



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ANEMİK PREMATÜRELERDE ERİTROSİT TRANSFÜZYONU  
ÖNCESİ VE SONRASINDA NATURAL KİLLER VE LENFOSİT  
ALT GRUPLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mustafa SARP

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
KAN BANKACILIĞI VE TRANSFÜZYON TIBBI  
(TIP PROGRAMI)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ahmet Fayik ÖNER

VAN-2019

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANEMİK PREMATÜRELERDE ERİTROSİT TRANSFÜZYONU ÖNCESİ VE  
SONRASINDA NATURAL KİLLER VE LENFOSİT ALT GRUPLARININ  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mustafa SARP

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KAN BANKACILIĞI VE TRANSFÜZYON TIBBI

(TIP PROGRAMI)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ahmet Fayik ÖNER

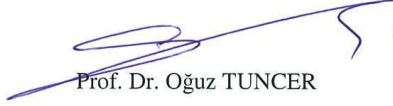
VAN-2019

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2018 TYL-7259 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

## KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Programında Mustafa SARP tarafından hazırlanan “Anemik prematürelde eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrasında natural killer ve lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/07/2019



Prof. Dr. Oğuz TUNCER  
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Ahmet Fayık ÖNER  
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Jüri Üyesi



Dr. Öğr. Üyesi Yalçın DİCLE  
Muş Alparslan Üniversitesi  
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.



Prof. Dr. Semine ERDE  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## ETİK BEYAN

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Anemik prematürelde eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrasında natural killer ve lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mustafa SARP

Tarih: 09/07/2019

İmza

## TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında her türlü katkıyı sağlayan tez danışman hocam Çocuk Hematoloji BD Sorumlu Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ahmet Fayık ÖNER'e Tezime verdikleri desteklerinden dolayı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Başkanı ve Yenidoğan BD Sorumlu Öğretim Üyesi Prof. Dr. Oğuz TUNCER'e İç Hastalıkları AD Başkanı Prof. Dr. Cengiz DEMİR'e Çocuk Hematoloji BD Öğretim Üyesi Doç. Dr. Kamuran KARAMAN'a Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Ufuk KÖMÜROĞLU'na tezimdeki laboratuvar Flow Sitometri çalışmalarını yapan Biyolog Murat ALTINBAŐAK'a Mikrobiyoloji laboratuvarı sorumlusu arkadaşım Gıda Yüksek Mühendisi Emrullah ATIŐ'a ve TYL-2018-7259 proje numarası ile çalışmaya maddi destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkür ederim.

## ÖZET

**Sarp, M. Anemik prematürelde eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrasında natural killer ve lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2018.** Bu çalışmada anemik prematüre olan 40 (kırk) bebekte lenfosit alt grupları CD4–CD8, B Lenfosit CD19, T Lenfosit belirteci CD3, Doğal öldürücü Naturel Killer CD16+CD56 Monoklonal antikorlarının flow sitometri cihazında ışınlanmamış eritrosit transfüzyonu öncesinde ve sonrasında ölçümleri yapıldı sonuçları değerlendirildi. Her iki kategorinin sonuç değerlendirmesine ve karşılaştırma farklılıklarına bakıldı. Çalışmada anemik prematüre anemisi tanısı ile takip edilen postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki prematüre 40 (kırk) bebekten K2 Edtalı kan tüplerine alınan kanları kullanıldı. Testlerde üç grup oluşturuldu; Grup I (Kontrol): 37 ve 40 haftalık anemik olmayan prematüre 22 (yirmiki) bebekten alınan kanlar. Grup II: Eritrosit transfüzyonu öncesinde 40 (kırk) postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki prematüre bebekten alınan kanlar. Grup III: Grup II deki bebeklere eritrosit transfüzyonu uygulandıktan sonra aynı 40 (kırk) bebekten alınan kanlarının oda ısısında en fazla 12 saat içerisinde BD Facs Canto II flow sitometri cihazında test analizleri yapıldı. Bu çalışmamızda anemik olmayan 37. ve 40. haftalarda doğmuş prematüre bebeklerden oluşturulan kontrol grubu ile çalışma gruplarındaki bazı parametreler arasındaki farklılıkların yapılan çalışmaların ortalamalarına bakıldığında anlamlı olmadığı görüldü. Çalışma gruplarını oluşturan postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki prematüre bebeklerin lenfosit alt grupları ve naturel killer sonuç ortalamalarının daha önce yapılan benzer çalışmaların 6-12 ay, 1-2 yaş ve 2- 6 yaş ortalamalarıyla uyumlu olduğu gözlemlendi. Çalışmamız ES transfüzyonlarının prematüre immünesinde özellikle lenfosit alt gruplarına ve dağılımlarına olumsuz etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu nedenle organizmaya bu açıdan olumsuz olmayan, güvenilir bir tedavi yöntemi olarak kabul edilebileceğini düşünmekteyiz. Sonuçlar literatür ışığında tartışılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** CD4–CD8, CD19, CD3, CD16+CD56, Flow Sitometri, ES

## ABSTRACT

**Sarp, M. Evaluation of natural killer and lymphocyte subgroups before and after erythrocyte transfusion in anemic premature infants Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Department of Child Health and Diseases, Blood Banking and Transfusion Medicine Master Thesis, Van, 2018.** In this study, lymphocyte subgroups CD4 – CD8, B Lymphocyte CD19, T Lymphocyte marker CD3, Natural killer CD16 + CD56 Monoclonal antibodies were measured before and after irradiated erythrocyte transfusion in 40 (forty) anemic premature infants. Evaluation of results and comparison differences of both categories were examined. In this study, blood samples were taken from K2 EDTA containing blood tubes from 40 premature (40) infants who were followed up with postconceptional 36th week and below with the diagnosis of anemic premature anemia. Three groups were formed in the tests; Group I (Control): Blood from 22 (twenty-two) infants of 37 and 40 weeks of non-anemic premature. Group II: Blood samples taken from the premature infant at 40 (forty) postconceptional week 36 and below before erythrocyte transfusion. Group III: After erythrocyte transfusion was applied to the babies in Group II, blood samples taken from the same 40 (forty) babies were analyzed in BD FACS Canto II flow cytometry device within 12 hours at room temperature. In this study, it was seen that the differences between some parameters in the control group and preterm infants born at 37th and 40th weeks of non-anemic studies were not significant when the average of the studies were examined. It was observed that the mean results of lymphocyte subgroups and natural clays of premature infants at 36 weeks postconceptional age and below were consistent with the previous 6-12 months, 1-2 years and 2-6 years. Our study shows that ES transfusions have no negative effect on premature immunity, especially lymphocyte subgroups and distributions. There was no significant difference between all parameters measured before transfusion and after transfusion. Therefore, we think that it can be accepted as a reliable treatment method that is not negative to the organism in this respect. The results were discussed in the light of literature.

**Key words:** CD4 – CD8, CD19, CD3, CD16 + CD56, Flow Cytometry, ES

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET .....	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER .....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Prematüre Bebekler.....	4
2.1.1. Prematüre bebeklerin bağışıklık sistemleri .....	4
2.1.2. Prematüre bebeklerde anemi .....	6
2.1.3. Prematüre bebeklerde transfüzyon.....	7
2.1.4. Prematüre bebeklere eritrosit süspansiyonu hazırlanması.....	8
2.1.5. Prematüre bebeklerde transfüzyon komplikasyonları.....	9
2.2. Doğal Öldürücü (Natural Killer: Nk) Hücreler.....	11
2.3. T Lenfositler CD4, CD8 ve CD3 .....	14
2.4. B Lenfositler CD19.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Gereç.....	20
3.1.1. İstatistiksel analiz .....	20
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Ön hazırlık ve analiz .....	21
3.2.2. CD45 ile Lökosit hücre dağılımlarının düzenlenmesi .....	22
3.2.3. CD3/FITC , CD16+CD56/PE testleri .....	24
3.2.4. CD4/FITC, CD8/PE ve CD19/APC testleri .....	26
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	31
5.1. CD4+ T Lenfosit ve CD8+ T Lenfosit'in Değerlendirilmesi .....	31
5.2. CD3+ T Lenfositin Değerlendirilmesi.....	32



5.3. Naturel Killer CD16+CD56'nın Değerlendirilmesi .....	32
5.4. CD19 B Lenfositin Değerlendirilmesi .....	32
Sonuç ve neriler.....	34
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	41
EKLER.....	42
Ek 1. Etik Kurul Raporu.....	42
Ek 1. Etik Kurul Raporu (Devamı).....	43
EK 2. Tez Orjinallik Raporu.....	44



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>APC</b>	: Allofikosiyinin
<b>ASH</b>	: Antijen sunucu hücreler
<b>BCR</b>	: B hücre reseptörü
<b>CCR7</b>	: C- kemokin reseptörü tip 7
<b>CD</b>	: Cluster of Differentiation (Yüzey farklılaşma antijenleri)
<b>CD 2</b>	: T hücre LFA-3 reseptörü
<b>CD 3</b>	: T hücre reseptörü
<b>CD 4</b>	: Yardımcı T lenfosit reseptörü
<b>CD 5</b>	: T ve B hücre reseptörü
<b>CD 8</b>	: Sitotoksik T hücreleri
<b>CD 16</b>	: Naturel Killer lenfositler, granulositler
<b>CD 19</b>	: B hücre reseptörü
<b>CD 45</b>	: Tüm hematolojik hücreler
<b>CD 56</b>	: Naturel Killer lenfositler
<b>CD62L</b>	: L-selektin
<b>CD94/NGK2</b>	: C-tipilektin inhibitör heterodimerik reseptör
<b>CMV</b>	: Cytomegalovirus
<b>ÇDDA</b>	: Çok düşük doğum ağırlıklı
<b>DAP12</b>	: DNA aktive protein
<b>DH</b>	: Dendritik hücreler
<b>dNK</b>	: Desidual Naturel Killer hücresi
<b>EBV</b>	: Epstein Barr Virüsü
<b>EPO</b>	: Eritropoietin
<b>ES</b>	: Eritrosit süspansiyonu
<b>ELBW</b>	: Aşırı düşük doğum ağırlıklı
<b>FcγRIII</b>	: Fragman C reseptörü
<b>FITC</b>	: Flüoreserin izotiyosiyanat
<b>FSC-A</b>	: Forward scatter İleri saçılma grafiği
<b>GVHH</b>	: Graft versushost hastalığını
<b>Hb</b>	: Hemoglobin

<b>HbF</b>	: Hemoglobin F
<b>Hct</b>	: Hematokrit
<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus
<b>HLA</b>	: İnsan lökosit antijeni
<b>IgA</b>	: İmmünoglobulin A
<b>IgG</b>	: İmmünglobulin G
<b>IgM</b>	: İmmunoglobulin M
<b>IL-2</b>	: İnterlökin-2
<b>ILT</b>	: İmmunoglobulin tarzı reseptör
<b>ITIM</b>	: İmmünoreseptör tirozin-menşeyli inhibitör motif
<b>KIR</b>	: Katil Hücre İmmünoglobulin Reseptör
<b>LBW</b>	: Düşük doğum ağırlıklı
<b>MHC</b>	: Major doku uygunluk kompleksi molekülleri
<b>NK</b>	: Naturel Killer
<b>PE</b>	: Fikoeritrin
<b>PerCP</b>	: Peridinin klorofil A proteini
<b>pre-BCR</b>	: İmmatür B hücre reseptörü
<b>RAG</b>	: Rekombinan aktive edici gen
<b>SH2</b>	: Src homoloji 2
<b>SPA</b>	: Sinyaliyaz adaptör protein
<b>SPSS</b>	: Sosyal Bilimler İçin İstatistik Progrmı
<b>SSC-A</b>	: Side Scatter yana saçılma grafiği
<b>TCR</b>	: T hücre reseptörü
<b>TGF-β</b>	: Transforming growth factor beta
<b>TLR</b>	: Toll benzeri reseptörü
<b>VLBW</b>	: Çok düşük doğum ağırlıklı

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> CD45 Lökositlerin genel görünüm çalışması .....	23
<b>Şekil 2.</b> CD45 Lökosit hücre gruplarının kapılanarak çalışılması.....	24
<b>Şekil 3.</b> CD3 CD16+CD56 Facs Canto II çalışma histogram görüntüsü .....	25
<b>Şekil 4.</b> CD4, CD8, CD19 Facs Canto II çalışma histogram görüntüsü.....	26
<b>Şekil 5.</b> Ölçümlere ait dağılım grafiği .....	29



## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Gruplara ait parametrelerin sonuçları .....	28
<b>Tablo 2.</b> ES Transfüzyonu öncesi grupta çalışılan parametreler arasındaki korelasyon .	29
<b>Tablo 3.</b> ES Transfüzyonu sonrası grupta çalışılan parametreler arasındaki korelasyon	30
<b>Tablo 4.</b> Kontrol grubu ile çalışılan parametreler arasındaki korelasyon .....	30



## 1. GİRİŞ

Günümüzde birçok doğumsal ve kazanılmış immün yetmezlik sendromlarının, hematolojik hastalıkların hızlı ve kesin tanısı İmmün sistemin çok yönlü, fonksiyonel ve fenotipik olarak araştırılması ile mümkün olabilmektedir (Türkmen ve ark., 2008). İmmün sisteminin Lenfoid hücreleri B Lenfositler, T Lenfositler ve Doğal öldürücü (Naturel Killer) hücreleri, farklı yönden gelişme yeteneği olan primitif hücreler, kemik iliğinin Multipotential Hematopoietic kök hücresinin Common Lenfoid progenitor halkasından, myeloid hücre yönünden farklılaşma gösteren monositler ve polimorf nüveli lökositlerde Common Myeloid progenitor halkasından köken alırlar (Tuncer ve Kılıç, 2006).

Hüresel sitotoksisiteyi antikorlara bağlı olarak düzenleyen doğal öldürücü (NK) hücreleri, tümörleri, viral enfekte hücreleri direkt sitotoksik etki ile öldürme özelliğine sahiptirler. Büyük granüler lenfosit yapısında olan farklı alt gurupları tanımlanan NK hücrelerinin pek çok hastalıkla olan başlatıcı ve düzenleyici rolü günden güne açığa çıkmaktadır. Bu hücreler CD16, CD56 yüzey antijenlerini eksprese ederler. Gebeliğin 6. haftasından itibaren karaciğerde görülebilen NK hücreleri yenidoğan ve erişkinlerde dolaşımdaki lenfositlerin % 10-15 ini oluştururlar. NK hücrelerinin sitolojik aktivitelerindeki azalmalar yenidoğan enfeksiyonlarının ağır seyretmesine sebep olabilmektedir (Küçüksezer ve ark., 2013).

Doğumdan önce karaciğer ve kemik iliğinde doğumdan sonra primer lenfoid organlarda T lenfositler timusta, B lenfositler kemik iliğinde gelişimlerini tamamlayarak kan dolaşımı yoluyla sekonder lenfoid organlara yerleşirler tekrar postkapiller venül yoluyla dolaşıma geçen bu hücrelerin olgunlaşmış T lenfositlerinin yaklaşık %75'ini CD4 helper, %25' ini CD8 sitotoksik hücreler oluşturmaktadır (Chinen ve ark., 2006). İki temel T-hücre alt grubunu oluşturan CD4+ ve CD8+ molekülleri T hücre immün tanınmasına ve hüresel aktivasyona katkı sağlarlar. Sınıf II (CD4+) ve sınıf I (CD8+) MHC molekülleri için reseptör olarak hareket ederler. Çoğu CD4+ T hücresi MHC sınıf II molekülleri ile antijeni tanır ve T yardımcı hücreleri olarak baskın şekilde hareket ederler. CD8+ T hücreleri, antijen birleşik MHC sınıf I moleküllerini tanır ve öncelikli olarak virüsle enfekte olmuş hücrelerin sitotoksik yıkımından sorumludurlar (Holt PG,

2003). CD3 T lenfositlerinin Genellikle alfa ve beta TCR'ler ile ilişkili oldukları, sitoplazmik uzantılarının TCR'lerden uzun olmasından ötürü TCR'ler tarafından algılanan sinyallerin çekirdeğe aktarılmasında görevli olduğu bildirilmiştir (Demiralp, 2008). CD19 B hücrelerinin tam olarak aktive olabilmeleri için lüzumlu olduğu ve antijenik bir uyarımda T lenfositlerin yüzeyinde bulunan CD21 ile bağlanarak B hücresi reseptörlerindeki sinyal aktarımını güçlendirdiği belirtilmiştir (Diker, 2005).

