Newborn Committee, Canadian Paediatric Society. *CMAJ*.
183. Preis O, Rudolph N. Abdominal distension in newborn infants on phototherapy the role of eye occlusion. *J Pediatr.* 1979;94:816-819.
184. Raghavan K, Thomas E, Patole S, Muller R. Is phototherapy a risk factor for ileus in high-risk neonates? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005;18:129-131.
185. Amato MM, Kilguss NV, Gelardi NL, Cashore WJ. Dose-effect relationship of bilirubin on striatal synaptosomes in rats. *Biol Neonate* 1994;66:288-93.
186. Maurer HM, et al. Effects of phototherapy on platelet counts in low-birthweight infants and on platelet production and life span in rabbits. *Pediatrics.* 1976;57:506-512.
187. Raghavan K, Thomas E, Patole S, et al. Is phototherapy a risk factor for ileus in high risk neonates? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005 Aug;18(2):129-31.
188. Ostrea EM Jr, Cepeda EE, Fleury CA, Balun JE. Red cell membrane lipid peroxidation and hemolysis secondary to phototherapy. *Acta Paediatr Scand.* 1985;74:378-378.

189. Gartner LM, Herrarias CT, Sebring RH. Practice patterns in neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 1998;101:25-31.
190. Scheidt PC, Bryla DA, Hoffman HJ. Phototherapy and patent ductus arteriosus. *Pediatrics*. 1987;80:593-459.
191. Cohen AN, Ostrow JD. New concepts in phototherapy: Photoisomerization of bilirubin IX alfa and potential toxic effects of light. *Pediatrics* 1980;65:740-50.
192. Koç H. Altunhan H. Dilsiz A. Kaymakçı A., Duman I., Oran B., Erkul I., Testicular Changes in Newborn Rats Exposed to Phototherapy *Pediatric and Developmental Pathology* 2, 333–336, 1999
193. Sola A. Turn off the lights and the oxygen, when not needed: phototherapy and oxidative stress in the neonate. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83:293-296
194. Aycicek A, Erel O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83:319-322.
195. Atıcı A., Bozkurt A., Muşlu N., Eskanderi H.N., Turhan A.H., Oxidative Stress Under Phototherapy *Türkiye Klinikleri* 2009;18:259-263
196. Gathwala G, Sharma S. Oxidative stress, phototherapy and the neonate. *Indian J Pediatr*. 2000;67:805-8.
197. Aycicek A, Erel O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83:319-322.
198. Warner BB, Wispe JR. Free radical-mediated diseases in pediatrics. *Semin Perinatol*. 1992;16:47-57.
199. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *Lancet*. 1994;344:721-4.
200. Walter F.J, Wu PY., Siassi B., Cardiac output changes in newborn with hyperbilirubinemia treated with phototherapy *Pediatrics* 1985;76:918-921.
201. Kinugasa H. Hiraynagi K; Effects of skin surface cooling and heating on autonomic nervous activity and baroreflex sensitivity in humans .



- Exp Physiology 1999;84:369-377.
202. Weissman A., Berkowitz E., Smolkin T., Blazer S. Effect of phototherapy on neonatal heart rate variability and complexity Neonatology 2009;95:41-46.
  203. Hammerman C, Kaplan M. Comparative effects of two phototherapy delivery systems on cerebral blood flow velocity in term neonates. Biol Neonate. 2004;86:254-825.
  204. Ennever JF, McDonagh AF, Speck WT. Phototherapy for neonatal jaundice: optimal wavelengths. J Pediatr. 1983;103:295-299.
  205. Gies HP, Roy CR. Bilirubin Phototherapy And Potential UVR Hazards. Health Phys. 1990;58:313-320.
  206. Churchill ME, Peak JG, Peak MJ. Repair of near-visible- and blue-light-induced DNA single-strand breaks by the CHO cell lines AA8 and EM9. Photochem Photobiol. 1991;54:639-644.
  207. Matsumoto K, Sugiyama M, Ogura R. Non-dimer DNA damage in Chinese hamster V-79 cells exposed to ultraviolet-B light. Photochem Photobiol. 1991;54:389-392.
  208. Griggs HG, Bender MA. Photoreactivation of ultraviolet-induced chromosomal aberrations. Science. 1973;179:86-68.
  209. Witkin EM. Ultraviolet mutagenesis and inducible DNA repair in Escherichia coli. Bacteriol Rev. 1976;40:869-907
  210. Monticone RE, Schneider EL Induction of sister chromatid exchanges in human cells by fluorescent light. Mutat Res. 1979;59:215-221.
  211. Marshall RR, Scott D. The Relationship Between Chromosome Damage And Cell Killing In UV-Irradiated Normal And Xeroderma Pigmentosum Cells. Mutat Res. 1976;36:397-400.
  212. Parrington JM. Ultraviolet-induced chromosome aberrations and mitotic delay in human fibroblast cells. Cytogenetics. 1972;11:117-131.
  213. Baysal V, Sahin F, Erel A, Oruk S, Menevşe S. The effect of PUVA treatment on sister chromatid exchange (SCE) values in psoriasis vulgaris patients. J Dermatolog Treat. 2003;14:22-25.

