

86539

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

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Betül Açunaş

**NORMAL VE RİSKLİ YENİDOĞANLARDA ÇEKİRDEKLİ
ERİTROSİT VE ERİTROPOİETİN DÜZEYLERİ İLE
PROGNOZDAKİ DEĞERLERİ**

T 86539

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Ülfet VATANSEVER

Edirne 1999

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Başkanı Sayın Prof. Dr. Özer PALA'ya, Öğretim üyeleri Sayın Doç. Dr. Serap KARASALİHOĞLU'na, Sayın Doç. Dr. Mehtap YAZICIOĞLU'na, Sayın Yard. Doç. Dr. Betül BİNER'e, Sayın Yard. Doç. Dr. Filiz TÜTÜNCÜLER'e, tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Seralp ŞENER'e ve Sayın Yard. Doç. Dr. Muzaffer DEMİR'e, tezimin istatistiksel çalışmalarında yardımını gördüğüm Sayın Yard. Doç. Dr. Galip ERKUKLU'ya, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğinde birlikte çalıştığım arkadaşlarıma, hemşirelere ve personele ayrı ayrı teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım ve uzmanlık eğitimimde büyük katkı ve desteğini gördüğüm değerli hacam Sayın Doç. Dr. Betül ACUNAŞ'a ve uzun yıllar boyunca beni destekleyen sevgili aileme içtenlikle teşekkür ediyorum.

Dr. Ülfet VATANSEVER

KISALTMALAR

YD	Yenidoğan
Epo	Eritropoietin
CFU-GM	Colony-forming-unit-granulocyte, macrophage
CFU-GEMM	Colony-forming-unit-granulocyte, erythrocyte, macrophage and megakaryocyte
CFU-E	Colony-forming-unit-erythrocyte
BFU-E	Burst-forming-unit-erythrocyte
CFU-Eo	Colony-forming-unit-eosinophil
CFU-Baso	Colony-forming-unit-basophil
CFU-Meg	Colony-forming-unit-megakaryocyte
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating-factor
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating-factor
M-CSF	Macrophage colony-stimulating-factor
SCF	Stem cell factor
IL-1	Interleukin-1
IL-3	Interleukin-3
IL-4	Interleukin-4
IL-5	Interleukin-5
IL-6	Interleukin-6
IL-9	Interleukin-9
IL-11	Interleukin-11
IL-12	Interleukin-12
TNF- α	Tumor necrosis factor- α

TGF- β	Transforming growth factor- β
Tpo	Thrombopoietin
MIP-1	Macrophage inflammatory peptide-1
EpoR	Erythropoietin-receptor
EpoR-F	Erythropoietin-receptor-full-length
EpoR-T	Erythropoietin-receptor-truncated
PG	Prostaglandin
IUGR	Intrauterin growth retardation
DAÇ	Diabetik anne çocuğu
GDM	Gestasyonel diabetes mellitus
IDDM	İnsulin dependent diabetes mellitus
SGA	Small for gestational age
AGA	Apropriate for gestational age
LGA	Large for gestational age
RDS	Respiratuar distres sendromu
HİE	Hipoksik iskemik ensefalopati
RIA	Radioimmunoassay
ELISA	Enzyme-linked-immunosorbant assay
USG	Ultrasonografi
BBT	Bilgisayarlı beyin tomografisi
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
SPECT	Single photon emisyon computer tomografi
CPK-BB	Creatin phosfokinase-BB
FKH	Fetal kalp hızı

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
I. FETAL HEMATOPOİEZİS.....	3
II. ERİTROPOİEZİS.....	14
III. ÇEKİRDEKLİ ERİTROSİTLER.....	22
IV. ERİTROPOİETİN.....	23
V. RİSKLİ YENİDOĞANLARDA ERİTROPOİETİN VE ÇEKİRDEKLİ ERİTROSİT DÜZEYLERİ.....	31
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	47
BULGULAR.....	51
TARTIŞMA.....	75
SONUÇLAR.....	84
ÖZET (Türkçe ve İngilizce).....	86
KAYNAKLAR.....	90

GİRİŞ VE AMAÇ

Perinatal asfiksi (hipoksi, anoksi), doğuma yakın bir sürede, doğum sırasında veya doğumu izleyen dakikalarda bebeğin oksijensiz kalması olarak tanımlanır. Oksijen eksikliği sonucu ölü doğum, erken neonatal ölüm olabilir ya da hipoksik-iskemik ensefalopati tablosu ve bunun sekelleri gelişebilir. Perinatal asfiksi insidansı %2-10 arasında değişmektedir. Bu oran sosyoekonomik düzey düştükçe artmaktadır (1-4). Günümüzde tüm teknik imkanlara rağmen, fetusun maruz kaldığı hipoksinin zamanını, süresini ve şiddetini belirlemede zorluklar mevcuttur. Fetusa yeterli oksijenin sağlanabilmesi için oluşturulan kompensasyon mekanizmalarından biri de artmış eritropoiezisdir. Akut ve kronik hipoksinin ayırımında, kord kanında çekirdekli eritrosit ve eritropoietin (Epo) seviyesinin ölçümünün bu konuda faydalı olabileceği öne sürülmektedir. (5,6).

Sağlıklı yenidoğanlarda (YD) kord kanından yapılmış periferik yaymalarda 100 lökosit karşılık ortalama 10 çekirdekli eritrosit saptanmaktadır. Prematürite, Rh uygunsuzluğu, diabetik anne çocuğu, intrakranial kanama, erken sepsis, koryoamniyonitli anne çocuğu, intrauterin gelişme geriliği ve asfiktik YD'larda çekirdekli eritrosit sayısının 10'dan fazla olduğu gözlenmiştir (5,7-17). Son yıllarda çekirdekli eritrositlerin kordon kanındaki miktarı ve periferden kaybolma süresi ile asfiksiniin tipi ve/veya asfiksiye maruz kalma zamanı ve prognozunun belirlenmesi konusunda yoğun çalışmalar yürütülmektedir (18,19).

Epo, eritroid öncü hücrelerin (eritroid progenitor cells) çoğalmasını ve olgun eritrositlere farklılaşmasını düzenler. Erişkin insanlarda, çoğunlukla böbreklerde, fetusta ise karaciğerde ve üçüncü trimesterin son haftalarında böbreklerde yapılan, sıcaklık ve pH değişimlerine dayanıklı α_2 globulin fraksiyonunda, sialo-glikoprotein yapısında bir hormondur. Epo 19. gebelik haftasından sonra tüm kord kanlarında

tespit edilebilir. 24. haftadan sonra ise anemiye, asfiksiye veya intrauterin transfüzyona fizyolojik olarak cevap verebilir (20).

Artmış kord Epo seviyeleri akut, kronik hipoksiye maruz kalmış yenidoğanlarda ve postmatür bebeklerde rapor edildiği gibi, ayrıca preeklampsili, diabetli, Rh uygunsuzluğu olan ve sigara içen anne bebeklerinde de bildirilmiştir (6,21-26). Epo düzeyinin ölçümünde daha önceden kullanılan bioassay yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü düşük, prosedürü uzun olduğu için rutin olarak tayin edilmemekteydi. Günümüzde, Radioimmunoassay (RIA) ve Enzyme-linked-immunosorbant assay (ELISA) yöntemleri ile eritropoietin ölçümünün yapılabilmesi, duyarlılık ve özgüllüğü yüksek, daha ucuz ve daha hızlı sonuçlar elde etmemize neden olmuştur (20,27).

Çalışmanın amacı; normal ve riskli yenidoğanlarda, çekirdekli eritrosit ve eritropoietin düzeylerinin hangi riskli gruplarda prognozla daha yakından ilişkili olduğunu saptamaktır.

GENEL BİLGİLER

I. FETAL HEMATOPOİEZİS

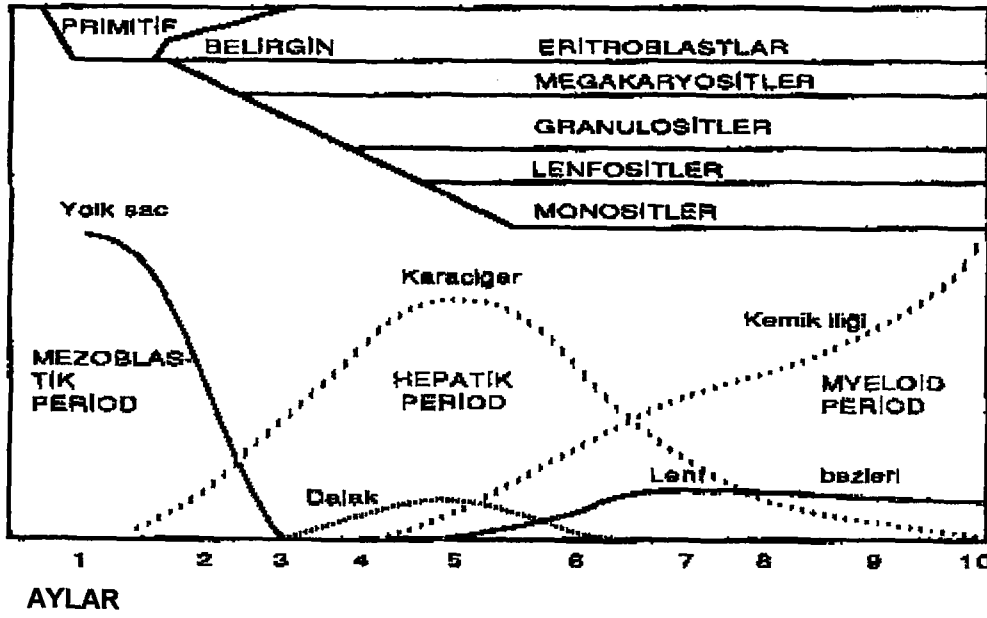
A) Pluripotent ve multipotent kök hücreler

İnsan embriyogenezinde pluripotent kök hücrelerin farklılaşması embriyonik hemoglobin taşıyan çekirdekli eritrositler ve makrofajlarla sınırlandırılmıştır. Sarı keseden (yolk sac) kaynaklanan eritroid öncül hücrelerin tam olarak farklılaşabilmesi için gerekli zaman aralığı, erişkin kemik iliği hücreleri için gereken süreden belirgin olarak daha kısadır. Yolk sac'da granülosit ve makrofaj öncü hücreleri bol miktarda bulunmasına rağmen, bu hücreler terminal farklılaşmaya gidemezler.

Hematopoiezis 5 ile 8. gebelik haftasında karaciğere taşındığında eritroid elemanların farklılaşması ön plandadır. Yolk sac'a göre total hematopoietik öncül hücre sayıları 10 ile 100 kez daha fazla olduğundan farklılaşan hücre sayıları da bu oranda yüksektir. Yolk sac'takine benzer olarak miyeloid öncül hücrelerinin olgunlaşması fetal karaciğerde de az olarak devam eder. Gerçekte, colony-forming-unit-granulocyte, macrophage (CFU-GM) sayısı hematopoiezisin karaciğere geçiş döneminde azalma gösterir. Fetal karaciğerdeki granülopoetik aktivitenin duraksaması, fetal karaciğer mikro çevresindeki granülositik büyüme faktörlerinin olmamasına sekonder gelişebileceği gibi, fetal karaciğerin CFU-GM granülositopoetik büyüme faktörlerine duyarsızlığı sonucu da olabilir.

İntrauterin hayatın üçüncü trimesterinde hematopoiezis karaciğerden kemik iliğine geçer. İnsanda, kemik iliği, postnatal yaşam boyunca hematopoiezisin başlıca anatomik bölgesi olarak kalır. Kemik iliğindeki hematopoietik mikro çevre, hematopoietik pluripotent kök hücrelerin farklılaşması, çoğalması ve kendi kendilerine yenilenebilmelerine olanak tanıyan, bağ dokusu hücreleri, yardımcı

hücreler ve bunların ürünlerini içeren iyi sınırlanmış bir yapıya sahiptir (Şekil 1) (28,29).



Şekil 1: Embriyo ve fetusta hematopoiez (28)

Gebelik boyunca karaciğer, kemik iliği ve kandaki hücre sayımları Tablo IA, IB, IC'de gösterilmektedir (29).

Nötrofil, eritrosit, makrofaj ve megakaryositleri içeren klonları geliştiren multipotent kök hücrelere colony-forming-unit-granulocyte, erythrocyte, macrophage and megakaryocyte (CFU-GEMM) adı verilir. Bu koloniler bazen eozinofil ve mast hücreleri içerirler. Bunlar gerçek pluripotent kök hücreden, daha sınırlı kendini yenileme özellikleri ve bir seriye farklılaşma görevleri ile ayrılırlar. CFU-GEMM'den nesilleri oluşturma görevi almış ünipotent kök hücreler; colony-forming-unit-erythrocyte (CFU-E), CFU-GM, colony-forming-unit-eosinophil (CFU-Eo), colony-forming-unit-basophil (CFU-Baso) ve colony-forming-unit-megakaryocyte (CFU-Meg) oluşur (Şekil 2).

Pluripotent, multipotent ve ünipotent kök hücrelerin farklılaşması ve kendi kendilerine yenilenme mekanizmasının rastgele olduğu düşünülmese rağmen, hematopoietik hücrelerin oluşan nesillerinin yaşamını devam ettirmesi ve çoğalmasının, hematopoietik büyüme faktörleri ile düzenlendiği görülmektedir. Pek çok hematopoietik büyüme faktörü ve sitokin tanımlanmış ve bunların genleri klonlanmıştır.

Tablo I: Gebelik boyunca karaciğer, kemik iliği ve kandaki hücre sayımları

Tablo IA. 14 ile 24. gebelik haftasındaki fetustardan elde edilen karaciğer süspansiyonundaki hücre sayımları (yüzde \pm SD) (29)

Hücreler	Gebelik yaşı (hf)		
	14-17 (n=5)	18-20 (n=7)	21-24 (n=8)
Normoblast			
Pronormoblast	3.1 \pm 1.4	3.4 \pm 1.0	2.9 \pm 1.8
Bazofilik Normoblast	18.4 \pm 7.6	13.7 \pm 1.6	13.7 \pm 4.7
Polikromotofilik Normoblast	57.5 \pm 12.6	55.3 \pm 7.5	51.1 \pm 5.5
Ortokromik Normoblast	13.9 \pm 5.2	15.9 \pm 3.7	14.2 \pm 5.0
Total eritroid	90.3 \pm 6.3	87.8 \pm 4.8	81.9 \pm 5.0
Nötrofil			
Promielosit	0 \pm 0	0.2 \pm 0.2*	1.2 \pm 0.4*†
Mielosit	0 \pm 0	0 \pm 0	0.2 \pm 0.2*†
Metamielosit	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Bant	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Segmentli	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Total nötrofiller	0 \pm 0	0.2 \pm 0.2	1.4 \pm 0.5*†
İndiferansiyel blastlar	0.5 \pm 0.6	3.1 \pm 1.8*	2.2 \pm 0.7*
Makrofaj	0.5 \pm 0.6	1.2 \pm 4.0*	1.3 \pm 5.0
Lenfosit	5.4 \pm 2.6	3.9 \pm 3.6	11.3 \pm 4.2*†
Eozinofil	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Diğerleri	0.8 \pm 0.8	3.4 \pm 2.4	1.9 \pm 2.4

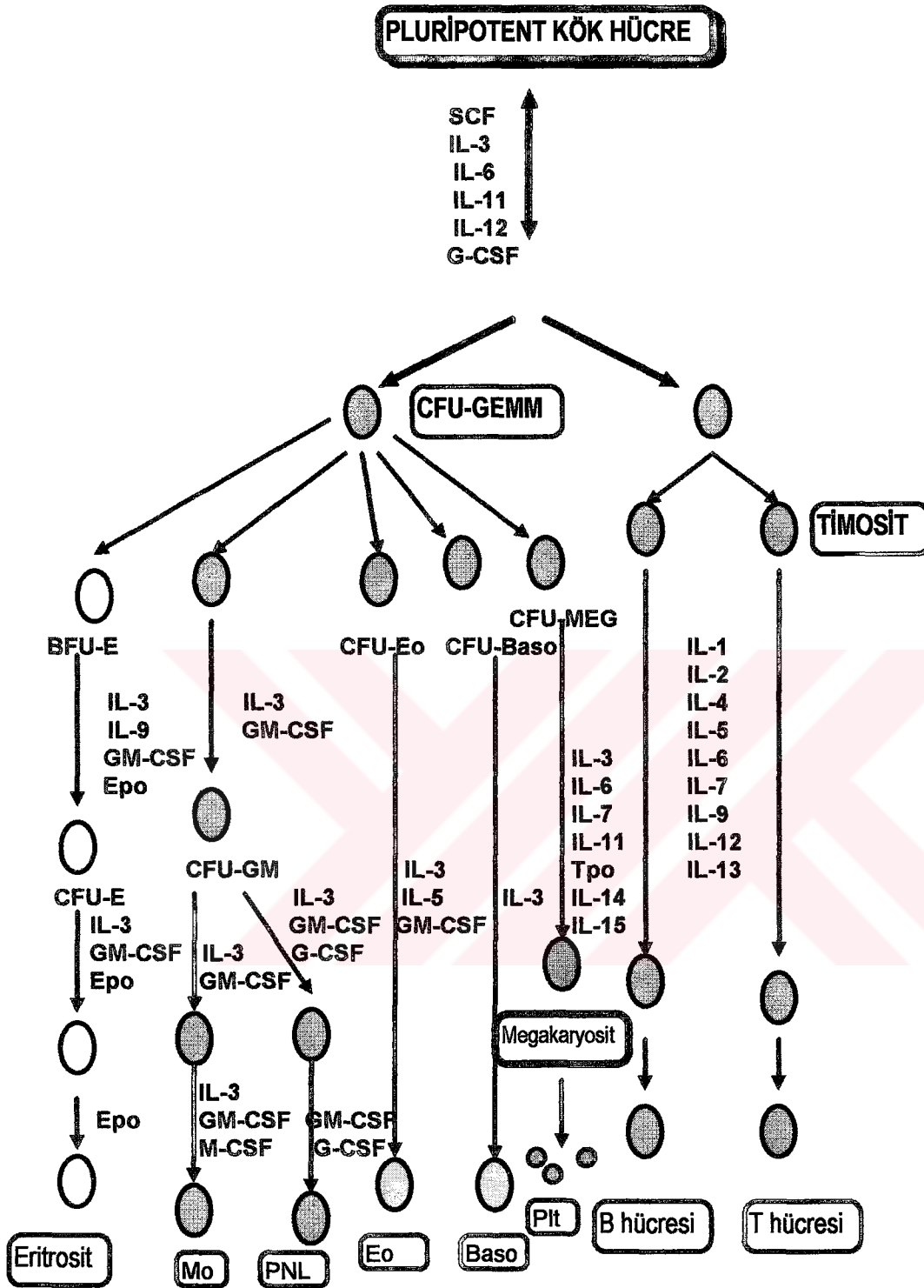
N= normoblast; diğerleri= hepatosit, megakaryosit veya orjini belli olmayan hücre.

* p < 0.05 vs. 14 - 17 hf

† p < 0.05 vs. 18 - 20 hf

Tablo IC. 18 ile 29. gebelik haftasındaki fetusların kord kanı örneklerinden elde edilen hücre sayımları (yüzde \pm SD) (29)

Hücreler	Gebelik yaşı (hf)		
	18 - 21 (n=186)	22 - 25 (n=230)	26 - 29 (n=144)
Normoblast (%BK)	45.0 \pm 86.0	21.0 \pm 23.0	21.0 \pm 67.0
Bazofil	0.5 \pm 1.0	0.5 \pm 1.0	0.5 \pm 1.0
Nötrofil	6.0 \pm 4.0	6.5 \pm 3.5	8.5 \pm 4.0
Lemfosit	88.0 \pm 7.0	87.0 \pm 6.0	85.0 \pm 6.0
Eozinofil	2.0 \pm 3.0	3.0 \pm 3.0	4.0 \pm 3.0
Monosit	3.5 \pm 2.0	3.0 \pm 2.5	3.0 \pm 2.5



Şekil 2: Pluripotent hematopoietik kök hücreler, hematopoietik büyüme faktörlerinin desteği ile klonal genişleme ve farklılaşmaya giden yönlendirilmiş hematopoietik öncü hücrelerin oluşumunu sağlarlar. Büyüme faktörlerinin olmaması durumunda, yönlendirilmiş öncü hücreler apoptosise gider. Şekilde uyarılmış öncül hücrelerin (CFU-GEMM) eritroid seriyeye (Eritrosit) ve monositleri (Mo), nötrofilleri (PNL), eozinofilleri (Eo), bazofilleri (Baso) ve trombositleri (Pit) içeren miyeloid seriyeye çoğalmas ve farklılaşması için gerekli büyüme faktörleri gösterilmektedir. Ayrıca şekilde hematopoietik büyüme faktörlerinin lenfematopoietik öncü hücrelerin B ve T hücrelerine maturasyonunu da destekledikleri gösterilmektedir (28).

Tablo II'de hematopoietik büyüme faktörlerinin kısmi bir listesi, bunların molekül ağırlıkları, genomik yerleşim yerleri ve bilinen hedef hücre popülasyonları verilmiştir (28). Bu faktörler tek bir faktör olarak kültür ortamında incelendiğinde, ya uyarıcı ya baskılayıcı etkilerine rağmen, çoğu diğer büyüme faktörleri ile birlikte daha karmaşık fonksiyonlar gösterirler. Pek çok faktörün hematopoietik sistem dışında diğer sistemlerde de önemli fonksiyonları vardır (30).

Kemik iliğinin hematopoietik çevresini oluşturan hücresel elemanlar; bağ dokusu hücreleri (yağ hücreleri, endotelyal hücreler, fibroblastlar ve makrofajlar) ve yardımcı hücreler (T lenfosit ve monositler)'dir. Bağ dokusunun başlıca hücreleri fibroblastlardır. Bu hücreler venöz sinüslerin etrafında bulunurlar ve endotelin luminal yüzeyinin etrafında bir kabuk oluştururlar. Diğer fibroblastlar, ilik kordonlarında yerleşmişlerdir ve iliğin çeşitli bölümlerinde bulunan, olgunlaşmış hematopoietik hücrelerle yakın ilişki kuran, ince uzantılar oluşturmuşlardır. Bağ dokusunun fibroblastlardan sonraki başlıca elemanlarını makrofajlar oluşturur. Bu hücreler presinüzoidal alanda eritroblastoid adacıkların içinde, merkezde yer alırlar ve olgun hematopoietik hücrelerle yakından ilişkilidirler (31). Eritroid adacıkların ortasında yer aldıkları için hücreler arası iletişimi direkt olarak sağlayan ve eritroid olgunlaşma için gerekli büyüme faktörlerini üreten yardımcı hücre görevi gördüklerine inanılır. Hematopoietik hücrelerin arasına yayılmış olan diğer makrofajlar öncü hücrelerin olgunlaşmasını destekleyen büyüme faktörlerini düzenlerler. Presinüzoidal yerleşimli makrofajların görevi ise, dolaşımdaki yaşlanmış hücreleri uzaklaştırmaktır. Yağ ve endotel hücreleri de keza bağ dokusunun önemli komponentleridir. Yağ hücreleri kemik iliğinin büyük bir kısmını doldurur ve muhtemelen büyüme faktörlerini üretme yetenekleri mevcuttur. Endotel hücreleri de ilikteki kan damarlarını oluştururlar.

Bağ dokusu hücreleri pek çok farklı mekanizmayla hematopoiezisi düzenlerler. Bu hücreler direkt olarak hücre-hücre ilişkisini sağlayabilir, ekstrasellüler matriksi oluşturur ve ayrıca hem eriyebilen hem de membrana-bağlı büyüme faktörleri üretirler. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmaların çoğu öncü kök hücrelerin klonal genişlemesinin başlaması için bağ dokusu hücreleri ile ilişkide olmalarının gerekli olduğunu ortaya koymuştur. Mikroçevreyi, kollagen, fibronektin, laminin ve

z

Tablo II: Hematopoietik büyüme faktörleri (28)

Faktör	Moleküler ağırlık (kD)	Kromozomal lokalizasyon	Hedef hücre
Kök hücre faktörü (SCF)	28-35	12q4.3-12	Tüm hematopoietik öncül hücreler
Eritropoietin	34-39	7q11-22	CFU-E, olgun BFU-E, fetal BFU-E
Trombopoietin	35	3q26-27	CFU-MEG, megakaryosit
GM-CSF	18-30	5q23-31	CFU-GM, CFU-MIX, BFU-E, CFU-GEMM, makrofaj, nötrofil
G-CSF	20	17q11.2-21	CFU-G, nötrofil, CFU-GM, CFU-MIX, CFU-GEMM, BFU-E
M-CSF	70-90	5q33.1	CFU-M, CFU-GM, makrofaj, plasenta
IL-1	17	(beta)2q13-21 (alfa)2q13	Hepatosit, endotel hücre, osteoklast, nötrofil, makrofaj, Th ₂ lenfosit
IL-2	15.5	4q26-27	T lenfosit, sitotoksik lenfosit
IL-3	15-30	5q23-31	CFU-GEMM, CFU-MIX, CFU-MEG, CFU-GM, BFU-E, sitotoksik lenfosit, makrofaj
IL-4	16-20	5q31	T lenfosit, B lenfosit
IL-5	46 (dimer)	5q31	CFU-Eo, B lenfosit
IL-6	19-21	7q15	CFU-GEMM, CFU-MIX, T lenfosit, B lenfosit, fetal CFU-GM, fetal BFU-E, hepatosit, makrofaj, nöral hücre
IL-7	25	8q12-13	B lenfosit
IL-8	8-10	4	Nötrofil, endotel hücre, T lenfosit
IL-9	16	5q31-32	BFU-E, CFU-GEMM, CFU-MIX, fetal CFU-GM
IL-10	35-40	1	T lenfosit, B lenfosit, mast hücresi
IL-11	20	19q13.3-13.4	CFU-GEMM, CFU-MIX, fetal BFU-E
IL-12	70-75 (dimer)	-	T lenfosit
IL-13	9	5q23-31	Pre-B lenfosit, makrofaj
IL-14	53	-	B lenfosit
IL-15	14-15	-	B lenfosit, T lenfosit, sitotoksik lenfosit
IFN γ	15-45	12	CFU-GEMM, CFU-GM, BFU-E, makrofaj
Makrofaj inflamatuvar protein-1 α	8-10	17q11-21	CFU-GEMM, CFU-E, BFU-E, makrofaj, nötrofil, T lenfosit
TGF- β	25	19	CFU-GEMM, CFU-MIX
TNF- α	17	6p23	CFU-E, makrofaj, T lenfosit, sitotoksik lenfosit

proteoglikandan oluşan ekstrasellüler matriks meydana getirir. Bunlar ve diğer ekstrasellüler matriks molekülleri, yalnızca iliğin özel yapısını oluşturmakla kalmayıp, ayrıca aktif olarak hematopoiezise katılırlar ve hematopoietik büyüme faktörlerinin başlıca kaynağıdır (32,33).

Kemik iliği mikroçevresi içinde bulunan T lenfositleri ve makrofajlar gibi yardımcı hücreler, enflamatuvar uyarı veya enfeksiyon anında verilecek cevap gibi artmış kan hücre ihtiyacının bulunduğu durumlarda büyüme faktör miktarını arttırırlar.

Sitokinler ve kemik iliğindeki hematopoietik hücreler arasındaki ilişkiler oldukça karmaşıktır. Bir sitokin veya bazı sitokinlerin kombinasyonunun fonksiyonu, yalnızca bunların kombinasyonu veya konsantrasyonuna bağlı olmadığı gibi kök hücre veya öncül hücrelerin özelliklerine de bağlı değildir. Ayrıca kemik iliğinde sitokin üreten hücreler, lokal olarak üretilen sitokinler tarafından düzenlenirler (30).

B) Pluripotent, Multipotent ve Ünipotent Kök Hücreleri Etkileyen Hematopoietik Büyüme Faktörleri

a) Pluripotent kök hücrelerin siklüse girmelerini uyaran faktörler:

Primitif hematopoietik pluripotent kök hücrelerin hareketsiz durumda kalması için bazı büyüme faktörleri gereklidir. Buna karşılık, diğer bazı büyüme faktörleri de farklılaşma yoluna girmiş kök hücrelerin çoğalmasını uyarılmaktadırlar. Granulocyte colony-stimulating-factor (G-CSF), interleukin (IL)-3 ve stem cell factor (SCF) fare hematopoietik kök hücrelerde yaşamsal faktörler olarak rol aldıkları in vitro saptanmıştır. Diğer taraftan ise zenginleştirilmiş fare kemik iliği kullanılarak yapılan çalışmalarda, IL-3 ve SCF (G-CSF dahil değil), G₀ öncül hücrelerin yaşamını desteklemektedirler. Çalışmalar IL-3 ve granulocyte-macrophage colony-stimulating-factor (GM-CSF)'ün primitif insan pluripotent kök hücrelerinin G₀ fazında yaşamlarını devam etmede yardımcı olduklarını, buna karşılık in vitro olarak, bu hücrelere ilave edilen IL-6, IL-11 ve G-CSF'nin hücrelerin yaşaması için katkı sağlamadıklarını göstermiştir (34,35).

Pek çok faktörün, hareketsiz hematopoietik hücreleri uyarak bölünmeye başlamalarında görev aldıkları tespit edilmiştir. IL-1 ve IL-3 fare hematopoietik kök hücrelerin çoğalmasını desteklemede birlikte etki gösterirler. Ayrıca IL-11, IL-12, G-CSF ve SCF'nin hareketsiz kök hücrelerin koloni oluşturmasında sinerjik etki

göstermektedir (30). IL-1 ve IL-3'ün insan kemik iliği kök hücrelerinin uyarılmasında da birlikte görev aldıkları saptanmıştır (34).

SCF, siklüsü kontrol etmede rol alan faktörler arasında en önemlisidir. Bu faktör, hematopoiezin orta kısmında rol alan IL-3 ve GM-CSF ile sinerjik etkiye sahiptir. IL-6, IL-11, IL-12, G-CSF ve SCF birlikte pek çok nesil kolonisinin oluşumunu sağlarlar.

b) Hematopoiezin orta kısmında rol alan soya özgü olmayan faktörler:

Soya özgü olmayan ve hematopoiezin orta kısmında rol alan faktörler IL-3, IL-4 ve GM-CSF'dir. Bu faktörler multipotent kök hücrelerin çoğalmasını desteklerler. Etkili olabilmeleri için, hematopoietik hücrelerin hareketsiz durumdan çıkması gereklidir. Suda ve ark.ları (35) fare multipotent kök hücrelerinin IL-3 varlığında, birkaç gün içinde asenkronize şekilde blastik hücre kolonilerine dönüştüklerini saptamışlardır. Buna karşılık IL-3 ilavesi gecikirse, multipotent koloni oluşumu durur, asenkronize şekilde gelişmeye devam ederler. Sonuç olarak, IL-3 siklüse girmeyi başlatmaz, esas görevi multipotent kök hücre çoğalmasını desteklemektir. IL-3 tek bir faktör olarak hematopoietik hücrelerin terminal çoğalmasını desteklememektedir. Hem insan hem de fare hematopoiezin modellerinde multipotent kök hücreler farklılaştıklarında IL-3'e cevapları kaybolur.