Flow sitometri uygulamaları immünoloji ve tanı koydurucu hematolojinin genişlemesinde ve gelişmesinde yeni fırsatlar yaratarak doğru tanının konulması açısından çok önemlidir. Flow Sitometri testleride birçok klinik araştırmalarda kullanıldığı gibi immün hastalıklarda periferik kan lenfositlerinin sayımında önemlidir. (Deniz, 2007). Bağışıklık sistemi hücreleri ve antijenler arasındaki etkileşim ve iletişimler lenfositlerin yüzeyinde varolan hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile gerçekleştirilir. Ayrıca hücre yüzey reseptörleri, hücre farklılaşması, hücre aktivasyonu, hücreler arası sinyal iletimi ve hücre ölümü gibi birçok işlevi organize etmektedir. Hücre yüzey reseptörlerinden biri olan CD (Cluster of Differentiation) molekülleri ise lökosit antijenlerinin adlandırılmasında kullanılan bir yöntemdir. Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası İmmunoloji Dernekleri Birliği tarafından da kullanılması zorunlu hale getirilen CD belirteçleri: kantitasyonu, hücre lokalizasyonu ve tanınmasında ayrıca sağlık ve hastalık durumlarındaki birçok hücresel faaliyetin analizinde oldukça fayda sağlamaktadır (Yediel ve Karadağ, 2017).

Prematüre bebeklerde olumsuz bir çok faktöre bağlı olarak özellikle sezaryen ile doğum, anne sütünden yeterince beslenememe, yoğun bakım ünitesi mikroorganizmaları, antibiyotiklerin olumsuz yan etkileri gibi sebeplerden dolayı enfeksiyon riskleri artar (Kültürsay, 2012). Genetik olarak programlanmış olan immün sistemin gelişimi yenidoğanların immün sistemlerinin yetişkinlerden farklı olması enfeksiyonlara karşı yatkın olmaları ile hücre aracılı immünitenin yeni doğan bebeklerde iyi karakterize edilmesi ve anormallikleri enfeksiyonlara karşı bir hassasiyet gösterebilir (Edanur ve ark., 2014).

Anemi dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen bir hastalıktır (Freire, 1997). Prematüre anemilerinin büyük çoğunluğunun Eritropoetin yanıtısızlığından kaynaklı

olduğu düşünölmekle birlikte prematüre anemilerinin nedenleri tam olarak bilinmemektedir (Tiker ve ark., 2005).

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde Kan ve kan bileşenlerinin çok kullanılmasına bağlı gelişen reaksiyonlar, yenidoğanların immün sistemlerinin yeterince gelişmemiş olmasının bir sonucu olan azalmış immün yanıtları, bu reaksiyonların az görülme sebebi olabilir (Türedi ve ark., 2013).

Sık, sık kan ve kan ürünleri transfüzyonuna maruz kalanlarda reaksiyon riskleri sıklığı %10 gibi yüksek oranda iken normalde bu sıklık %1- %6 civarında, gelişmiş ölkelerde ise yüz binde 1-2 gibi düşük orandadır (Karadoğan, 2005).

Anemik prematüre bebeklerin, immün sistemlerinin araştırılması ve içerisinde lökosit olan ışınlanmamış eritrosit süspansiyon transfüzyonunun anemik prematürelerin immün sistemlerine etkileri araştırmaya açık bir konudur.

Bu çalışmada daha önceden yenidoğan ve prematüre bebeklerde yapılmış olan benzer çalışmalardan farklı olarak ışınlanmamış eritrosit süspansiyonu transfüzyonu öncesinde postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki anemik prematüre bebeklerin lenfosit alt grupları helper CD4, sitotoksik CD8, B lenfosit CD19, T lenfosit belirteci CD3, doğal öldürücü Naturel Killer CD16 ve CD56 Monoklonal antikor değerlerinin anemik olmayan, erken doğmamış prematüre ve yenidoğan bebeklerden varsa farklılıklarını göstermek mümkün olacaktır. Sonraki aşamada İçerisinde lökosit olan ışınlanmamış eritrosit süspansiyonu transfüzyonun bu parametrelere ne ölçüde etki ettiğini, anemik prematürelerin immün sistemlerine etkilerinin olup olmadığını, olduysa ne seviyede olduğunu görmemizi sağlayacaktır. Elde edilecek verilerden yola çıkarak Prematüre anemisi tanısı ile takip edilen postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki prematüre bebeklerin mevcut immün sistem bilgilerine katkıda bulunmak amaçlanmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Prematüre Bebekler

Anne karnındaki plesanta içerisindeki fetüsün (bebeğin) büyümesi, organlarının dış ortama uyum sağlayacak şekilde gelişmesi için belli bir süreyi 38 ile 42 haftayı anne karnında geçirme zorunluluğu bulunmaktadır. Bu süreyi 37. haftayı tamamlamadan önce doğan bebeklere prematüre bebek denir. Doğum haftası sürelerine göre prematüreler üç grupta adlandırılmaktadırlar bunlar hafif derece prematüreler 37. haftadan önce doğanlar, orta dereceli prematüreler 32. haftadan önce doğanlar, ileri derecede prematüreler 28. haftadan önce doğan prematürelerdir (Msall ve Tremont, 2002; Xu ve Filler, 2005). Prematüre bebeğin yaşı 40 haftalık olana kadar postkonsepsiyonel yaş olarak ifade edilir. Düşük doğum ağırlıklı her bebek prematüre olmayabilmektedir. Doğum ağırlığı 2500 gramdan az olan bebekler düşük doğum ağırlıklı olarak kabul edilirler ve 3 katagoride kavramlandırılırlar bunlar düşük doğum ağırlıklı LBW (Low Brith Weight) kavramı 1500 ve 2499 gram arasındaki bebekler için, çok düşük doğum ağırlıklı VLBW (Very Low Brith Weight) kavramı 1499 ve 1000 gram arasındaki bebekler için, aşırı düşük doğum ağırlıklı ELBW (Extremely Low Brith Weight) kavramı 1000 gramdan az ağırlıktaki bebekler için kullanılmaktadır (Ertem ve ark., 2005). Düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda hayatta kalma mücadelelerinin yanı sıra beslenme problemleri, gelişimsel gerilikler ve solunumla ilgili hastalıklar da sık sık görülen sorunlar arasında gelmektedir. (Pridham ve ark., 1998). Ayrıca yenidoğanlarda düşük doğum ağırlığı ve prematürelilik, gelişimsel geriliğe ve/veya bozukluğa yol açan biyolojik faktörlerden biri olarak görülmektedir (Peterson, 1998).

#### 2.1.1. Prematüre bebeklerin bağışıklık sistemleri

Yenidoğanların immün sistemi fetüsten itibaren gelişme gösterir. Özellikle preterm yenidoğanlar, Candida türleri, Herpes Simpleks ve Sitomegalovirus'a bağlı fırsatçı enfeksiyonların gelişimi için yüksek risk içindedir (Adkins ve ark., 2004; Levy, 2007). Erişkin ve çocukların immün sistemlerinden immünolojik cevap vermedeki genetik ve gelişimsel farklılıkları fırsatçı enfeksiyonlara karşı yüksek hassasiyetleri ile

açıklanır (Marchant ve ark., 2003). Yenidoğan konak savunma sistemi Utero-fetal ortamda mikroorganizma ile sıkça karşılaşmadığı için tecrübesizdir bu durum kısmen yaşamlarının ilk 6 haftası boyunca yenidoğanların enfeksiyonlara karşı savunmasız olmasını açıklar. Fetüsdeki bağışıklık sisteminin pek çok komponenti gebeliğin erken dönemlerinden itibaren var olsa da bazıları immatürdür ve yetişkinlerin immünolojik cevap aktivitesinden farklı olarak doğumdan bir süre sonraya kadar tam anlamıyla işlevsel hale gelmez. Yetersiz olmasına karşın fetal konak savunma sistemleri aktif rol alabilir ve fetüs uterus içerisinde enfekte olduğunda bir immünolojik cevap gerçekleştirir. Fetüsün veya yenidoğanın immün sisteminin gelişimini değerlendirirken o bireyin gelişmekte olduğu ortam dikkate alınmalıdır. Çok düşük doğum tartısıyla daha prematüre yenidoğanlar hayatta kalabildiği için rahim dışı ortamda bu bebeklerin immünolojik gelişiminin nasıl onlarla aynı yaştaki uterus içindeki fetüslerin immünolojik gelişiminden ayrıştığını anlamak mümkündür (Yoshimoto ve Yoder, 2009).

Doğuştan (innate) / nonspesifik ve sonradan edinsel (akkiz) / spesifik immün mekanizmalar olmak üzere İmmünolojik sistem temel olarak iki konak savunma mekanizmasına ayrılabilir: Doğuştan immünite bir antijen veya mikroorganizmaya daha önce maruz kalmadan efektif bir şekilde çalışan konak savunma mekanizmalarını kapsar. Bu mekanizmalardan bazıları gastrit asit ve sindirim enzimleri, bütünlüğü bozulmamış deri ve mukozal membran gibi fiziksel, kimyasal bariyerleri kapsar. Bu önemli koruyucu tabakaların altında kutanöz ve mukozal bariyerleri delen herhangi bir mikroba karşı ilk konak savunma sırasını oluşturan fagositik hücrelerdir. Doku proteinleri ve Solübl plazma doğuştan immün efektörleri olarak fagositik hücrelerin işlevlerini kuvvetlendirmeye yardımcı olur (Battersby ve ark., 2016; Goenka ve Kollmann, 2015). Kazanılmış veya spesifik immünite başlıca hücre aracılı (T lenfosit) ve humoral (B lenfosit ve immünoglobulin) mekanizmalardan oluşur. Doğuştan ve edinsel immün mekanizmalar bireyin tam anlamıyla immünokompetan (bağışıklığıyeterli) olması için gereklidir ve birbiriyle ilişkili ve birbirine bağlıdır. (Basha ve ark., 2014). İnnate (doğuştan gelen) doğal immün sistem, steril intrauterin ortamdan, mukozal yüzeylerin fetal dönemden yenidoğan kolonizasyonuna adaptasyonu süresince, proaktif adaptif immün yanıtın elde edilmesini düzenlemeye yardımcı olup yenidoğanı enfeksiyonlardan korur (Levy, 2007). Doğuştan gelen bu mekanizmalar, akut faz

reaktantların açığa çıkışını, kompleman proteinleri, Toll-benzeri Reseptör (TLR) sinyalizasyonunun gelişimsel kontrollü düzenlenmesini, monosit ve nötrofil fonksiyonundaki değişiklikleri, yağ asidi ve antimikrobial peptitleri içeren verniks kazeoza gibi koruyucu bariyerler içerir. Doğuştan gelen bağışıklığın fonksiyonel maturasyonu, potansiyel tehlikeli inflammatuar cevapları azaltırken kommensal organizmalarla olan kolonizasyona da izin verir (Tollin ve ark., 2005).

Spesifik immün sistemin hücreleri olan lenfositlerin, mononükleer fagositlerin ve diğer yardımcı hücrelerin kendilerine yabancı olan antijenlerle karşılaştıkları doku ve organlar lenfoid sistem olarak tanımlanmaktadır. Bu hücrelerin anatomik işlevleri ile kan, lenfatik sistem ve lenfoid organlar arasındaki sirkülasyon immün cevabın oluşmasında kritik role sahiptir. İmmün sistemin doku ve hücrelerinden, makrofajlar dokulara giren mikroplara hızlı yanıt veren ve dokularda sürekli bulunan fagositik hücrelerdir kanda bulunan Monositler Nötrofiller ve makrofajların öncül hücresidir ve enfeksiyon bölgelerine göç ederler. Deri, gastrointestinal ve solunum yollarından vücuda giren mikrobiyal antijenler yoğunlukla özelleşmiş dokular olarak adlandırılan periferik lenfoid organlarda bulunur. Edinsel immün yanıtın başlamasına sebep olan ilk basamak Antijenin yakalanması ve lenfoid organlara transportu sonucu oluşur. Bu antijenler, antijen sunucu hücrelerin (ASH) yardımıyla lenfositlere sunulur. Profesyonel ASH'lerden dendritik hücreler (DH) mikrobiyal antijenlerin yakalanması, lenfoid dokulara taşınması ve sunulmasından sorumludur. Daha önce antijenle karşılaşmamış naif lenfositler antijenleri tanıdığı periferik lenfoid organlara gelir ve böylece edinsel immün yanıt başlar ve efektör veya hafıza lenfosit oluşumu gerçekleşir (Aktaş, 2013).

### **2.1.2. Prematüre bebeklerde anemi**

Erişkinlerde eritrositlerin dolaşımdaki yaşam süresi ortalama 120 gün iken normal zamanında doğan yenidoğanda 60-70 gün, prematüre bebeklerde ise 35-50 gündür. Yapılan çalışmalarda eritrositlerin yenidoğanlardaki yaşam sürelerinin gebelik haftası küçüldükçe kısaldığı gösterilmiştir (Pearson, 1967). Prematüre bebeklerin dolaşımdaki eritrositlerinin %97'si HbF iken zamanında doğan bebeklerin %70-80'i HbF dir. HbF'in oksijene ilgisinin fazla olmasından dolayı doku düzeyinde nispi hipoksi oluşmaktadır. Ancak bu hipoksik ortamda gerektiği ölçüde eritropoietin (EPO)

yanıtı oluşmamaktadır çünkü EPO sentezinin karaciğerden böbreğe geçişi henüz tamamlanmamıştır ve hepatic oksijen algılayıcılarının yanıtı renal algılayıcılara göre daha az ve daha geç olmaktadır (Atasay ve Arsan, 2003). Ölçülen (Hb) ve hematokrit seviyeleri yenidoğanlarda diğer yaş guruplarından daha yüksektir. Yenidoğan döneminde hemoglobin (Hb) ve hematokrit değerleri diğer yaş guruplarından daha yüksektir ancak bu değerler ilk haftadan itibaren 6-12. haftalara kadar düşerek devam eder. Hb değerleri normal zamanında doğmuş bebeklerde ( 8-12 ) haftalarda en düşük seviyelere 9-11 gr/dl ye kadar düşer tedavi gerektirmeyen yenidoğanın fizyolojik anemisi' olarak tanımlanan bu durumda yenidoğan bebekler Hb değerlerindeki bu düşüşü iyi tolere ederler. Ancak hemoglolin düşüşleri iatrojenik flebotomi kayıpları hiç olmadığı halde yenidoğan yoğun bakım ünitelerine yatan bebeklerde çok hızlıdır. Bu nedenle 'prematüre anemisi' tanımı fizyolojik değil patolojik klinik bir tablodur. Semptomatik olan bu anemide genellikle allojenik ES transfüzyonuna ihtiyaç duyulur (Widness ve Strauss, 2010). Hipoproliferatif, normositik ve normokromik olarak oluşan anemide sıklıkla Hb 7-8 gr/dl'ye kadar düşer ve ortaya çıkan anemi normositik, normokromik ve hipoproliferatif bir anemidir. Prematürelde aneminin genellikle klinik belirti ve bulguları; oksijene ihtiyaçta artış, apne, takipne, taşikardi, enteral yoldan beslenme güçlüğü, kilo alamama gibi sorunlardır (Aher ve ark., 2008). Çok düşük doğum ağırlıklı (ÇDDA) bebeklerde prematüre anemisi patogeneğinde flebotomiler önemli bir yer tutsa da birçok fizyolojik ve/veya başka patolojik faktörler de rol oynamaktadır. Fizyolojik faktörler için eritrositlerin yaşam süresi, hemoglobinin yapısı, endojen eritropoietin eksikliği, hızlı büyümeye yetersiz yanıt, demir depolarının azlığı gibi durumlar örnek verilebilir. Patolojik faktörler için flebotomiler, sepsisten kaynaklanan oksidatif hemoliz, yetersiz protein, vitamin, eser element ve kalori alımı gibi durumlar örnek verilebilir (Aher ve ark., 2008).