214. Gaynor AL, Carter DM. Greater promotion in sister chromatid exchanges by trimethylpsoralen than by 8-methoxypsoralen in the presence of UV-light. *J Invest Dermatol.* 1978;71:257-259.
215. Hamurcu Z, Demirtas H, Ascioğlu O, Dönmez-Altuntas H, Aktas E. Micronucleus evaluation in mitogen-stimulated lymphocytes of PUVA treated patients. *Tohoku J Exp Med.* 2002;198:11-12.
216. Holme SA, Anstey AV. Phototherapy and PUVA photochemotherapy in children. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2004;20:69-75.
217. Rosenstein BS, Ducore JM. Enhancement by bilirubin of DNA damage induced in human cells exposed to phototherapy light. *Pediatr Res.* 1984;18:3-6.
218. Speck WT, Rosenkranz HS. The bilirubin-induced photodegradation of deoxyribonucleic acid. *Pediatr Res.* 1975;9:703-705.
219. Speck WT, Chen CC, Rosenkranz HS. In vitro studies of effects of light and riboflavin on DNA and HeLa cells. *Pediatr Res.* 1975;9:150-153.
220. Sideris EG, Papageorgiou GC, Charalampous SC, Vitsa EM. spectrum response study on single strand DNA breaks, sister chromatid exchanges, and lethality induced by phototherapy lights. *Pediatr Res.* 1981;15:1019-1023.
221. Churchill ME, Peak JG, Peak MJ. Repair of near-visible- and blue-light-induced DNA single-strand breaks by the CHO cell lines AA8 and EM9. *Photochem Photobiol.* 1991;54:639-644.
222. Parshad R, Sanford KK, Jones GM, Tarone RE. Fluorescent light-induced chromosome damage and its prevention in mouse cells in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75:1830-3183.
223. Santella RM, Rosenkranz HS, Speck WT. Intracellular deoxyribonucleic acid modifying activity of intermittent phototherapy. *J Pediatr.* 1978;93:106-109.
224. Ennever JF, Carr HS, Speck WT. Potential for genetic damage from multivitamin solutions exposed to phototherapy illumination. *Pediatr Res* 1983;17:192-194

225. Christensen T, Reitan JB, Kinn G. Single-strand breaks in the DNA of human cells exposed to visible light from phototherapy lamps in the presence and absence of bilirubin. *J Photochem Photobiol B.* 1990;7:337-346.
226. Sideris EG, Papageorgiou GC, Charalampous SC, Vitsa EM. spectrum response study on single strand DNA breaks, sister chromatid exchanges, and lethality induced by phototherapy lights. *Pediatr Res.* 1981;15:1019-1023.
227. Sandor G. Letter: Phototherapy and chromosome structure. *Lancet.* 1973;2:1384-1385.
228. Goyanes-Villaescusa VJ, Ugarte M, Vazquez A. ster chromatid exchange in babies treated by phototherapy. *Lancet.* 1977;2:1084-1085.
229. Schwartz AL, et al. Effect of phototherapy on sister chromatid exchange in premature infants. *Lancet.* 1978;2:157-815 44
230. Hatcher NH, Risemberg HM, Powers MM, Hook EB. Sister-chromatid Exchange and phototherapy. *Mutat Res.* 1979;60:401-403.
231. Amato M, von Muralt G, Auf der Maur P. Double direction phototherapy and lightinduced genetic abnormalities in human lymphocytes. *Helv Paediatr Acta.* 1985;40:285-291.
232. Galla A, et al. Sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes in newborns treated with phototherapy and vitamin E. *Acta Paediatr.* 1992;81:820-823.
233. Wu FY, Iijima K, Takiguchi D, Nishida A, Higurashi M. Effect of phototherapy on sister-chromatid exchange in infants with Down syndrome. *Mutat Res.* 1992;283:65-67.
234. Tsai FJ, Tsai CH, Peng CT, Wang TR. Sister chromatid exchange in Chinese newborn infants treated with phototherapy for more than five days. *Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi.* 1998;39:327-932
235. Ayçiçek A., Koçyiğit A., Erel Ö., Şentürk H. Phototherapy cuses DNA damage in peripheral mononuclear leucocytes in term infants. *Journal*