GM-CSF, ilk olarak granülosit-monosit hücre soyunun çoğalmasını destekleyen soya özgü bir faktör olarak tanımlanmıştır. Fakat daha sonraki çalışmalarda, bu faktörün hematopoiezin orta kısmına etkili bir faktör olduğu saptanmıştır. Fare kültür sisteminde, GM-CSF multipotent kök hücrelerin mitozisini destekler. İnsan çalışmalarında da GM-CSF ve IL-3'ün fonksiyonları iç içe geçmiştir (30).

IL-4'te soya özgü olmayan faktörler arasında yer alır. İn vitro Epo gibi soya özgü faktörle birlikte fare soy kolonilerinin çoğalmalarını sağlar (28,30).

c) Hematopoiezin geç kısmına etki eden soya özgü faktörler:

Soya özgü faktörler, farklılaşmış ünipotent kök hücrelerin olgunlaşmasını ve çoğalmasını sağlarlar. Bu grubun üyeleri arasında Epo, G-CSF, IL-5, macrophage colony-stimulating-factor (M-CSF) ve trombopoietin (Tpo) yer almaktadır. Epo eritropoiezin fizyolojik düzenleyicisidir. IL-5 ve M-CSF eozinofil ve makrofaj/monosit ünipotent kök hücrelerine özgü faktörlerdir. Trombopoietin de trombositlerin

ünipotent kök hücresi megakaryositlere spesifiktir. G-CSF nötrofillerin ünipotent hücrelerinin olgunlaşmasını desteklemekle birlikte, primitif pluripotent kök hücreler üzerinde de etkili bir faktördür (28).

d) Hematopoiezisi inhibe eden faktörler.

Pek çok sitokinin hematopoiezisi inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bunlar arasında interferonlar, macrophage İnflammatory peptide-1 (MIP-1), tumor necrosis factor- α (TNF- α) ve transforming growth factor- β (TGF- β) sayılabilir. İnterferonlar ve TNF- α hematopoiezisi soya özgül olmadan inhibe ederler. TGF- β ise hematopoiezisin erken dönemine etkili büyüme faktörleri ile etkileşerek primitif pluripotent kök hücrelerin çoğalmasını inhibe eder. MIP-1'in de primitif hematopietik kök hücrelerin çoğalmasını inhibe ettiği rapor edilmiştir (30).

e) Erişkin ve fetal multipotent ve ünipotent kök hücreler arasındaki gelişimsel farklar:

Çeşitli kaynaklardan elde edilen hematopietik multipotent kök hücreler arasında gelişimsel birtakım farklar tespit edilmiştir. Örneğin, fetal karaciğer kaynaklı kök hücreler ile erişkin kemik iliği kaynaklı kök hücreler arasında pek çok fark mevcuttur. Fetal karaciğer kök hücreleri, hızlı çoğalma, hızlı havuz genişliklerini artırma, in vitro olgunlaşma zamanını hızlandırma, Epo'ya artmış duyarlılık ve GM-CSF'ye azalmış duyarlılık özelliklerine sahiptirler (36). Ayrıca, umbilikal kord kanındaki kök hücreler erişkin insan kemik iliğindeki hücrelerden farklıdır. Rodman ve ark.'ı (37), fetal insan kök hücre kültürlerine deksametazon ilave edildiğinde, daha az eritroid koloni ve her kolonide daha az normoblast geliştiğini, buna karşılık aynı durumda erişkin hücrelerin deksametazona cevabının değişmediğini gözlemlemişlerdir. Benzer olarak, Christensen ve ark.'ı (38) da in vitro yüksek konsantrasyonda Epo'in fetal CFU-GM'den doza bağımlı olarak daha az nötrofil üretimine neden olduğunu, erişkinde ise bunu gözlemediklerini rapor etmişlerdir. Emerson ve ark.'ı (39), Valtieri ve ark.'ı (40) ve Umemura ve ark (41) da Epo'in tek başına embriyonik ve fetal burst forming unit-erythrocyte'i (BFU-E) uyarabildiğini, fakat erişkin kaynaklı BFU-E için Epo ile birlikte IL-3 ve GM-CSF'nin de gerektiğini saptamışlardır.

II. FETAL ERİTROPOİEZİS

A) Embriyo dışı eritropoiezis

Gebeliğin 14. gününde fetal yolk sac'da başlar. Çekirdekli kan hücrelerinin küçük kümeleri yolk sac'ın mezenkimal ve endodermal yaprakları arasında bulunmaktadır (29). Bu kırmızı kan hücreleri (hematositoblastlar) öncül megaloblastik eritropoiezin ürünüdürler ve gebeliğin ileri dönemlerinde, nihai normoblastik eritropoiezis meydana geldiği zaman eritrositlere farklılaşırlar. Öncü eritroblastlar makrositik, çekirdekli, 20- 25 μ M çapında ve 180 fl ortalama hücre hacmine sahiptirler. Bu hücrelerin kromotinleri ince, bol hemoglobin içeren polikromotofilik sitoplazmaları mevcuttur. Kırmızı kan hücreleri embriyonik dolaşıma 3 ile 4. gebelik haftasında geçerler.

B) Embriyo içi eritropoiezis

Fetusun son normoblastik eritropoiezi ilk trimester boyunca karaciğerde başlar. 6 ile 8 . gebelik haftasında, karaciğer kırmızı kan hücre üretiminde başlıca bölge olarak yolk sac'ın yerini alır. Yapılan bazı deneyler sonucunda, yolk sac'ın vasküler sisteminden öncü hücrelerin, fetal karaciğere göç ettiği ve kolonize olduğu, bu nedenle de fetal hematopoiezinin devamı için yolk sac'ın sağlam olması gerektiği saptanmıştır (31). 10 ile 12. gebelik haftasında embriyo dışı eritropoiezis durur. Karaciğerdeki kırmızı kan hücre üretimi ikinci trimesterde azalmaya başlar. Bu sırada kemik iliğindeki eritropoiezis artar. Kemik iliğinde eritroblastlar, ilk olarak 8 ile 9. gebelik haftasında görülebilir. Üçüncü trimesterin sonunda eritropoiezinin tamama yakını burada yer alır (Şekil 1).

C) Eritropoiezis morfolojisi

Kemik iliğinde bulunan pluripotent kök hücrelerden, her tip kan hücresi gelişebilir. Bu hücreler kişinin yaşamı boyunca kan hücresi üretirler, fakat sayıları yaşla azalır. Kök hücreler unipotent kök hücrelere dönüşerek eritrosit, lökosit veya trombosit gibi belirli tip hücrelerin gelişmesini sağlarlar. Bu hücrelere yönlendirilmiş "committed" hücreler denir.

Unipotent kök hücrenin eritrosite dönüşümüne kadar geçen evreler, farklı blastik evrelerin oluşumu ile açıklanır. İlikte kök hücre ile eritrositler arasındaki farklı

isimlerle adlandırılan tüm hücre dizisine "eritron" adı verilir. İnsanlarda en ilkel, tek bir seriye şartlanmış eritroid progenitör "burst-forming-unit erythrocyte" (BFU-E)'dir. BFU-E, Epo ve IL-3 veya GM-CSF kombinasyonuna in vitro bir yanıt olarak "colony-forming-unite erythrocyte" (CFU-E) oluşturmak için bir kaç kere bölünür. Daha sonra onlardan her biri daha matür eritroblastlar ve hatta retikülosit oluşturmaya devam eden büyük bir proeritroblast kolonisi oluşturur. Tüm süreç in vitro olarak iki haftadan daha uzun bir süreyi gerektirmektedir (Şekil 3) (29).

BFU-E'nin normalde in vivo olarak şiddetli anemi durumları hariç eritroblast oluşturmadığına inanılır. Bunun yerine in vivo olarak bölünen tek CFU-E'ye matüre olur. Düşük Epo konsantrasyonları altında tek ve göreceli olarak küçük eritroblast kolonileri oluştururlar. Bu süreç ise in vitro olarak yaklaşık bir haftadır.

Matür BFU-E ve CFU-E membranları CD-34, CD-33 ve DR pozitiftir. Bu özellikleri kullanılarak, pozitif ve negatif ayıklama yöntemleriyle insan fetus karaciğerinden BFU-E ve CFU-E saflaştırılarak elde edilebilir (30).

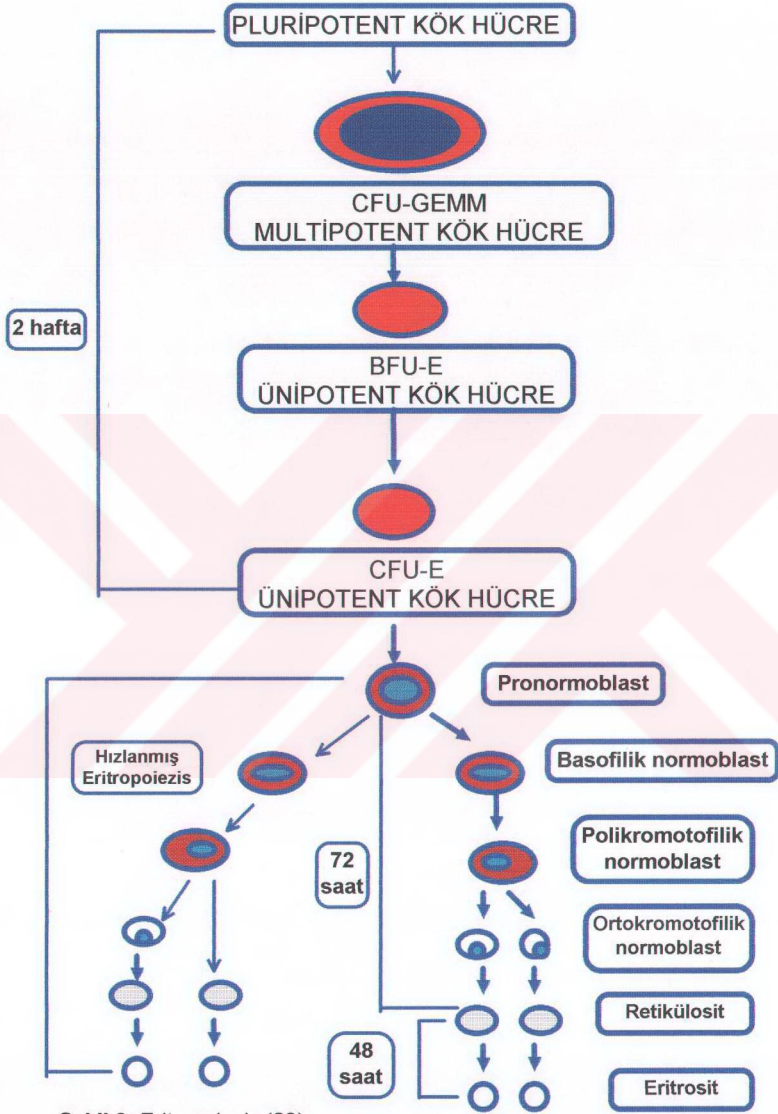
Proeritroblast kolonisindeki hücrelerin mikroskopik ayırımı

Proeritroblast: Proeritroblastlar en erken tanımlanabilen hücrelerdir. Bunlar bölünür ve yoğunlaşma (kondansasyon), nükleusun hücre dışına atılması (ekstrüzyon) ve hemoglobin birikmesini kapsayan değişik evrelerden geçirek olgunlaşır. Ortalama olarak her bir eritroblast yaklaşık 8 retikülosit oluşturur. Sitoplazması bazofilik olup, çekirdek ince kromatin ağına sahiptir. Çekirdekte bir veya daha fazla çekirdekçik vardır. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde, sitoplazmada poliribozom, bol miktarda mitokondri, endoplazmik retikulum ve ferritin moleküllerin bulunduğu gözlenir.

Bazofilik normoblast: Sitoplazma bazofilik olup, çekirdekte kromatin ağı kabalaşmıştır. Çekirdekçik kaybolmuştur.

Polikromatofilik normoblast: Kromatin kümeler halinde toplanmıştır. Hemoglobin oluşumu bu safhada başlar. Hemoglobin içeriği yükseldikçe mitokondri sayısı azalır.

Ortokromatik normoblast [Çekirdekli eritrosit-Nucleated red blood cell (NRBC)]: Nükleus küçük ve koyu olup piknotik dejenerasyon başlamıştır. Nükleusa oranla daha geniş olan sitoplazma hemoglobin içeriği nedeniyle pembe boyanır.



Şekil 3: Eritropoiezis (29)

Eritroblastik hücrenin gelişimi 72 saatte tamamlanır. Ortokromatik eritroblast nükleusunu kaybeder ve retikülosit haline dönüşür.

Retikülosit: Retikülositlerde mitokondriler hücre çevresinde gruplanır. Ribozom, mitokondri ve golgi gibi organeller bir iki gün içinde kaybolur. Dejenere organellerin sindiriminden sonra, eritrositler meydana gelir. Dolaşımında %0.1-1.5 oranında retikülosit gözlelenebilir (42).

D) Eritropoiesisin regülasyonu

İnsan fetusunda eritropoetik düzenleme erişkinden oldukça farklıdır. Embriyo ve fetusun somatik büyüme oranı yüksek olduğundan, kırmızı kan hücre kütlelerinin de bu oranda artması için büyük bir eritropoetik çabaya ihtiyaç vardır. Ayrıca nisbeten düşük oksijen basıncına rağmen, fetal dokunun yüksek metabolizması oksijen dağılım sisteminin erişkinden farklı olmasını gerektirir.

Pluripotent kök hücreden matür kırmızı kan hücresi üretimi pek çok büyüme faktörü tarafından yönlendirilir. Eritropoetik büyüme faktörleri karaciğer makrofajları ve kemik iliği stroma hücreleri gibi yardımcı hücrelerden üretilir ve kırmızı kan hücre üretiminin çeşitli evrelerinde maturasyon, büyüme ve farklılaşmayı uyarırlar. Tüm büyüme faktörlerinin kan yapımını kolaylaştırmalarına rağmen, en önemli görev Epo'ndir.

Epo dışındaki diğer büyüme faktörleri içerisinde GM-CSF, SCF, IL-3, IL-6 ve IL-9 yer almaktadır. Bu faktörler Epo ile sinerjik olarak BFUs-E ve CFUs-GEMM'in çoğalmalarını ve farklılaşmalarını uyarırlar.

SCF çok yönlü bir büyüme faktörü olup, diğer faktörlerle birlikte hematopoietik öncü hücrelerin klonal maturasyonunu destekler. Erişkinlerden farklı olarak, SCF tek başına öncü hücreleri uyarabilmektedir. Ayrıca, fetusta öncü hücreler SCF'ye erişkinden daha duyarlıdır. GM-CSF ve IL-3 ile SCF sinerjik etki içindedir.

Term yenidoğanların dolaşımında bulunan eritroid öncü hücreler IL-6 ve IL-9'a erişkin öncü hücrelerinden daha duyarlıdır. IL-6, 22 ile 26 kDa ağırlığında glikoprotein yapılı, çok fonksiyonlu bir sitokindir. B-lenfositleri uyararak immünglobulin üretimine, akut faz reaksiyonlarına ve siklüste olmayan hematopoietik hücreleri (G₀) siklüs (S) fazına geçmelerini uyarır. IL-6 ayrıca yenidoğan kord kanında bulunan BFUs-E ve CFUs-MIX'in maturasyonlarını destekler. IL-9'da çok yönlü bir sitokin olup, IL-6 gibi ilkel öncü eritroid hücreleri uyarabilir. IL-9 ile ilgili

olarak yapılan çalışmalar, bu sitokinin IL-3 ve GM-CSF ile birlikte fetal öncül hücreler üzerine geniş bir spektrumda etkili olduğunu göstermiştir. GM-CSF ve IL-3 ile uyarıldıktan sonra olgunlaşmayan multipotent kök hücrelerin ortama IL-9 ilavesinden sonra koloni oluşturduğunu ve olgunlaştıkları saptanmıştır (43).

E) Fetus ve yenidoğanda kırmızı kan hücre değerleri

Fetusta kırmızı kan hücre değerleri, gebelik boyunca değişir ve bu değişim doğumdan sonraki ilk yıl içinde de devam eder. Dolaşımdaki kırmızı kan hücre miktarı ikinci trimester boyunca yavaş yavaş artar, 18 ile 21. gebelik haftalarında $2.85 \pm 0.36 \times 10^6/\mu\text{l}$ 'den 30. haftada $3.82 \pm 0.64 \times 10^6/\mu\text{l}$ ye yükselir. Term yenidoğanlarda, dolaşımdaki kırmızı kan hücre miktarı 5.0 ile $5.5 \times 10^6/\mu\text{l}$ 'dir. Buna paralel olarak hematokrit değerleri de yüksektir. Term yenidoğanda hematokrit değerleri %50 ile %63 arasında saptanır. Hematokrit değerleri kanın alındığı bölge ile ve kordonun doğumdan sonraki bağlanma süresi ile yakından ilişkilidir (29,44). Tablo III'te gebelik boyunca eritrositer seri değerleri verilmiştir.

Normal fetusta, hemogloblin konsantrasyonu ve eritrosit sayısı lineer olarak artarken, eritroblast sayısı eksponansiyal olarak azalır ve retikülosit sayısı da gebelikle birlikte lineer olarak düşer (9).

Hemogloblin konsantrasyonu, gebelik boyunca kademeli olarak artar. Prematüre erkek yenidoğanlar kızlara göre daha erken term kord hemogloblin seviyesine ulaşırlar. Muhtemel nedenin testosteronun eritropoetik etkisi olabileceği düşünülmektedir. Gebeliğin ilerlemesiyle umbilikal venöz kan O_2 basıncında (PO_2) lineer bir azalma meydana gelir. Fetal eritropoiezisdeki artış bu fizyolojik hipoksiyi kompanse etmeye yöneliktir. Eritrosit sayısı ve hemogloblin konsantrasyonu artar ve umbilikal venöz kan oksijen içeriği sabit kalır. Eritrosit sayısında ve hemogloblin konsantrasyonunda bifazik yükselme mevcuttur. 12. haftadan 25. haftaya doğru hızlı bir yükselme olur. Bundan sonraki yükselme yavaştır. İkinci hızlı yükselme 40. haftadadır. Bu dönemdeki artışın zamanla yaşanan plasentanın yetersizliği sonucu oluşan hipoksiye fetal eritropoiezinin cevabı olduğu düşünülmektedir (9). Son 7 ile 8. haftalarda hemogloblin miktarı kısmen sabit kalır ve term yenidoğanlarda ortalama 16-17 g/dl'dir (20). Pek çok yenidoğanda doğumdan 2 saat sonra, hemogloblin miktarında plazma volümündeki azalma nedeniyle artma meydana gelir. Postnatal 8

Tablo III: Gebelik boyunca eritrositer seri göstergeleri (29)

Gebelik haftası	BK* (X10⁹/L)	Mutlak BK sayısı (X10⁹/L)	Trombosit (X10⁹/L)	KK (X10¹²/L)	Hgb (gr/dl)	Hct (%)	MCV (fl)
18-21 (n=760)	4.68 ± 2.96	2.57 ± 0.42	234 ± 57	2.85 ± 0.36	11.69 ± 1.27	37.3 ± 4.3	131.1 ± 11.0
22-25(n=1200)	4.72 ± 2.82	3.73 ± 2.17	247 ± 59	3.09 ± 0.34	12.2 ± 1.6	38.6 ± 3.9	125.1 ± 7.8
26-29 (n=460)	5.16 ± 2.53	4.08 ± 0.84	242 ± 69	3.46 ± 0.41	12.91 ± 1.38	40.9 ± 4.4	118.5 ± 8.0
>30 (n=440)	7.71 ± 4.99	6.40 ± 2.99	232 ± 87	3.82 ± 0.64	13.64 ± 2.21	43.6 ± 7.2	114.4 ± 9.3

* Normoblastları da içermekte

KK: Kırmızı küre

BK: Beyaz küre

ile 12. saatlerde hemoglobin seviyesi kısmen sabitleşir. Doğumu takiben oksijen miktarının artışıyla Epo üretimi büyük ölçüde azalır ve buna bağlı olarak da kırmızı kan hücre üretiminde düşme meydana gelir.

Doğum eylemine girdikten sonra doğan yenidoğanlarda hemoglobin konsantrasyonu artış gösterir. Fakat bu artışın akut olarak artmış kord plazma Epo seviyesi ile ilişkili olmadığı plasental transfüzyonun rolünün olabileceği düşünülmektedir (45).

Gebelik yaşına göre tartısı %10'un altındaki intrauterin büyüme geriliği (intrauterin growth retardation=IUGR) olan yenidoğanların hemoglobin değerleri genellikle yüksektir. Ayrıca annesi sigara içen veya annesi diabetik olan yenidoğanların da doğumda hemoglobinleri yüksek olarak saptanmaktadır (23,26). Annesi hipertansif IUGR yenidoğanlarda plasentanın kan sağlaması ve oksijen taşıma kapasitesi azalmıştır. Fetusa yeterli oksijenin sağlanabilmesi için oluşturulan kompensasyon mekanizmalarından biri de artmış eritropoiezisdir. Diabetik anne çocuklarında (DAÇ), artmış glükoz varlığından dolayı, fetusun metabolizması hızlanmıştır ve bu da oksijen ihtiyacında artışa sebep olur. Artmış oksijen miktarını da sağlayabilmek için, bu bebeklerde hemoglobin miktarında artış olur. DAÇ'da hemoglobinin yüksekliği ile annenin HbA1c miktarı arasında bir ilişki saptanmamıştır (11). Sigara içen anne bebeklerinde, fetal karbon monoksitte artış ve buna bağlı olarak hemoglobinin mevcut oksijenden yararlanamaması kompensatuar olarak hemoglobinde artışa neden olmaktadır (26).

Gelişim boyunca kırmızı kan hücrelerinin hacmi giderek düşer. Ortalama hücre volümü (MCV) embriyoda 180 fl iken, gebeliğin ortasında 130 fl, gebeliğin sonunda da 115 fl'dir. MCV ilginç olarak preterm yenidoğanlarda doğumdan sonra hızla term yenidoğanlardaki gibi azalır. Bu nedenle MCV'deki değişikliklerin gebelik yaşına göre değil, kronolojik yaşa göre olduğu gösterilmiştir (29). Tablo IV'te doğum sonrasında term yenidoğan ve süt çocuklarında eritrositer serideki değişiklikler gösterilmektedir (29).

Kan volümü kordonun klampenmesi ile yakından ilişkili olmakla birlikte ortalama 72 ml/kg'dır. Preterm yenidoğanlarda term yenidoğanlara göre daha fazla plazma volümü olduğundan kan volümleri de miktar olarak fazladır (89-105 ml/kg) (29).

Tablo IV: Term Yenidoğan ve Süt Çocuklarında Eritrositer Seri Göstergelerinde Doğum Sonrası Değişiklikler (29)*

Eritrositer seri göstergeleri	Günler			Haftalar				Aylar				
	Doğum (kordon)	1	3	1	2	4	2	3	4	6	9	12
Hgb (g/dl)	16.5 (13.0)	18.5 (14.5)	18.6 (16.5)	17.5 (13.5)	16.6 (13.4)	13.9 (10.7)	11.2 (9.4)	11.5 (9.5)	12.2 (10.3)	12.6 (11.1)	12.7 (11.4)	12.7 (11.3)
Hct (%)	51 (42)	56 (45)	55	54 (42)	53 (41)	44 (33)	35 (28)	35 (29)	38 (32)	36 (31)	36	37 (33)
KK ($\times 10^{12}/L$)	4.7 (3.9)	5.3 (4.0)	5.6	5.1 (3.9)	4.9 (3.9)	4.3 (3.3)	3.7 (3.1)	3.8 (3.1)	4.3 (3.5)	4.7 (3.9)	4.7 (4.0)	4.7 (4.1)
MCV (fl)	108 (98)	108 (95)	110 (104)	107 (88)	105 (88)	101 (91)	95 (84)	91 (74)	87 (76)	76 (68)	78 (70)	78 (71)
MCH (pg)	34 (31)	34 (31)	36.7	34 (28)	33.6 (30)	32.5 (29)	30.4 (27)	30 (25)	28.6 (25)	26.8 (24)	27.3 (25)	26.8 (24)
MCHC (g/dl)	33 (30)	33 (29)	33.1	33 (28)	31.4 (28)	31.8 (28)	31.8 (28.3)	33 (30)	32.7 (28.8)	35 (32.7)	34.9 (32.4)	34.3 (32.1)

* Değerler ortalamayı göstermekte (parantez içindekiler $\pm 2SD$)

III. ÇEKİRDEKLİ ERİTROSİTLER

Fetal hayat boyunca, kırmızı kan hücrelerinin gelişim evrelerini içeren hücreleri hepatik parankim ve sinüzoidlerde bulmak mümkündür. Ekstramedüller hematopoiezin diğer bölgelerinde olduğu gibi, karaciğerde de normoblastların dolaşıma girmesini önleyen bir mekanizma yoktur. Kemik iliğinde ise çekirdekli eritroid prekürsörler hematopoiezin yer aldığı parankim tarafından çevrilidirler. Bu nedenle kemik iliğindeki hematopoiezis sırasında dolaşıma deformabilite ve motilitesi daha yüksek olan retikülosit çıkabilir, dolayısıyla eritroblastlar yalnızca ekstramedüller bölgelerden dolaşıma salınırlar ve ekstramedüller eritropoiezinin indirekt bir göstergesidirler. Buna karşılık retikülositler hem medüller hem de ekstramedüller eritropoiezinin ürünüdürler ve retikülosit sayısının gebelik haftası ilerledikçe azalması medüller hematopoiezinin olgunlaşmasının göstergesidir (9). Sonuç olarak, gebelik yaşı ilerledikçe eritroblast sayısı eksponansiyel, retikülosit sayısı ise lineer olarak düşer.

Çekirdekli eritrositler tam kan sayımında lökositlerle birlikte sayıldıkları için, sayılarının tespitinde periferik yaymadan yararlanılmaktadır. Her 100 lökosit ile birlikte sayılan çekirdekli eritrositlerin miktarı, 100 lökositteki çekirdekli eritrosit sayısı şeklinde belirtilir. Lökosit sayısı şu formül ile düzeltilir: $\text{Düzeltilmiş Lökosit} = \text{Total Lökosit} \times 100 / (\text{çekirdekli eritrosit} + 100)$. Mutlak çekirdekli eritrosit sayısı: $\text{düzeltilmiş lökosit} \times 100$ lökosite karşılık tespit edilen çekirdekli eritrosit sayısıdır.

Normal YD'larda kord kanından yapılmış periferik yaymalarda 100 lökosite karşılık ortalama 10 çekirdekli eritrosit saptanmaktadır. Prematürite, Rh uygunsuzluğu, diabetik anne çocuğu, intrakranial kanama, erken sepsis, koryoamniyonitli anne çocuğu, intrauterin büyüme geriliği ve asfiktik YD'larda çekirdekli eritrosit sayısının 10'dan fazla olduğu gözlenmiştir (5,7-17). Yakın dönemde yapılan çalışmalarda, çekirdekli eritrositlerin kordon kanındaki miktarının, periferden kaybolma süresinin annedeki riskli durumun bebekte meydana getirdiği hasarın prognozunu belirlemede de faydalı olabileceği bildirilmektedir (18,19).

III. ERİTROPOİETİN

Eritropoiezisi düzenleyen hormonal bir faktörün varlığı ilk kez 1906 yılında Carnot ve Deflandre tarafından anemik tavşanların serumlarının, normal tavşanlarda polisitemi meydana getirdiği gözlenerek ortaya konmuş ve bu maddeye Hemopoietin adı verilmiştir. Daha spesifik bir terim olan eritropoietin ise 1948'de Bonsdorff ve Jalavisto tarafından kullanılmıştır (46). 1957 yılında, Jacobson ve ark.'ları (46) bilateral nefrektomili erişkin memeli hayvanlarda, kanamayı takiben plazmanın eritropoetik aktivitesinde artış olmaması ile, Epo'in esas olarak böbrekten salgılandığını öne sürmüşlerdir. 1985 yılında ise 7. kromozomdaki Epo geni klonlanarak, rekombinant DNA tekniğiyle elde edilerek tedavide kullanılmaya başlanmıştır (47).

Epo eritroid öncü hücrelerin (eritroid progenitor cells) çoğalmasını ve olgun eritrositlere farklılaşmasını düzenleyen, erişkin insanlarda, çoğunlukla böbreklerde, fetusta karaciğerde ve üçüncü trimesterin son haftalarında böbreklerde yapılan, sıcaklık ve pH değişimlerine dayanıklı α_2 globulin fraksiyonunda, sialo-glikoprotein yapısında bir hormondur.

İnsan Epo'in molekül ağırlığı 34 kDa olup, molekülün %39'unu karbonhidratlar oluşturmaktadır. Bu kısımda mikroheterojenite göstermekte olup çoğunluğunu sialik asitin oluşturması yanında bir miktar N-asetil glukozamin, mannoz, galaktoz ve fruktoz içermektedir. Yapısında üç yerde N-glikozilasyon, bir yerde O-glikozilasyon bulunmaktadır. Bunun üç amacı vardır; birincisi, yapımı ve sekresyonu için glikozilasyon şarttır; glikozile olmayan Epo molekülü, daha hücre içinde iken parçalanır. İkincisi; glikozilasyonun tam olmaması veya hiç olmaması Epo'in in vivo biyolojik aktivitesini ortadan kaldırmaktadır. Üçüncüsü ise yapısındaki sialik asit Epo'in hepatositler tarafından dolaşımdan çekilmesini engellemeye yöneliktir. Sialik asit içeriği tam olan Epo'in dolaşımda kalma süresi asialo Epo'e göre daha uzun olması, hedef hücre ile daha kolay ve uzun süre ilişkide bulunmasını ve in vivo biyolojik aktivitenin mevcudiyetini sağlar. Asialo Epo'in in vitro eritropoetik aktivite yeteneği mevcuttur (48).

Epo molekülünün protein kısmı oldukça homojendir ve 166 amino asit içerir; molekül ağırlığı 18.3 kDa olup glikozilasyon noktaları 38-83. asparajin ve 126. serin aminoasitleridir (48).

a) Fizyolojisi

İzole tavşan böbreğinin perfüzyon sıvısında ve in vitro böbrek hücre kültürlerinde eritropoietik aktivite saptanmasının yanısıra, Epo düzeyi çok düşük üremik hastalara başarılı bir böbrek nakli sonrasında Epo ve Hct düzeylerinde artış olması, Epo'in böbrekte yapıldığını düşündürmüştür. Anefritik farelerin serumundaki Epo'nun, hepatotektomi sonrası kaybolması, parsiyel hepatektomi sonrası anemiye cevap olarak oluşan Epo düzeyinin karaciğerin rejenerasyon derecesi ile korele olması, ekstrarenal Epo kaynağının karaciğer olduğunu gösteren ipuçlarıdır. Buna ek olarak koyunlarda fetal hayatta karaciğerin Epo sentezleyen primer bölge olduğu tespit edilmiştir (49). Konjenital renal agenezili fetuslarda Hb ve Hct düzeyinin normal olması, intrauterin hayatta renal kaynaklı Epo'in ihmal edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir (48).