### **2.1.3. Prematüre bebeklerde transfüzyon**

Günümüzde prematüre anemisinin tedavi yöntemi için eritrosit süspansiyonu (ES) transfüzyonu kabul edilmektedir. Genellikle eritrosit süspansiyonları erişkin donörlerinden alınan tam kandan plazmanın ayrıştırılması ile elde edilir (Crowley ve Kirpalani, 2010). Prematüre anemisi tedavisinde allojenik Es transfüzyonunun esas yöntem olmasının yanı sıra doğum esnasında umbilikal kordon ve plasentadan toplanan kandan

elde edilen ES' lerinde kullanıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Habif ve ark., 2001). Birçok fizyolojik ve fizyolojik olmayan faktörler prematüre anemisine katkıda bulunmaktadır. Düşük doğum ağırlıklı prematüre bebekler sıklıkla tedavi gereği allojenik eritrosit süspansiyonu (ES) transfüzyonu almaktadırlar (Alan ve Arsan, 2014). Yenidoğan bebeklere göre prematüre bebeklerde daha belirgin Hb konsantrasyon değişiklikleri olmaktadır. Bir çok nedene bağlı olarak küçük prematüre bebeklerde postnatal 4 ile 6. haftada Hb değeri 7-8 g/dL'ye kadar düşmektedir (Perk ve ark., 2016). Prematürelere transfüzyon alınan kanın yerine konması ve bebeğin Hct düzeyini kliniğine uygun seviyeye çıkarmak için yapılır. Hct i yükseltmek için yapılan transfüzyonlar tüm transfüzyonların üçte birini, yerine koyma transfüzyonları ise üçte ikisini oluşturur (Atasay, 2010). Özellikle kalp yetmezliği, büyüme geriliği, respiratuvar distres sendromu, preoperatif ve postoperatif bakım nedeniyle hematokrit değerlerini %30-40'ın üzerinde tutacak şekilde kan transfüzyonu yapılmaktadır. (Maier ve ark., 2000). Prematüre anemisi olan bebeklere 10 ml/kg paketlenmiş kırmızı kan hücresi ile transfüzyon uygulanmıştır. yapılan çalışmalarda yeni doğan yoğun bakım üniteleri arasında preterm bebeklerde kan transfüzyonu uygulamalarında farklılıklar olduğu gösterilmiştir (Paul ve ark., 2002). Cerrahi operasyonlar tüm transfüzyonların yarısından fazlasını oluşturmaktadır. Kan dolaşımının devamının sağlanması kan kayıplarının karşılanması kanama veya tramvaya bağlı oluşan şokun tedavisi transfüzyonun en önemli endikasyonlarıdır (Erkut ve Özhan, 2007).

#### **2.1.4. Prematüre bebeklere eritrosit süspansiyonu hazırlanması**

Eritrosit süspansiyonu 60-100 mL antikoagulan koryucu sıvı içerisinde plazmasının  $\frac{3}{4}$  ü alınmış kandır. Bir ünite eritrosit süspansiyonunda yaklaşık 20-30 mL plazma 200 mL eritrosit,  $1 \times 10^9$  lökosit, 45 gr hemoglobin, 200 mg demir bulunmaktadır (Sarı ve Altuntaş, 2007). Hematokritlerinin %60-70 olduğu, küçük hacimli (10-20 ml/kg) Allojenik ES'ler koruyucu antikoagulan solüsyon ile depolanabilmektedirler. ÇDDA prematüre bebeklere verilen transfüzyonların büyük kısmı 2-4 saate yayılarak uygulanmaktadır. İçerisinde geliştirilmiş koruyucu antikoagulan AS-1, AS-3, AS-5 gibi solüsyonlar bulunan esler 42 gün, CPDA (Sitat Fosfat Dekstroz Adenin) bulunan esler 35 gün boyunca kullanılabilir. ES'lerin hücre dışı sıvı miktarı çok az olduğu için düşük hacimlerde ve yavaş transfüze edilmeleri önerilmektedir. Küçük hacimle

transfüzyonlarda 10-20 ml/kg ES'lerin 42 gün saklanması etkinlik ve güvenilirlik bakımlarından sorun oluşturmamaktadır (Crowley ve Kirpalani, 2010; Strauss, 2010). Kan bileşenlerinin potasyum içeriğinin azaltılması, plazma ve benzeri ek solüsyonlardan temizlenmesi sebebi ile eritrositler salin ile yıkanabilmektedir. Yıkanmış eritrosit süspansiyonları yenidoğanlarda intrauterin transfüzyon, kan değişimi ya da 14 günden fazla beklemiş eritrosit süspansiyonu ile 20 ml/kg üzerinde transfüzyon yapılırsa kullanılmaktadır. Yıkama işleminden sonra buzdolabında olan süspansiyonlar 24 saat oda ısısında olan süspansiyonlar ise 4 saat içinde kullanılmalıdır (Yıldız ve ark., 2016).

### **2.1.5. Premature bebeklerde transfüzyon komplikasyonları**

Allojenik kan transfüzyonlarının en çok gözlenen komplikasyonları immünolojik ve enfeksiyonlara bağlı komplikasyonlar olarak sınıflandırılabilir. İmmünolojik reaksiyonların birçoğu transfüzyonla verilen eritrositler, lökositler, trombositler veya plazma proteinlerinin yapılarında var olan yabancı alloantijenlerin antikor oluşumunu uyarması sonucu gelişir. Oluşan alloimmünizasyon, daha sonra bu antijenleri içeren eritrositler ile transfüzyon yapıldığında immünolojik reaksiyonlara yol açabilir. Bu reaksiyonlara örnek olarak eritrosit uygunsuzluğundan kaynaklı hemolitik reaksiyonları, lökosit ve trombosit antijenlerinin yol açtığı reaksiyonları, febril veya pulmoner reaksiyonları, plazma proteinleri ile reaksiyona giren antikorların neden olduğu alerjik veya anaflaktik reaksiyonları, immün yetmezlikli alıcılara verilen lenfositlerin engraftmanı ile gelişen graft-versushost hastalığını (GVHH) sayılabiliriz (Hendrickson ve ark., 2009). Kan grubu uyumsuzlukları (yanlış grupta transfüzyon) ile Akut volüm veya elektrolit bozuklukları transfüzyonların en önemli risklerini oluşturmaktadır. Hipotansiyon, Ateş, titreme, flushing, ürtiker, taşikardi, ve şok belirtileri transfüzyon reaksiyonunu akla getirmelidir, reaksiyon belirtilerinde transfüzyon hemen sonlandırılmalı, bebek stabilize edilmeli, kan merkezi bilgilendirilmeli, laboratuvara örnek gönderilmeli ve olay kayıt altına alınmalıdır (Yıldız ve ark., 2016).

Transfüzyonlarda enfeksiyonla alakalı komplikasyonlar kan ürünlerinin fiziksel veya kimyasal özellikleri, ürünlerde sitokinlerin bulunması ve enfeksiyon ajanlarıyla

bulaşma sonucu oluşur. İyi bir besiyeri olan kan mikroorganizmaların taşınması için uygun bir ortam sağlar. İlk sırada virüsler olmak üzere bakteriler, parazitler, riketsiya ve az da olsa mantarlar transfüzyonla bulaşabilir. Günümüzde transfüzyonlarda yapılan tarama testlerine rağmen kan ve kan ürünleri ile virüs bulaşma riski halen devam etmektedir. Transfüzyonla daha çok hepatit B, C ve HIV virüsleri bulaşırken, daha az sıklıkla ise CMV, EBV, Parvovirus B19, Human T hücre lenfotropik virusu bulaşabilir. Bakteriyel ajanlar daha çok donörlerden değil, hazırlama aşamalarında dışarıdan bulaşır. Transfüzyonlar sırasında gelişen bakteriyel enfeksiyonların kaynağı en sık E coli, stafilokoklar, streptokoklar, serratia, enterobakter ve yersinia türleridir (Stramer ve Blajehman, 2007). Transfüzyonlarda serbest oksijen radikallerine bağlı zedelenme, elektrolit ve asit-baz dengesizliği, demir yüklenmesi, sıvı yüklenmesi, hipotermi, gibi yan etkilerlede sık, sık karşılaşılmaktadır (Altaş ve ark., 2010). Kordon kanının toplanması, saklanması ve bu kandan ES süspansiyonu elde edilmesini ve prematüre anemisinde kullanılması Otolog eritrosit süspansiyonu transfüzyonlarını oluşturmaktadır (Bifano ve ark., 1994). Yapılan araştırmalar kordon kanının toplanmasında ve kullanılmasında birçok zorluğu ortaya koymuştur. Bu zorluklardan biri açık sistem ile toplama sırasında yüksek oranda bakteriyel bulaşma olasılığıdır. (Golden ve ark., 1984). Bakteriyel bulaşma oranını %10'dan yaklaşık %1.8'e düşüren kapalı sistemle kordon kanı toplama yöntemi geliştirilmiş ve bu konuda daha standart kurallar uygulanmaya başlanmıştır. Kordon kanı kök hücre kaynağı olarakda kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı tarafından bildirilen diğer bir olumsuz yön ise kordon kanının toplandıktan sonra iki hafta (1-14.) günler arasında kullanılması zorunluluğudur (Sahyoun ve ark., 2012). Ancak birçok çalışmada prematürelere daha çok 14. gün ve sonrasında kan transfüzyonuna ihtiyaç duyduğunu göstermiştir (Anderson ve ark., 1992). Birtakım sınırlılıkları olsada otolog kan transfüzyonlarının sayısız yararları bulunmaktadır. Otolog kan transfüzyonları; alloimmünizasyon, kan grubu belirlenmesi, çapraz karşılaştırma, tarama testleri, febril ve alerjik reaksiyon, GVHH risklerini barındırmayıp, filtreleme ve ışınlama gerektirmemektedir. ÇDDA'lı prematürelere otolog kordon kanı transfüzyonunun etkinlik ve güvenilirliği ile ilgili çalışmalarda, otolog kordon kanı kullanımının prematüre yenidoğanların transfüzyon gereksinimini tam olarak karşılayamadığı, ancak allojenik transfüzyonları %21 oranında azalttığı ve herhangi bir komplikasyona yol açmadığı gösterilmiştir. Bunun yanında

otolog transfüzyon kordon kanı toplanmasının uzman bir ekip gerektirmesi, çoğunlukla prematürelerin transfüzyon gereksiniminin tümünü karşılayacak yeterli miktarda elde edilememesi, işlem sırasında %1 oranında bakteriyel bulaşma riskini barındırması ve kullanılmama durumunda maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajlı yönleri vardır. Otolog transfüzyon alan olguların uzun dönemdeki klinik sonuçlarının değerlendirileceği çalışmalara da gereksinim duyulmaktadır (Habif ve ark., 2010).

## **2.2. Doğal öldürücü (Natural Killer: Nk) hücreler**

NK hücreleri Doğal immün sistemin elemanlarından. Vücudumuzdaki tüm perifer kandaki lenfositlerin %10-15'ine kadarını oluştururlar. Ayrıca karaciğer, dalak ve akciğerlerde bulunurken; torasik kanal lenf dokusunda ve lenf nodlarında nadir olarak bulunurlar (Cerwenka ve Lanier, 2001). Fakat NK hücreleri tüm lenfositlerin %70'e yakını temsil ettikleri anne desidual (desidual NK (dNK) hücresi: CD16+ CD56 dokusunda bulunan ana lenfosit tipidir. NK hücreleri, farklı yüzey moleküllerinin ekspresyonları, işlev ve morfolojik yapıları bakımından diğer lenfositlerden ayrılırlar. Hücre moleküllerindeki yüzey hücre belirteçleri olan CD16 (FcγRIII) ve CD56 (sinir hücresi adhezyon molekülü-1) ekspresyonu, flow sitometri cihaz analizlerinde NK hücrelerini saptamada kullanılabilir. Matür NK hücreleri T veya B lenfosit hücrelerinden daha granüler ve büyük gözüktürler. NK hücreleri CD3 gibi T hücre işaretlerinden yoksun olduğundan T hücresi olarak kabul edilmezler. Gelişimini tamamlamış (matür) NK hücreleri yapılarında bulunan aktive edici ve inhibitör reseptörlerinin varlığı ile tümör ve enfekte olmuş hücreleri seçip tespit etmek ve öldürmek özellikleriyle ayırt edilebilirler (Biassoni ve ark., 2001). NK hücre reseptörleri, NK hücrelerinin fonksiyonlarını baskılayan sinyallerle sonuçlanan hedef hücrelerdeki MHC sınıf I moleküllerini tespit ederler. MHC sınıf I'den yoksun ya da eksikliği olan hedef hücreler, lizosomal granüllerin serbest bırakılması ile sonuçlanan NK hücre fonksiyonunu aktive eder. Bu granüller, hedef hücre membranını yıkan ve inmmatuar tepki başlatan TGF-β, perforin ve serin proteazlar içerir. Çalışmalar, yetişkinlere kıyasla yenidoğan ve fetüste NK hücre aktivitelerinin önemli derecede daha düşük olduğunu göstermiştir (Kadowaki ve Antonenko, 2001). NK hücreleri, gebeliğin ilk haftalarından 6. haftasına kadar erken dönemlerde fetal karaciğerde izlenebilir. CD34+CD56 NK progenitorleri, kemik iliğinde, fetal timusta ve karacigerde tespit



edilmiştir. İnsanlarda farklı işlevlere sahip farklı hücre yüzey belirteçleri olan birçok NK hücresi alt kümeleri bulunmaktadır. Bu kümelere örnek olarak CD56 artmış CD16 altkümüsi, IL-2 tarafından aktive edilir ve bu hücrelerin lenf nodlarında git gel yapmasını sağlayan gelişmiş sitokin üretimi ve düşük sitotoksite ile karakterize özelliğindeki CD62L ve CCR7'yi de açığa çıkarır (Santo, 2006).

Yenidoğanlarda NK populasyonu inmatürdür. NK hücrelerinin yalnızca % 50'si CD56'yi açığa çıkarır ve NK Sitolitik aktivitesi daha azdır ( Dominguez ve ark., 1993). NK aktivitesindeki bu işlevsel azalma, yenidoğan herpes simpleks virüs enfeksiyonlarının şiddetine katkıda bulunan bir faktör olarak görülmektedir. NK hücre aktivitesindeki görülen kusurlar, hiperferritinemi, hemofagositoz, hepatosplenomegali sitopeni ve ateşle karakterize edilen familial hemofagositik lenfhistositosiz ile son bulur. Ailesel hemofagositik lenfhistositoz, granül ekzositoz yoluna dahil olmuş proteinleri şifreleyen genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır ve kemik iliği nakli olmazsa, ölümcül bir hastalıktır (Jordan ve Filipovich, 2008).