- de pediatria 2008;84(2):141-146
236. Sisson TR, Kendall N: Avoidance of undesirable effects of blue light in phototherapy. *J Pediatr* 82:163-164, 1973
237. De Carvalho M, De Carvalho D, Trzmielina S, et al: Intensified phototherapy using daylight fluorescent lamps. *Acta Paediatr* 88:768-771,1999.
238. Sisson TR, Kendall N: Avoidance of undesirable effects of blue light in phototherapy. *J Pediatr* 82:163-164, 1973
239. Hendrik J. Vreman, Ronald J. Wong, and David K. Stevenson  
Phototherapy: Current Methods and Future Directions Seminars in perinatology 2009;september;326-333.
240. Gale R, Dranitzki Z, Dollberg S, et al: A randomized, controlled application of the Wallaby phototherapy system compared with Standard phototherapy. *J Perinatol* 10:239-242, 1990
241. Sarıcı U., Alpay F., Uray B.,Gökçay E.,Comparasion of the efficacy of conventional special blue light and fiberoptic phototherapy in the management of neonatal hyperbilirubinemia *Acta paediatrica* 1999;88:1249-1253.
242. Sarıcı U., Alpay F., Uray B.,Gökçay E.,Double versus single phototherapy in term newborn whith significant hyperbilirubinemia *J Trop ped* 2000;46;36-39.
243. Hansen TW: Acute management of extreme neonatal jaundice: The potential benefits of intensified phototherapy and interruption of enterohepatic bilirubin circulation. *Acta Paediatr* 86:843-846, 1997
244. Tan KL: Comparison of the efficacy of fiberoptic and conventionalphototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. *J Pediatr* 125:607-612,1994
245. Vreman HJ, Wong RJ, Stevenson DK, et al: Light-emitting diodes: A novel light source for phototherapy. *Pediatr Res* 44:804-809, 1998
246. Vreman HJ, Seidman DS, Stevenson DK: Phototherapy of jaundiced newborns using garments containing semi-conductor light-emitting devices. US Patent #6, 596, 016B1, 2003.

247. Seidman DS, Moise J, Ergaz Z, et al: A new blue light-emitting phototherapy device: A prospective randomized controlled study. *J Pediatr* 136:771-774, 2000.
248. Seidman DS, Moise J, Ergaz Z, et al: A prospective randomized controlled study of phototherapy using blue and blue-green light-emitting devices, and conventional halogen-quartz phototherapy. *J Perinatol* 23:123-127, 2003.
249. Assuncao Guimaraes C, Linden R. Programmed cell deaths. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* 2004;271:1638-1650.
250. Balla A, Toth B, Timar G, Bak J, Krajcsi P. Molecular targets for pharmacological cytoprotection. *Biochem Pharmacol* 2001;61:769-777.
251. Wyllie AH, Morris RG, Smith AL, Dunlop D. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* 1984;142:67-77.
252. Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003; 23:499-508.
253. Touchette N, Fogle S. Apoptosis: it chimes with mitosis. *JNIH Res* 3:75, 1991.
254. Lu J, Ashwell KW, Waite P. Advances in secondary spinal cord injury: role of apoptosis. *Spine* 2000;25:1859-1866.
255. Erdoğın B B (2003): Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi*, 4: 165-174.
256. Hıkım A P S, Wang C, Leung A R, Swerdloff S (1995): Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rats after gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology*, 136 (6): 2770-2775.
257. Ellis RE, Yuan JY, Horvitz HR. Mechanisms and functions of celi death. *Annu Rev CeliBiol*. 1991; 7:663-98.
258. Ameisen JC, Estaquier J. Idziorek T. De Beis F. Programmed celi death and AIDS pathogenesis: significance and potential