Önceleri Epo'in bir proeritropoietin olarak (Eritrogenin) inaktif biçimde salgılandığı ve dolaşımında bir α globulinle parçalanarak aktif Epo'e dönüştüğü öne sürülmüşse de, son zamanlarda Epo mRNA'sının böbrekte saptanması ile, Epo'in böbrekte tam ve aktif bir şekilde yapıldığı ispatlanmıştır. Epo'in depolanmadığı, uyarana cevap olarak hemen bir saatlik bir sürede sentezlenip sekrete edildiği gösterilmiştir (49).

Epo'in böbreklerde spesifik immünolokalizasyonunu saptamak çok zordur, çünkü Epo hem böbreklerde, hem de kanda bulunur. İn situ hibridizasyon ve otoradyografi ile tübüler bazal membranın dış kısmındaki tübüler intersitisyel hücrelerin hem bazal durumda, hem de hipokside Epo-m-RNA kapsayan renal hücreler olduğu gösterilmiştir. Bu hücreler en çok korteksin iç, daha az miktarda da dış kısmında ve medullada bulunmaktadır ve bunların peritübüler kapiller endotel hücreleri olduğu düşünülmektedir. Bu interstisyel hücrelerin sayılarının Epo-m-RNA ve serum Epo düzeylerine paralel olarak arttığı saptanmıştır. Bu nedenle, Epo yapımındaki artışın hücre başına düşen Epo-m-RNA yapımındaki değişiklikten değil, Epo salgılayan hücrelerin sayılarındaki artıştan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır (48).

Epo'in erişkin insanda ekstrarenal dokularda yapım yeri hala tartışma konusudur. Serumda bulunan Epo'in %15 kadarı ekstrarenal kaynaklıdır (50). Fetal yaşamda en önemli Epo kaynağı karaciğer olup, fetus karaciğerinde önemli miktarda

Epo mRNA'sı tespit edilmiştir. İleri derece hipoksiye maruz bırakılan hayvanların beyin, iskelet kası, akciğer ve dalaklarında az da olsa Epo mRNA'sına rastlanmıştır (51-53).

Serum Epo konsantrasyonu primer olarak renal üretim oranı ile ilişkilidir ve hipoksi durumunda, hemoglobın düşükçe eksponansiyel olarak artar. Fakat yapılan çalışmalarda hemoglobın seviyesi ne olursa olsun, kırmızı küre öncül hücrelerinin sayısı ne kadar yüksekse, serum Epo konsantrasyonu da o kadar düşük tespit edilmiştir. Bu da, serum Epo seviyesinin yalnızca renal üretim oranı ile değil eritroid hücreler tarafından kullanılma oranı ile de regüle edildiğini göstermektedir (54).

Epo üretiminin düzenlenmesindeki hipotezlerden biri; indiferansiye hem proteininin oksijen basıncına duyarlı olduğu ve deoksi formunda olduğu zaman böbrek veya karaciğer hücrelerinde Epo mRNA toplanmasını uyardığıdır. Ayrıca hem sentezinin inhibisyonu, hipoksinin uyardığı Epo üretiminde beş kat azalmaya neden olur. İn vivo deneylerde hipoksinin prostaglandin E₁ (PG-E₁) salgılanmasına ve buna bağlı olarak cAMP yapımına yol açtığı, cAMP'nin ise intrasellüler kalsiyum miktarında azalma ile birlikte Epo yapımını arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte kalsiyum kanal blokerlerinin veya PG inhibitörlerinin insanlarda Epo düzeyinde değişikliklere yol açtığına dair herhangi bir veri yoktur (48).

Hipoksi sırasında Epo-m-RNA düzeyinin plazma ve böbrek Epo düzeyi ile paralellik göstermesi, Epo'nun hipoksiye cevap olarak sentezlendiğini işaret eden bir bulgudur. Fare böbreklerinde hipoksi ortadan kalkınca üç saat içinde Epo-m-RNA düzeyinin ölçülemeyecek kadar düşmesi çok kısa bir yarılanma ömrü olduğunu göstermektedir (55).

Ekstrarenal mekanizmaların Epo yapımında potansiyelize edici etkileri vardır. Hipotalamusun renal Epo yapımını kontrol eden en önemli ekstrarenal merkez olduğu düşünülmektedir. Hipotalamo-hipofizer sistemin endokrin fonksiyonu, hem bazal hem de hipoksiye Epo yanıtını idame için gereklidir. Hipoksik stres sırasında sempatik sinir sisteminin aktivasyonu da Epo yapımını arttırmaktadır (46).

Proeritroblasttan dolaşıma retikülositin çıkmasına kadar geçen ortalama süre yaklaşık 5 gündür. Akut anemi durumunda, bu geçiş zamanı 1-2 güne kadar azalabilir. Ortaya çıkan bu kırmızı hücreler makrositiktir ve yüzeylerinde i antijeni

bulundururlar. Ayrıca kemik iliğindeki geçiş süresi kısa olduğu için bu hücreler diğer fetal hücre özelliklerini de taşırlar (29,30).

Kandan Epo'in kaybolma hızı laboratuvar hayvanlarında hipertransfüzyondan sonra ölçülmüştür ve 3 ile 6 saat arasında kaybolduğu saptanmıştır. İnsanda rekombinant Epo'in yarılanma süresi 4 ile 5 saat arasındadır. Epo'in eritropoetik dokular tarafından tüketildiği öne sürülmüştür. Kemik iliği hipoplazisi olan hastalarda yarılanma süresi uzundur. Bu da aplastik anemili olgularda serumda Epo miktarını fazla olmasını açıklayabilir. Buna karşılık diğer çalışmalar, Epo katabolizmasının kemik iliği aktivitesinden bağımsız olduğunu ve karaciğerin muhtemel Epo yıkımından sorumlu olduğunu ortaya koymuştur. Çok az bir kısmı da idrarla atılmaktadır. Klirens hızı 0.1-0.7 $\mu\text{M}/\text{dk}$ 'dır (48).

Epo fetal eritropoiezisi özellikle gebeliğin sonunda kontrol eden başlıca faktördür (56). Epo fetus tarafından üretilir ve plasentadan geçmez (57,58). Fetal ve erken neonatal dönemde, başlıca Epo üreten organ karaciğerdir (53). Böbrekten üretimi ise doğumdan hemen sonra başlar (50). Karaciğerdeki Epo yapım yeri henüz bilinmemekle birlikte, hem hepatositlerde hem de Kupffer hücrelerinden salgılandığını kanıtlayan bazı veriler mevcuttur. Epo üretimini kontrol eden esas mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, karaciğer ve böbrekte mevcut olan oksijene duyarlı bir mekanizmanın varlığı düşünülmektedir. Hipoksi ve aneminin mRNA kopyalanmasını ve Epo protein üretimini uyararak eritropoiezisi arttırdığı bilinmektedir. Karaciğerdeki duyarlı mekanizma hipoksiye karşı daha az duyarlıdır. Ayrıca Epo üretiminin uyarılabilmesi için, karaciğerin daha uzun süreli hipoksiye maruz kalması gereklidir. Epo üretimini etkileyen diğer faktörler testosteron, östrojen, tiroid hormonları, prostoglandinler, vitamin E ve lipoproteinlerdir (29).

Epo üretiminin fetusta karaciğerden böbreğe geçişini düzenleyen faktörlerin neler olduğu henüz bilinmemektedir. Zanjani ve ark.larının (50) yürüttükleri bir çalışmada, Epo üretiminin karaciğerden böbreklere geçişinin in utero başladığı ve cinsiyet hormonlarından bağımsız olduğu, fakat tiroid hormonları ve kronik stresten belirgin olarak etkilendiği saptanmıştır.

Epo 19. gebelik haftasından sonra tüm kord kanlarında tespit edilebilir. 24. haftadan sonra ise anemiye, asfiksiye veya intrauterin transfüzyona fizyolojik olarak cevap verebilir (20).

Epo miktarı üçüncü trimester boyunca kord. kanında ölçüldüğünde, bu seviyenin gittikçe arttığı görülmektedir (20). Bu ölçümler doğum eylemine girmiş, normal yolla doğumu gerçekleştiren gebelerin bebeklerinde ve doğum başlamadan sezeryan ile doğumu gerçekleştiren gebelerin bebeklerinde ayrı ayrı tekrarlanmış, kişisel kord Epo seviyelerinin, başlıca doğum şeklini ve doğum sırasındaki hipoksik stresi yansıttığı gözlenmiştir. (59). Buna karşılık Forestier ve ark. (31) Epo seviyesinin gebeliğin 2. ve 3. trimesterleri boyunca çok düşük seviyelerde olduğunu ve ilginç olarak da farklı gebelik haftalarında Epo seviyesinde artış gözlemediklerini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmacılar yükselmiş Epo seviyelerini Rh alloimmünizasyonlu olgularda ve şiddetli intrauterin büyüme geriliği olan olgularda tespit etmişlerdir. Doğumdaki serum Epo miktarları 5-100 mU/ml arasındadır ve sağlıklı bebeklerde doğumdan sonra ölçülemeyecek düzeylere düşer. Doğumdan sonra Epo üretimindeki bu düşme hayatın ilk 5-6 haftasına kadar devam eder ve süt çocuğunun fizyolojik anemisi ile ilişkilidir. Artmış kord Epo seviyeleri postmatür bebeklerde rapor edildiği gibi, ayrıca preeklampsili anne bebeklerinde, diabetli anne bebeklerinde, Rh uygunsuzluğu olan anne bebeklerinde ve sigara içen anne bebeklerinde de bildirilmiştir (6,21-26).

Millard ve ark.ları (60) eritropoietinin yalnızca fetal hemoglobinin belirgin olarak düştüğü zaman arttığını gözlemlenmişlerdir. Epo cevabının oluşmasında gebelik yaşının önemli bir faktör olduğu görülmektedir. İmmatür fetuslar belirgin anemiye sahip olsalar bile, daha olgun fetüslere göre serum Epo miktarı fazla artmamaktadır. Epo parakrin etki gösterir ve dolaşımdaki seviyesi üretimini yansıtmamaktadır. Bu nedenle, fetal oksijen taşıma kapasitesi belirgin olarak düşmedikçe, plazma Epo seviyesi artmaz. Soothill ve ark.ları (61) fetal kompensatuar kardiyovasküler mekanizmaların, fetal hemoglobin 4 gr/dL altına düştükten sonra yeterli doku oksijen dağıtımını sürdüremediğini göstermişlerdir. Bu seviyedeki hemoglobine Epo cevabı da en yüksek seviyede olmaktadır.

b) Etkilediği hücreler

Eritroid seride etkilediği pek çok hücre olmasına rağmen, esas olarak iki ana hücre grubunu etkilemektedir. Kemik iliğinde tanınabilen eritroblastlardan farklı olan bu hücre grupları, CFU-E ve BFU-E'dir.

- a. CFU-E'nin oluşması için kültür ortamında çok küçük konsantrasyonda (0.01-1 Ü) Epo'e ihtiyaç vardır. Ortama Epo konulunca insanlarda 7 gün içinde 8-49 hücrelik eritroblast kolonileri oluşmaya başlar; 24-48 saat sonra ise "hem" içine demir alınıp Hb sentezi başlamaktadır. Gerçekte CFU-E'nin bir proeritroblastlar topluluğu olduğu savunulmaktadır.
- b. BFU-E'nin oluşması için ise yüksek konsantrasyonda Epo gerekmektedir. Ortama Epo ilavesinden yaklaşık 15 gün sonra 500 veya daha fazla eritroblasttan oluşan büyük koloniler meydana gelir.

Anemide Epo ile birlikte kemik iliğinde CFU-E artışı, hipertransfüzyonda ise Epo ile birlikte CFU-E'nin azalışı görülmektedir. Aynı gözlem, BFU-E için geçerli değildir.

Fetal öncü hücreler, erişkin öncü hücrelerinden farklı olarak Epo'ya daha duyarlıdır. Özellikle fetal orijinli BFUs-E daha hızlı eritroid koloni geliştirir ve bu koloniler erişkindekilere göre daha fazla normoblast içerir. BFUs-E, erişkinde olgunlaşabilmek için Epo ile birlikte diğer faktörlerden IL-3 ve GM-CSF'ye de ihtiyaç duyarken, fetal BFUs-E yalnızca Epo varlığında olgunlaşabilir (29,48).

c) Epo Reseptörleri

Epo hücrelerde bulunan hücre yüzey reseptörleri olan Epo reseptörleri (EpoR) aracılığı ile etkisini göstermektedir. Hematopoietik hücrelerde EpoR, BFU-E, CFU-E ve megakaryositlerde mevcut olduğu halde, monosit ve lenfositlerde bulunmamaktadır. Hematopoietik olmayan hücreler veya organlar arasında ise EpoR, fare plasentasında, fare embriyonik kök hücrelerinde ve insanda beyin, akciğer ve iskelet kasları dışındaki endotelial hücrelerinde tespit edilmiştir. Ohneda ve ark.ları fetal karaciğer stroma hücrelerinde de EpoR tespit etmişler ve gelişim boyunca Epo'in fetal eritropoetik mikroçevrenin oluşumuna katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir (52).

Eritroid maturasyon gösteren hücrelerin, "yüksek" ve "düşük" afiniteli olmak üzere iki tip Epo reseptörü mevcuttur. Tek bir genin ürünü olan bu iki tip reseptörün polipeptid kısmı aynı, karbonhidrat kısmı farklıdır (48).

Fetal hücrelerde eritroid olgunlaşmanın erken dönemlerinde EpoR'leri mevcutken, daha sonra erişkin dönemde reseptörler yalnızca olgun BFU-E ve CFU-

E'de saptanabilmektedir. Fetal gelişim boyunca EpoR'leri CFU-MIX gibi daha immatür miyeloid-eritroid öncül hücrelerinde bulunuyor olabilir.

Epo-R'nün iki dominant formu; "full-length" (EpoR-F) ve "truncated" (EpoR-T) formları saptanmıştır. EpoR-T immatür eritroid öncü hücrelerinde bol miktarda eksprese edilmekte ve hücre serilerinde, çoğalma ve anti-apoptosis için Epo sinyallerinin negatif düzenleyicisi olarak rol almaktadır. EpoR-T'nin aşırı eksprese eden transgenik farelerin anemik olduğu saptanmıştır ve akut anemiden dolayı iyileşmede defekt gözlenmiştir (62).

d) Etki mekanizması

Epo, hedef hücre yüzeyindeki reseptörü ile birleşerek, Jak2 tirozin kinazın uyarılmasını sağlar. Jak2 tirozin kinazın aktivasyonu ile birlikte Epo reseptörü ve birçok diğer proteinin tirozin fosforilasyonu olur. Sonuç olarak bir çok farklı intrasellüler yol aktive olmuş olarak, nükleusta birbirinden farklı pek çok RNA molekülünün sentezini arttırmaktadır (63). Farklı zamanlarda oluşan ve farklı sediment hızına sahip RNA'lar Epo'in hücredeki etkisinde anahtar rolü oynamaktadırlar. Nükleus içinde başlayan RNA sentezi ribozomal RNA'ya oradan globin RNA'ya, orada da DNA sentezinde artmaya yol açmakta; daha sonra hücrede bölünme, Hb sentezi ve olgunlaşma meydana gelmektedir. Epo olmadığı durumlarda, eritroid öncü hücrelerinde apoptosis yani programlanmış hücre ölümü hızlanmaktadır (48).

e) Epo ve megakaryositopoiesis

Epo'in arttığı pek çok klinik durumda trombositöz gözlenmektedir. Diamond-Blackfan anemisi buna en iyi örnektir. Buna karşılık trombosit üretimi üzerine Epo'in etkisini göstermeye yönelik yapılan tüm deneysel çalışmalar bu ilişkiyi göstermede başarılı olamamışlardır. Megakaryositler üzerinde Epo için yüksek afiniteli bağlanma bölgesi mevcut olmasına rağmen, trombositler üzerinde böyle bir bölge yoktur. Yüksek konsantrasyonda rekombinant Epo, serbest serum kültürlerinde megakaryosit hacminde, megakaryosit koloni oluşumunda ve miks eritroid-megakaryosit kolonilerinde artma oluşturur. Fakat megakaryosit koloni oluşumu üzerine Epo'in etkisi tartışmalıdır. İn vivo çalışmalarda, kemirgenlerde, gerçekte çok yüksek doz Epo'in trombosit üretimini uyardığı gösterilmiştir. Aslında, hipoksi

tarafından uyarılan fizyolojik doz Epo fare kemik iliği ve dalağında megakaryosit koloni oluşturan hücrelerin sayısını azaltmaktadır (30).

Ağır Rh hemolitik hastalıklı ve çok yüksek Epo seviyesine sahip yenidoğanlar nötropeni ve trombositopeni ile doğarlar. Aynı şekilde rekombinant Epo alan prematüre yenidoğanlarda nötropeni geliştiği bilinmektedir. İn vitro olarak Epo'in yüksek konsantrasyonları CFU-GM koloni sayısını azaltmakta ve koloni başına düşen granülosit sayısını da düşürmektedir. Bu etkiye yenidoğanın öncü hücreleri, erişkin öncül hücrelerinden daha duyarlıdır (25).

f) Epo tayin yöntemleri

1. Biyoassay (biyolojik yöntemle tayin): İn vivo yöntemde fareler, in vitro yöntemde ise kültürü yapılmış hemopoyetik hücreler kullanılır. Test materyalinin etkisi ile her ikisinde de Fe59 radioizotopunun kullanılan miktarının hesaplanması ile indirekt olarak ölçülür.
2. İmmünoassay (immünolojik yöntemle tayin): RIA ve ELISA yöntemi ile Epo molekülüne karşı antikorlar kullanılarak yapılır.

Biyolojik yöntem daha zahmetli, pahalı, zaman isteyen bir yöntemdir. Ancak en büyük avantajı, eritroid aktiviteyi ölçmesidir. İmmünolojik yöntem ucuz, kolay ve kısa sürede yapılabilir. Daha duyarlı olmasına rağmen, biyolojik aktivitesi olmayan Epo moleküllerini de ölçmesi dezavantajıdır (20,27).

V. RİSKLİ YENİDOĞANLARDA ERİTROPOİETİN VE ÇEKİRDEKLİ ERİTROSİT DÜZEYLERİ

A. Diabetik anne çocukları (DAÇ)

Maternal diabetin iyi kontrol edilmesi, fetusun mortalite ve morbiditesini belirleyen en iyi faktördür. Diabetli gebenin takipsiz olduğu veya diabetinin iyi kontrol edilmediği durumlarda, yenidoğanlarda olabilecek hipoglisemi, hipokalsemi, hipomagnezemi, perinatal asfiksi, respiratuar distres sendromu, diğer respiratuar sorunlar, hiperbilirubinemi, polisitemi, renal ven trombozu, makrosomi, doğum travmaları ve konjenital malformasyon gibi komplikasyonlar açısından hazırlıklı olunmalıdır. Günümüzde diabetik gebeliklerdeki patofizyolojinin daha iyi anlaşılması ile, bu komplikasyonlar tanınabilmekte ve tedavi edilebilmektedir.

İnsidansı

Gebelikte insüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM) insidansı; %0.2-0.3, gestasyonel diabet insidansı ise %1-3 arasında değişmektedir.

Sınıflama

a) *White sınıflaması*: White ilk kez, diabetin başlangıç yaşı, süresi ve maternal vasküler hastalığın ağırlığı ve derecesini göz önüne alarak, gebelikte diabet sınıflaması yapmıştır (Tablo V) (64).

Tablo V: White sınıflaması (64)

Sınıf	Tanım
A	Gebelikten önce veya gebelik sırasında glüköz tolerans testinin anormal olması
B	Diabetin başlangıcı 20 yaşından sonra ve süresi 10 yıldan az
C	Diabetin başlangıcı 10-19 yaş arası
D1	Diabetin başlangıcı 10 yaşından önce
D2	Süresi 20 yıldan uzun
D3	Bacak damarlarında kalsifikasyonun olması
D4	Benign retinopati
D5	Hipertansiyon
E	Pelvik damarlarda kalsifikasyon
F	Nefropati
G	Gebeliğin oluşmaması
H	Çocuk doğurma sırasında vasküler lezyonların gelişmesi, kardiopati
R	Malign retinopati

b) *Ulusal Diabet Bilgi Toplama Grubu'nun sınıflaması*: Bu sınıflama; diabetik gebelerin özelliklerini daha iyi özetlediği ve daha basit olduğu için White sınıflamasının yerini almıştır (65) (Tablo VI).

Tablo VI: Ulusal diabet bilgi toplama grubu sınıflaması (65)

SINIF	TANIM
Tip I: İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus (IDDM).	Ketosise eğilim mevcut. Adacık hücre kaybından dolayı insülin yetersiz. Spesifik HLA tipleriyle, viral insülitisle veya otoimmün fenomen ile ilişkilidir. Herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir. Sıklıkla gençlerde görülür
Tip II: .İnsüline Bağlı Olmayan Diabetes Mellitus (NIDDM)	Ketosise dirençli. Erişkinde daha sık görülmesine rağmen her hangi bir yaşta da ortaya çıkabilir. OD şeklinde ailesel bir geçiş tespit edilebilir. Stres sırasında insülin ihtiyacı gösterebilir. Gebelikte insüline mutlaka ihtiyaç gösterir.
Gestasyonel DM (GDM)	Diabet gebelikte tanınır. Perinatal komplikasyon riski normalden fazladır. Glükoz intoleransı geçici olabilir fakat sıklıkla tekrarlar. <u>Tarama</u> 1. Plazma glükoz ölçümü 2. 50 gr oral glükoz, 24-28. Haftalarda günün herhangi bir saatinde, yemek öğününden bağımsız 3. 1 saat sonra venöz plazma glükoz ölçümü ≥140 mg/dl: anormal sonuç→tanı <u>Teşhiste;</u> 3 saat süren oral glükoz tolerans testi (100 g glükoz) kullanılır. En az 2 anormal plazma glükoz değeri gereklidir. Açlık kan şekeri: 105 mg/dl veya üzeri 1. Saat : 190 mg/dl veya üzeri 2. Saat : 160 mg/dl veya üzeri 3. Saat : 145 mg/dl veya üzeri

Patofizyoloji**a. Makrosomi:**

Makrosomi; doğum tartısının gebelik yaşına göre olan persentil eğrisinde %90'ın üzerinde veya 4000 gr'dan daha fazla olması şeklinde tanımlanır. Makrosomi, Pedersen tarafından tarif edilen maternal hiperglisemi-fetal hiperinsülinemi yolu boyunca oluşan biokimyasal olayların sonucunda meydana gelir (66,67). Yapılan çalışmalarda, artmış fetal insülinin yanında insülin benzeri büyüme faktör-1'in (IGF-I) de DAÇ'da infantil makrosomiden sorumlu olduğu ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan proteinlerinin (IGFBP), fetal üretimlerindeki değişikliklerin (özellikle de IGFBP-2 ve IGFBP-3) insülin ve IGF'lerin etkilerini modüle ettiği saptanmıştır (67).

b. Intrauterin büyüme geriliği (IUGR):

IUGR diabetik gebeliklerin %20'sinde meydana gelir. Nedenleri **1.** Sıkı metabolik kontrol amaçlanmış (ortalama kan glüközü <86 mg/dl) GDM'lu gebeler, **2.** Preeklampsi ve toksemi varlığında uterin kan akımının azalması. **3.** Diabetik vasküler hastalığı olan (White F sınıfı ve daha yukarı) gebeler.

c. DAÇ'da sıklıkla görülen spesifik sorunlar:

1. Metabolik sorunlar;

En sık karşılaşılan metabolik sorunlar: **1. Hipoglisemi, 2. Hipokalsemi, 3. Hipomagnezem'**dir.

2. Kardiorespiratuar sorunlar:

En sık karşılaşılan kardiorespiratuar sorunlar: **1. Perinatal asfiksi, 2. Hiyalen membran hastalığı (RDS), 3. Diğer solunum güçlüğüne neden olan durumlar, YD'ın geçici taşipnesi, hipertrofik kardiyomiyopati, mekonyum aspirasyonu ve polisitemidir.**

3. Hematolojik sorunlar:

1. Polisitemi ve hiperviskozite ve 2. Hiperbilirubinem'dir.

4. Morfolojik ve fonksiyonel problemler:

1. Makrosomi ve doğum travması ve 2. Konjenital malformasyonlardır.

DAÇ'ları LGA (large for gestational age) veya annede vasküler hastalık varsa gebelik yaşına göre küçük (SGA) olabilirler. Pek çok yenidoğan gebelik yaşına uygun doğmasına rağmen, eğer makrozomi mevcutsa doğum travmasına maruz kalabilirler.

DAÇ'larında yakından takip edilmesi gerekli parametreler: **1. Serum glüköz seviyesi, 2. Serum kalsiyum seviyesi, 3. Hematokrit değerleri, 4. Serum bilirubin değerleri, 5. Klinik olarak gerekli görüldüğünde arteriyal kan gazı seviyeleri, tam kan sayımı, kültür ve gram boyama alınmalıdır. Kardiak, respiratuar veya iskelet ile ilgili problemler olmadıkça radyolojik tetkiklere gerek yoktur (68).**

DAÇ'da Eritropoiezis

DAÇ'da, doğumdan sonraki ilk günlerde, normal yenidoğanlarla karşılaştırıldığında eritrositoz, artmış çekirdekli eritrosit sayısı ve ekstramedüller eritropoiezis gözlenmektedir. Yine DAÇ'nın doğumdan hemen sonra alınan kord kanı çalışmalarında artmış Epo, Hb ve eritroblast sayısı rapor edilmektedir. Muhtemel

mekanizma, maternal hipergliseminin fetal hiperglisemiye ve fetal hiperinsülinizme neden olarak, fetal metabolizmanın artmasına ve mevcut oksijenin bu artışa göre yeterli olmaması sonucu da, fetal doku hipoksisine yol açmasıdır. Ayrıca in vitro çalışmalar insülinin eritrojenik aktivitesinin olduğunu göstermektedir. Artmış Epo hem fetal doku hipoksisine hem de hiperinsülinizme bağlıdır (23). Epo'nun etkisi ile de eritroblastosis ve takiben de hemoglobin ve hematokritte artış (polisitemi) meydana gelir.

Yapılan çalışmalarda, DAÇ'da kord kanında bakılan pH, Epo ve Hb değerleri arasında ilişki saptanamamıştır (23). Epo ve çekirdekli eritrositler arasındaki ilişki konusunda ise çelişkili sonuçlar mevcuttur (11). Çalışmacılar, azalmış fetal kan pH'sının doku hipoksisinin kısa dönemli olduğunu, buna karşılık, artmış Epo ve Hb konsantrasyonlarının ise orta ve uzun dönemli doku hipoksisinin göstergesi olduğunu belirtmektedirler (23)

B. Gebelik Haftasına Göre Küçük Doğan Bebekler (Small for gestational age=SGA) veya İntrauterin Büyüme Geriliği (IUGR)

IUGG veya SGA terimleri sıklıkla birbirinin yerine kullanılmaktadır. Büyüme geriliği olan bir yenidoğanın tarifini yapan pek çok farklı tanım mevcuttur. IUGG fetusun kendisinde bir anormalliği veya fetusun normal büyümesini etkileyen bir patoloji ile karşılaştığını belirtmektedir (69). IUGG, keza gebelik yaşına göre doğum ağırlığının %10'un altında veya gebelik yaşına göre ortalama ağırlığın 2 standart deviasyon altında olması şeklinde de tanımlanır.

İnsidansı; tüm gebeliklerin %3-10'unda IUGG mevcuttur. Ölü doğumların %20'sinde de gelişme geriliği tespit edilmiştir. Perinatal mortalite oranı gebelik yaşına uygun tartılı (appropriate for gestational age=AGA) bebeklere göre 4-8 kat daha fazladır ve yaşayan SGA yenidoğanlarda, ciddi kısa ve uzun dönemli morbidite mevcuttur. ABD'de IUGG'nin en önemli nedeni uteroplazental yetmezliktir. İntrauterin enfeksiyonlar olguların %10'un altta yatan nedendir. IUGG olan yenidoğanların %5-10'unda kromozomal veya diğer genetik hastalıklar rapor edilmiştir (70).

Patofizyoloji; fetal büyüme fetal, maternal ve plasental faktörlerden etkilenir.

1. **Fetal faktörler;** genetik faktörler, kromozomal anomaliler, konjenital anomaliler, fetal kardiyovasküler anomaliler, konjenital enfeksiyon ve metabolik hastalıklar.

2. *Maternal faktörler*, uteroplasental kan akımının azalması, maternal beslenme, çoğul gebelikler, sigara, alkol, eroin ve kokain kullanımı, maternal hipoksemi, annede boy kısalığının olması, küçük veya büyük maternal yaş, düşük sosyoekonomik durum, primiparite ve gebelikte tartı alımının az olması.

3. *Plasental faktörler*, plasental yetmezlik ve anatomik problemler (70).

İUGG; simetrik ve asimetric İUGG şeklinde sınıflanabilir. Simetrik İUGG; baş çevresi, boy ve tartı eşit oranda azalmıştır. Simetrik İUGG ya fetusun konjenital enfeksiyonu ve genetik hastalıklarının potansiyel büyümeyi azaltması ya da gebeliğin erken döneminde dış etmenlerin aktif etkisi ile meydana gelir. Asimetrik İUGG'de; fetal ağırlık, boy ve baş çevresinden orantısız olarak azalmıştır. Baş çevresi ve boy gebelik yaşı için beklenen persentile yakındır. En sık nedenler; uteroplasental yetmezlik, annenin malnütrisyonu veya dış etmenlerin gebeliğin son trimesterine etki etmesidir (71).

Tanı: 1. *Gebelik yaşının tayini*, 2. *Fetal değerlendirme* (kinik tanı, hormonal değerlendirme ve ultrasonografi ile yapılır) 3. *Yenidoğanın değerlendirilmesi* (a. son adet tarihine göre hesaplanan haftaya göre düşük tarılı olması, b. Lubchenco tabloları değerlendirmede kullanılabilir (72), c. Ponderal indeks 2500 g üzerinde doğum tartısı olan İUGG'li yenidoğanların tespitinde faydalıdır (70), d. gebelik yaşı Ballard skorlama sistemi kullanılarak değerlendirilebilir (71)).

Komplikasyonlar: 1. *Hipoksi*, 2. *Hipotermi*, 3. *Metabolik sorunlar* (hipoglisemi, hipokalsemi), 4. *Hematolojik bozukluklar* (polisitemi ve hiperviskozite).

İUGG olan YD'a yaklaşım: İUGG'nin antenatal olarak tespiti takip ve tedavideki başarıyı arttıracaktır. Obstetrisyenin detaylı olarak anamnez alması fetal büyüme geriliğinin muhtemel nedenini tespit etmesine ve düzeltilebilecek bir sorunsa müdahale etmesine yol açacak, ayrıca pediatriği erken uyarabilecektir. Doğumda resüsitasyon konusunda deneyimli bir ekibin olması, hipotermi önlenmesi, hipoglisemi ve santral hemotokritin yakın takibi gereklidir. İUGG olan YD'ların tümünde konjenital enfeksiyon bulguları aranmalı ve serolojik testler istenmelidir.