NK hücre reseptörleri, özünde T hücre reseptörleri (TCR) ve B hücre reseptörlerinden (BCR) farklıdır. Reseptörler klonal olarak dağıtılmaz ve NK reseptör gen ekspresyonu gen segmentinin yeniden düzenlenmesini gerektirmez. Bunun yerine, NK hücreleri sitolitik fonksiyonlarını düzenlemek için stimülatör ve inhibitör reseptörler dizisinden yararlanmaktadır. İmmuno globülin benzeri öldürücü reseptör (KIR)'ları kodlayan 10'dan daha çok genden oluşan bir küme, insan 19q13.4 kromozomu üzerinde bulunur. Bütün bu tip 1 glikoproteinler HLA-A/ -B/-C ve HLA-G-kodlu proteinlerin farklı allelik bir grubunu tanır ve her bir KIR, NK hücrelerinin yalnızca bir altkümüsi tarafından eksprese edilir. İmmunoglobulin tarzı (ILT) reseptör isimli genlerin başka bir familyasında 19q13.3'de KIR lokusu yakınlarında bulunur. Bu reseptörler KIR gibi sınırlı değildir ve birçok HLA sınıf I moleküllerini bağlar. Diğer bir inhibitör reseptör gen lokusu, 12p12-13 kromozomunda tespit edilmiştir. Bu genler, HLA E'yi bağlayan CD94/NGK2 adlı C-tipilektin inhibitör heterodimerik reseptörü kodlar. KIR, ILT reseptörü, uzun sitoplazmik kuyruklu CD94/NGK2 molekülü ve iki immünoresptör tirozin menşeyli inhibitör motif (ITIM) inhibitör reseptörleri olarak görev yapmaktadırlar. Fosforilasyondan sonra, bu iki ITIM, kinaza dayalı aktivasyon kaskadına son veren, fosfataz içeren Src homolojiyi 2 (SH2) alır ve aktive eder

(Ravetch ve Lanier, 2000). Lizin ve sitoplazmik dizindeki tek ITIM'e sahiptir. Bu inhibitör reseptör, dolaşımdaki anne NK hücrelerinde değil, miyatta plasentadaki bütün dNK hücrelerinde bulunur. Bu gözlem KIR2DL4 ekspresyonunun gebelikte başlatılabildiğini gösterir (S. Rajagopalan, E.O. Long). C-tipi lektin süper ailesinin elemanları veya diğer KIR'lar aktive edici reseptörler olarak işlev görür. Bu reseptörler inhibitör reseptörlerin uzun sitoplazmik kuyruğundan fakirdir ve bu sebep den ITIM içermez. Bunun yerine reseptörün adaptör molekül DAP12 ile birleşmesine olanak tanıyan transmembran bölgede yüklenmiş aminoasitlere sahiptir (Lanier, 1998). Bu adaptör NK hücrelerini aktive etmek için bu reseptörlere izin veren immünoreseptör tirozin kaynaklı aktivasyon motifini (ITAM) içerir. NK hücre aktive eden reseptörlerinden farklı bir grup tespit edilmiştir ve natürel sitotoksite reseptörü olarak adlandırılmıştır (Moretta ve ark., 2001). İnsanlardaki NK hücrelerinde eksprese olan reseptör lenfosit aktivasyon sinyalizasyon molekül ailesinin bir üyesi CD244 (2B4) dır (Lanier, 2008). Hedef hücreler üzerindeki ligand CD48 ile etkileşimin sonucu, NK sinyalizasyonu, etki bölgesi adaptör protein içeren iki SH2'den, SAP ve EAT2, birisi ve CD244'un sitoplazmik kuyruğundaki ITSM (makas motifi) ile etkileşimleri yoluyla oluşur. SAP etkileşimleri SAP bağlayıcısındaki fonksiyonun yitirilmesi mutasyonlarıyla meydana gelen X-bağlı lenfoproliferatif hastalığı olan insanlarda kanıtlandığı gibi, aktivasyon ile sonuçlanır. SAP'ın olmadığı durumlarda, EAT-2 etkileşimleri inhibe olabilir (Ma ve ark., 2007).

Yenidoğanların perifer kanlarındaki NK hücrelerinin yüzdelik oranları yetişkinlerinkinden çok farklılık göstermez ama doğumdaki NK hücre sayıları muhtemelen fazlaca total lenfosit sayısından kaynaklı olarak erişkin periferik kanındakinin iki katıdır. Yenidoğanlarda NK hücrelerinin çoğu CD16 ve CD56 antijenlerini eksprese eder. Yenidoğan NK hücrelerinin az bir bölümü CD56'yı açığa çıkarmaz ve hedef hücrelere zayıf sitolitik etki gösterir. Buna ilaveten CD56'yı eksprese eden NK hücrelerine kıyasla, CD56 eksik NK hücreleri eksojen IFN- $\gamma$  stimülasyonuna karşı iyi cevap vermez. Yenidoğan ve erken çocukluk döneminde In vitro NK hücre aracılı sitoliz genellikle azalmıştır. Hedef hücrelerin lizisindeki bozukluklar ve bağlanma sorunları kısmen NK hücreleri tarafından IFN- $\gamma$  ve solubl sitotoksik faktörlerin salınımının bozukluğuna bağlanmaktadır. Yenidoğanda NK hücre aktivitesi, yetişkin NK hücrelerinin %30-80'ni kadarsada; in vitro NK hücrelerinin eksojen IL-2,

IL-12 ve IL-15 ile tedavisi yenidoğan NK hücrelerinin sitolitik aktivitesini artırır (Özdemir ve ark., 2005).

### 2.3. T Lenfositler CD4, CD8 ve CD3

Erişkinlerde lökositlerin yaklaşık %20 sini oluşturan lenfositler, adaptif immünte yanıtları üzerinde birçok önemli role sahiptir. Kemik iliğinde ve fetal karaciğerde bulunan hematopoetik kök hücre CD34 ve CD38 den oluşurlar. İstilacı yabancı antijenleri tanıma özellikleri ile bilinirler. Lenfositler hücre yüzeyi tarafından ve işlevlerine göre T, B ve NK hücresi olarak ayrılır ve tanımlanırlar. T lenfoaitler Timusda olgunlaşarak CD4+/ CD8+ alt kümelerine ayrışarak lenf nodları, dalağa ve periferik kana yayılırlar (Wong ve ark., 2001).

Lenfositlerin her biri belli bir antijeni tespit eden hücre yüzey reseptörlerini açığa çıkarır. B ve T hücrelerinin kullandıkları antijen reseptörleri birbirinden farklıdır. T hücresi T hücre reseptörü (TCR), B hücresi ise B hücre reseptörü (BCR) olarak adlandırılır. Yalnızca hücre yüzey reseptörlerini kodlayan değişik gen takımlarından meydana gelen TCR, birden fazla alt üniteden oluşan bir kompleks moleküldür. Bu kompleks TCR- $\alpha\beta$  zincirlerinin nonkovalent bağlı olduğu sabit CD3 zincirleri ve TCR- $\alpha\beta$  zincirlerini kapsar. Geniş anlamda T- hücrelerinin fonksiyonları B hücrelerinin antikör yapımına katkıda bulunmak, viral enfeksiyon geçiren hücreleri öldürmek, immün yanıtın seviyesini regüle etmek ve makrofajlar dahil immün hücrelerin sitotoksik ve mikroplara karşı stimülasyonunu içerir (Bromley ve ark., 2001).

Hastalık yapan Patojen bakteri ve virüsler enfekte konakta varlıklarını sürdürebilmek için farklı stratejiler uygular. Virüsler ve bazı Listeria benzeri bakteriler hücre içinde, Stafilokok, streptokok ve birçok gram negatif basil hücre dışı ortamda canlılıklarını sürdürürler. Farklı yerleşim yerlerindeki patojenlerin etkisizleştirilmesi için farklı stratejiler gerekir. T hücreleri farklı alt grupları sayesinde hücre içi ve hücre dışı patojenlerin kontrolünde anahtar rol oynar. Hücre dışı patojenleri CD4 yüzey antijenini eksprese eden T hücreleri, hücre içi patojenleri CD8 yüzey antijenlerini eksprese eden T hücreleri kontrol eder. Uyarılmış CD4+ T hücreleri sitokin ve çözünür medyatörler üreterek hücre dışı hastalık ajanlarını temizlerken, CD8+ T hücreleri hücre

içi organizmalarla enfekte hücreleri doğrudan parçalayarak (lize) ederler (Bryant ve ark., 2002).

T lenfositler gebeliğin 6. ve 7. hatasında üçüncü brankial yarık ile birlikte üçüncü ve dördüncü brankial keseden oluşmuş timüs'den gelişir. Bu dokuların alta doğru göç ile orta hatta birleşmesiyle timik loblar oluşur. Her bir lob, yapısı ve fonksiyonuna göre 3 kısma ayrılır: medulla, kortikomedullar bileşke ve korteks. Timüsün korteks ve medullası gebeliğin ilk ikibuçuk ayı yaklaşık 10. haftasına kadar ayrılmaya başlar. Timik korteks MHC-I ve MHC-II moleküllerini eksprese eden ve erken T hücre gelişmesinde rol alan özelleşmiş epitel hücrelerinden oluşur. Gebeliğin yaklaşık yedinci haftasına yakın Timüse ilk giren bütünlüğünü koruyan hücreler T hücre belirteçleri olan CD7 (CD7: IgM Fc reseptörü olabilir) ve CD45 (CD45 yaygın lökosit antijeni)'i ortaya çıkarır. Bu kompleks gelişim aşaması multipotent CD1a-, CD5-, CD34+ ve CD38 düşük kök hücrelerinin kortikomedüller bileşkeden timüse girerek, dış kortekse göç etmesiyle başlar (Awong ve ark., 2009).

Olgunlaşma, hücrelerin korteksten kortiko medüller bileşkeye doğru geri göç etmesiyle devam eder. CD1, CD2 ve CD5 yüzey antijenleri CD7'nin ortaya çıkmasından sonra belirirken, CD3 daha sonra belirir. İlk işlenmiş T hücreleri alçak düzeyde CD4 eksprese eder ve TCR delta gen lokusunda DNA tekrardan düzenleme gösterir. Bu reaksiyonları hücre yüzeyinde pre-TCR üreten TCR- $\beta$ 'nin yeniden tertiplenmesiyle düşük seviyelerde CD8 ekspresyonu izler. TCR- $\beta$  zinciri ve Pre-TCR, sabit pre-T $\alpha$  içeren bir kaç polipeptidten oluşmaktadır. Pre-TCR ekspresyonu, önemli bir gelişimsel kontrol noktası olarak işlevini yapar. Beta seleksiyon TCR- $\beta$  zincirlerini olumlu bir şekilde yeniden tertiplenmeyen hücreler pre-TCR'yi eksprese edemezler ve apoptoz ile ölürler. TCR- $\alpha$ , pre-T $\alpha$  yerini aldığında kalan hücreler antijen spesifik reseptörler meydana getirirler. Bu geç ve orta dönemdeki progenitörler gebeliğin 10. haftasında "duble pozitif" olarak isimlendirilen CD4/CD8 koreseptörlerini de eksprese ederler (Boehmer ve Fehling, 1997).

Nadir CD3+ hücreleri Gebeliğin 12. haftasına kadar fetal periferik kanda tespit edilebilir. Gerçekleşen ilk T-hücre proliferatif yanıtları mitojenlere karşıdır, hassal korpuskülleri ve Lenfoid follikülleri gebeliğin 12. haftasında görülebilir. CD3+ T hücreler fetal karaciğerinde ve dalağında gebeliğin 13. haftasına kadar görülür ve T

lenfositlerinin %50'sinden daha fazlasını oluşturan bu hücreler ikincil üç aylık döneme 22. haftasına kadar bu organlarda bulunarak CD4+ /CD8+ antijenini ortaya çıkarırlar. Gebeliğin 15. ve 20. haftasına kadar antijen spesifik yanıtlar teşhis edilebilir. Bu CD3+ hücreleri ayrıca, CD4+ /CD8+ antijenini ortaya çıkarır. Gebeliğin 15. ve 20. haftasına kadar antijen spesifik cevaplar teşhis edilebilir. İmmün yanıtın olgunlaşma durumu, aşılama programını etkileyen ilk bir yıl boyunca devam eder. Yetişkinliğe kadar düşük timopoez seviyesinin devam ettiği görülür (Kennedy ve Evans, 2001).

T-hücre gelişiminin son aşaması timüsten bağımsızdır ve periferik homeostatik mekanizmalarından (dalak, lenf nodları, barsak ilişkili lenfoid doku vb.) oluşur. Bu faz T hücre hafızasının gelişimini ve kendine özgü antijenleri tanıyan klonların yayılmasını kontrol eder. Periferik repertuar seleksiyonu kandan lenf dokularına lenfositlerin hareketiyle başlar. Naif T-hücreleri yüksek endotel venüllerinde bulunan sialomusin türü, periferik-nod adresinleriyle etkileşime giren adhezyon molekül L-selektini (CD62L) ortaya çıkarır. Kanın dolaşımı ile üretilen kesme kuvveti ile lenfositler endotel hücre yüzeyi boyunca lenfositlerin yuvarlanmasıyla sonuçlanır. Yuvarlanan lenfositlerin yüzeyindeki CC kemokin reseptör 7 (CCR7) tarafından aracılık edilen sinyaller integrinler aracılığı ve transendotelial göç ile endotel hücrelerine kuvvetli bağlanmalarıyla sonuçlanır (Worbs ve ark., 2007). Etkileşim sonrası kemokin reseptör ekspresyonundaki farklılaşmalar lenf nodlarındaki lenfositlerin fonksiyon ve mobilizasyonunu kontrol eder. T hücre alanlarına yönlendirilen CCR7 sinyalizasyonu hücreleri, CXCR5 aracılı sinyalizasyon B hücre folliküllerine göçü kontrol eder (Reif ve Ekland, 2002).

#### **2.4. B Lenfositler CD19**

B lenfositler İmmün sisteminde pek çok patojene karşı koruma sağlayan hormonal kolu oluşturan İmmüoglobulinleri salgılayan plazma hücresine dönüşen lenfositlerdir. Hücre yüzey immüoglobülinin varlığıyla tanınırlar ve periferik kanda dolaşan lenfositlerinin %5-50'sini temsil ederler. B lenfositlerin embriyonik ve yetişkin fazlarda iki aşamada gelişimi gerçekleşir. İnsanlarda fetüs karaciğeri ve kemik iliğinde oluşan antijenden bağımsız bir fazda ilk aşamada ayrıştırılmayan kök hücreler B

lenfositler olarak tanımlanabilen hücreler olarak olgunlaşırlar (Hardy ve Hayakawa, 2001).

B lenfositleri embriyonik fazda, Fetal karaciğerde T hücre gelişimiyle aynı gebelik döneminde başlayıp aynı gelişimsel aşamaları takip eder. Antijen bağamlı, kemik iliğinde gerçekleşen, yaşam boyu devam eden ve B lenfositlerinin plazma hücrelerine dönüştüğü faz yetişkin fazını oluşturur (Rohrer ve Minegishi, 2000).

Immünoglobulin gen düzenlemesinden yoksun oldukları gebeliğin 8 ile 10. haftasına kadar, CD34+ hematopoetik kök hücrelerde kemik iliğinde bulunurlar. Terminal deoksinukleotidil transferazı rekombinan aktive edici genleri (RAG), CD34'ü ve ilk adanmış progenitorler (pro/pre-BI) CD19'u, açığa çıkarırlar. Gebeliğin 7 ile 8. haftasına kadar fetus karaciğerinde görülen B hücre kökeninde ilk tanımlanan hücre pre-BII hücrelerdir zamanla IgM ( $\mu$ ) ağır zincirinin sitoplazmik boyanması ile tanınırlar hücre yüzeyinde pre-BCR olarak hafif zincir olan Ig- $\alpha$  ve Ig- $\beta$ ' yi eksprese ederler. Gebeliğin 8.ve 9. haftasına kadar fetus karaciğerinde tespit edilebilen Pre-B hücreleri, yüzey IgM ekspresyonu ve kompleman reseptörleri ile BCR'nin tamamlandığı ve spesifik hale geldiği immatür B lenfositlerine dönüşürler. Gebeliğin 12. haftasına kadar diğer membran immünoglobülin izotipleri olan IgG, IgA' yı açığa çıkaran hücreler izlenebilir. Gebeliğin 15. haftasına kadar, fetus yetişkin seviyelerinde dolaşan B lenfosit düzeylerine sahiptir. Fetal B lenfositleri, lenf nodlarında (%13), kanda (%35), dalakta (%30) en yüksek oranlarda görülebilir. Gebeliğin 20. haftasında fetüste Antijen spesifik antikor üretimi saptanabilir (Martin ve ark., 2015).

Yenidoğanda antikor üretimi ile B hücre yanıtı yenidoğan ve yetişkin splenik B hücreleri arasında bir çok farklılık belirlenmiştir. Yenidoğan B hücreleri, IL-10 ve CD40 ligandı (CD40L) aracılığıyla kusurlu T hücre yanıtı ile neticelenen azalmış düzeylerde kostimülasyon molekülleri CD40, CD80 ve CD86 yı açığa çıkarır (Upham, 2002).