- mechanisms. *Curr Top Microbial Immunol.* 1995; 200:195-211.
259. Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26: 239-257, 1972.
260. Kerr JF. History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology* 2002; 181: 471–4.
261. Hacker G. The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res.*, 2000; 301:5–17.
262. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.*, 2007: 35(4): 495-516.
263. Kumar V. Abbas A, Fausto N. Cellular Adaptations, Cell \_njury and Cell Death. In: Kumar V., Abbas A., Fausto N., eds. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* 7th ed. Elsevier Philadelphia, 2005:26-32.
264. Öztürk F. Apoptoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2002;9:142-148.
265. Öktem S, Özhan M H, Özol D (2001): Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2 (1): 91-95.
266. Akşit, H., Bildik, A., 2008, Apoptozis, *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 19(1):55-63.
267. Wijsman J H, Jonker R R, Keijzer R, Velde C J H, Cornelisse C J, Dierendonck J H V (1993): A new method to detect apoptosis in paraffin sections; in situ end-labeling of fragmented DNA. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 41 (1): 7-12.
268. Israels LG, Israels ED. Apoptosis. *The Oncologist* 1999;4:332-9.
269. WILLINGHAM, M.C., 1999. Cytochemical Methods for the Detection of Apoptosis. *The Journal of Histochemistry&Cytochemistry.* 47(9):1101-1109.
270. Galle P R (1997): Apoptosis in liver disease. *Journal of Hepatology*, 27: 405-412.
271. Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2004;16:663–669.

272. Dayan Y B, Kaveri S V, Kazatchkine M D, Shoenfeld Y (2000): Is cancer an autoimmune process dependent on anti-apoptotic autoantibodies?. *Medical Hypotheses*, 55 (2): 103–108.
273. Balcı Ekmekçi Ö, Donma O, Ekmekçi H. Programlı hücre ölümü: Apoptozis. *Sendrom* 2004;16:14-23.
274. Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980;284:555-556.
275. Polverini PJ, Nor JE. Apoptosis and predisposition to oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:139-152.
276. Erdoğan B B (2003): Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi*, 4: 165-174.
277. Roshal M, Zhu Y, Planelles V (2001): Apoptosis in AIDS. *Apoptosis*, 6: 103–116.
278. Staley K, Blaschke A J, Chun J (1997): Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semiquantitative ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. *Cell Death and Differentiation*, 4: 66 -75.
279. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 277–88.
280. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *British Medical Journal* 2001; 322:1536-8.
281. Aydoğdu, N.Kaymak, K. Yalçın, Ö. 2005, Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-Asetilsisteinin Etkileri, *Fırat Tıp Dergisi* 10(4); 151-155.
282. Orrenius, S., 2007, Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death, *Drug Metabolism Reviews*, 39: 443-455
283. Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med* 2003;348:1365-1375.
284. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000;407:770-776.
285. Zimmermann KC, Green DR. How cells die: apoptosis pathways. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:S99-103.
286. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri

- ES et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997;91:479-489.
287. Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell* 1996;86:147-157.
288. Philchenkov, A., 2004, Caspases: potential targets for regulating cell death, *J.Cell. Mol. Med.*, 8(4):432-444.
289. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001; 104:487–501.
290. Suliman A, Lam A, Datta R, Srivastava RK. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. *Oncogene* 2001; 20:2122–33.
291. Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science* 2002; 296: 1635–6.
292. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicity dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *Embo J.*, 1995; 14:5579-88.
293. Narula J, Kharbanda S, Khaw BA. Apoptosis and the Heart. *Chest* 1997; 112:1358-62.
294. Gavrieli Y, Sherman Y, Sasson SAB. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Cell Biology* 1992; 119:493-501.
295. Wang J, Chun HJ, Wong W, Spencer DM, Lenardo MJ. Caspase-10 is an initiator caspase in death receptor signaling. *Proceedings of The National Academy of Science of The United States of America (PNAS)* 2001; 98:13884-8.
296. Geske FJ, Gerschenson LE. The biology of apoptosis. *Hum Pathol* 2001;32:1029-1038.
297. Budihardjo I, Oliver HLM. Biochemical pathways of caspase activation