İUGG olan YD'larda Eritropoiezis

Doppler ultrasonografi incelemeleri ve kordosentezle fetal kan örneklerinin alınmasını içeren antenatal çalışmalar, İUGR olan YD'da en az iki faktörün doku hipoksisine neden olduğunu göstermiştir. İlki; azalmış uteroplental perfüzyonun ve fetusa oksijen transportunun neden olduğu hipoksemik hipoksi (kan oksijen içeriğinin düşük olması), ikincisi; beyin, kalp ve adrenallere daha fazla kan gitmesini sağlamak için fetal kan akımındaki redistribüsyon sonucu, dalak, böbrek, akciğer ve kas-iskelet sisteminde oluşan iskemik hipoksidir. Şiddetli İUGR ile komplike olmuş gebelerden kordosentezle alınan kan örneklerinde plazma Epo'in belirgin olarak arttığı, artış derecesinin de fetal asideminin derecesi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (73,74). Doku hipoksisine, insan fetusunun Epo artışı ile cevap vermesi en erken 24. gebelik haftasından sonra olmaktadır. Son yıllarda kordosentez ile İUGR olan fetustardan alınan kan örneklerinde, artmış Epo üretimi eritroblastozis ile ilişkili bulunmasına rağmen, artmış eritrosit sayısı ile ilişkili bulunmamıştır (73). Benzer bir başka çalışmada, doppler ile diastol sonu akımı tersine dönmüş olan veya olmayan İUGR'li bebeklerden alınan fetal kan örneklerinde, bu bebeklerin metabolik asidozda oldukları, mevcut ortamın eritropoiezis için stimulus oluşturarak çekirdekli eritrosit sayısının artmasına neden olduğu saptanmıştır (75). Aynı çalışmada, İUGG olan bebeklerde hematokrit ve hemoglobin değerleri normal değerlere yakın bulunurken, trombosit sayısı ise düşük saptanmıştır. Eritropoiezinin artmış olmasının Hb ve Hct'yi arttırmaması ve trombositlerin de düşük olması, plasentada trombotik olayların varlığına bağlanmıştır. Buna karşılık, İUGR olan insan ve hayvan çalışmalarının bazılarında ise Hct ve Hb'in artmış olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak kronik hipoksiye fetusun cevabı kompleks bir olaydır. Kordosentez ile tek bir kez alınan kan örneğinin fetal iyiliği göstermediği ve asit-baz durumu ile kan tablosunun korele olmayabileceği, oluşabilecek değişikliklerin daha iyi anlaşılabilmesi için antenatal birkaç örneğin alınmasının gerekliliği üzerinde durulmaktadır (75-77).

C. Preterm Yenidoğanlar

Ağırlığı gebelik yaşına uygun, normal gebelik süresinden erken doğan yenidoğanlara preterm veya prematüre denir. Pretermiler gebelik yaşlarına göre ileri

derecede preterm (gebelik yaşı 24-31 hafta), orta derecede preterm (gebelik yaşı 32-36 hafta) ve sınırdaki preterm (36-37) olmak üzere üç gruba ayrılırlar.

Düşük doğum tartılı yenidoğanlar tüm doğumların %1.7'sini, bunların yaklaşık %70'ini de preterm yenidoğanlar oluşturmaktadır.

Preterm doğumların bir kısmında neden belirlenememekle birlikte, saptanabilen nedenler arasında *fetus ile ilgili nedenler*, fetal distress, çoğul gebelik, eritroblastosis, hidrops, *plasenta ile ilgili nedenler*, plasenta previa, ablasyo plasenta, *uterus ile ilgili nedenler*, bicornue uterus, serviks yetersizliği, *anne ile ilgili nedenler*, preeklampsi, kronik hastalık, infeksiyon, ilaç kullanımı, düşük sosyoekonomik-kültür düzeyi, sık doğum, anne yaşının <16 veya >35 yaş olması, annede asemptomatik bakteriüri sayılabilir.

Prematüre yenidoğanda neonatal ölüm oranı yüksektir. Mortalite ve morbidite oranlarını etkileyen önemli nedenler asfiksi, solunum güçlüğü sendromu, infeksiyon ve apnedir. Prematürenin diğer önemli sorunları; termoregülasyon bozuklukları, intra ve periventriküler kanama, hipoglisemi, ikter, retinopati ve ductus arteriosus'un açık kalmasıdır (78).

Preterm doğumlar tümüyle önlenemez. Ancak daha iyi beslenme, sık doğumların önlenmesi, anne sağlığının düzeltilmesi, sosyoekonomik ve sosyokültürel yapının iyileştirilmesi, gebelik süresince çok iyi izleme ile prematürelilik azaltılabilir.

Preterm bebeklerde rastlanan başlıca sorunlar; beslenme güçlüğü, infeksiyona eğilim, hiyalen membran hastalığı, anemi, apne ve bradikardi, retinopati, nekrotizan enterokolit ve patent ductus arteriosustur.

Preterm yenidoğanın bakımında ana ilkeler infeksiyondan ve hipotermiden koruma, metabolik dengenin ve uygun beslenmenin sağlanmasıdır.

Preterm Yenidoğanlarda Eritropoiezis

İnsan fetusunda gebelik yaşının artışı ile birlikte umbilikal venöz pO₂ lineer olarak azalır. Bu fizyolojik hipoksiye kompensatuar cevap olarak fetal eritropoiezis artar. Eritrosit sayısı ve hemoglobin konsantrasyonu lineer olarak artarak, umbilikal venöz kan oksijen miktarının aynı seviyede kalması sağlanır. Gebelik haftalarına göre hematopoiezis, eritropoiezis, Epo ve çekirdekli eritrosit bölümlerinde Epo ve eritrositer seri değişikliklerinden bahsedilmiştir.

D. Asfiktik Yenidoğanlar

Perinatal asfiksi, fetal veya neonatal gaz alışverişinin bozulmasına yol açan sebeplerle oluşan; hipoksi, hiperkapni ve asidozun eşlik ettiği patolojik bir durumdur. Bu durum sonucunda, oksijenizasyon ve perfüzyonun bozulmasıyla dokularda hipoksik-iskemik hasar meydana gelir. The American Academy of Pediatrics and the American Collage of Obstetricians and Gynecologists 1992'de perinatal bakım için ana noktalar adlı bildirisinde, perinatal asfiksi teşhisinde tarif edilen 4 klinik kriterin tümünün olması gerektiğini rapor etmişlerdir. Kriterler: 1. Umbilikal kord arterial kan örneğinde derin metabolik veya mikst asidemi ($\text{pH}<7.0$), 2. Apgar skorunun 5. dk.'da $< 0-3$ devam etmesi, 3. YD döneminde konvülziyon, hipotoni, koma veya hipoksik-iskemik ensefalopati bulgularının mevcudiyeti, 4. YD döneminde multiple organ yetmezliği bulgularının olması (4,79,80).

Perinatal asfiksi **insidansı** %2-10 arasında değişmektedir. Bu oran sosyoekonomik düzey düştükçe artmakta; ayrıca gebelik yaşından da etkilenmektedir. Prematüre doğan bebeklerde bu oran %9-15 arasında değişirken, miyadında doğan bebeklerde %0,5'e kadar düşmektedir (3).

Etyoloji

Etyolojide antepartum, intrapartum ve postpartum risk faktörleri sorumlu tutulmuştur. *Antepartum risk faktörleri arasında*, fetal sebepler olarak, düşük doğum ağırlığı ve prematürite, fetal enfeksiyonlar, fetal anemi, fetal kalp atım bozuklukları; maternal sebepler olarak, annenin kötü beslenmesi, multiparite, annenin derin anemisi, preeklampsi/eklampsi (gebelik toksikozu), annede hipoksiye sebep olabilecek nörolojik, pulmoner ve kardiovasküler hastalıklar, maternal diabet, maternal enfeksiyonlar gibi durumlar söz konusu iken, *intrapartum sebepler arasında* uzamış travay, kordon patolojileri (sarkması, dolanması, düğümlenmesi veya dıştan bası) ablasyo plasenta, plasenta previa, plasenta infarktüsleri, maternal kanama; *postpartum sebepler arasında* ise yenidoğanın ağır pulmoner hastalıkları, tekrarlayan apneler, konjenital kalp hastalıkları, kardiovasküler kollapsla seyreden sepsis gibi durumlar karşımıza çıkmaktadır. Perinatal asfikside rol oynayan bu risk faktörlerinin %51'i antepartum, %40'ı intrapartum, %9'u ise postpartum dönemi ilgilendirmektedir (4).

Patogenez; asfiksi, akut veya kronik; total veya parsiyel olarak meydana gelebilmektedir. Akut asfiksi, ilk 10 dakika süreyle asfiksiye maruz kalma sonucunda ortaya çıkar. Vücudun hayati organlara daha fazla kan gönderebilmek için yeniden düzenleme yapacak zamanı olmaz. Bu nedenle talamus, bazal ganglionlar ve beyin-sapı önemli derecede etkilenmiş olmasına karşın, serebral hemisferler nispeten iyi korunmuştur. Beyin ödemi genellikle görülmezken, 24 saatlik sessiz dönemden sonra beyin sapı işlev bozuklukları (sabit pupiller, okülosefalik refleks, kornea refleksi, öğürme refleksi kaybı ve dilde fasikülasyon) ortaya çıkar (79).

Kronik kısmi asfiksi ise saatler; hatta günler, haftalarca asfiksiye maruz kalma sonucunda oluşur. Kan akımında yeniden düzenlemeye yetecek kadar zaman vardır. Önce kalp, beyin ve adrenaller gibi hayati önemi olan organlara daha fazla kan gönderebilmek için böbrekler, gastrointestinal sistem, karaciğer, kas ve deriye giden kan akımı azalır. Ancak hipoksik dönem devam ederse beyin içindeki kan akımında da yeniden düzenleme olur; talamus, bazal ganglionlar, beyin-sapı ve serebelluma daha fazla kan gönderilmeye çalışılır. Bu nedenle hastalarda 6-12 saatlik sessiz bir dönemden sonra ortaya çıkan konvülsiyonlar ve 24-48 saat içinde gelişen beyin ödemi görülür.

İnsanlarda olay genellikle bu iki tablonun değişik derecelerde birlikte bulunmasıyla ortaya çıkar. En sık rastlanan tablo kronik kısmi asfiksi zemin üzerinde gelişmiş, akut tam asfiksidir.

Hipoksik-iskemik (HI) zedelenmede beyinin yanısıra hastaların üçte ikisinde en az iki organ etkilenmiştir; %40'ında böbreklerde, %25'inde miyokarda ve %25'inde akciğerlerde HI zedelenme bulguları vardır (4).

Hastalarda patolojik bulgu olarak kortikal değişiklikler saptanabilir. Kortikal atrofi şiddetli ise mikrosefali ile sonuçlanabilir. Ayrıca term bebeklerde daha fazla olmak üzere, selektif nöronal nekroz, status marmoratus, parasagittal serebral hasar tespit edilebilir. Preterm yenidoğanlarda ise periventriküler lökomalazi daha sıktır. Geç dönemde poreensefali veya hidrosefali saptanabilir (3).

Hipoksi belirtileri fetal dönemden itibaren ortaya çıkmaktadır. Doğum öncesinde fetal distres bulgularının varlığı uyarıcıdır. Doğum anında, Apgar skorlarının düşüklüğü asfiksi sonucunda ortaya çıkmış bir bulgu olabilir. Apgar

skorlaması perinatal asfiksiyi ideal ölçüde yansıtmadığı halde kolay uygulanabilir, standartize bir yöntem olduğu için halen yaygın olarak kullanılmaktadır (3).

Doğum sonrasında ortaya çıkan klinik bulgular; gebelik yaşı, etkilenme süresi ve tutulan sistem veya organa göre değişiklik göstermektedir. Asfikside, santral sinir sistemi en fazla tutulduğu için bu sisteme ait belirtiler ön planda olmaktadır. Bununla birlikte diğer tutulan sistemlere ait bulgular da eşlik edebilir.

Term bebeklerde beyindeki hasarın derecesine göre ilk kez Sarnat & Sarnat tarafından bir evreleme sistemi oluşturulmuş, daha sonra bu sistem modifiye edilerek geliştirilmiştir (81).

Etkilenen term bebeklerde 3 grup dikkati çekmektedir. Bunlar; normal tonuslu bebekler, hiperalert (çoğu kez hipertonic) bebekler, hipotonik bebekler şeklindedir. Hiperalert grupta kas tonusu normal veya hafif artmış bulunabilir. Genelde ekstansör postüre meyillidirler. Zayıf emme refleksine rağmen, diğer yenidoğan refleksleri ve derin tendon refleksleri abartılı biçimde artmıştır. Hafif midriazis ve taşikardi eşlik edebilir. Bu grupdakilerin çoğu normal olarak gelişirler. Bu grup Sarnat & Sarnat HİE Evreleme Sistemine göre 1. Evreye karşılık gelir. Ancak bu hastaların bir kısmında ileri evreye geçiş gözlenebilir, konvülsif nöbetler ve letarji ortaya çıkabilir (81-84).

Pretermier için asfiksi belirtileri daha farklıdır. Gebelik yaşı 34 haftadan daha küçük olan bebeklerde klinik belirtiler belirgin olmayıp, hiç bir klinik belirti görülmeyebilir. Preterm bebeklerde, uyaranlara zayıf yanıt, apne, bradikardi genelde sık görülen belirtilerdendir. Bu bebeklerde ileride serebral palsy, görme ve işitme problemleri gelişebilir.

Tanı koymada, perinatal dönem ve doğum öyküsü, fizik muayene ve laboratuvar yöntemleri kullanılır. Tanı, intrauterin dönemde ve/veya postnatal dönemde konulabilir.

Perinatal dönemde; fetus hareketlerinin sayımı, fetal kalp hızı tesbiti, nonstres test, kontraksiyon stres test, biofizik profil, amniotik sıvı indeks tayini gibi yöntemler tanı ve takip için kullanılmaktadır. Burada Ultrasonografi ile uterusun ve fetusun gözlemlenmesi, Doppler Ultrasonografi yardımıyla uterus kan akımı ve umbilikal kan akımının ölçülmesi de tanıda yardımcı tetkikler olarak kullanılmaktadır (81-84).

İntrapartum tanı koymada fetal kalp hızı monitörizasyonu, fetal skalp kapiller ve umbilikal kord kan örneklerinin değerlendirilmesi, erken dönemde yoğun mekonyum çıkışının gözlenmesi yardımcı olabilir.

Her ne kadar doğum öncesi dönemde tanı yöntemleri olsa da olguların çoğu geç başvurmaktadır. Doğum sonrasında perinatal asfiksi tanısını, tüm teknik gelişmelere rağmen tek bir parametre ile koymak doğru olmaz. Bu nedenle perinatal asfiksi tanısı konulurken birden fazla kritere ihtiyaç duyulmaktadır. Apgar skorlama sistemi, umbilikal kord kanının asit-baz analizleri, baz defisitinin hesaplanması, kanda ve beyin omurilik sıvısında pekçok anormal metabolitin tespiti doğum sonrasında asfiktik bebeği tanımamıza yardımcı olur. Tanıdan ziyade prognozun belirlenmesinde kranial ultrasonografi (USG), bilgisayarlı beyin tomografi (BBT), kranial magnetik rezonans görüntüleme (MRG), tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (SPECT) yardımcı olmaktadır (85,86).

Perinatal asfiksini önleme, tedaviden daha önemli bir konudur. Çünkü olay gerçekleşikten sonra yapılacak şeyler sınırlı olup, etkinlikleri de tartışmalıdır.

Perinatal tanı yöntemleri ile risk faktörlerinin ortadan kaldırılması, risk altındaki bebeğin doğumu anında yeterli bir canlandırma ekibinin bulunması ve iyi bir yoğun bakım sayesinde perinatal asfiksi ve sonuçlarını önlemek mümkün olabilir. Her ne kadar kesin HİE tanısı konmuş bir hastada iyileştirici bir tedavi yöntemi olmasa da, destek tedavisi ve kısmen gelişen olayları önleyici tedavi yöntemleri uygulanmaktadır.

Asfikside gelişen olaylar; özetle, hipoksi, hipotansiyon ve perfüzyon azlığı, substrat ve enerji eksikliği, asidoz, sitotoksik ve vazojenik ödem (eksitatör aminoasit, serbest oksijen radikalleri, Ca iyonu, Nitrik oksit, sitokinler, trombosit aktive edici faktör vs. etkisine bağlı), hücre ölümü ve apoptozis olduğuna göre bunları önleyici tedaviler uygulanmalıdır.

Tedavideki aşamalar; 1. Yeterli ventilasyon ve perfüzyonun sağlanması ve idame ettirilmesi, 2. Hipotansiyon ve dolaşımın düzenlenmesi, 3. Serebral ödeme yönelik tedavi, 4. Konvülziyonlara yönelik tedavi şeklinde sıralanabilir (87).

Prognozu belirleyen en önemli durum, gebelik yaşı ve asfiksini süresidir. 20. dakikada bile Apgar skorunun düşük seyretmesi, spontan solunumun başlamaması

kötü prognoz kriteri olarak kabul edilmektedir. HİE evresi arttıkça prognoz kötüleşmekte ölüm ve sekel oranı artmaktadır. Klinik olarak koma süresinin uzaması, hipotoninin varlığı, tekrarlayan apne ve konvülsiyonların varlığı, renal tutulumu da içine alan multiorgan yetmezliği, nörolojik belirtilerin 2 haftadan uzun sürmesi ile kötü prognoz arasında ilişki kurulmuştur. Laboratuvar verilerinden BOS'ta yüksek laktik asit seviyesinin varlığı, kreatin kinaz-beyin izoenzimi (CPK-BB) seviyelerinde yükseklik olması, ürik asit/kreatinin oranının, nöron spesifik enolazın yüksekliği kötü prognoz işaretleridir. Ayrıca hipoglisemi de prognozu kötüleştirmektedir. Fetal kan örneğinde, düşük pH ve düşük PO₂'nin mevcudiyeti, elektrik fetal monitorizasyonda ve Doppler USG'de serebral akımın düşüklüğü, Teknesyumlu serebral scan'de, BBT ve MR'da geniş hipoksik-iskemik alanların mevcudiyeti, kranial USG'da erken ventrikül dilatasyonunun saptanması; EEG de multipl odakların bulunması ve/veya voltaj supresyonunun bulunması kötü prognoz delilleri olarak kabul edilmektedir (81-84).

Asfiktik yenidoğanlarda eritropoiezis

Asfiksi akut veya kronik olarak meydana gelir ve fetusta hipoksiye neden olur. Hipoksi, Epo üretimini arttırarak eritropoiezisi uyarır ve dolayısıyla oksijen kapasitesi artar. Günümüzde tüm teknik imkanlara rağmen, fetusun maruz kaldığı hipoksinin zamanını, süresini ve şiddetini belirlemede zorluklar mevcuttur. Akut ve kronik hipokside, kord kanında Epo seviyesinin ölçümünün bu konuda faydalı olabileceği öne sürülmüştür (6).

Akut asfiksi oluşturulmuş koyun fetuslarında, Epo seviyesinin hipoksinin 4. ve 5. saatlerinde bazal seviyenin üzerine çıktığı saptanmıştır. Aynı çalışmada fetuslarda belirgin laktik asidemi de olduğu için, Epo üretiminin primer olarak laktik asidozla ilişkili olup olmadığı araştırılmış, laktik asit infüzyonu yapılan fetuslarda Epo seviyesinde bir değişiklik saptanmamıştır (49). Erişkin tavşanlarda da Epo, hipobarik hipoksiye maruz kaldıktan 3-6 saat sonra yükselmeye başladığı, sürekli hipoksiye cevaben serum Epo düzeyinin maksimal seviyeye 24 saat içinde ulaştığı ve daha sonra düşmeye başladığı bildirilmiştir (59).

Kitanaka ve ark.ları (88) kronik hipoksiye maruz kalmış fetal koyunların, bu duruma artmış hemoglobinle ve Epo'de geçici bir yükselmeye cevap verdiklerini saptamışlardır. Bu yükselme hipoksemik dönemin başlangıcından 1 gün sonra başlamış ve 7. günde kontrol grubunda ölçülen seviyenin biraz üzerinde tespit

edilmiştir. Ek olarak, fetal ve neonatal kuzuların erişkinlere göre daha kısa Epo yarılma süresine ve klirensine sahip oldukları belirlenmiştir.

İnsan fetus kord kanında yapılan çalışmalarda, fetal distres altındaki yenidoğanların kord kanlarında Epo seviyesi normal yenidoğanlara göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir (89). Fetusun intrapartum durumunu değerlendirmede elektronik fetal kalp hızı (FKH) monitorizasyonu rutin olarak kullanılmasına rağmen, risk altındaki fetusun tanınmasında bu tekniğin sensitivitesi yüksek, fakat spesifitesi düşüktür. Fetusun hipoksiye Epo yanıtının doğumdan 4 saat önce başlanan FKH takiplerinde kaydedilen anormal sonuçlarla (anormal sonuçlar skorlanmış) olan ilişkisi araştırılmış, en yüksek Epo seviyesinin FKH anormallik şiddeti ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada, FKH skoru yüksek olup, Epo seviyesi normal YD da tespit edilmiştir. Normal saptanmasının muhtemel nedenlerden birisinin; kompensatuar fizyolojik mekanizmaların Epo sentezini uyarmak için gerekli, kritik doku hipoksi seviyesini önlemiş olabileceği, bir diğeri ise Epo sentezinin olabilmesi için gerekli sürenin yeterli olmayabileceğidir, ki bazı hayvan çalışmalarında Epo'ün yükselebilmesi için birkaç saatlik bir süre gerektiği tespit edilmiştir (21).

Akut ve kronik fetal hipoksi sonrası doğan yenidoğanlarda serum Epo'ün erken postnatal değişikliklerinin değerlendirmek için yürütülen bir çalışmada, hastalardan kordon kanı ve doğumdan sonraki ilk 8. saatte alınan kan örneklerinde, Epo'ün polisitemili YD'da ortalama yarılma süresi 2.6 ± 0.5 saat, preeklampsili anne bebeklerinde 3.7 ± 0.9 saat olarak saptanmıştır (22).

Umbilikal venöz kanda Epo konsantrasyonu ve fetal hipoksinin klinik bulguları arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, yüksek Epo konsantrasyonunun uzun süreli fetal hipoksiyi gösterdiği sonucuna varılmıştır. Aynı çalışmada Epo seviyesinin, fetal hipoksi klinik bulgusu olmayan ve umbilikal asidozu olan YD'ı birbirinden ayırmadaki sensitivitesinin %75, spesifitesinin ise %90 olduğu tespit edilmiştir (27).

Maier ve ark.'larının (74) yaptığı bir çalışmada, fetal hipokside umbilikal venöz Epo, umbilikal arteriyel pH ve morfolojik plasental anomaliler arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada fetal Epo'ün birkaç saatlik hipoksi sonrasında üretiminin arttığı ve bunun da eritropoezis artışına neden olduğu tespit edilmiştir. Plasental muayenenin, umbilikal venöz Epo ve umbilikal arterial pH sonuçları ile kombine edildiğinde erken fetal hipoksi hakkında bilgi verebileceği önerilmektedir.

Epo mekonyumlu amniotik sıvısı olan ve olmayan iki YD grubunda incelendiğinde, mekonyumlu amniotik sıvısı olan YD'larda belirgin olarak daha yüksek bulunmuş, aynı çalışmada kord kanı pH'sı, laktat, hipoksantin ile mekonyumun varlığı arasında korelasyon saptanmamıştır. Çalışmacılar, kord kanı pH'sının, laktat ve hipoksantin akut asfiksi göstergesi olduğunu, Epo'in ise kronik asfiksiyi daha iyi yansıttığı sonucuna varmışlardır (90).

Fahnenstich ve ark.'ları (6), akut ve kronik stres gibi farklı hipoksik durumlar altında doğurtulan YD'ların kord kanında Epo miktarını ölçerek, kontrol grubu olarak seçtikleri normal YD'larla karşılaştırmışlardır. Stres altındaki YD'ların kord kanında Epo'in kontrollere göre 5-6 kat daha yüksek olduğunu, fakat bu değerlerin akut ve kronik hipoksi arasında ayırım yapamadığını, çünkü her iki grubun da yüksek Epo değerlerine sahip olduğunu saptamışlardır. Ayrıca yüksek Epo değerlerinin ters etkiyle kendi sentezini azalttığını, bu işlemin birkaç gün sürdüğünü, bu nedenle de kronik stres durumunda Epo'in akut stres durumuna göre daha düşük bulunabileceğini belirtmişler ve çalışmalarında da kronik grubun Epo değerlerini akut gruba göre daha düşük tespit etmişlerdir. Epo değerleri ile Hb, Hct, umbilikal pH ve Apgar skoru arasında korelasyon gözlenmemiş ve sensitivite %59, spesifite %92 olarak hesaplanmıştır (6). Epo seviyesinde artış oluşması için hipoksinin en az 30 dakika sürmesi gerektiği saptanmıştır. Bu bulgular doğum sırasındaki orta şiddette hipoksik uyarının, Epo üretiminin akut artışına sebep olduğu şeklinde yorumlanabilir (24). Stevenson ve ark.'ları (45) tarafından yapılan bir çalışmada da, doğum eyleminin kord plazma Epo seviyesinde artışa neden olduğu saptanmıştır. Widness ve ark.'ları (91) da doğum eylemi sonrasında doğan yenidoğanların, doğum eylemine girmeden sezeryan ile doğanlardan daha yüksek serum kord Epo seviyelerine sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Fetal distres akut veya kronik hipoksi sonucu gelişir. Fetus ve yenidoğan hipoksisi eritropoiezisi uyarır ve buna bağlı olarak da oksijen taşıma kapasitesi artar. Hipoksik uyarının başlamasından ortalama 90 dk. sonra serum Epo seviyesi artar. Epo sentezinin hem karaciğer hem de böbrekte yer alan oksijen durumunu algılayan reseptörler tarafından başlatıldığı sanılmaktadır. Epo üretiminin karaciğerden

böbreğe geçişi gebelik yaşına bağlıdır. Epo üretiminin miktarı da yine fetusun maturasyonu ile ilişkilidir. (24).

Sonuç olarak; çalışmacılar kord kanında Epo için güvenilir referans değerlerinin oluşturulmasının oldukça güç olduğunu, çünkü fetal distres için tipik biokimyasal parametre olan arteriyal kan gazlarının sürekli ölçülmesi gerektiğini vurgulamışlar ve bunun pratik olmadığını belirtmişlerdir (6).

Son yıllarda eritroblastların kordon kanındaki miktarı ve periferden kaybolma süresi ile asfiksiniin tipi ve/veya asfiktik uyarının zamanı ve prognozunun belirlenmesi konusunda yoğun çalışmalar yürütülmektedir (5).

İlk kez Anderson ve ark.'ları (92) erken ve geç düşük olgularında, term, preterm ve problemlı gebelerden doğan bebeklerde kordon kanından yapılan periferik yaymada çekirdekli eritrosit saymışlar, ayrıca çalışmaya katılan tüm gebelerin plasentalarını da incelemişlerdir. Erken ve geç düşük olgularında, preterm YD'larda, term YD'larda sırasıyla ortalama 100 lökosit karşılık 101, 21, 7.3 çekirdekli eritrosit tespit etmişlerdir. İntrauterin ölümlerde ve doğduktan sonraki ilk 10 gün içinde ölen, şiddetli solunum sıkıntısı olan, konjenital anomalili YD'larda daha yüksek değerler gözlemişlerdir. Bu konuda sonraki yıllarda daha detaylı planlanmış çalışmalar olmamasına rağmen, kısıtlı sayıda akut ve kronik hipoksik bebekte yüksek sayıda çekirdekli eritrosit varlığını saptayan yayınlar mevcuttur (93).

Günümüzde çekirdekli eritrosit sayısının, hipoksiden ve beyin hasarı oluşturan iskemiden sonraki 2 saat içinde mm^3 'te 2000 ve daha fazla arttığı ve 24-36 saatte normale döndüğü saptanmış, periferden kaybolma süresinin uzun olmasının prognozla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (5,18,19,94). Ayrıca kısa süreli asfiksidede çekirdekli eritrosit sayısının, uzun süre hipoksiye maruz kalan fetuslara göre daha az arttığı, periferde daha kısa süre kaldıkları gözlenmiştir (18). Phelan ve ark.'ları asfiktik term YD'ların, retrospektif olarak FKH paternlerini ve çekirdekli eritrosit sayılarını inceledikleri çalışmalarında, hastaneye gelmeden önce persistan non-reaktif FKH olan grupta, taşikardisi olan gruptaki YD'ların normale yakın sayıda çekirdekli eritrosite sahip oldukları, buna karşılık gelişte akut reaktif olup, daha sonra doğuma kadar uzamış deselerasyonu olan grupta ise normoblast sayısının normalden yüksek olduğunu saptamışlardır.

Yapılan bazı çalışmalarda klinik ve histolojik korioamnionitli preterm yenidoğanlarda da çekirdekli kırmızı kan hücrelerinin arttığı saptanmış, bu artışın fetal doku hipoksisine değil, enflamasyona karşı bir cevap olabileceği öne sürülmüştür (15).



GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Temmuz 1998 ve Nisan 1999 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı veya çevre bölge hastanelerinde doğan ve doğumdan sonraki ilk 12 saat içerisinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yenidoğan Servisine sevk edilen 67 riskli bebekte gerçekleştirildi. Kontrol grubunu Üniversite Hastanemizde spontan vajinal yolla ve sezeryan ile doğan yenidoğan 37 term bebek oluşturdu. Tüm olguların ailelerine bilgi verilerek izinleri alındı.

Çalışma Grupları için çalışmaya alınma kriterleri

Hastanemizde doğan veya çevre hastanelerden ünitemize sevk edilmiş tüm riskli bebekler, annelerin detaylı gebelik anamnezi, kan grubu ve tam kan sayımları ile birlikte olguların kan grubu, direkt Coombs testleri değerlendirilerek, Rh sensitizasyonu, ABO uygunsuzluğu, direkt Coombs testi pozitifliği, fetal anemi, majör konjenital anomali, dismorfik yüz görüntüsü ve intrauterin enfeksiyonu tespit edilenler dışında çalışma grubuna alındı. Çalışma grubu 4 alt gruba ayrıldı.

Grup 1: Lubchenco eğrisi üzerinde gebelik yaşına göre 10. persentilin altında olan (SGA) yenidoğarlardan oluştu (72). Bu grupta 14 olgu vardı.

Grup 2: Annenin son adet tarihine göre ve/veya doğduktan sonra uygulanan Dubowitz skorlama (78) yöntemine göre 37 hafta + 6 günden önce doğan ve gebelik haftalarına uygun tartıya sahip 25 preterm yenidoğandan oluştu.

Grup 3: 1. dakika Apgar skoru <3 , 5. dakika Apgar skoru ≤ 6 , erken neonatal dönemde hipoksik iskemik ensefalopati bulguları bulunan veya bu dönemde multiorgan yetmezliği olan 18 asfiktik yenidoğanı içerdi.