B hücresindeki intrinsik faktörler, yenidoğan antikor cevaplarındaki kusurlara önemli ölçüde neden olsada, yenidoğan B hücre yanıtı dış faktörlerden de etkilenir. Anneden alınmış antikorlar aşı antijenlerine bağlanmaları sonucunda yenidoğan B hücrelerinin onları tanımamasına neden olabilir özellikle, C3 seviyeleri ve serum

kompleman seviyeleri, yenidoğanlarda azalmıştır ve bu antijen antikor komplekslerinin formasyonunda azalmalara yol açar. Yenidoğan dalağındaki marjinal zon makrofajların sayıları yetişkinlere nazaran daha düşüktür. Antijenleri tuzağa düşürmede önemli rol oynayan bu hücrelerdir. Foliküler DC'ler B hücrelerini çekmede önemli yere sahiptir ve antikorların sınıf değişimi ve somatik hipermutasyonla sonuçlanan sinyalleri sağlar. Yenidoğanda foliküler DC'lerin matürasyonlarında da kusurlar izlenmiştir. Yenidoğanlarda kısmen de olsa kemik iliğindeki antikor salgılayan plazma hücrelerinin oluşumu ve devamlılığındaki kusurlar nedeniyle uzatılmış antikor cevap eksikliğide vardır (Pihlgren, 2006).

Embriyonik gelişim süresince sırasıyla elde edilen belli antijenlere karşı hücre kaynaklı ya da antikor kaynaklı immün cevabı üretme becerisi fetüs, prematüre ve term bebeklerin antikor cevapları çocuk ve yetişkinlerden farklıdır. Gebeliğin erken evrelerinde, fetüs belli antijenlere karşı cevap verebilir; fakat hücre aracılı immün cevaplarını ve diğer antijenler antikor üretimini yalnızca doğumdan sonra gerçekleştirebilir. Fetüs ve yenidoğan bazı antijenlere (pnömokokkal, polisakkaritler) gibi cevap vermezler ve diğer antijenlere (Rubella, CMV, Toxoplasma) karşı verilen cevaplar baskın olarak IgM formatındadır. Yenidoğan B hücreleri, yaygın şekilde IgM salgılayan plazma hücrelerine farklılaşırken, aktive edilmiş yetişkin B hücreleri IgA ve IgG salgılayan plazma hücrelerini de üretir. B hücre farklılaşmasının yetişkin yapısı yaşamın birinci yılı boyunca gelişimini sürdürür (Martin ve ark., 2015).

Fetüs, gebeliğin erken evrelerinde serum immüoglobülinlerini üretme becerisini kazanır. IgG sentezi biraz daha geç ve IgA sentezi ise gebeliğin yaklaşık 30. haftasında başlar. İn vitro çalışmalar gebeliğin 8. haftasına kadar fetal hücrelerinin antikor (IgM) üretebildiğini göstermektedir. Uterusdaki steril ortam, fetüsün belli türden antikorla cevap verememesi, T hücresinin B hücre farklılaşmasını bastırması gibi pek çok faktöre bağlı olarak fetüs doğumdan kısa süre önce az miktarda antikor üretir. Doğum esnasında, dolaşımdaki antikorların çoğunluğu maternal dolaşımda plasenta üzerinden taşınır. Yetişkin seviyesinden düşük (<10%) seviyede 'fetal' IgM, term yenidoğanda bulunur ve 1 ile 2 yaş arasında yetişkin seviyelerine ulaşır. IgG konsantrasyonu doğum sonrası düşer (maternal IgG katabolizması dolayısıyla) ve yaklaşık üç, dört aylık bebekte en düşük noktaya ulaşır (fizyolojik

hipogammaglobülinemi) yetişkin IgG seviyesine dört, altı yaşta ve yetişkin IgA düzeylerine ergenliğe yakın dönemde ulaşır (Pentsuk, ve Laan, 2009).





### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Bu çalışmaya Van YYÜ Etik kurulundan 2018 TYL 7259 nolu proje ile izin alınarak başlandı. Çalışmanın Laboratuvar analiz kısmı Van YYÜ Dursun Odabaş Tıp Merkezi Mikrobiyoloji ABD Laboratuvarında BD marka Facs Canto II model Flow Sitometri cihazında gerçekleştirildi. Çalışmada Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yenidoğan kliniğinde Prematüre anemisi tanısı ile takip edilen postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki prematüre 20 Kız ve 20 Erkek toplam 40 ayrı bebekten alınan hemogram kanları kullanıldı. Çalışma yapılacak prematüre bebekler seçilirken major konjenital anomali (Ensefalosel, anensefali, hidransefali, teratom, hidrops fetalis, konjenital diyafragma hernisi, vs) siyanotik konjenital kalp hastalığı ile doğan hastalar, santral sinir sistemi enfeksiyonu olan hastalar, nekrotizan enterokolit tanısı almış hastalar, böbrek yetmezliği olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmada üç grup oluşturuldu.

Grup I (Kontrol): Anemik olmayan prematüre 37. hafta ve 40. haftalar arasında doğmuş 11 kız 11 erkek toplam 22 bebekten alınan hemogram kanları

Grup II (Çalışma): Yenidoğan yoğunbakım servisinde yatan anemik prematüre olan 20 kız, 20 erkek toplam 40 bebeğin ES verilmeden önce alınan hemogram kanları

Grup III (Çalışma): Grup II den kanları alınan yenidoğan yoğunbakım servisinde yatan anemik prematüre olan 20 kız, 20 erkek toplam 40 bebeğin ES verildikten sonraki alınan hemogram kanları kullanıldı.

#### 3.1.1. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızın deney guruplarının örnek genişliğini hesaplamada, öncelikli değişkenlerin Testin gücü (Power) en az 0,80 ve 1. tip hata 0,05 alınarak belirlenmiştir. Gruplara göre ölçüm düzeyleri normal dağılmadığından dolayı Nonparametrik testler uygulanmıştır. Çalışmamızdaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler;

Medyan, Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak, kategorik değişkenler için Sayı ve Yüzde olarak ifade edilmiştir. Ölçümler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Ölçümler arasındaki ilişkiyi belirlemede Spearman korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi 0,05 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver.23) istatistik paket program kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Ön hazırlık ve analiz**

Her üç gruptan K2 Edtalı hemogram kan tüplerine alınan kanlar oda ısısında maksimum sekiz saat içerisinde test edildi. Alınan kan örneklerinin her biri için üç adet deney tüpü kullanıldı bu tüplerden; 1 nolu deney tüpü negatif kontrol deney tüpü olarak kullanıldı bu tüpün içerisine 100 mikron hemogram kanı bırakıldı üzerine çalışılacak bütün monoklonal antikor markırlarına ait negatif isotip; Biolegend marka IgG1/FITC, IgG1/PE, IgG1/APC kitlerinden 5'er mikron bırakıldı. 2 nolu deney tüpü 1. Test tüpü olarak hazırlandı bu tüpün içerisine 100 mikron hemogram kanı bırakıldı üzerine Biolegend marka CD4/FITC, CD8/PE ve CD19/APC, CD monoklonal antikor kitlerinden 5'er mikron bırakıldı. 3 nolu deney tüpü 2. Test tüpü olarak hazırlandı bu tüpün içerisine 100 mikron hemogram kanı bırakıldı üzerine Biolegend marka CD3/FITC ve CD16+CD56/PE, CD monoklonal antikor kitlerinden 5'er mikron bırakıldı. Vorteksledi, monoklonal antikorların hücrelerin yüzey antijenlerine bağlanması için tüm deney tüpleri oda ısısında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi, inkübe sonrasında tüm deney tüplerindeki kan örnekleri lize edici solusyonlar kullanılarak içerisindeki Eritrosit ve trombositlerden azami ölçüde temizlendi lökositlerin olduğu süspansiyon sıvı haline getirildi ve BD Facs Canto II Flow Sitometri cihazında çalışma test aşamasına geçildi.

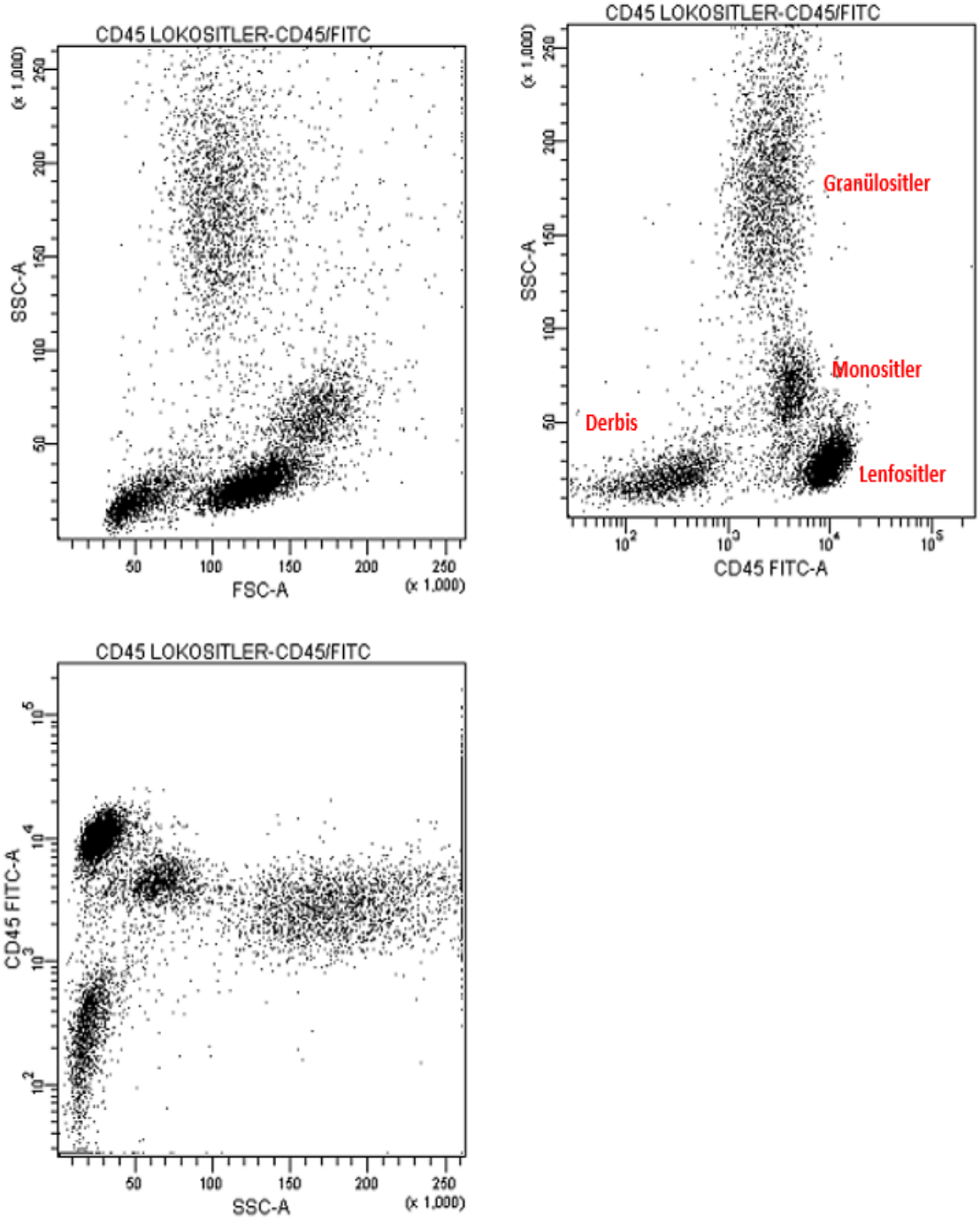
Flow Sitometri test analizleri kan hücrelerinin eksprese ettikleri yüzey antijen moleküllerinin epitoplarnı tanıma ve bu epitoplara bağlanma özelliğinde olan CD (Yüzey farklılaşma antijenleri) monoklonal antikorlar kullanılarak "hücrenin yüzey ve iç proteinleri, organelleri ve diğer bileşenleri analiz ve ayrımı, lazer ve elektronik

teknolojisi kullanılarak büyüklük, granülarite ve floresans emisyonu esasına dayalı olarak yapılabilmektedir (Kanev ve Muranlı, 2016).

Her deney tüpü cihaza tek, tek sırasıyla uygun çalışma protokol programlarına uyularak ve bu programları kullanılarak hücrelerin yüzey ve iç proteinleri, organelleri ve diğer bileşenlerinin analiz ve ayrımı, lazer ve elektronik teknolojisi kullanılarak büyüklük, granülarite ve floresans emisyonu esasına dayalı olarak test analizleri yapıldı bu testlerin sonuçları her bir parametre için ayrı, ayrı % ( yüzde ) birim olarak alındı ve kayıt edildi.

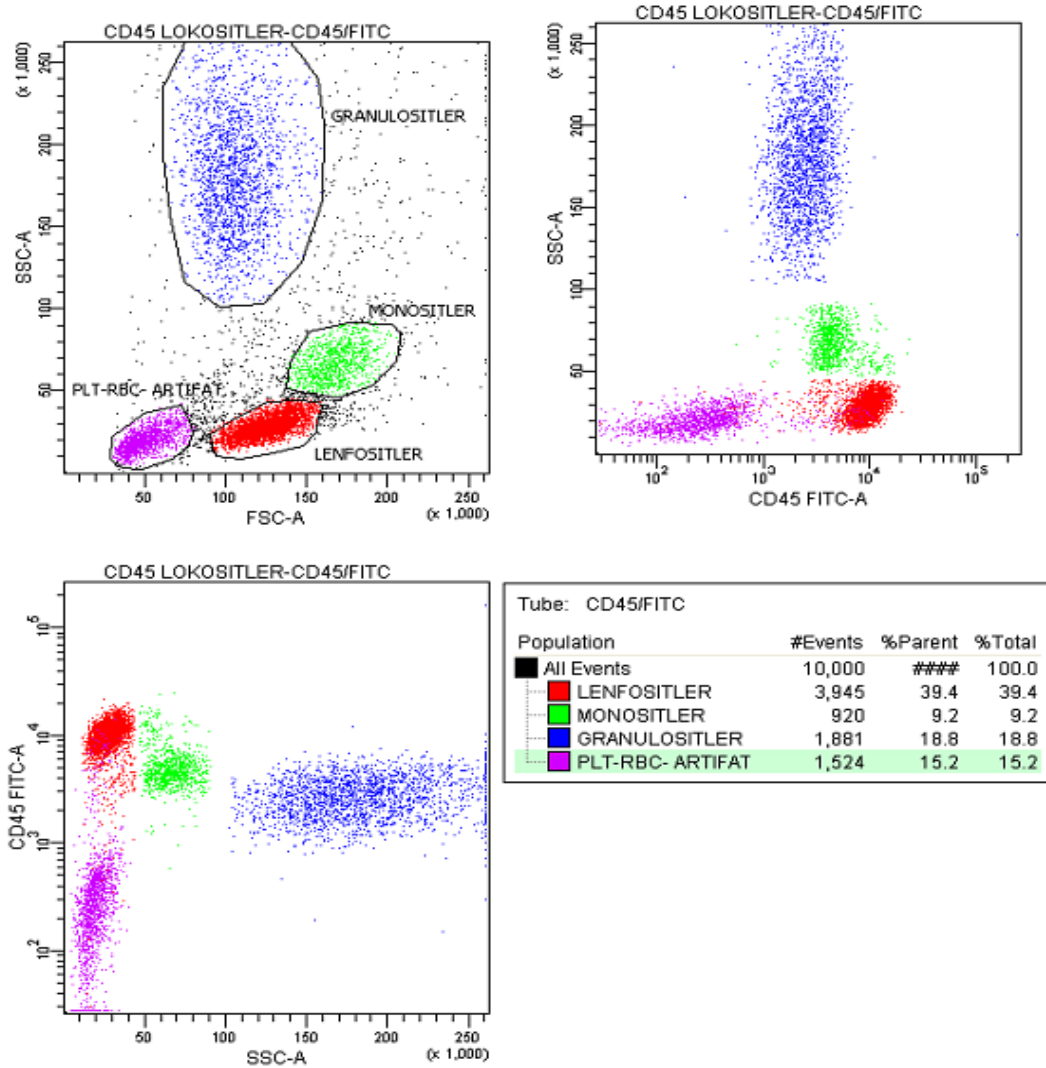
### **3.2.2. CD45 ile Lökosit hücre dağılımlarının düzenlenmesi**

BD Facs Canto II Flow Sitometri cihazında test çalışmalarına başlamadan önce cihazın genel kontrolünü ve hücre gruplarının dağılımlarını uygun şekilde yapabilmek için cihaz üzerinde voltaj ve kompenzasyon gibi ayarlarla düzeltmeler yapıldı. Aşağıda Şekil 1 ve Şekil 2 de görüldüğü gibi CD45 hücre gruplarının histogramlarda net ve düzgün dağılımları elde edildikten sonra toplanan örneklerde çalışma test analizlerine geçildi.