- during apoptosis. Annual Review of Cell and Developmental Biology 1999; 15:269-90.
298. Gastman, B.R., Apoptosis and its clinical impact. Head Neck. 2001.23: 409-25.
299. Gastman BR, Futrell W, Manders EK. Apoptosis and Plastic Surgery. Plastic & Reconstructive Surgery. 2003; 111(4):1481-11496
300. Philchenkov A. Caspases: Potential targets for regulating cell death. J. Cell. Mol. Med. 2004; 8(4):432-444
301. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. Am J Med 1999;107:489-506.
302. McCarthy NJ, Evan GI. Methods for detecting and quantifying apoptosis. Curr Top Dev Biol 1998;36:259-278.
303. Alles A, Alley K, Barrett JC, Buttyan R, Columbano A, Cope FO et al. Apoptosis: a general comment. Faseb J 1991;5:2127-2128
304. Ulukaya E, Apoptosis Ders Notları, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı.
305. Antar V. Bir genel kaspaz inhibitörü olan QVD-OPH'nin nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. Uzmanlık Tezi. Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği. İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.
306. Allen RT, Hunter WJ, 3rd, Agrawal DK. Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. J Pharmacol Toxicol Methods 1997;37:215-228.
307. Kockx MM, Muhring J, Knaapen MW, de Meyer GR. RNA synthesis and splicing interferes with DNA in situ end labeling techniques used to detect apoptosis. Am J Pathol 1998;152:885-888.
308. Huppertz B, Frank HG, Kaufmann P. The apoptosis cascade--morphological and immunohistochemical methods for its visualization. Anat Embryol (Berl) 1999;200:1-18.
309. Mahidhara R, Billiar TR: Apoptosis in sepsis. Crit Care Med 2000; 28(4):N105-N113

310. Gathwala G, Sharma S. Phototherapy induces oxidative stress in premature neonates. *Indian J Gastroenterol* 2002;21: 153-4.
311. Soyer T, Aliefendioğlu D, Aktuna Z, Çağlayan O, Aydos TR, Çakmak M, Effect of phototherapy on gastrointestinal smooth muscle activity and oxidant stress on intestinal segments. 50 th Annual meeting of the European Society for Pediatrics Research Hamburg, *Acta Paediatrica* 98,612,p239, supp 460, Germany 2009.
312. Wu TW, Fung KP, Wu J, Yang CC, Weisel RD. Antioxidation of human low density lipoprotein by unconjugated and conjugated bilirubins. *Biochem Pharmacol* 1996; 51: 859-862.
313. Sedlak TW, Snyder SH. Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle. *Am J Pediatr* 2004;113:1776-82
314. Keiichiro T, Hashimoto H, Tachibana T, Ishikawa H, Ohki T. Apoptosis in the small intestine of neonatal rat using blue light-emitting diode devices and conventional halogen-quartz devices in phototherapy. *Pediatr Surg Int* May-2008
315. In vitro and in vivo Efficacy of New Blue Light Emitting Diode Phototherapy Compared to Conventional Halogen Quartz Phototherapy for Neonatal Jaundice Yun Sil Chang, Jong Hee Hwang, Hyuk Nam Kwon,\* Chang Won Choi, Sun Young Ko,† Won Soon Park, Son Moon Shin,† and Munhyang Lee  *J Korean Med Sci.* 2005 February; 20(1): 61–64
316. Karadag A, Yesilyurt A, Unal S, Keskin I, Demirin H, Uras N, Dilmen U, Tatli MM. A chromosomal-effect study of intensive phototherapy versus conventional phototherapy in newborns with jaundice. *Mutat Res.* 2009 May 31;676(1-2):17-20. Epub 2009 Apr 17