Grup 4: Ulusal diabet bilgi toplama grubu'nun sınıflamasına göre gestasyonel diabetli, Tip 1 ve Tip 2 diabetli annelerden doğan 12 yenidoğanı içerdi (65).

Kontrol Grubu için çalışmaya alınma kriterleri

- 1) Normal gebeliğe sahip annelerden doğan bebekler;
 - a) Annenin 18- 35 yaş arası olması,
 - b) Anemisinin (gebelik sırasında hematokritin $<30\%$ veya hemoglobinin <10 gr/dl) olmaması,
 - c) Hipertansiyonunun (gebelik sırasında bir defadan fazla diastolik kan basıncının >90 mm Hg) olmaması,
 - d) Sigara içmemesi,
 - e) Kan grup uygunsuzluğunun, proteinüri ($>1+$ Labstix ile) ve glüközürü ($>1+$ Labstix ile) olmaması,
 - f) Kronik bir hastalığının olmaması.
- 2) Gebelik haftasının >37 hafta +6 gün olması,
- 3) Doğum tartısı >2500 gr olması,
- 4) Apgar skorunun 1. ve 5. dakikalarda ≥ 7 olması,
- 5) Bebeğin anemisinin olmaması (hemotokrit > 45),
- 6) İntrapartum fetal kalp hızı paterninin normal olması,
- 7) Amnion sıvısının mekonyumlu olması,
- 8) Taburcu olurken nörolojik muayenesinin normal olması koşulları arandı.

Kontrol grubu doğum şekline göre iki alt gruba ayrıldı.

Grup 5: Sezeryan sonucu doğan term yenidoğanlardan,

Grup 6: Normal spontan vajinal (NSV) yolla doğan term yenidoğanlardan oluşturuldu.

Olguların takibi ve değerlendirilmesi

Tüm olguların cinsiyet, doğum ağırlığı, boy uzunluğu, doğum tipi, gebelik yaşı (son adet tarihine veya Dubowitz skorlamasına göre), gebelik yaşına göre tartı durumu, Apgar skorları, anne ve bebeğe ait risk faktörleri [aktif sigara içimi, preeklampsi (diastolik TA ≥ 90 mmHg, proteinüri ve ödem varlığı) ve erken membran

rüptürü (≥ 24 saat)], asfiktik bebeklerin HİE evresi (Sarnat&Sarnat'a göre) ve prognoz (tam şifa, minör veya majör sekel ve ölüm) açısından veriler kaydedildi.

Çalışma grubundaki olgular (Grup 1, 2, 3, 4) taburcu olana kadar her gün, taburcu olduktan sonra 3. ve 6. aylarda özellikle nörolojik bulgular açısından klinik değerlendirilmeye tabi tutuldular. Ailenin getirmemesi, göç, başka tedavi kurumlarından takip edilme gibi sebeplerle izlenemeyen olguların sonuçları yapılan en son fizik muayene ve tetkiklere göre değerlendirildi. Tanı ve izlemede yardımcı olarak Denver Gelişimsel Tarama Testi (DGTT), BBT gibi yöntemler uygulandı. Kontrol grubundaki olgulara hastanede kaldıkları sürece klinik değerlendirme yapıldı ve 3. ve 6. aylarda DGTT tabi tutuldular.

Örneklerin alınması ve çalışılması

Grup 1, 2, 3 ve 4 . gruptaki olguların tümünden kan örnekleri ilk 12 saatte ve 3. günde alınırken, 7. günlük kan örnekleri ölenler ve istenilen tarihte kontrole gelmeyen olgular dışındakilerden alınabildi. Grup 5 ve 6'daki olguların tümünden kan örnekleri ilk 12 saatte, 3. ve 7. günlerde alındı. Tam kan sayımı, retikülosit sayısı, periferik yayma değerlendirmesi, direkt Coombs ve kan grubu tayini ve Epo düzeylerinin belirlenmesi için ilk venöz kan örnekleri alındı. İkinci ve üçüncü kan örnekleri ise, riskli gruplarda tam kan sayımı, Epo düzeylerinin belirlenmesi, retikülosit sayımı ve periferik yayma değerlendirmesi için, kontrol gruplarında ise yalnızca Epo düzeylerinin tayini, retikülosit sayımı ve periferik yayma değerlendirmesi için alındı.

Tam kan sayımı için periferik venden EDTA'lı tüplere 2cc kan toplandı ve otomatik sayıcıda (Medanic CA 610) sayım gerçekleştirildi. Retikülosit sayımı; eşit miktarda kan ve kristal viyole karıştırılıp 15 dakika bekletildikten sonra immersiyon mikroskopunda 1000 eritrosit içerisindeki retikülosit sayısı saptanarak oranı hesaplandı. Direkt Coombs ve kan grubu hematoloji laboratuvarında sırasıyla antiglobulin test ve lam yöntemi ile çalışıldı.

Çekirdekli eritrosit sayımı için periferik yayma May-Grünwald-Giemsa metodu ile boyanarak, hastaların hangi gruptan olduğunu bilmeyen bir hematolojist tarafından 100 lökosit içerisindeki çekirdekli eritrosit sayısı belirlendi ve bu sayı lökosit sayısından çıkarılarak beyaz küre sayısı düzeltildi (Düzeltilmiş lökosit = Total

Lökosit x 100/(çekirdekli eritrosit + 100). Mutlak çekirdekli eritrosit sayısı: düzeltilmiş lökosit x 100 lökosit karşılık tespit edilen çekirdekli eritrosit olarak belirlendi.

Eritropoietin için 3 ml venöz kan, kuru tübe alınarak,30-35 dakika oda sıcaklığında pıhtılaşması beklendikten sonra 3500 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve -20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Tüm kanlar toplandıktan sonra, Epo seviyeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı laboratuvarında "Solid-faz Chemiluminescent Enzim Immunoassay" yöntemi ile IMMULITE® EPO (Diagnostic System Laboratories, Los Angeles) kit'i kullanılarak, çalışma prensiplerine uygun şekilde ölçüldü (kit Trakya Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından karşılandı). Bu yöntem, diğer yöntemlere göre daha az hata payına sahip olması, radyoaktif madde gerekmemesi ve daha ucuz olması nedeniyle tercih edilmiştir (95). Kullanılan kitin en düşük ölçebildiği miktar 0.24 mU/ml, intraassay değişikliği 37 mU/mL için %7.2'dir.

Tüm olgular demografik veriler, tam kan sayımları, retikülosit sayıları, serum Epo değerleri ve çekirdekli eritrosit sayıları açısından karşılaştırıldı.

İstatistiksel değerlendirme

Değerler, ortalama \pm standart sapma (SD) olarak verildi. Parametrelerin karşılaştırılmasında "Student-Newman-Keuls, Duncan veya oneway ANOVA (non-parametric Kruskal-Wallis test) sonrası post-hoc testleri ve iki parametre arasındaki ilişkiyi ortaya koymada ise "Spearman Korelasyon Testi" kullanıldı. Serum Epo değerleri ve çekirdekli eritrosit sayıları ile 1. ve 5. Apgar değerleri, gebelik yaşı, doğum şekli, annenin hipertansif olup olmadığı ve annenin sigara kullanımı arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için stepwise lineer regresyon analizi yapıldı. Eritropoietin konsantrasyonlarının ve çekirdekli eritrosit sayılarının dağılımlarını normalize etmek için, ANOVA ve korelasyon testleri öncesinde değerlere **log transformasyonu** uygulandı. İstatistiksel veriler "p" değeri 0.05'in ($p < 0.05$) altında olması halinde anlamlı kabul edildi. Tüm hesaplamalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Bilgi İşlem'de SPSS 8.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı (lisans numarası; 30774 68082 95980 31212 68891 2712).

BULGULAR

Çalışma gruplarını Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı veya çevre bölge hastanelerinde doğan ve doğumdan sonraki ilk 12 saat içerisinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yenidoğan servisine sevk edilen 14 SGA (Grup 1), 25 prematür (Grup 2), 18 asfiktik YD (Grup 3) ve 12 diabetik anne çocuğu (Grup 4) oluşturdu. Kontrol gruplarına Üniversite Hastanemizde sezeryan doğum ile doğan 19 (Grup 5) ve spontan vajinal yolla doğan 18 (Grup 6) yenidoğan term bebek alındı. Tüm olguların (n = 106) demografik özellikleri Tablo VII A ve B'de gösterilmiştir.

Grup 1'deki olguların 5'i (%36) erkek, 9'u (%64) kız, Grup 2'deki olguların 13'ü (%52) erkek, 12'i (%48) kız, Grup 3'teki olguların 10'u (%56) erkek, 8'i (%44) kız, Grup 4'teki olguların 9'u (%75) erkek, 3'ü (%25) kız, Grup 5'teki olguların 10'u (%53) erkek, 9'u (%47) kız, Grup 6'daki olguların 5'i (%28) erkek ve 13'ü (%72) kızdı. Olgular, cinsiyet bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Olguların ortalama gebelik yaşları Grup 1'de 36.6 ± 3.1 , Grup 2'de 33.8 ± 2.2 , Grup 3'te 39.1 ± 1 , Grup 4'te 36.6 ± 2.8 , Grup 5'te 39.3 ± 1 , Grup 6'da 39.3 ± 0.8 hafta idi. Gruplar arasında Grup 2 en küçük gebelik yaşına, Grup 3, 5 ve Grup 6 benzer ve en büyük gebelik yaşına sahiptiler ($p < 0.0001$). Gruplardaki ortalama doğum ağırlıkları sırasıyla 1752 ± 495 , 1816 ± 415 , 3218 ± 567 , 3329 ± 793 , 3422 ± 386 , 3569 ± 387 gramdı. Grup 1 ve Grup 2'deki olgular diğer gruplardaki olgulara göre en düşük doğum tartısına sahiptiler ($p < 0.0001$). Olguların gebelik yaşına göre doğum ağırlığı incelendiğinde Grup 1'deki olguların tümü SGA (2'si simetrik, 12'si asimetrik), Grup 2'deki olguların tümü AGA, Grup 3'teki olguların 1'i (%6) SGA (asimetrik), 16'sı (%89) AGA ve 1'i (%6) LGA, Grup 4'teki olguların 6'sı (%50) AGA,

6'sı (%50) LGA, Grup 5'teki olguların 17'si (%90) AGA, 2'si (%10) LGA ve Grup 6'daki olguların 15'i (%83) AGA, 3'ü (%17) LGA idi.

Olguların anne yaş ortalamaları sırasıyla 25.8 ± 2.9 , 24 ± 4.7 , 25.9 ± 5.3 , 29.6 ± 7.8 , 27.3 ± 5.2 , 27.7 ± 4.6 idi. Grup 2'deki anne yaş ortalaması en küçük, Grup 4'de anne yaş ortalaması en büyük olarak tespit edilmiştir ($p < 0.049$). Serum Epo düzeyini ve çekirdekli eritrosit sayısını intrapartum etkileyebilecek risk faktörleri olarak annenin sigara içmesi ve tansiyon arteriyal ölçümleri sorgulanmış, maternal sigara içimi Grup 1'de 5 (%36), Grup 2'de 6 (%24), Grup 3'te 1 (%6), Grup 4'te 1 (%8) vakada saptanmıştır. Tansiyon arteriyal durumları incelendiğinde Grup 1'deki gebelerin 8'i (%57), Grup 2'dekilerin 5'i (%20), Grup 4'tekilerin 2'si (%17) hipertansif olarak tespit edilmiş, hipertansif gebelerden 2'si (Grup 2'den 1 ve Grup 4'ten 1 gebe) dışındakiler preeklampatik olarak değerlendirilmişlerdir. Grup 1'deki hipertansif gebe oranı diğer gruplara göre daha fazlaydı ($p = 0.001$) Grup 5 ve 6'da çalışmaya alınma kriterleri nedeniyle gebelerin hiçbiri sigara içmiyordu ve tansiyon arteriyelleri normal sınırlardaydı. Grup 4'teki diabetik gebelerden 2'si Tip I DM, diğer 10'u gestasyonel DM'tu.

Doğum şekilleri açısından olgular incelendiğinde Grup 1'deki 7 olgu (%50) seksiyö, 7 olgu (%50) NSV, Grup 2'deki 16 olgu (%64) seksiyö, 9 olgu (%36) NSV, Grup 3'teki 7 olgu (%39) seksiyö, 11 olgu (%61) NSV, Grup 4'teki 9 olgu (%75) seksiyö, 3 olgu (%25) NSV, Grup 5'teki tüm olgular seksiyö, Grup 6'daki tüm olgular da NSV yolla doğurtulmuştu. Çalışma grupları arasında doğum şekilleri açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu. Erken membran rüptürü (EMR) Grup 1,4 ve 6'da olguların hiç birinde mevcut değilken, Grup 3'te 1 (%6)olguda, Grup 5'te 2 (%10) olguda ve Grup 2'de 6 (%24)olguda saptandı.

Olguların doğumdaki Apgar skorları değerlendirildiğinde, 1. dakika Apgar skoru ortalaması [ortancası (minimum - maksimum)] sırasıyla, 7.3 ± 0.7 [7 (6-8)], 5.8 ± 2.2 [6 (1-8)], 1.8 ± 0.9 [1.5 (1-4)], 7.0 ± 1.6 [8 (3-8)], 7.2 ± 1.6 [8 (3-8)] ve 7.7 ± 0.7 [8 (6-8)], 5. dakika Apgar skoru ortalaması sırasıyla 8.8 ± 0.7 [9 (7-10)], 7.9 ± 1.6 [9 (2-9)], 5.1 ± 1.3 [6 (2-6)], 8.8 ± 0.9 [9 (6-10)], 9.0 ± 0.9 [9 (6-10)] ve 8.9 ± 0.2 [9 (8-9)] idi. Gruplar arasında 1. ve 5. dakika Apgar skorları açısından Grup 3'ten kaynaklanan istatistiksel fark mevcuttu ($p < 0.0001$).

Asfiktik gruptaki olguların 11'i (%61) HİE Evre I, 6'sı (%33) Evre II ve 1'i (%6) Evre III olarak değerlendirildi. Gruplar arasında prognoz incelendiğinde Grup 1'deki 9 olgu (%64) şifa, 1 olgu (%7) ölüm ile sonuçlanırken 4 (%29) olgunun takiplere gelmediği saptandı. Grup 2'de 19 olgu (%76) şifa, 1 olgu (%4) sekel, 2 olgu (%8) ölüm ve 3 olgu (%12) takiplere gelmezken, Grup 3'te 8 olgu (%44) şifa, 4 olgu (%23) sekel, 2 olgu (%11) ölüm ve 4 olgu (%23) takiplere gelmedi. Grup 4'te ise 9 olgu (%75) şifa ile iyileşirken, 3 olgu (%25) takiplere gelmedi. Grup 5 ve 6'daki tüm olgular takiplere geldi ve gelişimleri normaldi. Gruplar prognoz açısından değerlendirildiklerinde Grup 3'te diğer gruplara göre daha fazla sekel ve ölüm oranı mevcuttu ($p=0.0015$) (Tablo VIIA ve VIIB).

Kan Örneklerinin Sonuçları

Tam Kan Sayımının Değerlendirilmesi

İlk 12 saat içinde alınan birinci kan örneğinde, eritrosit sayıları Grup 1'de $4.321.430 \pm 1.257.070 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $4.361.600 \pm 547.820 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $4.554.445 \pm 431.350 /\text{mm}^3$, Grup 4'te $4.625.830 \pm 540.000 /\text{mm}^3$, Grup 5'te $4.395.790 \pm 565.855 /\text{mm}^3$, Grup 6'da $4.408.330 \pm 312.770 /\text{mm}^3$ olarak saptandı. Gruplar arasında, ilk 12 saatte eritrosit sayıları açısından istatistiksel olarak fark saptanmadı. İkinci kan örneğindeki eritrosit sayıları, Grup 1'de $4.542.500 \pm 640.000 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $4.772.105 \pm 724.000 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $4.567.272 \pm 579.138 /\text{mm}^3$, Grup 4'te $4.966.000 \pm 174.000 /\text{mm}^3$ idi. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu. Üçüncü kan örneklerindeki eritrosit sayıları, Grup 1'de $4.417.500 \pm 592.518 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $4.497.000 \pm 655.415 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $4.038.000 \pm 563.000 /\text{mm}^3$ ve Grup 4'te $5.106.666 \pm 50.332 /\text{mm}^3$ olarak saptandı. Çalışma grubunda, üçüncü örneklerdeki eritrosit sayıları benzer tespit edildi.

Gruplar Hb değerleri açısından incelendiğinde; ilk örneklerdeki Hb değerleri Grup 1'de $17.95 \pm 1.8 \text{ g/dl}$, Grup 2'de $16.2 \pm 2 \text{ g/dl}$, Grup 3'te $16.4 \pm 1.9 \text{ g/dl}$, Grup 4'te $16 \pm 1.4 \text{ g/dl}$, Grup 5'te $15.3 \pm 1.6 \text{ g/dl}$, Grup 6'da $15.8 \pm 1.4 \text{ g/dl}$ olarak saptandı. Grup 1'in Hb değerinin diğerlerinden daha yüksek olması nedeniyle gruplar arasında istatistiksel farklılık tespit edildi ($p=0.007$). İkinci örneklerde Hb değerleri sırasıyla $17.2 \pm 1.6 \text{ g/dl}$, $16.3 \pm 4.5 \text{ g/dl}$, $16.4 \pm 1.8 \text{ g/dl}$ ve $16.3 \pm 0.7 \text{ g/dl}$ bulundu ve gruplar

arasında istatistiksel farklılık saptanmadı. Üçüncü örneklerdeki Hb değerleri de sırasıyla 16.7 ± 2 g/dl, 16.0 ± 1.2 g/dl, 14.3 ± 2.5 g/dl ve 16.5 ± 0.7 g/dl idi. Riskli gruplardaki üçüncü örneklerde saptanan Hb değerleri arasında da farklılık tespit edilmedi.

Tablo VII: Olgu gruplarının demografik özellikleri

Tablo VIIA: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'ün demografik özellikleri

	Grup 1 (n = 14)	Grup 2 (n = 25)	Grup 3 (n = 18)
Cinsiyet (Erkek)*	5 (36)	13 (52)	10 (56)
Gebelik Yaşı** (hafta)	36.6 ± 3.1	33.8 ± 2.2^a	39.1 ± 1
Doğum Tartısı**	1752 ± 495^b	1816 ± 415^b	3218 ± 567
AGA/SGA/LGA	- /14/ -	25/ - / -	16/1/1
Anne Yaşı**	25.8 ± 2.9^c	24 ± 4.7	25.9 ± 5.3
Maternal HT*	8 (57) ^d	5 (20)	0
Maternal Sigara İçimi*	5 (36)	6 (24)	1 (5.6)
Doğum Şekli (NSV)*	7 (50)	9 (36)	11 (61)
Apgar 1**/***	7.3 ± 0.7 7 (6-8)	5.8 ± 2.2 6 (1-8)	1.8 ± 0.9^e 1.5 (1-4)
Apgar 5**/***	7.3 ± 0.7 9 (7-10)	7.9 ± 1.6 9 (2-9)	5.1 ± 1.3^f 6 (2-6)
EMR*	-	6 (24)	1 (6)
Prognoz*			
Şifa	9 (64)	19 (76)	8 (44) ^g
Sekel	-	1 (4)	4 (22)
Ölüm	1 (7)	2 (8)	2 (11)
Ulaşılamayan	4 (29)	3 (12)	4 (23)

*olgu sayısı (%)

** ortalama \pm SD

*** ortanca (min-max)

^a Grup 2 vs Grup 1,3,4,5,6 (p<0.001)

^b Grup 1,2 vs Grup 3,4,5,6 (p<0.001)

^c Grup 2 vs Grup 4 (p<0.049)

^d Grup 1 vs Grup 2,3,4 (p=0.001)

^e Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p<0.001)

^f Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p<0.0001)

^g Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.0015)

Tablo VIIB: Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın demografik özellikleri

	Grup 4(n = 12)	Grup 5(n = 19)	Grup 6(n = 18)
Cinsiyet (Erkek)*	9 (75)	10 (53)	5 (28)
Gebelik Yaşı** (hafta)	36.6 ± 2.8	39.3 ± 1	39.3 ± 0.8
Doğum Tartısı**	3329 ± 793	3422 ± 386	3569 ± 387
AGA/SGA/LGA	6/ - /6	17/ - /12	15/ - /12
Anne Yaşı**	29.6 ± 7.8 ^c	27.3 ± 5.2	27.7 ± 4.6
Maternal HT*	2 (17)	0	0
Maternal Sigara İçimi*	1 (8)	0	0
Doğum Şekli (NSV)*	3 (25)	0	18 (100)
Apgar 1**/***	7.0 ± 1.6 8 (3-8)	7.2 ± 1.6 8 (3-8)	7.7 ± 0.7 8 (6-8)
Apgar 5**/***	8.8 ± 0.9 9 (6-10)	9.0 ± 0.9 9 (6-10)	8.9 ± 0.2 9 (8-9)
EMR*	-	2 (10)	-
Prognoz*			
Şifa	9 (75)	19 (100)	18 (100)
Sekel	-	-	-
Ölüm	-	-	-
Ulaşılamayan	3 (25)	-	-

*olgu sayısı (%)

** ortalama ± SD

*** ortanca (min-max)

^a Grup 2 vs Grup 1,3,4,5,6 (p<0.001)^b Grup 1,2 vs Grup 3,4,5,6 (p<0.001)^c Grup 2 vs Grup 4 (p<0.049)^d Grup 1 vs Grup 2,3,4 (p=0.001)^e Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p<0.001)^f Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p<0.0001)^g Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.0015)

Grupları Hct değerleri açısından incelediğimizde, ilk Hct değerleri Grup 1'de % 52.4 ± 5.6, Grup 2'de % 46.7 ± 5.6, Grup 3'te % 47.6 ± 5.4, Grup 4'te 47.8 ± 5.1, Grup 5'te % 45.5 ± 5.3, Grup 6'da % 45.9 ± 3.8 olarak tespit edildi. Gruplar arasında Grup 1'den kaynaklanan istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu (p=0.013). İkinci örneklerdeki Hct değerleri sırasıyla % 50.1 ± 4.4, % 48.8 ± 7, % 47.5 ± 4.9 ve % 48.8 ± 1.8 idi. Olguların üçüncü Hct değerleri de sırasıyla % 48.9 ± 6, % 45 ± 5.5, % 43.4 ± 6.4 ve % 48.6 ± 2.3 tespit edildi. Risk gruplarının ikinci ve üçüncü Hct değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Gruplar lökosit sayıları bakımından değerlendirildiğinde, ilk örneklerdeki lökosit sayıları Grup 1'de $14.750 \pm 6.460 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $12.316 \pm 4.737 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $18.994 \pm 7.000 /\text{mm}^3$, Grup 4'te $17.058 \pm 7.030 /\text{mm}^3$, Grup 5'te $13.042 \pm 2.810 /\text{mm}^3$ ve Grup 6'da $15.870 \pm 5.417 /\text{mm}^3$ idi. Gruplar arasında Grup 3'ten kaynaklanan istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0.005$). Riskli grupların ikinci örneklerdeki lökosit sayıları sırasıyla $9.390 \pm 4.840 /\text{mm}^3$, $11.160 \pm 3.650 /\text{mm}^3$, $13.780 \pm 4.847 /\text{mm}^3$ ve $13.260 \pm 4.430 /\text{mm}^3$ saptandı. Grup 1, 2, 3 ve 4 arasında Grup 3'ten kaynaklanan istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.045$). Olguların üçüncü örneklerdeki lökosit sayıları da sırasıyla $9.025 \pm 2.400 /\text{mm}^3$, $13.135 \pm 7.950 /\text{mm}^3$, $10.780 \pm 5.920 /\text{mm}^3$ ve $9.040 \pm 2.480 /\text{mm}^3$ idi ve gruplar arasında üçüncü lökosit sayıları bakımından anlamlı farklılık yoktu.

Çekirdekli eritrositler, tam kan sayımında lökositlerle birlikte sayıldıklarından, lökosit sayılarının düzeltilmesi gereklidir. Bununla birlikte, çekirdekli eritrositler ilk 24 saatten sonra hızla azaldıkları için düzeltme 3. ve 7. günde saptanan lökosit sayılarına yapılmamıştır. Olguların düzeltilmiş lökosit sayıları Grup 1'de $12.296 \pm 5.778 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $10.076 \pm 3.905 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $17.605 \pm 6.557 /\text{mm}^3$, Grup 4'te $13.686 \pm 4.194 /\text{mm}^3$, Grup 5'te $12.939 \pm 2.887 /\text{mm}^3$ ve Grup 6'da $15.451 \pm 5.336 /\text{mm}^3$ olarak hesaplandı. Gruplar arasında yine Grup 3'ten kaynaklanan anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0.0002$).

Olgular trombosit sayıları açısından değerlendirildiğinde, ilk örnekteki trombosit sayıları Grup 1'de $176.500 \pm 74.787 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $231.800 \pm 117.322 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $231.000 \pm 90.870 /\text{mm}^3$, Grup 4'te $208.083 \pm 78.823 /\text{mm}^3$, Grup 5'te $254.105 \pm 75.635 /\text{mm}^3$ ve Grup 6'da $233.944 \pm 73.101 /\text{mm}^3$ idi. Gruplar arasında farklılık yoktu. Riskli grupların ikinci örneklerindeki trombosit sayıları Grup 1'de $125.080 \pm 62.636 /\text{mm}^3$, Grup 2'de $200.315 \pm 89.018 /\text{mm}^3$, Grup 3'te $234.363 \pm 112.110 /\text{mm}^3$ ve Grup 4'te $214.800 \pm 61.787 /\text{mm}^3$ olarak tespit edildi. Gruplar arasında Grup 1 en düşük ve Grup 3 ise en yüksek trombosit sayısına sahip olduğundan 2. değerlerde anlamlı farklılık saptandı ($p=0.027$). Üçüncü örneklerdeki trombosit sayıları ise sırasıyla $198.625 \pm 118.757 /\text{mm}^3$, $264.062 \pm 133.963 /\text{mm}^3$, $214.200 \pm 118.032 /\text{mm}^3$ ve $253.666 \pm 108.518 /\text{mm}^3$ idi ve gruplar arasında

istatistiksel farklılık yoktu. Tablo VIIIA ve VIIIB'de grupların tam kan sayımı sonuçlarının değerlendirilmesi gösterilmektedir.

Tablo VIII: Olguların tam kan sayımı sonuçları

Tablo VIIIA: Grup 1, 2 ve 3'teki olguların tam kan sayımı sonuçları*

	Grup 1 (n = 14)	Grup 2 (n = 25)	Grup 3 (n = 18)
Eritrosit Sayısı ¹ (/mm ³)	4.321.430 ± 1.257.070	4.361.600 ± 547.820	4.554.445 ± 431.350
Eritrosit Sayısı ² (/mm ³)	4.542.500 ± 640.376	4.772.105 ± 724.000	4.567.272 ± 579.138
Eritrosit Sayısı ³ (/mm ³)	4.417.500 ± 592.518	4.497.000 ± 655.415	4.038.000 ± 563.000
Hb miktarı ¹ (g/dl)	17.95 ± 1.8 ^a	16.2 ± 2	16.4 ± 1.9
Hb miktarı ² (g/dl)	17.2 ± 1.6	16.3 ± 4.5	16.4 ± 1.8
Hb miktarı ³ (g/dl)	16.7 ± 2	16.0 ± 1.2	14.3 ± 2.5
Hct ¹ (%)	52.4 ± 5.6 ^b	46.7 ± 5.6	47.6 ± 5.4
Hct ² (%)	50.1 ± 4.4	48.8 ± 7	47.5 ± 4.9
Hct ³ (%)	48.9 ± 6	45 ± 5.5	43.4 ± 6.4
Lökosit ¹ (/mm ³)	14.750 ± 6.460	12.316 ± 4.737	18.994 ± 7.000 ^c
Lökosit ² (/mm ³)	9.390 ± 4.840	11.160 ± 3.650	13.780 ± 4.847 ^d
Lökosit ³ (/mm ³)	9.025 ± 2.400	13.135 ± 7.950	10.780 ± 5.920
Düzeltilmiş lökosit (/mm ³)	12.296 ± 5778	10.076 ± 3.905	17.605 ± 6.557 ^e
Trombosit ¹ (/mm ³)	176.500 ± 74.787	231.800 ± 117.322	231.000 ± 90.870
Trombosit ² (/mm ³)	125.080 ± 62.636 ^f	200.315 ± 89.018	234.363 ± 112.110
Trombosit ³ (/mm ³)	198.625 ± 118.757	264.062 ± 133.963	214.200 ± 118.032

* ortalama ± SD

^a Grup 1 vs Grup 2,3,4,5,6 (p=0.007)

^b Grup 1 vs Grup 2,3,4,5,6 (p=0.013)

^c Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.005)

^d Grup 3 vs Grup 1,2,4 (p=0.045)

^e Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.0002)

^f Grup 1,4 vs Grup 2,3 (p=0.027)

Tablo VIII B: Grup 4, 5 ve 6'daki olguların tam kan sayımları*

	Grup 4 (n = 12)	Grup 5 (n = 19)	Grup 6 (n = 18)
Eritrosit Sayısı ¹ (/mm ³)	4.625.830 ± 540.000	4.395.790 ± 565.855	4.408.330 ± 312.770
Eritrosit Sayısı ² (/mm ³)	4.966.000 ± 173.580	-	-
Eritrosit Sayısı ³ (/mm ³)*	5.106.666 ± 50.332	-	-
Hb miktarı ¹ (g/dl)	16 ± 1.4	15.3 ± 1.6	15.8 ± 1.4
Hb miktarı ² (g/dl)	16.3 ± 0.7	-	-
Hb miktarı ³ (g/dl)	16.5 ± 0.7	-	-
Hct ¹ (%)	47.8 ± 5.1	45.5 ± 5.3	45.9 ± 3.8
Hct ² (%)	48.8 ± 1.8	-	-
Hct ³ (%)	48.6 ± 2.3	-	-
Lökosit ¹ (/mm ³)	17.058 ± 7.030	13.042 ± 2.810	15.870 ± 5.417
Lökosit ² (/mm ³)	13.260 ± 4.430	-	-
Lökosit ³ (/mm ³)	9.040 ± 2.480	-	-
Düzeltilmiş lökosit(/mm ³)	13.686 ± 4194	12.939 ± 2.887	15.451 ± 5.336
Trombosit ¹ (/mm ³)	208.083 ± 78.823	254.105 ± 75.635	233.944 ± 73.101
Trombosit ² (/mm ³)	214.800 ± 61.787 ^f	-	-
Trombosit ³ (/mm ³)	253.666 ± 108.518	-	-

* ortalama ± SD

^a Grup 1 vs Grup 2,3,4,5,6 (p=0.007)^b Grup 1 vs Grup 2,3,4,5,6 (p=0.013)^c Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.005)^d Grup 3 vs Grup 1,2,4 (p=0.045)^e Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.0002)^f Grup 1,4 vs Grup 2,3 (p=0.027)

Retikülosit sayısı, Çekirdekli eritrosit sayısı ve serum Epo seviyelerinin değerlendirilmesi

Retikülosit sayısı

İlk örneklerdeki retikülosit sayıları Grup 1'de % 5.7 ± 2.0 , Grup 2'de % 7.6 ± 2.5 , Grup 3'te % 6.5 ± 3.6 , Grup 4'te % 7.7 ± 2.6 , Grup 5'te % 4.9 ± 2.3 ve Grup 6'da % 5.1 ± 2.2 idi. Gruplar arasında Grup 2 ve Grup 4'ten kaynaklanan belirgin farklılık mevcuttu ($p=0.001$). İkinci örneklerdeki retikülosit sayıları Grup 1'de % 4.5 ± 3.1 , Grup 2'de % 5.6 ± 3.5 , Grup 3'te % 5.5 ± 3.5 , Grup 4'te % 6.3 ± 1.6 , Grup 5'te % 3.0 ± 1.2 ve Grup 6'da % 3.4 ± 1.3 saptandı ve Grup 2,3 ve 4'ün retikülosit sayılarının diğer gruplara göre yüksek seyretmesi nedeniyle, gruplar arasında belirgin farklılık tespit edildi ($p=0.006$). Üçüncü örneklerdeki retikülosit sayıları ise sırasıyla % 0.8 ± 0.5 , % 1.2 ± 0.7 , % 1.4 ± 1.3 , % 1.7 ± 1.9 , % 0.9 ± 0.4 ve % 0.9 ± 0.6 idi ve gruplar arasında üçüncü retikülosit sayımları bakımından anlamlı farklılık yoktu. Beklendiği gibi, retikülosit sayıları zaman içinde tedrici olarak düşmüştü. Retikülosit sayılarında günler içerisindeki değişiklikler Şekil 6 A ve B'de gösterilmektedir.