Şekil 1. CD45 Lökositlerin genel görünüm çalışması

### FACSDiva Version 6.1.3



Global Sheet1

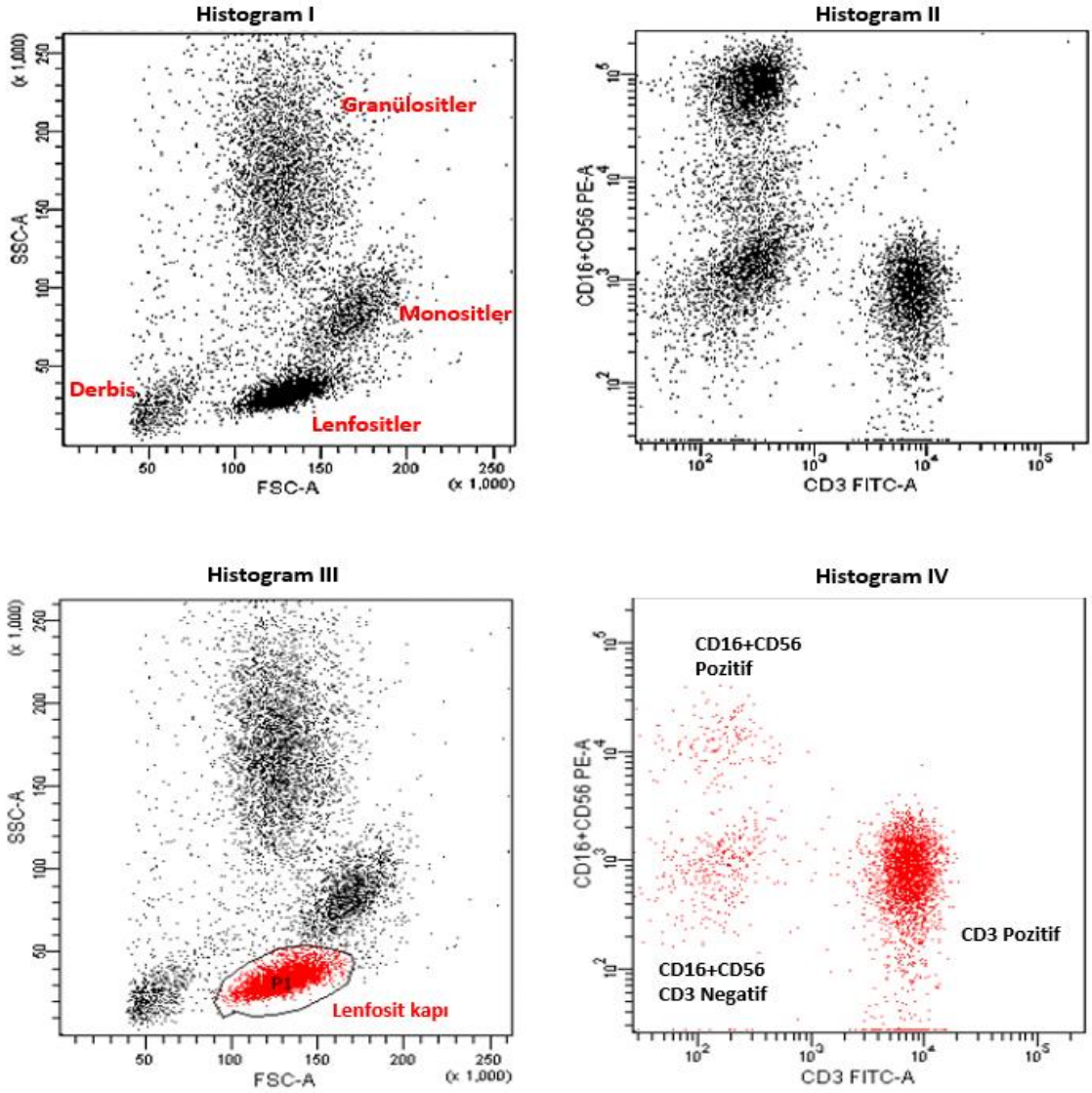
Page 1 of 1

Printed on: Thu Apr 25, 2019 02:33:18 ACT

**Şekil 2.** CD45 Lökosit hücre gruplarının kapılanarak çalışması

### 3.2.3. CD3/FITC , CD16+CD56/PE testleri

Flow sitometri test cihazında yapılan çalışmada I. Kontrol grubu II. çalışma grubu ve III. Çalışma gruplarında tek bir tüp içerisinde bulunan iç içe çalışılan CD3/FITC ve CD16+CD56/PE parametrelerinin aşağıdaki şekil 3 de görüldüğü gibi % de brim olarak değerlerinin alınması sonucu elde edilen veriler kullanıldı.



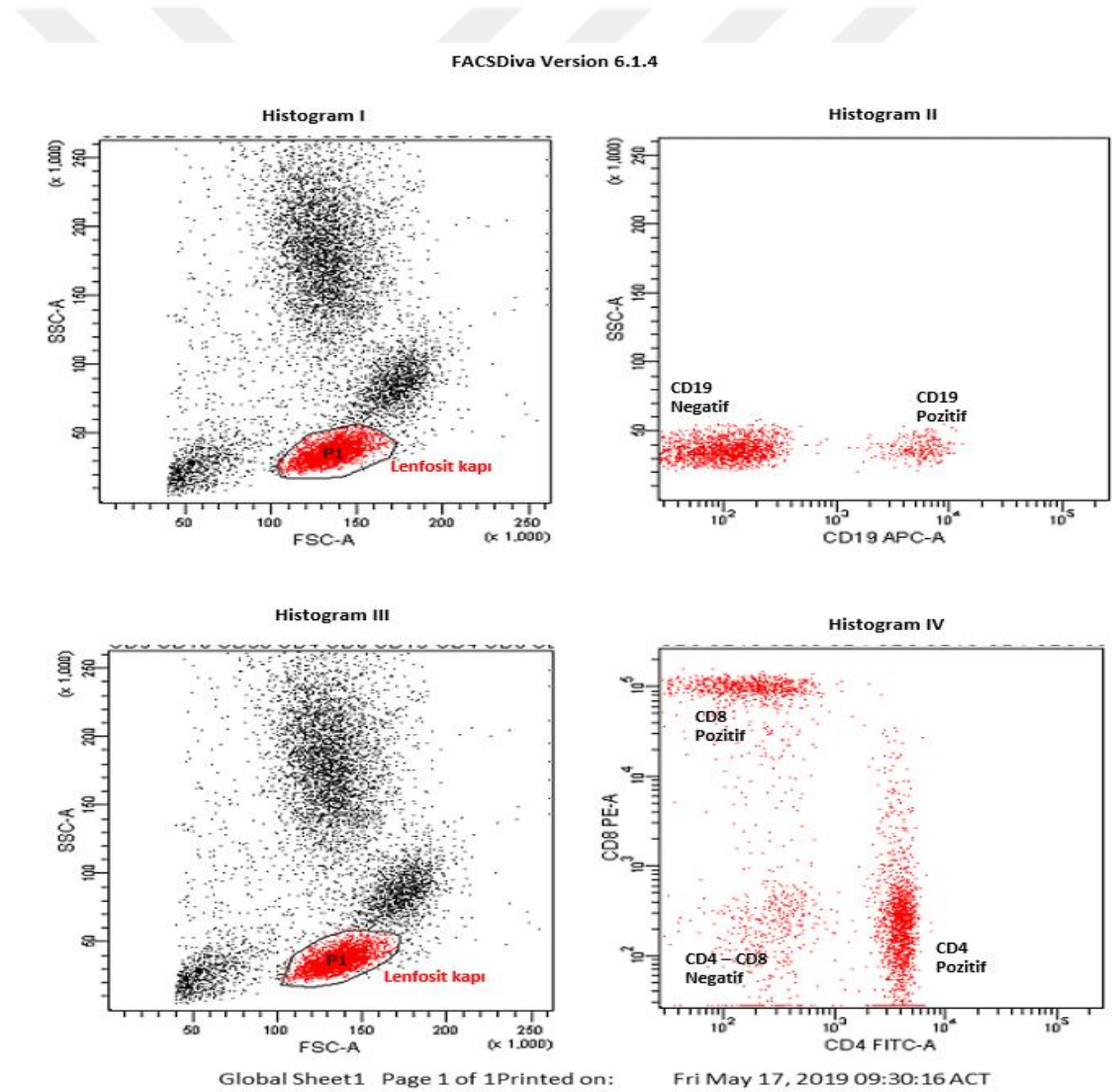
**Şekil 3.** CD3 CD16+CD56 Facs Canto II çalışma histogram görüntüsü

Şekil.3 de tüm histogramlara bakıldığında Histogram I de CD3 FITC (Flüoreserin izotiyosiyanat) yeşil renkli monoklonal antikorla işaretlenmiş lenfosit hücreleri ve CD16+CD56 PE (Fikoeritrin) truncu renkli monoklonal antikorla işaretlenmiş lenfosit hücreleri renk ayırımına dayalı florasan ışık yayma dalga boylarının farklı olması sebebiyle bir tek çalışma tüpünde iç içe çalışıldı kan hücrelerinin ileri saçılma grafiği FSC-A (Forward scatter) ile yaklaşık büyüklüğü ve yana saçılma grafiği SSC-A (Side scatter) ile yaklaşık granüliteye karşılık artifat hücrelerini ve Lökosit alt grupları olan lenfositlerin, monositlerin, granüositlerin birbirlerinden ayrı dağılımları elde edildi. Histogram II de CD3 ve CD16+CD56 nın tüm lökositlerdeki dağılımları

görülmektedir. Histogram III de lenfosit hücrelerinin tamamına yakını P1 kapısı içerisine alındı. Histogram IV'e P1 lenfosit kapısı tanıtılarak bu kapı içerisindeki lenfositlerdeki CD3 ve CD16+CD56'ın pozitif hücre popülasyonundaki % de değerleri sonuç olarak alındı ve kayıt edildi.

### 3.2.4. CD4/FITC, CD8/PE ve CD19/APC testleri

Flow sitometri test cihazında yapılan çalışmada I. Kontrol grubu II. çalışma grubu ve III. Çalışma gruplarında tek bir tüp içerisinde bulunan iç içe çalışılan CD4/FITC, CD8/PE ve CD19/APC parametrelerinin aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi % de birimi olarak değerlerinin alınması sonucu elde edilen veriler kullanıldı.



Şekil 4. CD4, CD8, CD19 Facs Canto II çalışma histogram görünüsü



Yukarıda şekil 4 de Histogram I de CD4 FITC (Flüoreserin izotiyosiyanat) yeşil renkli, CD8 PE (Fikoeritrin) turuncu renkli ve CD19 APC (Allofikosiyanin) açık kırmızı renkli monoklonal antikorla işaretlenmiş lenfosit hücreleri renk ayırımına dayalı florasan ışık yayma dalga boylarının farklı olması sebebiyle bir tek çalışma tüpünde iç içe çalışıldı, kan hücrelerinin İleri saçılma grafiği FSC-A (Forward scatter) ile yaklaşık büyüklüğü ve yana saçılma grafiği SSC-A (Side scatter) ile yaklaşık granülitelye karşılık artifak hücrelerini ve lökosit alt grupları olan lenfositlerin, monositlerin, granülositlerin birbirlerinden ayırma dağılımları elde edildi ve bu histogramda lenfosit hücre topluluğu P1 kapısı içerisine alındı ve bu kapıdaki hücre gurubu Histogram II ye tanımlandı CD19 APC nin pozitif hücre popülasyonundaki % de değerleri sonuç değeri olarak alındı ve kayıt edildi. Histogram III de lenfosit hücre topluluğu P1 kapısı içerisine alındı ve bu kapıdaki hücre gurubu Histogram IV'e tanımlandı CD4 FITC pozitif bölgesinin ve CD8 PE pozitif bölgesinin % de değerleri kayıt edildi. Çalışmada her bebeğe ait kan örnekleri aynı yöntemle çalışılarak gereken veriler elde edildi.



#### 4. BULGULAR

Dursun Odabaş Tıp Merkezi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Yenidoğan yoğun bakım kliniğinde postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki anemik prematüre bebeklerden çalışma grubunda 20 (%50)'si erkek, 20 kız (%50)'si kız olmak üzere toplam 40, kontrol grubunda normal anemik olmayan 37. ve 40. haftalarda doğmuş prematüre bebeklerden oluşan 11 (%50)'si erkek, 11 (%50)'si kız olmak üzere toplam 22 prematüre bebek çalışmaya alınmıştır.

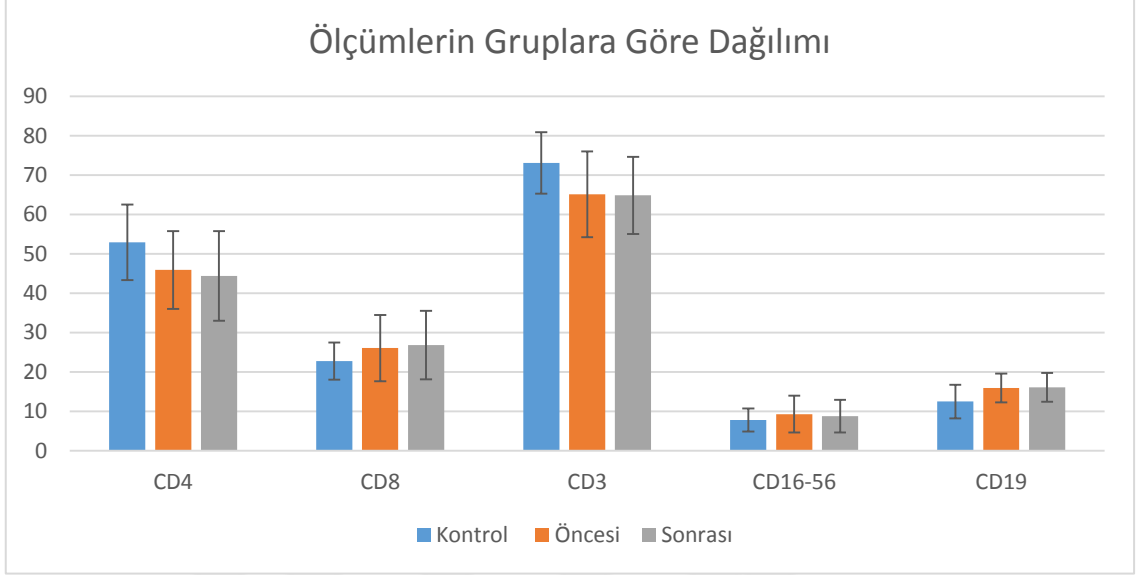
**Tablo 1.** Gruplara ait parametrelerin sonuçları

	Kontrol	Öncesi	Sonrası	Ortalama
CD4%	52.95±9.59 <sup>a</sup>	45.90±9.85 <sup>b</sup>	44.38±11.37 <sup>b</sup>	45.14
CD8%	22.77±4.72 <sup>a</sup>	26.08±8.40 <sup>a</sup>	26.82±8.69 <sup>a</sup>	26.45
CD3%	73.09±7.78 <sup>a</sup>	65.10±10.90 <sup>b</sup>	64.85±9.77 <sup>b</sup>	64.97
CD16-56%	7.82±2.93 <sup>a</sup>	9.30±4.65 <sup>a</sup>	8.80±4.16 <sup>a</sup>	9.05
CD19%	12.50±4.26 <sup>b</sup>	15.93±3.64 <sup>a</sup>	16.10±3.64 <sup>a</sup>	16.36

*Aynı satırdaki farklı harfler istatistik anlamlılığı ifade etmektedir (p<0.05)*

Yukarıdaki tabloda gruplara göre Grup I (Kontrol), Grup II (Çalışma) ES verilmeden önceki ve Grup III (Çalışma) ES verildikten sonraki grubun ölçümlerinin karşılaştırma sonuçları ve öncesi, sonrası sonuçların ortalaması verilmiştir. Buna göre bakıldığında; “CD4%” bakımından “Gruplar” arasında istatistik olarak anlamlı (önemli) bir fark gözlenmiştir (p<0,05). Bu ölçüm düzeyi Kontrol grubunda diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur ve bu fark önemli bulunmuştur. Önce-sonra ölçümleri arasında ise fark anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde; “CD3% ve CD19%” bakımından “Gruplar” arasında istatistik olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (p<0,05). Bu ölçüm düzeyleri Kontrol grubunda diğer gruplara göre farklı bulunmuştur. Önce-sonra ölçümleri arasında ise fark anlamlı bulunmamıştır. Bunların aksine; “CD8% ve CD16+56%” bakımından “Gruplar” arasında istatistik olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p>0,05). Bu ölçüm düzeylerinde gruplarda fark oluşmamıştır.

Bu ölçümlere ait dağılım grafiği aşağıda verilmiştir.



Şekil 5. Ölçümlere ait dağılım grafiği

Tablo 2. ES Transfüzyonu öncesi grupta çalışılan parametreler arasındaki korelasyon

		CD4%	CD8%	CD3%	CD16+56%	CD19%
CD4%	r	1	-,483**	,517**	-,483**	-,389*
	p		,002	,001	,002	,013
CD8%	r	-,483**	1	-,024	,426**	-,033
	p	,002		,885	,006	,837
CD3%	r	,517**	-,024	1	-,472**	-,323*
	p	,001	,885		,002	,042
CD16+56%	r	-,483**	,426**	-,472**	1	,201
	p	,002	,006	,002		,213
CD19%	r	-,389*	-,033	-,323*	,201	1
	p	,013	,837	,042	,213	

r: Spearman Korelasyon katsayısı; p: anlamlılık düzeyi; \* p<0,05; \*\*p<0,01

ES transfüzyonu öncesi grupta CD4 düzeyi CD8, CD16+56 ve CD19 arasında negatif korelasyon (ilişki) bulunurken CD3 ile pozitif korelasyon bulunmuştur. CD8 düzeyi ile CD16+56 arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. CD3 düzeyi ile CD16+56 ve CD19 arasında negatif korelasyon bulunmuştur.

**Tablo 3.** ES Transfüzyonu sonrası grupta çalışılan parametreler arasındaki korelasyon

		CD4%	CD8%	CD3%	CD16+56%	CD19%
CD4%	r	1	-,631**	,582**	-,284	-,430**
	p		,000	,000	,076	,006
CD8%	r	-,631**	1	,057	,212	,050
	p	,000		,726	,189	,760
CD3%	r	,582**	,057	1	-,232	-,480**
	p	,000	,726		,149	,002
CD16+56%	r	-,284	,212	-,232	1	,431**
	p	,076	,189	,149		,006
CD19%	r	-,430**	,050	-,480**	,431**	1
	p	,006	,760	,002	,006	

r: Spearman Korelasyon katsayısı; p: anlamlılık düzeyi; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

CD4 düzeyi ile CD8 ve C19 arasında negatif korelasyon bulunurken, CD3 ile pozitif korelasyon gözlenmiştir. CD3 ve CD19 arasında negatif korelasyon bulunmuştur. CD16+56 ve CD19 arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.

**Tablo 4.** Kontrol grubu ile çalışılan parametreler arası korelasyon

		CD4%	CD8%	CD3%	CD16+56%	CD19%
CD4%	r	1	-,530*	,282	-,200	-,245
	p		,011	,204	,373	,272
CD8%	r	-,530*	1	-,309	,340	,153
	p	,011		,161	,121	,498
CD3%	r	,282	-,309	1	-,559**	-,403
	p	,204	,161		,007	,063
CD16+56%	r	-,200	,340	-,559**	1	-,141
	p	,373	,121	,007		,532
CD19%	r	-,245	,153	-,403	-,141	1
	p	,272	,498	,063	,532	

r: Spearman Korelasyon katsayısı; p: anlamlılık düzeyi; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

CD4 ve CD 8 arasında negatif korelasyon bulunmuştur. CD3 ve CD16+56 arasında negatif korelasyon vardır.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 5.1. CD4+ T Lenfosit ve CD8+ T Lenfosit'in Değerlendirilmesi

Bu çalışmaya benzer çeşitli yaş gruplarında daha önceden söz konusu parametrelere ait literatürde bir çok çalışma olmasına karşılık ES transfüzyonunun postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki prematüre bebeklerde natural killer ve lenfosit alt gruplarına etkilerine dair yapılan bir çalışma olmaması, ışınlanmamış eritrosit süspansiyon transfüzyonunun anemik prematürelerin immün sistemlerine etkilerinin olup olmadığı, olduysa hangi düzeyde olduğu gibi elde edilebilecek verilerin prematüre bebeklerin mevcut immün sistem bilgilerine katkı sağlaması bakımından çalışılmaya değer nitelikte olduğu kanaatindeyiz.

Bu çalışmada CD4+ T lenfosit % de oranları ile “Gruplar” arasında istatistik olarak anlamlı (önemli) bir fark gözlenmiştir. İstatistiksel olarak Kontrol grubunda CD4+ T lenfosit değerlerinin anlamlı yüksek ( $p<0,05$ ) çıkmış olmasına karşın; Yapılan çalışmalarda (Sağlam İ, 2007). 6 ay 12 ay bebeklerde CD4+ T lenfositin değerleri %41, 1-2 yaş çocuklarda %38,4, 2-4 yaş çocuklarda %37,4 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ortalama değer %45,1 idi kontrol grubuna göre düşük gibi görünen CD4+ T lenfositin % de ortalaması yapılan çalışmalara bakıldığında düşük olarak kabul edilmemiştir. Anemik prematürelere verilen ışınlanmamış eritrosit süspansiyonunun transfüzyon öncesi ve transfüzyon sonrası tüm parametrelerdeki değerleri anlamlı değiştirmedeği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada postkonsepsiyonel yaşını tamamlamaya yakın yaklaşık 40 haftaya kadar olan prematürelere oluşan kontrol grubundaki CD4 ortalamasının %52,9 oranında yüksek olması, çalışma grubunu oluşturan 36. haftadan önce doğmuş prematürelerin ileriki haftalara doğru gidildikçe CD4 yüzde sayılarının artacağı tarzında yorumlanabilir.

CD8+ T lenfosit için yapılan çalışmalara bakıldığında (Sağlam İ, 2007). 6 ay-12 ay bebeklerde %25,2 1-2 yaş çocuklarda %27,2 2-4 yaş çocuklarda %29,1 bulunmuştur çalışmamızda CD8+ T lenfositin ortalama değeri %26,4 dür ES öncesi ve sonrasında CD8+ T lenfosit değerlerinde anlamlı bir fark görülmemiştir.

## 5.2. CD3+ T Lenfositin Değerlendirilmesi

CD3+ T lenfosit oranları ile “Gruplar” arasında istatistik olarak anlamlı (önemli) bir fark gözlenmiştir. İstatistiksel olarak Kontrol grubunda CD3 % değerlerinin anlamlı yüksek ( $p<0,05$ ) çıkmış olmasına karşın yapılan çalışmalarda (Sağlam İ.,2007) 6-12 ay bebeklerde CD3 ün % değerleri %64,6 1-2 yaş çocuklarda %64,2 2-4 yaş çocuklarda %65,2 bulunmuştur. Çalışmamızda ortalama CD3+ T lenfositin % değeri 64,9 bulunmuştur kontrole göre düşük gibi görünen CD3+ T lenfositin % de ortalaması yapılan çalışmalara bakıldığında düşük değildir. Anemik prematürelere verilen ışınlanmamış eritrosit süspansiyonunun transfüzyon öncesi ve transfüzyon sonrası CD3+ T lenfositin % değerlerini anlamlı değiştirmedeği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada CD4 de olduğu gibi postkonsepsiyonel yaşını tamamlamaya yakın yaklaşık 40 haftaya kadar olan prematürelere oluşan kontrol grubundaki CD3 ortalamasının %73 oranında yüksek olması, çalışma grubunu oluşturan 36. haftadan önce doğmuş prematürelere ileriki haftalara doğru gidildikçe olgun T-lenfosit belirleyicisi olan CD3'ün yüzde sayılarının artacağı tarzında yorumlanabilir..

## 5.3. Naturel Killer CD16+CD56'nın Değerlendirilmesi

“CD16+CD56%” nin kontrol grubunda ve çalışma gruplarında ES öncesi ve sonrasında değerlerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında 6-12 ay bebeklerde CD16+CD56 % 11,7 1-2 yaş çocuklarda %9,1 ve 2-4 yaş çocuklarda %11,3 dür çalışmamızda CD16+CD56'ın ortalama değeri %9,5 dir. ES transfüzyonunun CD16+CD56 ya etkisinin olmadığı, postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki anemik prematüre bebeklerin natürel killer değerlerinin 1-4 yaş aralığındaki çocukların ortalama değerlerine yakın olduğu söylenebilir.

## 5.4. CD19 B Lenfositin Değerlendirilmesi

“CD19%” un oranları ile “Gruplar” arasında istatistik olarak anlamlı (önemli) bir fark gözlenmiştir İstatistiksel olarak Kontrol grubunda CD19 % değerlerinin anlamlı düşük çıkmış olmasına karşın; Yapılan çalışmalarda (Sağlam İ., 2007) bakıldığında 6-12 ay bebeklerde CD19 %24,8 1-2 yaş çocuklarda %26,3 2-4 yaş çocuklarda %21,1 dir. Çalışmamızda ortalama %16,2 dir kontrol grubunda CD19% 12,5 dir çalışma

ortalamalarına göre her üç grupta CD19% de düşüklüğü kayda değer ölçülerde değildir. Anemik prematürelere verilen ışınlanmamış eritrosit süspansiyonunun transfüzyon öncesi ve transfüzyon sonrası CD19 % de değerlerini anlamlı derecede değiştirmedeği görülmektedir.

Çalışmamız bulgularına literatürde daha önce benzer çalışma olmadığından orijinal niteliktedir. ES transfüzyonunun bu parametrelere, bebeklerdeki lenfosit alt gruplarına etkisini gösteren çalışma olmadığından benzer bulgularla karşılaştırma yapılamamıştır.

Çalışmamız ES transfüzyonlarının prematüre immünesinde özellikle lenfosit alt gruplarına ve dağılımlarına olumsuz etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu nedenle organizmaya bu açıdan olumsuz olmayan, güvenilir bir tedavi yöntemi olarak kabul edilebileceğini düşünmekteyiz.

## **Sonuç ve Öneriler:**

Çalışma guruplarındaki ES Transfüzyonu öncesi ve sonrası CD4+ T lenfosit ve CD8+ T lenfositlerin % de değerleri arasında anlamlı fark olmaması ES transfüzyonunun bu parametrelere bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Kontrol grubuna göre düşük gibi görünen CD3+ T lenfositlerin % de ortalaması yapılan çalışmalara bakıldığında düşük değildir. Kontrol grubunun çalışma grubundan daha ileri yaklaşık 40 haftaya yakın doğmuş prematürelere oluşması yeidoğanlarda CD3+ T lenfositlerin ileri (38, 39, 40) haftalara doğru gidildikçe sayısal değerlerinin arttığı söylenebilir. Anemik prematürelere verilen ışınlanmamış ES transfüzyonu öncesi ve transfüzyon sonrası CD3+ T lenfositlerin % de değerlerini anlamlı değiştirmedeği görülmektedir. ES transfüzyonun CD3+ T lenfositlere etkisinin olmadığı söylenebilir.

Bu çalışmada CD16+CD56 nın kontrol grubunda ve çalışma guruplarında ES transfüzyonu öncesi ve sonrasındaki değerleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu çalışmada elde edilen ortalamalar ile daha önceki çalışmalardaki 1-4 yaş çocukların ortalama değerlerinin eşleştiği görülebilir.

Anemik prematürelere verilen ışınlanmamış ES transfüzyon öncesi ve transfüzyon sonrası CD19 B lenfosit değerlerini anlamlı derecede değiştirmedeği görülmektedir.

Bu çalışmada ES transfüzyonu çalışılan tüm guruplardaki parametrelere anlamlı etki yapmamıştır ve çalışma guruplarındaki bebeklerde immün kompetan lenfositleri içeren kan ürünlerinin verilmesiyle gelişen graft versus host hastalığı (GVHH) (Fanaro S, 2011) gibi ve buna benzer komplikasyonlara yol açmamıştır. Bu sonuç ışınlanmamış olmasına rağmen ES içerisindeki lökositlerin miktarının sayıca az olmasına bağlanabilir.

Bu çalışmanın daha önceden yenidoğan ve prematüre bebeklerde yapılmış benzer çalışmalardan farklı olarak postkonspsiyonel 36. hafta ve altındaki Anemik prematürelere eritrosit transfüzyonu öncesi ve sonrası natural killer ve lenfosit alt guruplarının değerlendirilmesi olarak literatüre göre ilk kez yapılması çalışmanın orijinal yönüdür.

Bu alışma postkonsepsiyonel 36. hafta ve altındaki anemik prematürelere ve normal yenidoğanların bağışıklık sistemlerinin fetüsten itibaren gelişme gösterdiğini doğrular niteliktedir.

Bu alışma sonucunda anemik prematüre bebeklerde lenfosit alt grubu ve natürel killer parametrelerine ait elde edilen ortalama değerlerin, bölgesel ve genel anlamda söz konusu parametrelerin ortalama değerlerine veri amaçlı katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.





## KAYNAKLAR

- Adkins B, Leclerc C, Marshall CS. Neonatal adaptive immunity comes of age. *Nat Rev Immunol.* 2004; 4: 553-64.
- Aher S, Malwatkar K, Kadam S. Neonatal anemia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2008; 13: 239-47.
- Aktaş ÇA. Ý.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Bağışıklık Sistemi ve Yetersizlikleri Sempozyum Dizisi. 2013; 80: 9-16.
- Alan S, Arsan S. Prematüre anemisi, *Çocuk Sağl Hast Derg.* 2014; 57: 214- 24.
- Altaş B, Arsan S, Okulu E. Evaluation of efficacy and safety of autologous cord blood transfusions in very low birth weight premature newborns. *Pediatr Res.* 2010; 68-70
- Anderson S, Fangman J, Wager G, Uden D. Retrieval of placental blood from umbilical vein to determine volume, sterility and presence of clot formation. *Am J Dis Child.* 1992; 146: 36-9.
- Atasay B, Arsan S. Erythropoietin treatment in anemia of prematurity. In: Gupte S (ed). *Recent Advances in Pediatrics, Neonatal Emergencies.* New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers. 2003: 203-17.
- Atasay B. Prematüre anemisinin eritropoietin ile tedavisi sırasında demir gereksiniminin serum ferritin ve soluble transferrin reseptör düzeyleri ile belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağl Hast Anabilim Dalı Tıpta Yan Dal Uzmanlık Tezi. Ankara: 1999.
- Awong G, Herer E, Surh CD. Characterization in vitro and engraftment potential in vivo of human progenitor T cells generated from hematopoietic stem cells. *Blood.* 2009; 114: 972–82.
- Basha S, Surendran N, Pichichero M. Immune responses in neonates. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014; 10 (9): 1171-84.
- Battersby AJ, Khara J, Wright VJ, Levy O, Kampmann B. Antimicrobial Proteins and Peptides in Early Life: Ontogeny and Translational Opportunities. *Front Immunol.* 2016; 18 (7): 309.
- Biassoni R, Cantoni C, Pende D. Human natural killer cell receptors and co-receptors. *Immunol Rev.* 2001; 203-14.
- Bifano EM, Dracker RA, Lorah K, Palit A. Collection and 28-day storage of human placental blood. *Pediatr Res.* 1994; 36: 90-4.
- Blajchman MA. Bacterial contamination of cellular blood components: risks, sources and control. *Vox Sang.* 2004; 87: 98-103.
- Boehmer VH, Fehling HJ. Structure and function of the pre-T cell receptor. *Annu Rev Immunol.* 1997; 15: 433-52.
- Bromley SK, Burack WR, Johnson KG. İmmunologi-cal synapse. *Ann Rev Immunol.* 2001; 19: 375-96.