Çekirdekli Eritrosit sayıları

Olguların ilk örneklerdeki çekirdekli eritrosit sayısı/100 lökosit ortalama olarak Grup 1'de 25.6 ± 39.8 [ortanca: 8 (0-122)], Grup 2'de 30.4 ± 55 [ortanca: 8 (0-200)], Grup 3'te 22.4 ± 68.0 [ortanca: 3 (0-190)], Grup 4'te 28.2 ± 53.9 [ortanca: 6 (2-190)], Grup 5'te 2.7 ± 3.2 [ortanca: 2 (0-12)] ve Grup 6'da 3.0 ± 3.3 [ortanca: 3 (0-12)] idi. Gruplar arasında Grup 5 ve 6'daki olguların çekirdekli eritrosit sayıları düşük olduğundan anlamlı olarak farklılık mevcuttu ($p=0.002$). Riskli gruplar (Grup 1, 2, 3 ve 4) çekirdekli eritrosit sayıları açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında ise anlamlı bir farklılık saptanmadı. İkinci örneklerdeki çekirdekli eritrosit sayıları Grup 1'de 25.3 ± 90.6 [ortanca: 0 (0-340)], Grup 2'de 15.8 ± 41.7 [ortanca: 0 (0-180)], Grup 3'te 3.7 ± 9.8 [ortanca: 0 (0-42)], Grup 4'te 18.6 ± 46.9 [ortanca: 1.5 (0-160)], Grup 5'te 0.6 ± 0.9 [ortanca: 0 (0-2)] ve Grup 6'da 0.1 ± 0.5 [ortanca: 0 (0-2)] olarak tespit edildi. Gruplar arasında yine Grup 5 ve 6'dan kaynaklanan belirgin farklılık mevcuttu ($p=0.02$). Üçüncü örneklerdeki çekirdekli eritrosit sayıları da sırasıyla 0.4 ± 0.8 , 6.3 ± 27.7 , 1.4 ± 4.9 , 0.5 ± 0.9 , $0. \pm 0$, 0 ± 0 idi. Gruplar arasında farklılık yoktu.

Çekirdekli eritrosit sayıları zaman içerisinde tedrici olarak düşmüştü. Çekirdekli eritrositlerin zaman içerisindeki değişimleri Şekil 7 A ve B'de gösterilmektedir.

Olguların mutlak çekirdekli eritrosit sayıları Grup 1'de $2.321 \pm 3.983 /\text{mm}^3$ [ortanca: 1.300 (0-13.000)], Grup 2'de $2.188 \pm 3.988 /\text{mm}^3$ [ortanca: 900 (0-14.800)], Grup 3'te $1.333 \pm 2.145 /\text{mm}^3$ [ortanca: 200 (0-6.900)], Grup 4'te $3.300 \pm 6.071 /\text{mm}^3$ [ortanca: 800 (0-21.000)], Grup 5'te $200 \pm 388 /\text{mm}^3$ [ortanca: 0 (0-1.300)] ve Grup 6'da $383 \pm 531 /\text{mm}^3$ [ortanca: 150 (0-1.900)] idi. Gruplar arasında Grup 4'ten kaynaklanan istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.003$).

Serum Epo değerleri

Olgulardan ilk 12 saatte alınan kan örneklerindeki serum Epo değerleri Grup 1'de $62.6 \pm 77.76 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 23.95 (2.1-200)], Grup 2'de $37.1 \pm 63.9 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 8.9 (1.6-200)], Grup 3'te $36.5 \pm 52.1 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 15.7 (1.1-200)], Grup 4'te $51.3 \pm 61.3 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 18.1 (3.2-200)], Grup 5'te $18.4 \pm 7.3 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 18.2 (6.9-33.3)] ve Grup 6'da $29.2 \pm 31.9 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 20.7 (3-142)] saptandı. Epo miktarları açısından, gruplar arasında farklılık yoktu. İkinci örneklerdeki Epo seviyeleri sırasıyla $19.8 \pm 52 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 4.85 (2-200)], $17.6 \pm 44.8 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 4 (2-200)], $29.0 \pm 62.5 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 6.4 (2.7-200)], $21.6 \pm 56.3 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 4.7 (1.9-200)], $4.6 \pm 1.4 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 4.7 (2.2-7.3)] ve $5.4 \pm 1.8 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 5.2 (2.5-8.9)] idi ve yine gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık mevcut değildi. Üçüncü örneklerdeki Epo seviyeleri ise Grup 1'de $4.0 \pm 2.5 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 3.6 (1.5-10)], Grup 2'de $3.4 \pm 1.4 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 3 (2-8.8)], Grup 3'te $8.7 \pm 10.6 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 6.8 (1.8-49.6)], Grup 4'te $3.9 \pm 1.5 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 4 (1.8-6.1)], Grup 5'te $4.1 \pm 2.2 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 3.6 (1.8-10)] ve Grup 6'da $4.5 \pm 1.2 \text{ mU/mL}$ [ortanca: 4 (2.8-7.1)] saptandı ve Grup 3 diğer gruplara göre daha yüksek serum Epo değerine sahipti ($p=0.001$). Epo tüm gruplarda zamanla tedrici olarak düşüş göstermiştir. Zaman içerisindeki Epo değişiklikleri Şekil 8 A ve B'de gösterilmektedir.

Grup 2'deki olgular EMR varlığına göre iki alt gruba ayrılıp serum Epo düzeyleri açısından incelendiklerinde anlamlı farklılık saptanmadı (serum Epo düzeyleri ortalaması EMR (+) 6 olguda $2 \pm 4 \text{ mU/mL}$, EMR (-) 19 olguda $7.8 \pm 32 \text{ mU/mL}$).

Çalışma gruplarındaki şifa ile iyileşen olguların serum Epo ortalamaları 39.11 ± 57.79 mU/ml, sekel ile iyileşen ve ölen olguların serum Epo ortalamaları 71.97 ± 79.13 mU/ml idi ve istatistiksel olarak anlamlık tespit edilmedi ($p=0.056$). Buna karşılık, çalışma gruplarındaki şifa ile iyileşen olguların çekirdekli eritrosit sayıları ortalamaları 20 ± 43 /100 lökosit, sekel ile iyileşen ve ölen olgular birlikte değerlendirildiğinde çekirdekli eritrosit sayısı ortalaması 51.8 ± 90.1 /100 lökosit olarak tespit edildi. Çekirdekli eritrosit sayısı, şifa ile iyileşenlerde diğerlerine göre daha düşüktü ($p=0.01$). 3. gün alınan örneklerdeki çekirdekli eritrosit sayısı şifa ile iyileşen grupta 7.67 ± 29.82 /100 lökosit iken, sekel ile iyileşen ve ölen olgulardaki çekirdekli eritrosit sayısı ortalaması 44.4 ± 105.2 /100 lökosit idi. Şifa ile iyileşen olgularda çekirdekli eritrositler periferden daha erken kaybolmuşlardı ($p=0.02$).

Olguların retikülosit, çekirdekli eritrosit sayıları ve serum Epo seviyeleri Tablo IXA ve IXB'de gösterilmektedir.



**Tablo IX: Olguların retikülosit, çekirdekli eritrosit sayıları
ve serum Epo seviyeleri**

**Tablo IXA: Grup 1, 2 ve 3'ün retikülosit, çekirdekli eritrosit sayıları
ve serum Epo seviyeleri***

	Grup 1 (n = 14)	Grup 2 (n = 25)	Grup 3 (n = 18)
Retikülosit¹ (%)	5.7 ± 2.0	7.6 ± 2.5 ^a	6.5 ± 3.6
Retikülosit² (%)	4.5 ± 3.1	5.6 ± 3.5 ^b	5.5 ± 3.5 ^b
Retikülosit³ (%)	0.8 ± 0.5	1.2 ± 0.7	1.4 ± 1.3
Çekirdekli Eritrosit¹ (/100 lökosit)**	25.6 ± 39.8 8 (0-122)	30.4 ± 55 8 (0-200)	22.4 ± 68.0 3 (0-190)
Çekirdekli Eritrosit² (/100 lökosit)**	25.7 ± 90.6 0 (0-340)	15.8 ± 41.7 0 (0-180)	3.7 ± 9.8 0 (0-42)
Çekirdekli Eritrosit³ (/100 lökosit)	0.4 ± 0.8	6.3 ± 27.7	1.4 ± 4.9
Mutlak Çekirdekli Eritrosit (/mm³)**	2.321 ± 3.983 1.300 (0-13.000)	2.188 ± 3.988 900 (0-14.800)	1.333 ± 2.145 200 (0-6.900)
Epo¹ (mU/mL)**	62.6 ± 77.76 23.95 (2.1-200)	37.1 ± 63.9 8.9 (1.6-200)	36.5 ± 52.1 15.7 (1.1-200)
Epo² (mU/mL)**	19.8 ± 52 (2-200)	17.6 ± 44.8 4 (2-200)	29 ± 62.5 6.4 (2.7-200)
Epo³ (mU/mL)**	4.0 ± 2.5 3.6 (1.5-10)	3.4 ± 1.4 3 (2-8.8)	8.7 ± 10.6 ^f 6.8 (1.8-49.6)

*ortalama ± SD ** ortanca (min-max)

^a Grup 2,4 vs Grup 1,3,5,6 (p=0.001)

^b Grup 2,3,4 vs Grup 1,5,6 (p=0.006)

^c Grup 5,6 vs Grup 1,2,3,4 (p=0.002)

^d Grup 5,6 vs Grup 1,2,3,4 (p=0.02)

^e Grup 4 vs Grup 1,2,3,5,6 (p=0.003)

^f Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.001)

Tablo IXB: Grup 4, 5 ve 6'ün retikülosit, çekirdekli eritrosit sayıları ve serum Epo seviyeleri*

	Grup 4 (n = 12)	Grup 5 (n = 19)	Grup 6 (n = 18)
Retikülosit¹ (%)	7.7 ± 2.6 ^a	4.9 ± 2.3	5.1 ± 2.2
Retikülosit² (%)	6.3 ± 1.6 ^b	3.0 ± 1.2	3.4 ± 1.3
Retikülosit³ (%)	1.7 ± 1.9	0.9 ± 0.4	0.9 ± 0.6
Çekirdekli Eritrosit¹ (/100 lökosit)**	28.2 ± 53.9 6 (2-190)	2.7 ± 3.2 ^c 2 (0-12)	3.0 ± 3.3 ^c 3 (0-12)
Çekirdekli Eritrosit² (/100 lökosit)**	18.6 ± 46.9 1.5 (0-160)	0.6 ± 0.9 ^d 0 (0-2)	0.1 ± 0.5 ^d 0 (0-2)
Çekirdekli Eritrosit³ (/100 lökosit)	0.5 ± 0.9	0 ± 0	0 ± 0
Mutlak Çekirdekli Eritrosit (/mm³)**	3.300 ± 6.071 ^e 800 (0-21.000)	200 ± 388 0 (0-1.300)	383 ± 531 150 (0-1.900)
Epo¹ (mU/mL)**	51.3 ± 61.3 18.1 (3.2-200)	18.4 ± 7.3 18.2 (6.9-33.3)	29.2 ± 31.9 20.7 (3-142)
Epo² (mU/mL)**	21.6 ± 56.3 4.7 (1.9-200)	4.6 ± 1.4 4.7 (2.2-7.3)	5.4 ± 1.8 5.2 (2.5-8.9)
Epo³ (mU/mL)**	3.9 ± 1.5 4 (1.8-6.1)	4.7 ± 2.2 3.6 (1.8-10)	4.5 ± 1.2 4 (2.8-7.1)

*ortalama ± SD

** ortanca (min-max)

^a Grup 2,4 vs Grup 1,3,5,6 (p=0.001)

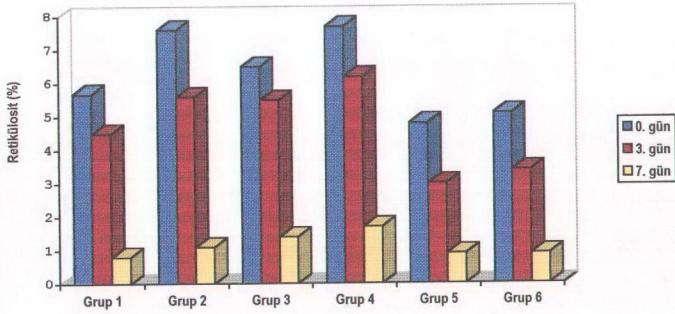
^b Grup 2,3,4 vs Grup 1,5,6 (p=0.006)

^c Grup 5,6 vs Grup 1,2,3,4 (p=0.002)

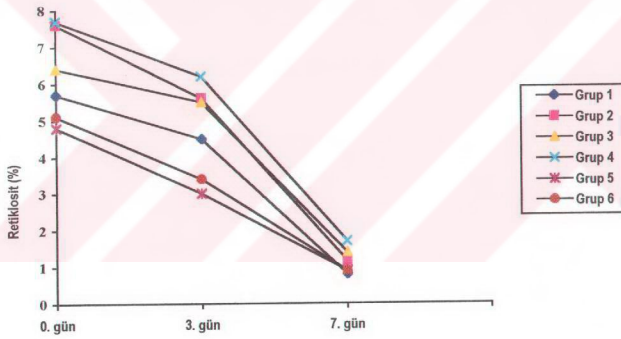
^d Grup 5,6 vs Grup 1,2,3,4 (p=0.02)

^e Grup 4 vs Grup 1,2,3,5,6 (p=0.003)

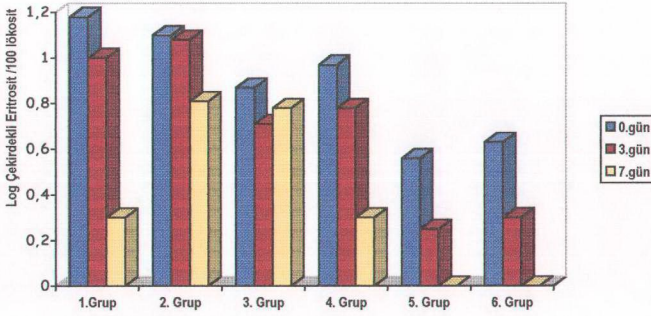
^f Grup 3 vs Grup 1,2,4,5,6 (p=0.001)



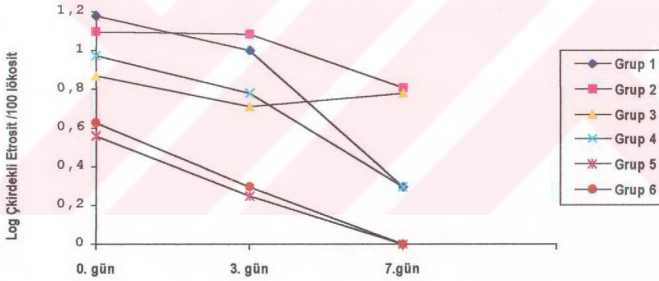
Şekil 6A: Günler içerisinde retikülosit sayısındaki değişikliklerin gösterilmesi



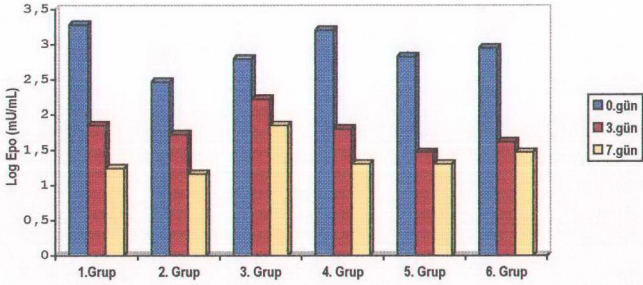
Şekil 6B: Günler içerisinde retikülosit sayısındaki değişikliklerin gösterilmesi



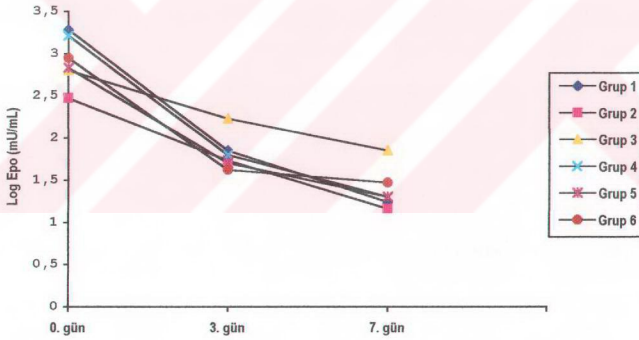
Şekil 7A: Günler içerisinde çekirdekli eritrosit/100 lökosit sayısındaki değişikliklerin gösterilmesi



Şekil 7A: Günler içerisinde çekirdekli eritrosit/100 lökosit sayısındaki değişikliklerin gösterilmesi



Şekil 8A: Günler içerisinde Epo konsantrasyonundaki değişikliklerin gösterilmesi



Şekil 8B: Günler içerisinde Epo konsantrasyonundaki değişikliklerin gösterilmesi

Log serum Epo konsantrasyonları, çekirdekli eritrosit sayıları ile demografik veriler arasındaki korelasyon

Tüm gruplar birarada değerlendirildiğinde serum Epo konsantrasyonu ile demografik veriler arasında korelasyon saptanmazken, çekirdekli eritrosit sayısı ile doğum ağırlığı ve gebelik yaşı arasında negatif, orta derecede bir korelasyon tespit edildi (sırasıyla $r=0.36$, $p=0.001$; $r=0.33$, $p=0.003$) (Şekil 9A ve B).

Log serum Epo konsantrasyonları, çekirdekli eritrosit sayıları ile diğer parametreler ve prognoz arasındaki korelasyon

İlk örneklerdeki serum Epo konsantrasyonları ile Hct, Hb ve eritrosit sayısı arasında korelasyon tespit edilmezken, beyaz küre ile pozitif, trombosit ile negatif, zayıf, orta derecede korelasyon saptandı (sırasıyla $r=0.25$, $p=0.01$; $r: -0.25$, $p=0.08$) (Şekil 10A ve B). Çekirdekli eritrositler ile de Hct ve Hb arasında korelasyon bulunmazken, eritrosit sayısı ile negatif, zayıf, düzeltilmiş lökosit ve trombosit ile negatif ve retikülosit sayısı ile de pozitif, orta derecede korelasyon tespit edildi ($r: -0.22$, $p=0.049$; $r: -0.37$, $p=0.001$; $r: -0.27$, $p=0.012$; $r=0.38$, $p<0.001$) (Şekil 11A, B, C ve D). Ayrıca Epo ile hem 100 lökosit içerisinde sayılan çekirdekli eritrosit sayısı, hem de mutlak çekirdekli eritrosit sayısı arasında pozitif, orta derecede korelasyon mevcuttu ($r=0.33$, $p=0.003$; $r=0.39$, $p<0.001$) (Şekil 12A ve B). Serum Epo konsantrasyonları ve çekirdekli eritrosit sayıları ile prognoz arasında pozitif, zayıf, orta derecede korelasyon saptandı ($r= 0.22$, $p=0.03$; $r=0.35$, $p=0.003$) (Şekil 13A ve B).

Grupların herbirinin Log serum Epo konsantrasyonları, çekirdekli eritrosit sayıları ile demografik veriler ve diğer parametreler arasındaki korelasyon

Grup 1: SGA grupta, serum Epo konsantrasyonları ile demografik veriler ve diğer parametreler arasında korelasyon saptanmazken, çekirdekli eritrosit sayıları ile doğum tartısı ve düzeltilmiş lökosit arasında negatif, güçlü korelasyon mevcuttu (sırasıyla $r: -0.73$, $p=0.009$; $r: -0.61$, $p=0.042$).

Grup 2: Preterm grupta serum Epo konsantrasyonları ile 1 ve 5. dakika Apgar skorları arasında negatif ve mutlak çekirdekli eritrosit sayısı ile pozitif, orta derecede korelasyon mevcutken ($r: -0.46$, $p=0.019$; $r: -0.43$, $p=0.029$; $r=0.48$, $p=0.015$),

çekirdekli eritrosit sayıları ile yalnızca düzeltilmiş lökosit sayıları arasında negatif, orta derecede korelasyon tespit edildi ($r = -0.49$, $p=0.023$).

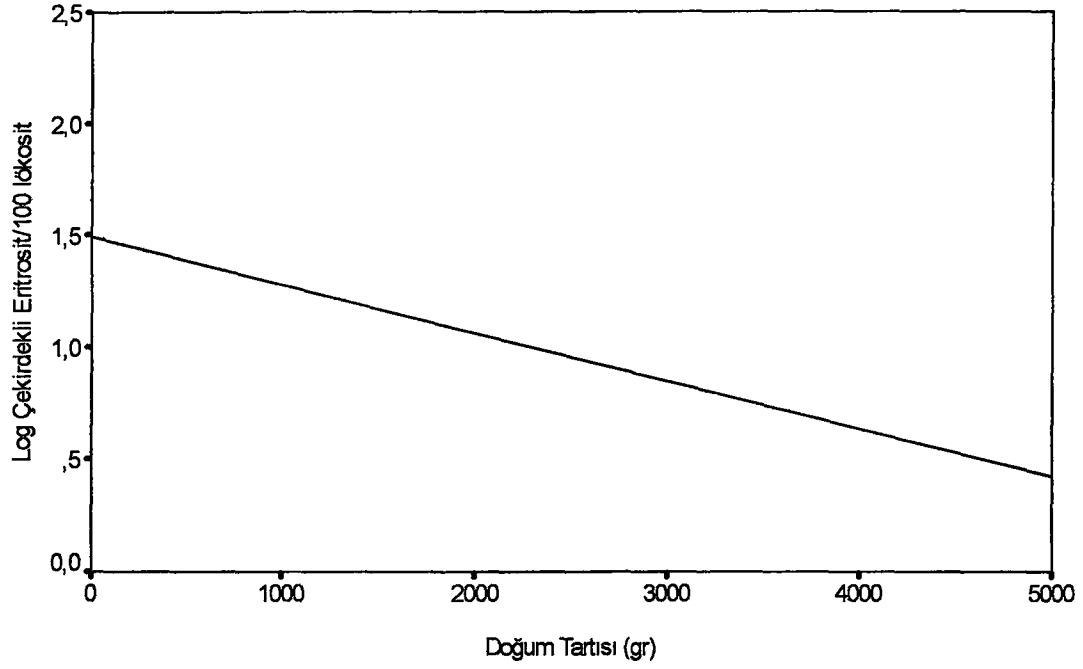
Grup 3: Asfiktik grupta serum Epo konsantrasyonları ve çekirdekli eritrosit sayıları ile demografik veriler ve diğer parametreler arasında korelasyon saptanmadı.

Grup 4: DAÇ'larından oluşan grupta serum Epo konsantrasyonları ile retikülosit, çekirdekli eritrosit ve mutlak çekirdekli eritrosit değerleri arasında pozitif, güçlü, Hb değerleri ile negatif, güçlü korelasyon saptanırken ($r=0.65$, $p=0.021$; $r=0.72$, $p=0.007$; $r=0.68$, $p=0.014$; $r=0.72$, $p=0.007$), çekirdekli eritrosit sayıları ile beyaz küre arasında pozitif, güçlü korelasyon tespit edildi ($r=0.61$, $p=0.033$).

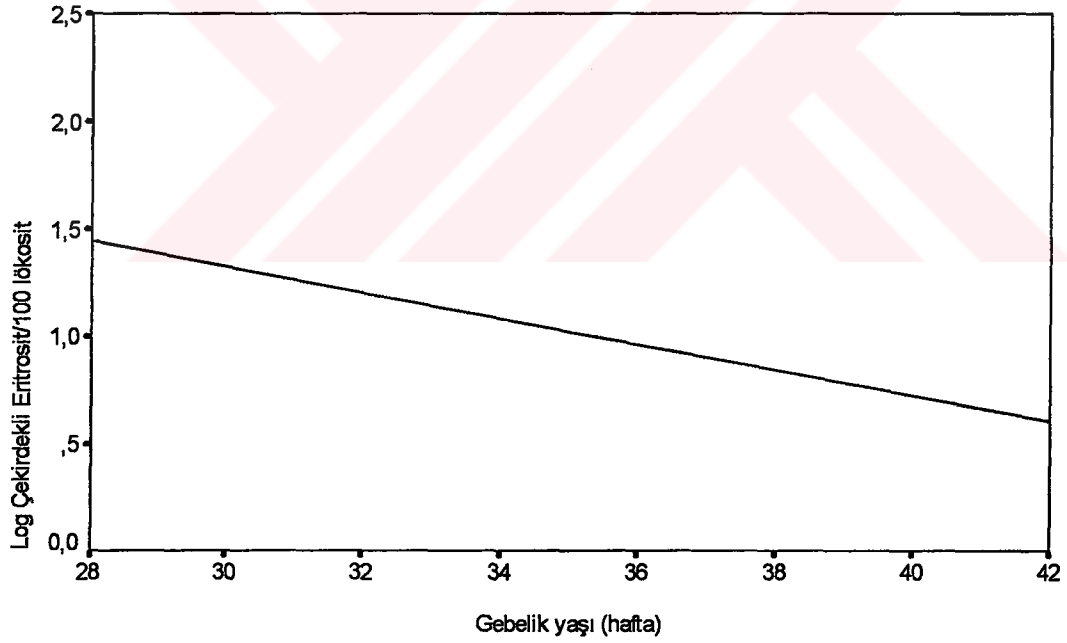
Grup 5: Seksiyo ile doğumu gerçekleştiren kontrol grubunda Epo konsantrasyonları ile retikülosit sayıları arasında negatif, orta derecede korelasyon mevcutken ($r=0.47$, $p=0.041$), çekirdekli eritrosit sayıları ile demografik data ve diğer parametreler arasında ilişki saptanmadı.

Grup 6: Normal spontan yolla doğan kontrol grubunda serum Epo konsantrasyonları ve çekirdekli eritrosit sayıları ile demografik veriler ve diğer parametreler arasında korelasyon tespit edilmedi.

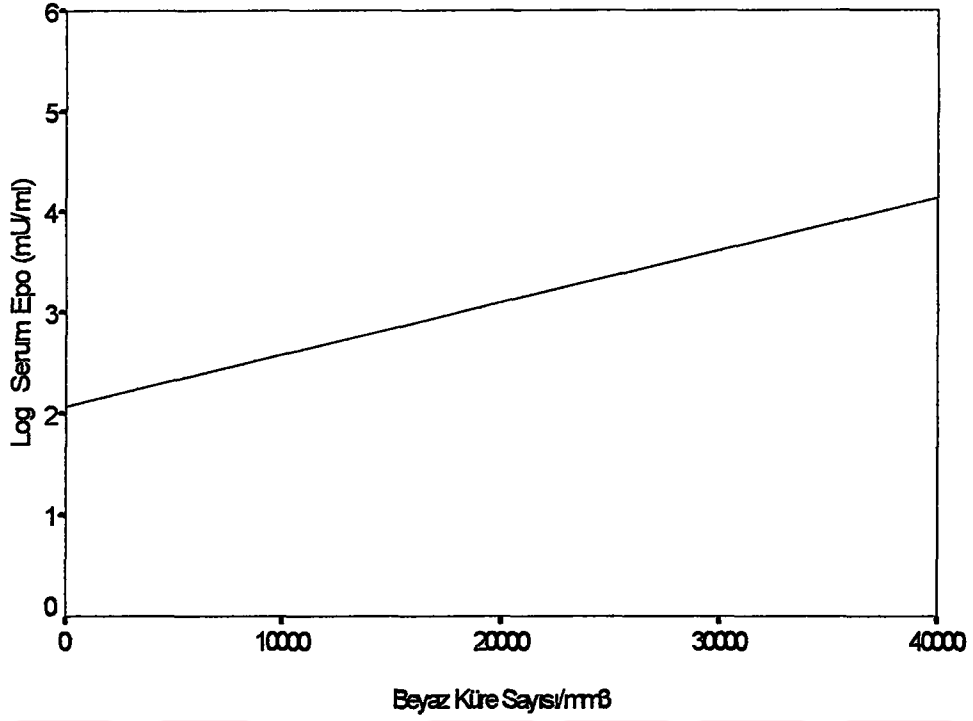
Stepwise lineer regresyon analizi sonucunda, serum Epo konsantrasyonunu belirleyen en güçlü göstergenin preeklampsi olduğu saptandı ($y=1.443 + \text{preeklampsi} \times 1.22$). Buna karşılık serum Epo konsantrasyonu ile doğum şekli, 1 ve 5. dk Apgar skorları, annenin sigara içmesi, gebelik yaşı ve doğum tartısıyla ilişki tespit edilemedi. Aynı analiz, çekirdekli eritrosit sayıları için de yapıldığında, çekirdekli eritrositlerin gebelik yaşı ve preeklampsi ile güçlü ilişkisi olduğu bulundu ($y=1.81 + 0.55 \times \text{preeklampsi} - 0.042 \times \text{gebelik yaşı}$). Buna karşılık çekirdekli eritrositlerin doğum şekli, 1 ve 5. dk Apgar skorları ve doğum tartısı ile ilişkisi saptanmadı.