- Bryant PW, Dumenil AW, Fiebiger E, Lagaudriere GC, Ploegh HL. Proteolysis and antigen presentation by MHC class II molecules. *Adv Immunol.* 2002; 80: 71-84.
- Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol.* 2001; 41- 9.
- Chinen J, Finkelman F, Shearer WT, *Advances in basic and clinical immunology J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118: 489-95.
- Crowley M, Kirpalani HA. Rational approach to red blood cell transfusion in the neonatal ICU. *Curr Opin Pediatr.* 2010; 22: 145-48.
- Demiralp EE. Hücre Yüzey Antijenleri (Cd)'nin İmmunolojiye Katkıları. *Ankem.* 2008; 22: 98-103.
- Deniz G. Akış Sitometrisi ve Klinik Uygulamalar. *Türkiye Klinikleri J. Int Med Sci.* 2007; 3 (43): 73-80.
- Diker K.S. İmmunoloji. İkinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. 2005; 1-26.
- Domingue M, Yacoub ZM, Dominguez E. Fetal natural killer cell function is suppressed. *Immunol.* 1993; 79: 119-24.
- Edanur E, Ökten A, Mocan H, Gedik G, Uçar B. Yenidoğan Bebeklerin Lenfosit Yüzdeleri T Lenfosit Subgrupları ve C4 C8 Oranlarının Çeşitli Yaş Grupları İle Karşılaştırılması, *Türk Pediatri Arşivi.* 2014; 28: 1306- 15.
- Fanaro S. Blood transfusion in infants: techniques and adverse events. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011; 24: 47-9.
- Freire WB. World Health Organization For The Control Of Iron Deficiency In Latin America, *Nutr Rev.* 1997; 55: 183-88.
- Goenka A, Kollmann TR. Development of immunity in early life. *J Infect.* 2015; 71 (1): 112-20.
- Golden SM, Petit N, Mapes T, Davis SE, Monaghan WP. Bacteriologic assessment of autologous cord blood for neonatal transfusion. *Am J Obstet Gynecol.* 1984; 149: 907-08.
- Habif S, Mutaf I, Turgan N. Age and gender dependent alterations in the activities of glutathione related enzymes in healthy subjects. *Clin Biochem.* 2001; 34: 667-71.
- Hardy R, Hayakawa K. B cell development pathways. *Annu Rev Immunol.* 2001; 19: 595-621.
- Hendrickson JE, Hillyer CD. Noninfectious serious hazards of transfusion. *Anesth Analg.* 2009; 108: 759- 69.
- Holt PG. Functionally mature virus-specific CD8(+) T memory cells in congenitally infected newborns: proof of principle for neonatal vaccination *J Clin Invest.* 2003; 111:1645-47.
- J. Rohrer, Y. Minegishi ME. Defects in early B-cell de-velopment: comparing the consequences of abnormalities in pre-BCR signaling in the human and the Mouse. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2000; 19: 183-204.

- Jordan MB, Filipovich AH. Hematopoietic cell transplantation for hemophagocytic lymphohistiocytosis: a journey of a thousand miles begins with a single (big) step. *Bone Marrow Transplant*. 2008; 42: 433-37.
- Kadowaki N, Antonenko S. Distinct cytokine profiles of neonatal natural killer T cells after expansion with subsets of dendritic cells. *J Exp Med*. 2001; 193: 1221-26.
- Karadoğan İ. Transfüzyon Reaksiyonları, Yoğun Bakım Derg. 2005; 3: 35-46.
- Kennedy B, Evans PA, Davies FE. Human thymus during aging. *Blood*. 2001; 98: 351.
- Küçüksezer U, Tahralı İ, Bilgiç GS, Aktaş ÇE, Gül A, Tuğal Tİ, Deniz G. Evaluation of purity rates of nk cells isolated from behcet's disease patients in relaps and remission periods, *Deneysel Tıp Araş Ens Derg*. 2013; 3 (6): 23-8.
- Kültürsay N. Prematüre Bebeklerde Nekrotizan Enterokolitten Korunma Amacı İle Probiyotik Kullanımı, *Çocuk Sağ Hast Derg*. 2012; 55: 204-10.
- Lanier LL. NK cell receptors. *Ann Rev Immunol*. 1998; 16: 359-93.
- Lanier LL. Up on the tightrope: natural killer cell activation and inhibition. *Nat Immunol*. 2008; 9: 495–502
- Levy O, Zarembek KA, Roy RM, Selective impairment of TLR-mediated innate immunity in human newborns: neonatal blood plasma reduces monocyte TNF-alpha induction by bacterial lipopeptides, lipopolysaccharide, and imiquimod, but preserves the response to R-848. *J Immunol*. 2004; 173: 4627-34.
- Levy O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nat Rev Immunol*. 2007; 7: 379-90.
- Ma CS, Nichols KE, Tangye SG. Regulation of cellular and humoral immune responses by the SLAM and SAP families of molecules. *Annu Rev Immunol*. 2007; 25: 337–79.
- Maier R, Sonntag J, Walka M, Changing practices of red blood cell transfusions in infants with birth weights less than 1000 g. *J Pediatr*. 2000; 136: 220- 24.
- Marchant A, Appay V, Sande MV, Dulphy N, Liesnard C, Kidd M, Kaye S, Ojuola O, Gillespie G, Cuero AV, Cerundolo V, Callan M, Mcadam K, Rowland- SJ, Donner C, McMichael A, and Whittle H. Mature CD8+ T lymphocyte response to viral infection during fetal life. *J Clin Investig*. 2003; 111: 1747-55.
- Marchant A, Appay V, Sande VM. Mature CD8(+) T lymphocyte response to viral infection during fetal life. *J Clin Invest*. 2003; 111: 1747-55
- Moretta A, Bottino C, Vitale M. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Ann Rev Immunol*. 2001; 19: 197-223.
- Msall ME, Tremont MR. Measuring functional outcomes after prematurity: developmental impact of very low birth weight and extremely low birth weight status on childhood disability. *Mental Retardation and Developmental Disabilities*. 2002; 8: 258-71.
- Ozdemir O, Ravindranath Y, Savaşan S. Mechanisms of superior anti-tumor cytotoxic response of interleukin 15-induced lymphokine-activated killer cells. *J Immunother*. 2005; 28 (1): 44-52.
- Pearson HA. Life-span of the fetal red blood cell. *J Pediatr*. 1967; 70: 166-71.

- Pentsuk N, Laan JW. An interspecies comparison of pla-cental antibody transfer: new insights into developmental toxicity testing of monoclonal antibodies. *Birth Defects Res B Dev Rep-rod Toxicol.* 2009; 86: 328-44.
- Peterson, NL. Early intervention for handicapped and at-risk children. London: Love Publishing Company. 1998; 30 (3): 176-188.
- Pihlgren M. Reduced ability of neonatal and early-life bone marrow stromal cells to support plasmablast survival. *J Immunol.* 2006; 176:165-72.
- Pridham, K. Limbo F, Schroeder R, Thoyre M, Riper S. Guided participation and development of caregiving competencies for families of lowbirth- weight infants. *J Adv Nurs.* 1998; 28 (5): 948-58.
- Rajagopalan S, Long EO. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J Exp Med.* 1999; 189: 1093-1100.
- Ravetch JV, Lanier LL. Immune inhibitory receptors. *Science.* 2000; 290: 84-9.
- Reif K, Ekland EH, Ohl L. Balanced responsiveness to chemo attractants from adjacent zones determines B-cell position. *Nature.* 2002; 416: 94-9.
- Richard J, Martin RJ, Avroy A, Fanaroff, and Michele C, Mezu-Ndubuisi, Akhil Mahesh-wari. *Developmental Immunology* (chapter 54). Expert Consult, Elsevier Saunders, Ohio, USA. 2015; 125-29.
- Sağlam İ. Sütçocuğunun geçici hipogammaglobülinemisi tanılı hastalarımızın periferik kan lenfosit alt gruplarının değerlendirilmesi. 2007; 61: 23-30.
- Sahyoun T R, Arsan S, Erdevi Ö. Comparison of stored umbilical cord blood and adult donor blood: transfusion feasibility. *Turk J Hematol* 2012; 29: 233-41.
- Santo JP. Natural killer cell developmental pathways: a questi on of balance. *Annu Rev Immunol.* 2006; 24: 257-86.
- Stramer SL. Current risks of transfusion-transmitted agents: a review. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 702-07.
- Strauss RG. Anemia of prematurity: pathophysiology and treatment. *Blood Rev* 2010; 24: 221-25.
- Strauss RG. Autologous transfusions for neonates using placental blood. A cautionary note. *Am J Dis Child* 1992; 146: 21-2.
- Tiker F, Tarcan A, Özbek N, Gürakan B. Çok Düşük Doğum Ağırlıklı Bebeklerde Erken Enteral Demir Eksikliği, *Çocuk Sağ Hast Derg.* 2005; 48: 14-9.
- Tollin M, Bergsson G, Kai LY. Vernix caseosa as a multi-component defence system based on polypeptides, lipids and their interactions. 2005; 62: 2390-99.
- Tuncer E, Kılıç Ş. Yenidoğanın İmmün Sistemi, *Güncel Pediatr.* 2006; 3: 92-5.
- Türedi YA, Oymak Y, Yöntem Y, Atlıhan F, Genel F, Ayhan Y, Özek G, Umacı CÖ, Tatlı GB, Sarıhan H. Yenidoğanlarda Görülen Transfüzyon Reaksiyonları, *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Sağ Hast Derg.* 2013; 3 (2): 117-20.
- Türkmen B, Gürsel O, Atay AA, Kürekçi AE, Köseoğlu V, Kısmet E, Şengül A, Özcan O. *Gülhane Tıp Derg.* 2008; 50: 261-66.

- Upham JW. Development of interleukin-12-producing capacity throughout childhood. *Infect Immunol.* 2002;70: 6583-88.
- Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood.* 2009; 113: 3406-17.
- Widness JA. Pathophysiology of anemia during the neonatal period, including anemia of prematurity. *Neorev.* 2008; 9: 520-22.
- Wong OH, Huang FP, Chiang AK. Differential responses of cord and adult blood-derived dendritic cells to dying cells. *Immunol.* 2005; 116: 13-20.
- Worbs T, Mempel TR, Bolter J. CCR7 ligands stimulate the intranodal motility of T lymphocytes in vivo. *J Exp Med.* 2007; 204: 489-95.
- Xu Y, Filler JW. Linking assessment and intervention for developmental/ functional outcomes of premature, lowbirth-weight chil. *Eorly Chil Edu J.* 2005; 32: 383-89.
- Yıldız P, Atasay B, Çetinkaya M. Türk neonatoloji derneği kan ürünleri transfüzyon rehberi. 2016; 14-9.
- Yoshimoto M, Yoder MC. Developmental biology: birth of the blood cell. *Nature.* 2009; 457: 801-03.

## ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Van İlinin İpekyolu İlçesinde doğdu. Ortaöğrenimini 1992 yılında İçel Sağlık Meslek Lisesi Tıbbi Laboratuvar bölümünden, 2000 yılında Ön Lisans Anadolu Üniversitesi AÖF Sağlık Teknikerliği programından, 2008 yılında Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi Kamu Yönetimi programından, 2019 yılında İstanbul Üniversitesi Hemşirelik Lisans Tamamlama programından mezun oldu. 2015 yılında Van Y.Y.Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. Halen Van Y.Y. Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Hematoloji Laboratuvarında Sağlık Teknikeri olarak çalışmaktadır. Evli ve 3 çocuk babasıdır.



## EKLER

### Ek 1. Etik Kurul Raporu

#### \*KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Anemik Prematürelde İşlenmemiş Eritrosit Süspansiyonu Transfüzyonu Öncesi ve Sonrasında, Natürel Killer ve Lenfosit Subgruplarının Değerlendirilmesi	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	Yok	
KARAR BELGELERİ	<b>Karar No:06</b>	<b>Tarih: 28.03.2018</b>
	Prof.Dr. Ahmet Fayik ÖNER sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Oğuz TUNCER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
Prof.Dr. Oğuz TUNCER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Şakrattı SEVİMLİ	Tıp Tarihi ve Etik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Süddik KESKİN	İstatistik Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU	Tıbbi Mikrobiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.A.Faruk KIROĞLU	KİHB	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Abbas ARAS	Genel Cerrahi	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Celaleddin SOYALP	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Numan ÇİM	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Ramazan ÜSTÜN	Fizyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Oruç ALLAHVERDİYEV	Tıbbi Farmakoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İlhan POLAT	Eczacı	Van Polat Eczanesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Nazlı AKTAŞ	Avukat	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hukuk Müşavirliği	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Özge Burak DEĞER	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van Sanayici ve İş Kadınları Derneği	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Adnan SELÇUK	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van İş Geliştirme Merkezi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

\*: Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Oğuz TUNCER  
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

## Ek 1. Etik Kurul Raporu (Devamı)

### \*KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Anemik Prematürelde Işınlanmamış Eritrosit Süspansiyonu Transfüzyonu Öncesi ve Sonrasında, Nötrofil Killer ve Lenfosit Subgruplarının Değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	Yok

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Kat:4 No:11
	TELEFON	0432 225 04 70
	FAKS	0432 216 83 52
	E-POSTA	etikkurull@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Ahmet Fayik ÖNER			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	Yok			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	09.03.2018	001	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU		30.04.2018	001	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
OLGU RAPOR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	ILAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Tüm Araştırmacılara Ait Özgeçmiş, İyi Klinik Uygulamalar 3 Ad. Literatür, Taahhütnamesi, Görev Dağıtım ve Yetkilendirme Belgesi				

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr. Oğuz TUNCER  
İmza:

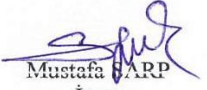


Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.



## Ek 2. Lisansüstü Tezi Orijinallik Raporu

	<p style="text-align: center;">T.C. <b>VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ</b> <b>Sağlık Bilimleri Enstitüsü</b></p>	
<b>LİSANSÜSTÜ TEZİ ORJİNALLİK RAPORU</b>		

<b>Tarih: 14/06/2019</b>
<p>Tez Başlığı / Konusu: Anemik Prematürelde Eritrosit Transfüzyon Öncesi ve Sonrasında Natural Killer ve Lenfosit Alt Gruplarının Değerlendirilmesi</p>
<p>Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 48 sayfalık kısmına ilişkin, 14/06/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %6 (yüzde altı) dır.</p>
<p><u>Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:</u></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Kabul ve onay sayfası hariç,</li><li>- Teşekkür hariç,</li><li>- İçindekiler hariç,</li><li>- Simge ve kısaltmalar hariç,</li><li>- Gereç ve yöntemler hariç,</li><li>- Kaynakça hariç,</li><li>- Alıntılar hariç,</li><li>- Tezden çıkan yayınlar hariç,</li><li>- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)</li></ul>
<p>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.</p>
<p>Gereğini bilgilerinize arz ederim.</p>
 Mustafa SARP İmza

<b>Öğrencinin Adı Soyadı</b>	Mustafa SARP
<b>Anabilim Dalı</b>	: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD
<b>Öğrenci No</b>	159302017
<b>Programı</b>	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
<b>DANIŞMAN ONAYI</b> UYGUNDUR Prof. Dr. Ahmet Fayik ÖNER	<b>ENSTİTÜ ONAYI</b> UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)  Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDIN İMZA Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Yardımcısı