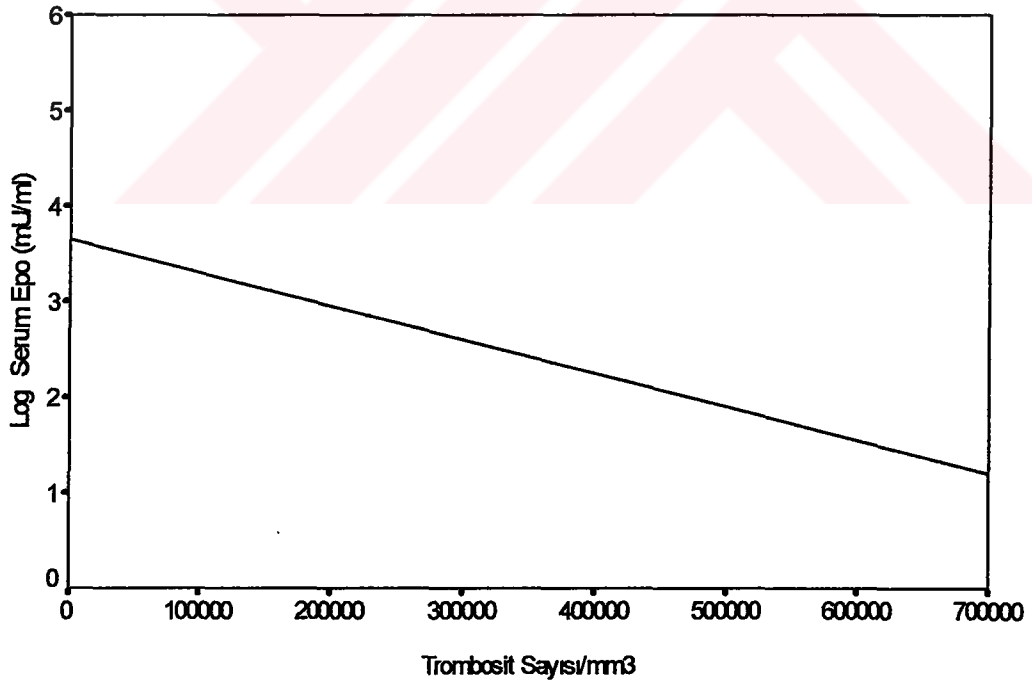
Şekil 9A: Çekirdekli eritrosit/100 lökosit ve doğum tartısı arasındaki korelasyon grafiği



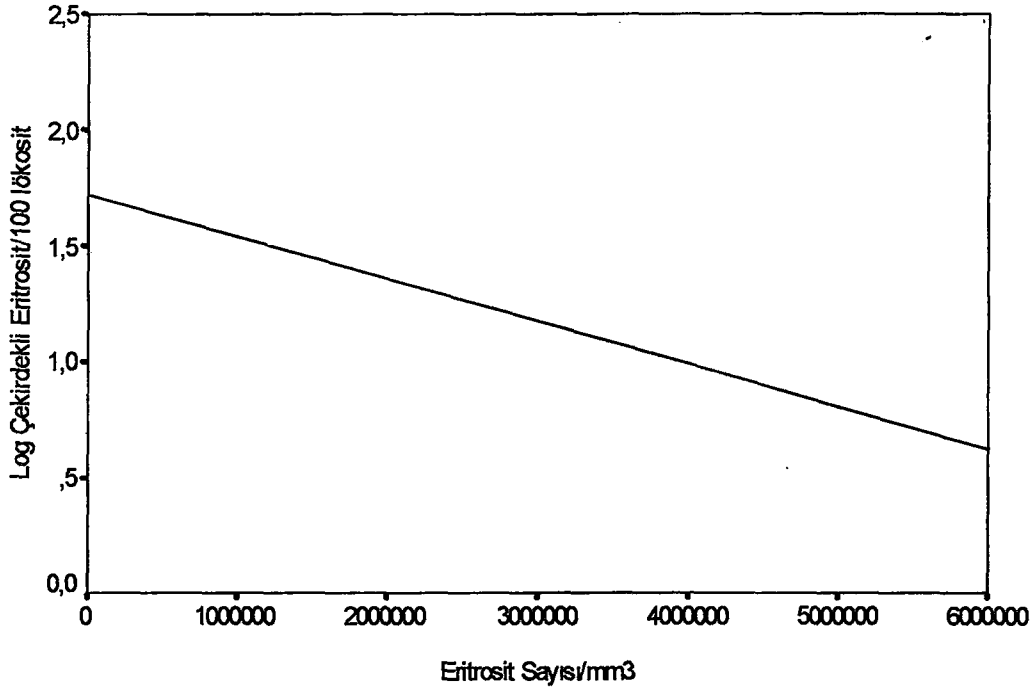
Şekil 9B: Çekirdekli eritrosit/100 lökosit ve gebelik yaşı arasındaki korelasyon grafiği



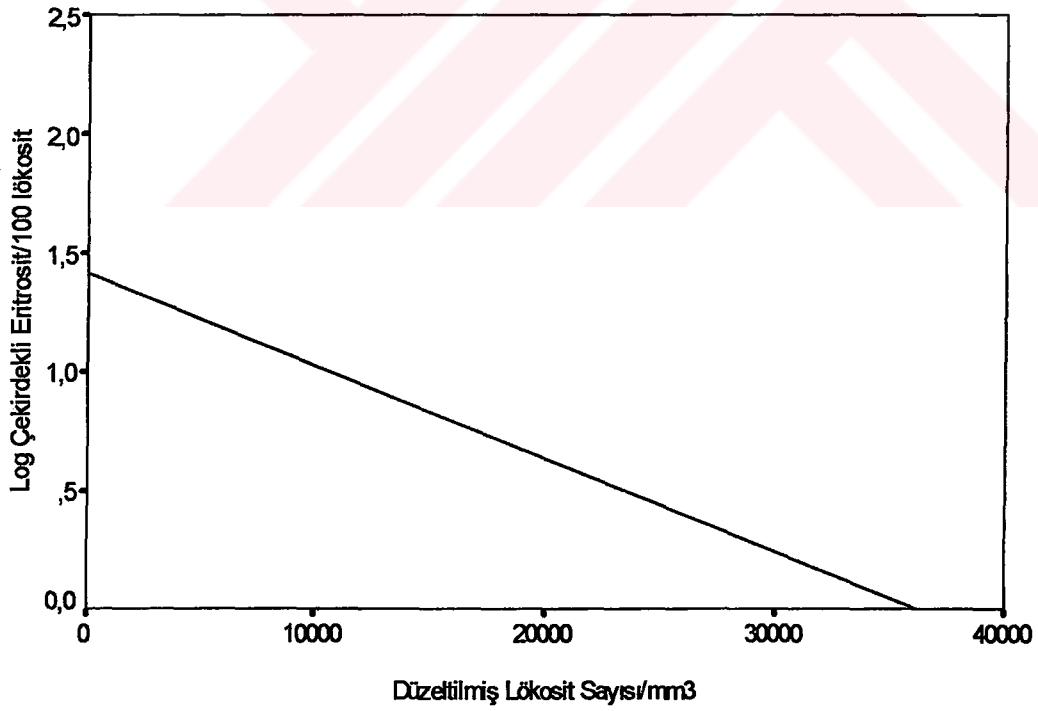
Şekil 10A: Serum Epo konsantrasyonu ile beyaz küre arasındaki korelasyon grafiği



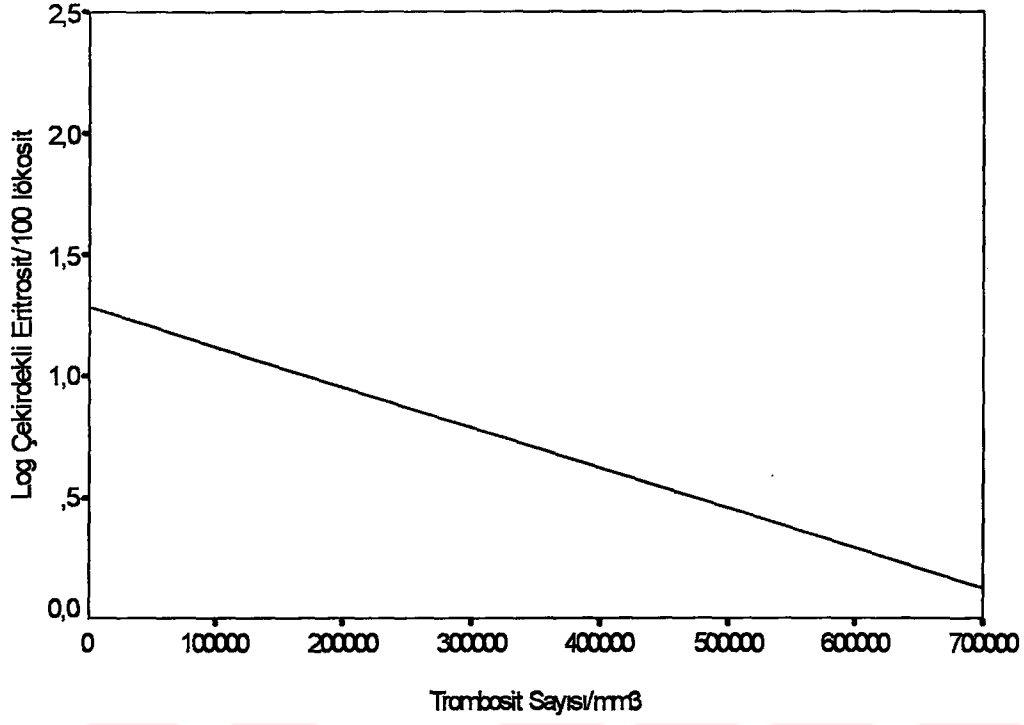
Şekil 10B: Serum Epo konsantrasyonu ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



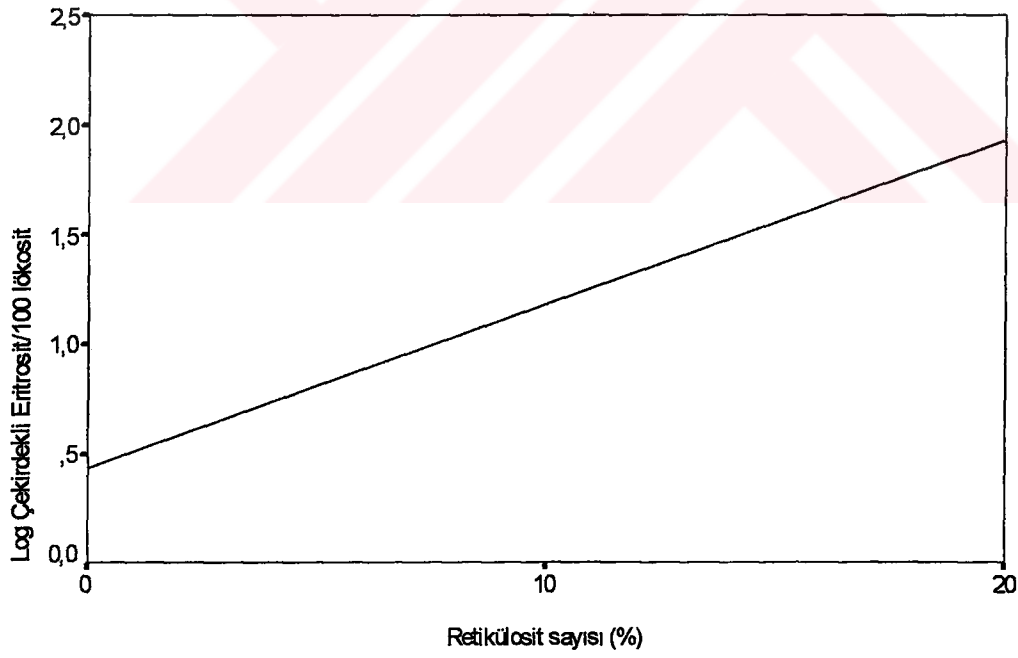
Şekil 11A: Çekirdekli eritrosit/100 lökosit ile eritrosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



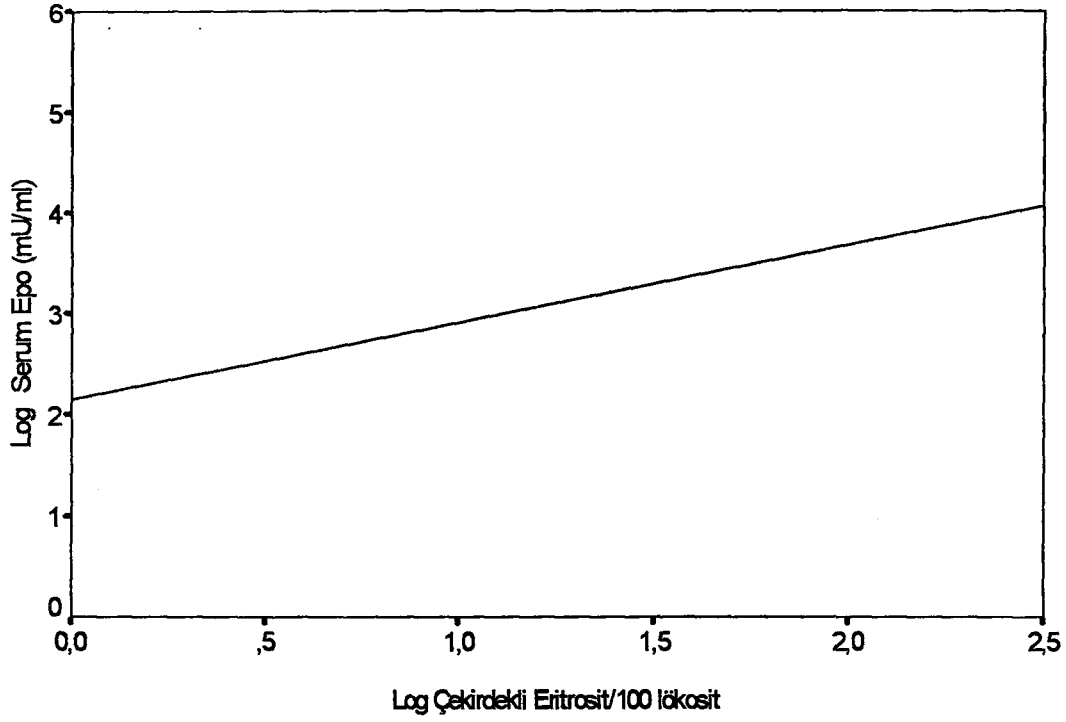
Şekil 11B: Çekirdekli eritrosit/100 lökosit ile düzeltilmiş lökosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



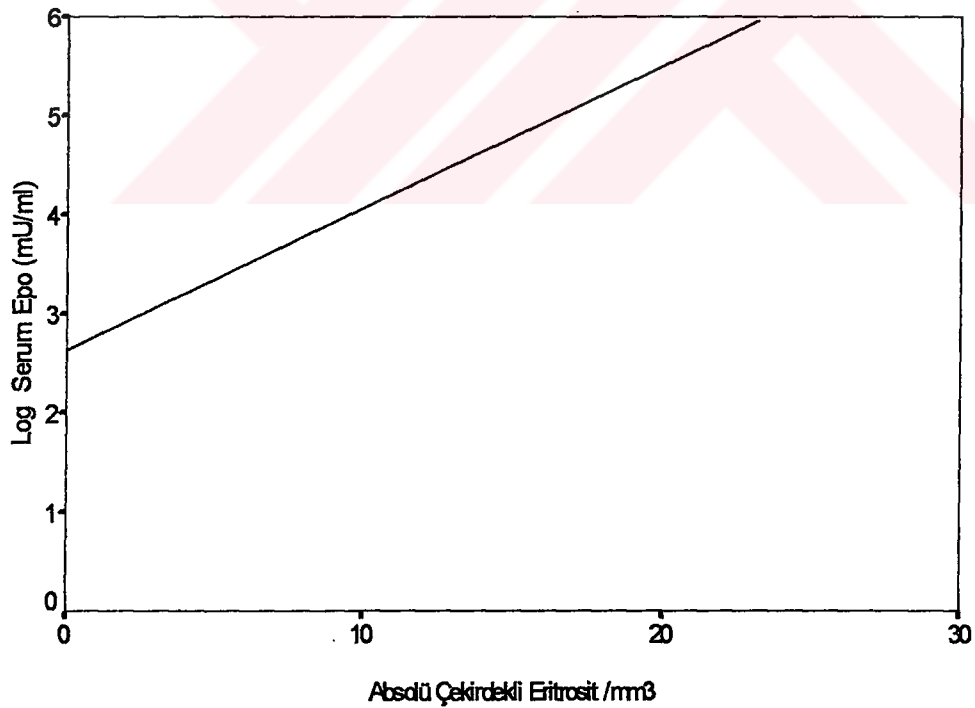
Şekil 11C: Çekirdekli eritrosit/100 lökosit ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



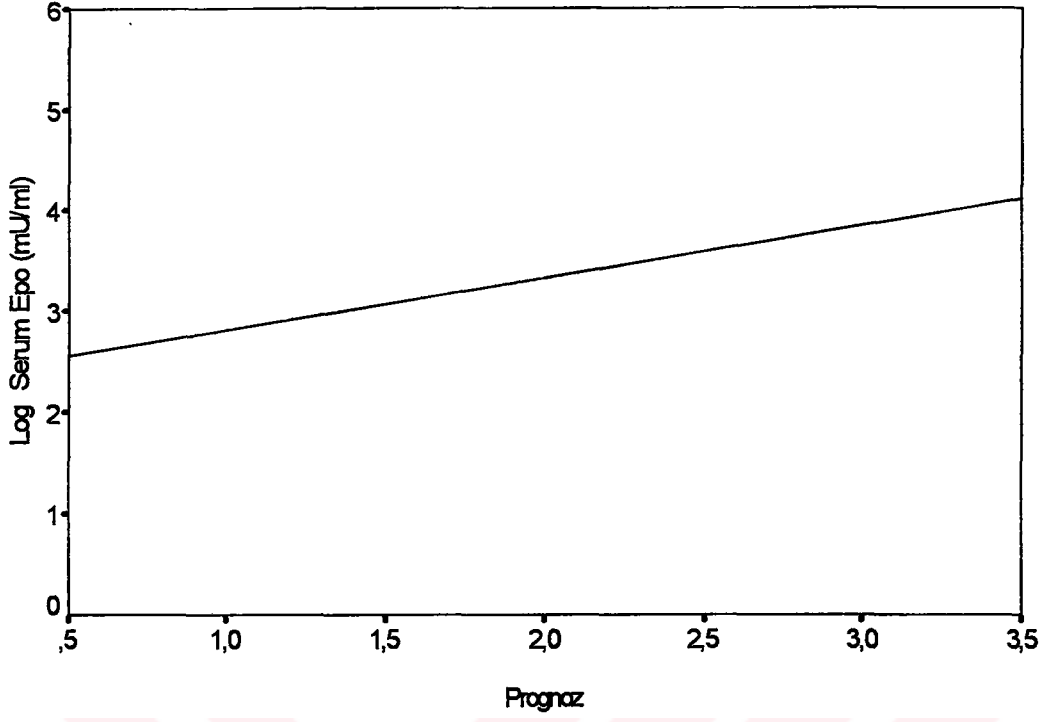
Şekil 11D: Çekirdekli eritrosit/100 lökosit ile retikülosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



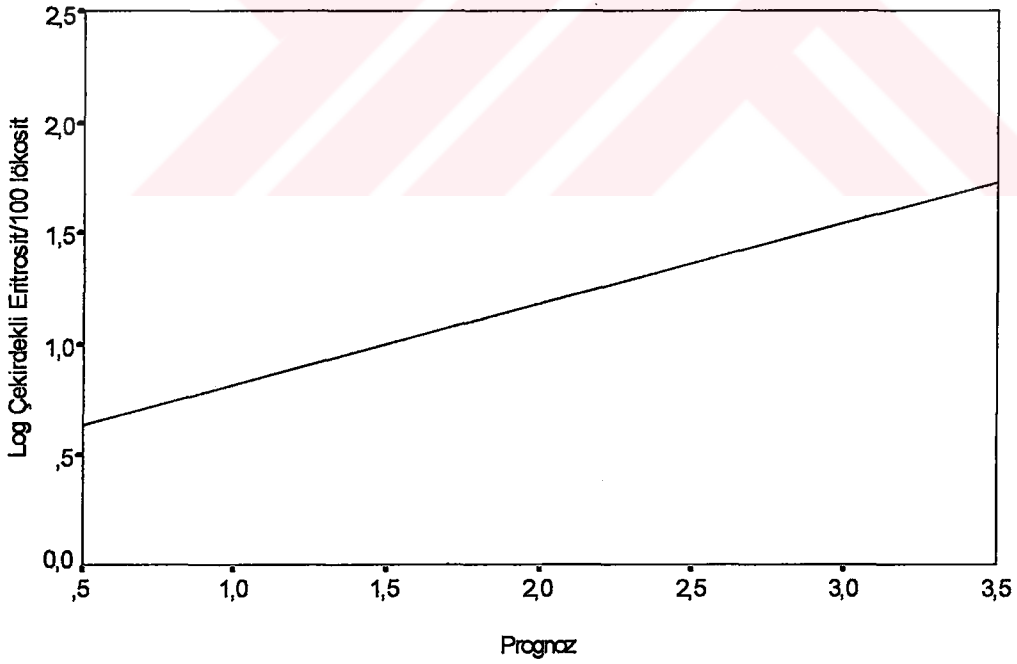
Şekil 12A: Serum Epo konsantrasyonu ile çekirdekli eritrosit/100 lökosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 12B: Serum Epo konsantrasyonu ile mutlak çekirdekli eritrosit sayısı arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 13A: Serum Epo konsantrasyonu ile prognoz arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 13B: Serum çekirdekli eritrosit/100lökosit sayısı ile prognoz arasındaki korelasyon grafiği

TARTIŞMA

Normal ve riskli yenidoğanlarda, serum Epo seviyelerinin ve çekirdekli eritrosit sayılarının saptanmasının ve bu iki parametrenin hangi riskli gruplarda prognozla daha yakından ilişkili olduğunu tespit edilmesinin amaçlandığı bu çalışmada, çalışma ve kontrol grupları arasında doğumdan sonraki ilk 12 saat içinde ve 3. günde ölçülen serum Epo konsantrasyonları arasında fark saptanmadı. 7. günde ölçülen serum Epo değerleri asfiktik grupta (Grup 3) diğer gruplara göre belirgin olarak yüksekti. Epo değerleri tüm gruplarda günler içerisinde tedrici olarak düşme gösterdi. Epo değerleri ile demografik veriler arasında korelasyon mevcut değilken, trombosit sayıları ile negatif, lökosit sayısı, çekirdekli eritrosit sayısı, mutlak çekirdekli eritrosit sayısı ile pozitif korelasyon olduğu tespit edildi. Ayrıca, lineer regresyon analizi sonucunda Epo konsantrasyonunu belirleyen en güçlü göstergenin preeklampsi olduğu, serum Epo seviyelerinin doğum şekli, 1.ve 5. dk Apgar skorları, annenin sigara içmesi, gebelik yaşı ve doğum tartısından etkilenmediği saptandı.

YD'larda serum Epo konsantrasyonu ile ilgili yürütülen pek çok çalışma olmasına rağmen, çalışma metodları ve yöntemleri arasında birçok farklılık mevcuttur. Bu çalışmaya kısmen benzer gruplar oluşturularak serum Epo düzeyi ile fetal distres durumunu biyokimyasal olarak monitörize etmeyi amaçlayan Fahnenstich ve ark.'larının (6) çalışmasında, kontrol grubu 54 sağlıklı term YD'dan, çalışma grupları 77 problemi olmayan preterm YD'dan ve 75 akut ve kronik hipoksiye maruz kalmış YD'dan oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki YD'ların serum Epo düzeyleri 20.02 ± 6.4 mU/ml olarak saptanmıştır. Bu gruptaki olguların vajinal/seksiyo ile doğum oranı 16/28 olup, vajinal yolla doğan YD'ların serum Epo seviyeleri seksiyoyla doğanlara göre hafifçe yüksek tespit edilmiştir. Bu sonuçlar çalışmadaki sonuçlarla uyumludur. Preterm grubunu oluşturan olgular gebelik yaşlarına göre alt

gruplara ayrılmış ve serum Epo düzeyinin 30. gebelik haftasında en düşük olduğu (ortalama 11.69 mU/mL) ve gebelik haftası arttıkça yükseldiği (35-37 gebelik haftasında ortalama 33.47 mU/mL) tespit edilmiş ve preterm YD'ın Epo seviyeleri değerlendirilirken çok dikkatli olunması gerektiği, çünkü prematüritenin tek başına fetal distres kaynağı olduğu bildirilmiştir. Kronik fetal hipoksiye maruz kalan pretermelerde ise serum Epo seviyesi matür YD'lara benzer olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada akut ve kronik hipoksiye maruz kalmış YD'ların kordon serum Epo değerleri sırasıyla 153.4 ± 418 mU/mL ve 102.6 ± 127 mU/mL saptanmıştır. Değerler kontrol grubuna göre 5-6 kat yüksek bulunmasına rağmen, bu iki durumu birbirlerinden ayırt etmede yetersiz kaldığı gibi, kronik hipokside akut hipoksiye göre daha düşük tespit edilmiştir.

Birçok çalışmada kordon kanında saptanan serum Epo seviyelerinin postnatal saatler veya günler içerisinde düştüğü bildirilmiştir (96,97). Bu çalışmada da serum Epo düzeyi günler içinde azaldı ve 7. gün en düşük seviyesine ulaştı. 7. gün alınan kan örneklerinde en yüksek serum Epo değeri asfiktik grupta saptandı, bu sonuç asfiktik grupta serum Epo konsantrasyonunun diğer gruplara göre daha yavaş azaldığını veya hipoksinin postnatal dönemde devam ettiğini düşündürdü.

Bu çalışmada serum Epo konsantrasyonu ile trombosit sayısı arasında ters, lökosit sayısı ile pozitif korelasyon tespit edildi. Hipoksi tarafından uyarılan fizyolojik dozlardaki Epo'in megakaryosit koloni sayısını azalttığı bilinmesine rağmen, lökosit sayısına olan etkisi belirsizdir (36,38,48). Buna karşılık, yüksek doz Epo'in nötropeni oluşturduğu, ağır intrauterin hemolitik anemili fetuslarda ve rekombinan Epo tedavisi sırasında gözlenmektedir (25,47). Ayrıca bu çalışmada serum Epo düzeyi ile çekirdekli eritrosit sayısı ve mutlak çekirdekli eritrosit sayısı arasında pozitif korelasyon saptandı. Çalışmacılar, doku hipoksisinin normal fizyolojik kompensasyon mekanizmaları ile sağlanamadığında serum Epo konsantrasyonunun arttığını ve bu artışın hızlanmış eritropoieze yol açarak hipoksinin azaldığını, bu nedenle artmış Epo seviyesinin kan kordon pH'dan çok çekirdekli eritrosit seviyesi ile korele olduğunu gözlemişlerdir (94,23,73). Bu çalışmada keza preeklampsinin serum Epo seviyesinin iyi bir göstergesi olduğu bulundu. Ruth ve ark'larının (22) çalışmalarında da preeklampitik anne bebeklerinde, doğum asfiksisi olsun veya olmasın serum Epo seviyeleri yüksek tespit edilmiştir. Maier ve ark.'larının (27,74) çalışmasında

saptanan sonuçlara benzer şekilde bu çalışmada da serum Epo düzeyi ile 1. ve 5. dk. Apgar skorları arasında korelasyon saptanmadı.

Bu çalışmada, vajinal ve seksiyo ile doğan YD'ların benzer serum Epo seviyelerine sahip olduğu tespit edildi ve bu sonuç komplike olmayan gebeliklerde doğum eyleminin fetal Epo seviyesinde artışa neden olduğunu savunan Widness ve ark.(21) ile Stevenson ve ark.'larının (45) çalışmalarındaki bulguların tersine olmasına rağmen, Fahnenstrich ve ark.'ları (6) ile Thomas ve ark'larının (20) sonuçları ile benzerdi.

Bu çalışmadaki SGA grubu (Grup 1) diğer gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek Epo değerine sahip olmasına rağmen, istatistiksel olarak gruplar arasında farklılık tespit edilmemiştir. Bunun nedenlerinden biri gruptaki olgu sayısının azlığı olabilir. Bir diğer neden ise kronik hipoksiye maruz kalan olgulardaki yükselmiş Epo değeri, doku oksijenizasyonu sağlandıktan sonra negatif etki ile kendi üretimini azaltmış olabileceğidir ve bu süreç ortalama bir kaç gün sürmektedir (76). Bu gruptaki olguların Hb ve Hct değerleri diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, olgulardaki hipoksik durumun Hb ve Hct artışıyla azalmış olduğu ve Epo seviyesinin düşmeye başladığı bir dönemde örnek alınmış olabileceği düşünüldü.

SGA olgularında kordon serum Epo konsantrasyonlarını ve Hb düzeylerini AGA term YD'larla karşılaştıran Meberg ve ark.'ları (98), Hb konsantrasyonunu term SGA YD'larda term AGA YD'lara göre belirgin olarak yüksek tespit etmişlerdir. Buna karşılık serum Epo konsantrasyonları preeklampitik anne bebeklerinde ve postmatür doğan YD'larda diğerlerine göre yüksek olmasına rağmen, SGA ve AGA YD'ların Epo değerleri benzer olarak saptanmıştır. Bu çalışmada Epo hücre kültür assay ile ölçülmüştür. Araştırmacılar AGA ve SGA gruplarda Epo değerlerinin benzer olarak saptanmasını, bozulan oksijenizasyonun Epo ile eritropoiezisi uyardığını ve eritrosit kitlesinin arttırmasıyla hipoksiyi iyileştirdikten sonra Epo'in normal seviyelere dönmesi sonucu olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Maier ve ark.'ları (74) morfolojik plasenta anomalileri ve kordon kanı serum Epo değerleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, SGA'lı olgularda Epo değerlerini (71.2 mU/mL) AGA'lı olgulara göre (32 mU/mL) belirgin olarak yüksek tespit etmişlerdir. Epo değerleri çekirdekli eritrositlerle korele bulunmasına rağmen,

pH ile korele saptanmamıştır. Fetal hipoksinin morfolojik belirteci olduğu düşünülen, plasental mekonyum fagositozu ile Epo konsantrasyonları arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise, plasental fagositozun erken dönemlerinde Epo'in hafifçe yükselmiş olduğu, mekonyum fagositozu birkaç saatlik ise Epo'in belirgin olarak arttığı, eğer birkaç günlük ise Epo konsantrasyonunun düşmeye başladığı saptanmıştır.

Snijders ve ark.'ları (73) da 33 SGA olgudan kordosentezle aldıkları kanlarda, serum Epo miktarı, çekirdekli eritrosit sayısı ve kan gazı değerlerini inceledikleri çalışmalarında AGA fetuslara göre serum Epo değerlerini anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir. Ayrıca ortalama çekirdekli eritrosit sayısı da AGA fetuslara göre yüksek bulunmuştur. Epo düzeyinin çekirdekli eritrosit sayısı ile pozitif çok güçlü bir korelasyon gösterdiği, buna karşılık pH ile negatif güçlü bir korelasyonun olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde yapılan bir diğer çalışmada da, SGA preterm fetusların serum Epo değerleri AGA'lı gruba göre yüksek tespit edilmiştir (76)

Bu çalışmada, serum Epo seviyesi preterm grupta diğer gruplarla benzer tespit edildi. Ayrıca serum Epo seviyesinin 1. ve 5. dk Apgar skorları ile negatif ve çekirdekli eritrosit sayıları arasında ise pozitif korelasyon saptandı. Bu sonuçlar, pretermelerin hipoksiye cevap olarak serum Epo seviyesini arttırabildiklerini göstermektedir. Bu gruptaki YD'ların annelerinin kontrol grubuna göre daha fazla oranda preeklampatik olmaları da sonuçları etkiliyor olabilir. Kordosentezle, sorunsuz fetuslarda gebelik haftalarına göre serum Epo değerlerinin saptanması, preterm YD'nın doğduktan sonra elde edilecek serum Epo seviyelerine göre daha doğru sonuçlar verecektir. Maier ve ark.'larının (74) normal ve riskli olgularda ELİSA yöntemiyle serum Epo düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında da, preterm ve term YD'larda benzer serum Epo değeri saptanmıştır (sırasıyla 28 mU/mL, 37.1 mU/mL).

Rollins ve ark.'larının (59) çalışmasında seksiyö ile doğan term AGA YD'ların ortalama serum Epo değerleri bu çalışmadakine benzer şekilde, 23 ± 9 mU/mL olarak tespit edilmiş ve cinsiyetler arasında fark saptanmamıştır. Ayrıca 18 preterm YD'nın (ortalama gebelik yaşları 34 hafta) kord serum Epo değerleri ortalaması 36 ± 8 mU/mL tespit edilmiştir. Bu çalışmadakine benzer şekilde, preterm gruptaki ortalama Epo değerleri term grubtakinden yüksek olmasına rağmen, istatistiksel

olarak farklı bulunmamıştır. Çalışmacılar, pretermelerde saptanan bu değerlerden dolayı serum Epo düzeyinin gebelik haftası arttıkça yükseldiğini öneren Thomas ve ark.'larının (20) görüşlerine katılmadıklarını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, asfiktik grupta serum Epo seviyesinin hem kontrol grubu ile hem de diğer riskli gruplarla benzer olduğu saptandı. Bu sonuç Rollins ve ark.'larının (59), Fahnenstich ve ark.'larının (6) sonuçları ile çelişmektedir. Serum Epo seviyesinin hipoksik uyarıdan ortalama 90 dk sonra artmaya başlaması ve hipoksi ortadan kalktığında 24 saat sonra normal seviyeye düşmesi, asfiktik olgulardan alınacak kan örneğinin hangi saatte alındığını önemli kılmaktadır. Bir çalışmada, serum Epo konsantrasyonunun çeşitli gruplardaki postnatal değişiklikleri incelenmiş, kontrol ve akut asfiksiye maruz kalan grupta doğumdaki ve doğumdan sonraki 8. saat serum Epo değerlerinin değişmediği saptanmıştır (sırasıyla 20 - 16 mU/mL, 122 - 72 mU/mL). Buna karşılık polisitemili, preeklampatik hem asidotik hem de asidotik olmayan gruplarda ve postnatal hipoksisi olmayan akut asfiksili grupta belirgin olarak azalma saptanmıştır (sırasıyla kordon ve 8. saat Epo değerleri 123 - 24 mU/mL, 176 -38 mU/mL, 78 - 26 mU/mL, 58 - 30 mU/mL) (22). Bu çalışmada serum Epo konsantrasyonlarının ilk 12 saatte ölçülmesi amaçlandığından kanların erken veya geç alınması farklı sonuçlara yol açmış olabilir. Fetal hipoksi ve buna Epo'in cevabı arasındaki sürenin belirlenmesinde, doğum öncesinde kordosentezle alınan kordon kanı ve fetal saçlı deri kan örneklerinde ve doğum sırasında kordon kan örneklerinde serum Epo tayini yapılması daha uygun olacaktır.

Bu çalışmadaki riskli gruplardan bir diğeri de DAÇ'ları (Grup 4) idi. Bu grubun serum Epo seviyeleri SGA'lı olguların serum Epo seviyelerine yakın olarak saptandı, fakat gruplar arasında istatistiksel farklılık yoktu. Ayrıca serum Epo değerlerinin retikülosit, çekirdekli eritrosit ve mutlak çekirdekli eritrosit sayıları ile pozitif, güçlü korelasyon, buna karşılık kordon kanı Hb değerleri ile negatif güçlü korelasyonu tespit edildi. Hb değeri ile Epo'in negatif korelasyonunun nedeni açıklanamadı. Bu gruptaki Hb değerleri ortalaması diğer gruplardan farklı değildi. Olguların retikülosit sayıları ve absolu çekirdekli eritrosit sayıları ise diğer gruplardan belirgin olarak yüksekti. Bu sonuçlar DAÇ'da artmış eritropoez olduğu görüşünü desteklemektedir. Bu konuda, Witness ve ark.'larının (11) yaptığı bir çalışmada, 61 DAÇ'nun 39'unun plazma Epo değerlerinin normal sınırlarda olduğu buna karşılık 22 DAÇ'unun plazma

Epo değerlerinin kontrol grubundan yüksek olduğu tespit edilmiştir. Retikülosit sayısı bu grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunurken, çekirdekli eritrositlerin sayısı normalden fazla saptanmasına rağmen istatistiksel farklılık tespit edilememiştir. Plazma Epo seviyesi ile kırmızı küre, retikülosit veya çekirdekli eritrosit sayıları arasında korelasyon saptanmamıştır.

Salvensen ve ark.'ları (23) DA'da fetal plazma Epo seviyesini benzer gebelik yaşına sahip AGA fetuslarla karşılaştırdıklarında, umbilikal venöz kan pH'sının düşük, pCO₂, laktat, Epo, Hb değerleri ve çekirdekli eritrosit sayılarının yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca fetal Epo ile çekirdekli eritrosit sayısı, fetal çekirdekli eritrosit sayısı ile fetal Hb, fetal Hb ile maternal glikolize Hb oranı ve maternal glükoz ile fetal glükoz, pH ile laktat arasında korelasyon tespit edilmiştir.

Bu çalışmada şifa ile iyileşen olguların serum Epo değerleri sekelle iyileşen veya ölen olgulara göre daha düşük olmasına rağmen, istatistiksel olarak belirgin farklılık saptanmamıştır. Maier ve ark.'larının (74) alışmasında ise yoğun bakım ihtiyacı gösteren YD'ların Epo değerleri, yoğun bakım ihtiyacı göstermeyenlere göre yüksek olarak bulunmuştur (sırasıyla 53.6 mU/mL, 32.5 mU/mL). Bir diğer çalışmada yine yoğun bakım ünitesinde takibi gereken olguların kordon kanı değerlerinin ortalaması 43 ± 7 mU/mL tespit edilmiş olup, yoğun bakım ünitesine ihtiyaç göstermeyen olguların Epo değerlerinden belirgin olarak yüksek tespit edilmiştir. Ruth ve ark.'larının (99) yürüttüğü bir çalışmada ise kord kanında tespit edilen yükselmiş serum Epo düzeylerinin preeklampitik anne bebeklerinde prognozla ilişkili olmadığı, bunun yalnızca intrauterin hipoksinin kompensasyon mekanizmasını yansıttığı, buna karşılık akut doğum asfiksisi sonrasında yükselmiş kord Epo konsantrasyonlarının artmış beyin hasarı riskini gösterdiğini saptamışlardır.

Bu çalışmada, çalışma grupları ile kontrol grupları arasında çekirdekli eritrosit sayıları açısından anlamlı farklılık saptandı. Ayrıca ikinci örneklerdeki çekirdekli eritrosit sayıları da riskli gruplarda yüksekti. Her iki kontrol grubundaki çekirdekli eritrosit sayısı arasında fark yoktu. Kontrol gruplarının sonuçları Green ve ark.'larının (12), Korst ve ark.'larının (19) ve Phelan ve ark.'larının (5,18) yürüttükleri çalışmalardaki kontrol gruplarının sonuçları ile uyumludur (5,12,18,19). Çalışma grupları arasında en yüksek çekirdekli eritrosit sayısı pretermelerde ve DA'larında tespit edilmesine rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık yoktu.

Mutlak çekirdekli eritrosit sayıları kontrol gruplarında (Grup 5,6) en düşük bulunurken, riskli gruplar (Grup 1,2,3,4) arasında en yüksek DAÇ grubunda saptandı.

Literatürde tüm bu grupları çekirdekli eritrositler açısından bir arada değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tek tek veya iki riskli grubu bir arada değerlendiren ve kontrol grupları ile karşılaştıran çalışmalarda, bu riskli grupların kontrol gruplarından daha yüksek çekirdekli eritrosit sayısına sahip olduğu saptanmıştır. Örneğin, McIntosh ve ark.'ları (7) ileri derecede düşük doğum tartılı YD'larda yürüttükleri bir çalışmada, 1000 gramın altında yüzkırküç YD çalışmaya alınmıştır. Bunların 101'i preterm AGA, 42'si preterm SGA olarak değerlendirilmiştir. Ortalama Hb değerleri SGA YD'larda AGA YD'lara göre belirgin olarak yüksek saptanmıştır. Ayrıca SGA grupta nötrofil ve trombosit sayıları AGA gruba göre belirgin olarak düşük tespit edilmiştir. Buna karşılık çekirdekli eritrosit sayıları, doğumda SGA grupta AGA gruba göre anlamlı derecede yüksek olarak bulunmuş ve hayatın ilk 6 gününde yüksek seyretme eğiliminde oldukları gözlenmiştir. SGA grupta Hb değerlerinin yüksek olması, olguların kronik hipoksiye maruz kaldıklarını, oksijenizasyonun iyileştirilebilmesi için in utero kemik iliği veya hepatositlerin kırmızı seri hücrelerini daha fazla ürettikleri, buna karşılık beyaz küre ve trombosit üretiminin azalmış olabileceği ve çekirdekli eritrosit sayılarının yüksek saptanması da bu hipoteze destek olarak gösterilmiştir (7). Bu çalışmada da tüm olgular bir arada değerlendirildiğinde çekirdekli eritrositlerle gebelik yaşı ve doğum ağırlığı arasında negatif orta derecede korelasyon mevcuttu. Ayrıca retikülositlerle pozitif orta, eritrosit sayısı ile negatif zayıf, düzeltilmiş lökosit ve trombosit sayıları ile negatif orta, Epo değerleri ile pozitif orta derecede korelasyon tespit edildi. Lineer regresyon analizine göre çekirdekli eritrosit sayısını belirleyen en güçlü göstergenin preeklampsi ve gebelik yaşı olduğu bulundu.

Philip ve Tito'nun (16) McIntosh ve ark.'larının (7) çalışmasına benzer olan çalışmalarında, çok düşük ağırlıklı SGA YD'larda AGA YD'lara göre çekirdekli eritrosit sayısı yüksek saptanmış ve kronik hipoksiye bağlı olarak artıkları gösterilmiştir. Lökopeni ve trombositopeninin SGA grubunda nadir olmadığı ve genellikle artmış çekirdekli eritrositlerle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çekirdekli eritrosit sayısı belirgin yüksek olan olguların Hct'lerinin artmadığı ve olguların bir kaçı

dışında diğerlerinin 18. aydaki gelişimlerinin normal olduğu tespit edilmiştir. Çalışmacılar, çekirdekli eritrosit sayısının artmasına neden olan hipoksik uyarının Hct artışına neden olmadığı için subakut bir uyarı olması gerektiğini öne sürmüşlerdir. AGA grupta da bazı olgularda artmış çekirdekli eritrosit sayısı saptanmış olup, infeksiyon veya anemiye sekonder geliştiği düşünülmüştür (16). Soothill ve ark'ları (10) ile Bernstein ve ark.'larının (75) çalışmaları da bu bulguları destekler niteliktedir.

Bu çalışmada, SGA'lı olguların çekirdekli eritrosit sayıları ortalaması diğer risk gruplarından farklı saptanmamış olsa da, kontrol gruplarına göre belirgin olarak yüksekti. Ayrıca SGA'lı olguların çekirdekli eritrosit sayıları ve düzeltilmiş lökosit sayıları arasında negatif güçlü korelasyon mevcuttu.

Bu çalışmada, asfiktik gruptaki olguların ortalama çekirdekli eritrosit sayıları diğer riskli gruplardaki olgulara göre istatistiksel olarak belirgin farklılık olmasa da nisbeten düşük saptandı. Asfiktik olgulardaki çekirdekli eritrosit sayıları, periferden kaybolma zamanları ve bunların prognozla ilişkisini araştıran çalışmalarda, Naeye ve Localio (96) asfiktik uyarıdan sonraki 2 saat içinde çekirdekli eritrositlerin arttığını ve periferde gözlenebildiğini, 24-36 saat sonra ise normal düzeye indiğini saptamışlardır. Diğer bir çalışmada, Phelan ve ark.'ları nörolojik bozukluğa sahip olguların kontrol gruplarına göre daha fazla sayıda çekirdekli eritrosit sayısına sahip olduklarını ve asfiktik uyarı ne kadar doğuma yakınsa sayının o kadar az yükseldiğini gözlemişlerdir (5,18).

Bu çalışmada, DAÇ'larının (Grup 4), preterm gruptaki olgulara benzer sayıda ve istatistiksel olarak belirgin olmasa da diğer gruplardan daha fazla çekirdekli eritrosit sayısına sahip oldukları saptandı. Bu grup mutlak çekirdekli eritrosit sayısı açısından incelendiğinde ise diğer gruplardan istatistiksel olarak daha yüksek değerlere sahipti. Green ve ark.'larının DAÇ'larını asfiktik ve asfiktik olmayan iki alt grupta incelediği ve bu iki grubu kontrol grubu ile çeşitli parametreler açısından karşılaştırdıkları çalışmalarında, her iki DAÇ alt gruplarındaki olguların kontrol gruplarına göre daha yüksek sayıda çekirdekli eritrosite sahip olduklarını tespit etmişlerdir. En yüksek mutlak çekirdekli eritrosit sayısı ise asfiktik alt grupta tespit edilmesine rağmen, iki alt grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık

saptamamışlardır. Çalışmada normal grupta saptanan, mutlak çekirdekli eritrosit sayısı bu çalışmadakine benzer şekilde $< 1000 \text{ mm}^3$ bulunmuştur (12).

Phalen ve ark.'ları (5,18) ile Korst ve ark.'larının (19) yaptıkları çalışmalarda artmış çekirdekli eritrosit sayısının, intrauterin fetal asfiksiyle ilişkili olduğu ve prognozun ve asfiksinin zamanının belirlenmesinde çekirdekli eritrosit sayılarının periferden kaybolma zamanının kullanılabileceği belirtilmektedir. Örneğin, çekirdekli eritrosit sayısı yüksek ve periferden kaybolmaları geç ise fetusun maruz kaldığı asfiksi doğumdan önce ve uzun süreli, ayrıca prognoz da daha kötü beklenmelidir (5).

Bu çalışmada olgular prognoz açısından incelendiklerinde, şifa ile iyileşen olgular ile sekel ile iyileşen ve ölen olguların çekirdekli eritrosit sayıları belirgin olarak farklılık göstermekteydi. Ayrıca şifa ile iyileşen olgularda çekirdekli eritrosit sayısı normal düzeye diğer gruba göre daha çabuk dönmüştü.

Akut ve kronik hipoksinin ayırımında, kordon kanında Epo seviyesinin ve çekirdekli eritrosit sayısının saptanmasının faydalı olabileceğini öne süren çalışmalar mevcut olmasına rağmen, bu konuda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (5,6). Fetusun maruz kaldığı asfiktik bir durum yokken, maternal diabetes mellitus, prematürelilik ve intrauterin büyüme geriliği varlığında çekirdekli eritrosit sayısı artmış bulunabilir. Bu açıkça klinik tabloyu karıştırabilir ve bu fetuslardan hangisinin asfiksiden daha fazla etkilendiğine karar vermede zorluğa neden olabilir (18).

Sonuç olarak bu çalışmada, çalışma grupları ile kontrol grupları arasında ve bu grupların kendi içlerinde serum Epo düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. Buna karşılık, çalışma gruplarının kontrol gruplarına göre çekirdekli eritrosit sayıları istatistiksel olarak belirgin yüksek tespit edildi, fakat riskli grupların kendi aralarında çekirdekli eritrosit sayıları açısından farklılık yoktu. Tüm gruplar içerisinde hem serum Epo hem de çekirdekli eritrosit sayılarının prognozla ilişkisi saptanmasına rağmen çekirdekli eritrositlerin prognozla olan ilişkisi daha belirgindi.

SONUÇLAR

Bu çalışmada, normal ve riskli yenidoğanlarda, serum Epo seviyelerinin ve çekirdekli eritrosit sayılarının saptanması, bu iki parametrenin hangi riskli gruplarda prognozla ilişkisi olduğu konusunda şu sonuçlara varılmıştır:

1. Çalışma grupları ve kontrol grupları arasında doğumdan sonraki ilk 12 saatte ve 3. gün ölçülen serum Epo konsantrasyonları açısından istatistiksel olarak farklılık tespit edilmedi. 7. gün saptanan serum Epo değerleri asfiktik grupta (Grup 3) diğer gruplara göre belirgin olarak yüksek bulundu ($p=0.001$). Epo tüm gruplarda tedrici olarak zaman içinde düşme gösterdi.

2. Tüm gruplar birarada değerlendirildiğinde serum Epo konsantrasyonu ile demografik veriler arasında korelasyon saptanmazken, beyaz küre sayısı ile pozitif, trombosit sayısı ile negatif, çekirdekli eritrosit/100 lökosit ve mutlak çekirdekli eritrosit sayıları ile pozitif korelasyonu mevcuttu.

3. Gruplar tek tek ele alındığında, prematüre grupta (Grup 2) serum Epo değerleri ile 1. ve 5. dk Apgar skorları arasında negatif ve çekirdekli eritrosit/100 lökosit sayıları arasında ise pozitif korelasyon mevcuttu. DAÇ'larının serum Epo değerleri ile retikülosit, çekirdekli eritrosit ve mutlak çekirdekli eritrosit sayıları arasında pozitif, güçlü, Hb değerleri arasında ise negatif korelasyon tespit edildi.

4. Stepwise lineer regresyon analizi sonucunda, serum Epo konsantrasyonunu belirleyen en güçlü göstergenin preeklampsi olduğu saptandı ($y=1.443 + \text{preeklampsi} \times 1.22$). Buna karşılık serum Epo konsantrasyonu ile doğum şekli, 1 ve 5. dk Apgar skorları, annenin sigara içmesi, gebelik yaşı ve doğum tartısıyla ilişki tespit edilemedi.

5. Çalışmada şifa ile iyileşen olguların serum Epo değerleri ile minör veya majör sekel ile iyileşen ve ölen olguların serum Epo konsantrasyonları arasında sınırdaki farklılık mevcuttu ($39 \pm 58 \text{ mU/mL}$ vs $72 \pm 79 \text{ mU/mL}$). Ayrıca serum Epo

konsantrasyonu ile prognoz arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi. Serum Epo düzeyi arttığında prognoz kötüleşiyordu.

6. Çalışma ve kontrol grupları arasında doğumdan sonraki ilk 12 saatte ve 3. günde belirlenen çekirdekli eritrosit/100 lökosit sayıları, kontrol gruplarında çalışma gruplarına göre belirgin olarak düşüktü. Çalışma grupları kendi aralarında çekirdekli eritrosit sayıları açısından karşılaştırıldığında ise belirgin farklılık saptanmadı. 7. gündeki çekirdekli eritrosit sayıları kontrol ve çalışma grupları arasında farklı bulunmadı. Çekirdekli eritrosit sayıları zaman içerisinde tedrici olarak düştü.

7. DAÇ'larında (Grup 4) mutlak çekirdekli eritrosit sayısı diğer gruplara göre istatistiksel olarak yüksek saptandı.

8. Tüm gruplar birarada değerlendirildiğinde çekirdekli eritrosit sayısı ile doğum ağırlığı ve gebelik yaşı arasında negatif korelasyon tespit edildi. Ayrıca eritrosit, düzeltilmiş lökosit ve trombosit sayıları ile negatif, retikülosit sayısı ile pozitif korelasyonu mevcuttu.

9. Gruplar tek tek ele alındığında Grup 1'de (SGA'lı olgular) çekirdekli eritrosit sayısı ile doğum tartısı ve düzeltilmiş lökosit sayıları arasında ters bir korelasyon mevcuttu. Grup 2'de (preterm grubu) çekirdekli eritrosit ile düzeltilmiş lökosit sayısı arasında negatif bir korelasyon vardı. Grup 4'te (DAÇ'ları grubu) çekirdekli eritrosit sayısı ile beyaz küre sayısı arasında korelasyon tespit edildi.

10. Lineer regresyon analizi sonucunda, çekirdekli eritrositlerin gebelik yaşı ve preeklampsi ile güçlü ilişkisi olduğu bulundu ($y=1.81 + 0.55 X$ preeklampsi - $0.042 X$ gebelik yaşı). Buna karşılık çekirdekli eritrositlerin doğum şekli, 1 ve 5. dk Apgar skorları ve doğum tartısı ile ilişkisi saptanmadı.

11. Çalışmada şifa ile iyileşen olguların çekirdekli eritrosit sayıları ile minör veya majör sekel ile iyileşen ve ölen olguların çekirdekli eritrosit sayıları arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık vardı ($20 \pm 43 /100$ lökosit vs $52 \pm 90 /100$ lökosit). 3. gün alınan kan örneklerindeki çekirdekli eritrosit sayısı şifa ile iyileşenlerde daha düşüktü ($8 \pm 30 /100$ lökosit vs $44 \pm 105 /100$ lökosit). Sekel ile iyileşen ve ölen olgularda çekirdekli eritrosit sayıları periferden daha geç kaybolmasına rağmen, tüm olgularda çekirdekli eritrositler zaman içerisinde tedrici olarak düştü. Ayrıca çekirdekli eritrositler ile prognoz arasında, serum Epo değerleri ile prognoz arasındaki korelasyondan daha güçlü pozitif bir korelasyon tespit edildi.

ÖZET

Amaç: Normal ve riskli yenidoğanlarda (YD), çekirdekli eritrosit ve serum eritropoietin (Epo) düzeylerini tespit etmek ve bu iki parametrenin hangi riskli gruplarda prognozla daha yakın ilişkili olduğunu saptamak.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma, Temmuz 1998-Nisan 1999 tarihleri arasında, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde prospektif olarak yürütüldü. Çalışma grubu 4 alt gruptan oluştu. Grup 1'de (n=14) gebelik yaşına göre doğum tartısı düşük (SGA YD grubu), Grup 2'de (n=25) prematüre, Grup 3'te (n=18) asfiktik YD'lar, Grup 4'te (n=12) diabetik anne çocukları yer aldı. Kontrol grubu da iki alt gruba ayrıldı. Grup 5 (n=19) seksiyo sonucu doğan ve Grup 6 (n=18) normal spontan vajinal yolla doğan term sağlıklı YD'ları içerdi. Çalışma ve kontrol grubunda yer alan yenidoğanlardan serum Epo konsantrasyonlarının ve çekirdekli eritrosit sayısının saptanması için kan örnekleri ilk 12 saatte, 3. ve 7. günlerde alındı. Serum Epo düzeyleri "Solid-faz Chemiluminescent Enzim Immunoassay" yöntemi ile IMMULITE® EPO (Diagnostic System Laboratories, Los Angeles) kit'i kullanılarak ölçüldü. Çekirdekli eritrosit sayımı için periferik yayma boyanarak 100 lökosit içerisindeki çekirdekli eritrosit sayısı belirlendi. Düzeltilmiş lökosit sayısı şu formüle göre hesaplandı: Düzeltilmiş lökosit = Total Lökosit x 100/(çekirdekli eritrosit + 100). Mutlak çekirdekli eritrosit sayısı: düzeltilmiş lökosit x 100 lökosite karşılık tespit edilen normoblast olarak belirlendi. Tüm olgular demografik veriler, tam kan sayımları, retikülosit sayıları, serum Epo değerleri ve çekirdekli eritrosit sayıları açısından karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma grubunda doğumdan sonraki ilk 12 saatte ölçülen serum Epo değerleri Grup 1'de 62.6 ± 77.76 mU/mL, Grup 2'de 37.1 ± 63.9 mU/mL, Grup 3'te 36.5 ± 52.1 mU/mL, Grup 4'te 51.3 ± 61.3 mU/mL idi. Kontrol gruplarında ise Grup 5'te 18.4 ± 7.3 mU/mL ve Grup 6'da 29.2 ± 31.9 mU/mL olarak saptandı.

Doğumdan sonraki ilk 12 saat içerisinde saptanan çekirdekli eritrosit/100 lökosit sayıları ise sırasıyla 25.6 ± 39.8 , 30.4 ± 55 , 22.4 ± 68.0 , 28.2 ± 53.9 , 2.7 ± 3.2 ve 3.0 ± 3.3 idi. Olguların mutlak eritroblast sayıları sırasıyla $2.321 \pm 3.983 /\text{mm}^3$, $2.188 \pm 3.988 /\text{mm}^3$, $1.333 \pm 2.145 /\text{mm}^3$, $3.300 \pm 6.071 /\text{mm}^3$, $200 \pm 388 /\text{mm}^3$ ve $383 \pm 531 /\text{mm}^3$ idi. Epo düzeyleri açısından, gruplar arasında farklılık yoktu. Serum Epo değerleri günler içerisinde düşme gösterdi. Çekirdekli eritrositler açısından gruplar arasında Grup 5 ve 6'daki olgulardan kaynaklanan belirgin farklılık mevcuttu ($p=0.002$). Buna karşılık, riskli gruplar (Grup 1, 2, 3 ve 4) kendi aralarında değerlendirildiğinde farklılık saptanmadı. Çekirdekli eritrosit sayıları zaman içerisinde tedrici olarak düştü. Mutlak eritroblast sayısı açısından gruplar arasında Grup 4'ten kaynaklanan istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.003$). Prognoz açısından serum Epo değerlerinin şifayla iyileşen olgular ile sekelle iyileşen ve ölen olgular arasında sınırdaki farklılık olduğu saptandı. Şifayla iyileşen olguların çekirdekli eritrosit sayıları sekelle iyileşen ve ölen olgulara göre daha düşüktü ($p=0.01$).

Sonuç: Bu çalışma, serum Epo düzeylerinin riskli yenidoğanları, sağlıklı yenidoğanlardan ayırmada ve prognozu belirlemede yetersiz, çekirdekli eritrosit sayısının ise riskli ve sağlıklı yenidoğanı ayırmada yeterli, ancak risk gruplarının ayırımında yetersiz olduğunu, bununla birlikte prognozu belirlemede serum Epo düzeylerine göre daha iyi bir gösterge olduğunu ortaya koymuştur.

SUMMARY

THE VALUE OF NUCLEATED RED CELL COUNTS AND ERYTHROPOIETIN LEVELS IN THE DETECTION AND FOLLOW-UP OF HIGH RISK NEONATES

Objective: To determine nucleated red cell counts and erythropoietin (Epo) levels in normal and high risk neonates, and to evaluate the value of their detection in the follow-up of high risk neonates.

Subjects and methods: This study was carried out prospectively between October 1998 and April 1999 in the Neonatal Intensive Care Unit of Pediatrics department of Trakya University Faculty of Medicine. The study group comprised of four subgroups. Group 1 included infants that were small for gestational age (SGA) (n=14), Group 2 comprised of infants born premature (n=25), Group 3 included term infants with asphyxia and Group 4 comprised of infants of diabetic mothers (n=12). Control group consisted of two subgroups. Group 5 included healthy, term infants delivered with cesarean section (n=19) and Group 6 comprised of healthy, term infants born with normal labor (n=18). In the study and control groups three blood samples were obtained from each infant within 12 hours, 3 days and 7 days after birth to measure the nucleated red cell counts and Epo levels. The serum Epo levels were determined by using IMMULITE® Epo kit which is a "Solid-phase Chemiluminescent Enzyme Immunoassay" method. Nucleated red blood cells (NRBC) were determined by an examination of the blood smear for the differential white blood cell count (WBC), and expressed as number/100 leucocytes. The WBC count was corrected for the NRBC count. Absolute NRBC counts were derived by multiplying the corrected WBC count by the percentage of NRBC's. All cases were compared in terms of complete blood counts, reticulocyte counts, serum Epo concentrations and NRBC counts.

Results: In the study and control groups, the mean serum concentrations of Epo within 12 hours after birth were 62.6 ± 77.76 mU/mL for Group 1; 37.1 ± 63.9 mU/mL for Group 2; 36.5 ± 52.1 mU/mL for Group 3; 51.3 ± 61.3 mU/mL for Group 4; 18.4 ± 7.3 mU/mL for Group 5 and 29.2 ± 31.9 mU/mL for Group 6. The mean numbers of NRBC/100 leucocyte of sample one were 25.6 ± 39.8 , 30.4 ± 55 , 22.4 ± 68.0 , 28.2 ± 53.9 , 2.7 ± 3.2 and 3.0 ± 3.3 respectively. Whereas, the numbers of absolute erythroblasts were 2.321 ± 3.983 /mm³, 2.188 ± 3.988 /mm³, 1.333 ± 2.145 /mm³, 3.300 ± 6.071 mm³, 200 ± 388 /mm³ and 383 ± 531 /mm³ respectively. There was no statistically significant difference among the groups with regard to Epo concentrations of sample one. A decrease in Epo levels was seen in all groups with advance in postnatal age. The number of NRBC of sample one was significantly lower in Groups 5 and 6 compared with other groups ($p=0.002$). However there was no significant difference among the study groups (Group 1,2,3 and 4) with regard to the number of NRBC of sample one. A decrease in NRBC count was seen in all groups with advance in postnatal age. The absolute number of erythroblast of sample one was significantly higher in Group 4 compared with other groups ($p=0.003$). With respect to outcome, the value of serum Epo concentrations in the detection of patients with sequela and those without sequela, achieved only borderline significance. On the other hand, the patients who had no pathological outcome during follow-up had lower NRBC counts when compared to the patients who were observed to have sequela or died ($p=0.01$ and $p=0.02$ respectively).

Conclusion: The results of this study demonstrate that serum Epo concentrations do not seem to be efficient in the discrimination of high risk neonates from healthy ones as well as in the evaluation of prognosis of those infants. NRBC count discriminate high risk neonates from healthy ones however does not allow the inter group discrimination of high risk neonates. On the other hand NRBC count is better than serum Epo concentrations in the determination of prognosis in high risk neonates.

KAYNAKLAR

1. Costello AM de L, Manandhar DS. Perinatal asphyxia in less developed countries. Arch Dis Child 1994;71:F1-F3.
2. Can G: Neonatal asfiksi. Neyzi O, Ertuğrul T (Ed). Pediatri. (2. baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 1993:235-242.
3. Acunaş B: Perinatal asfiksi. SayA, Yıldız F, Acunaş B, Güven F(Ed). Neonatoloji Günleri Kongre Kitapçığı. İstanbul: Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, 1995:67-87.
4. PeYang LL: Perinatal Asphyxia. In Gomella TL, Cunningham Md, Eyal FG. (Eds) A large clinical manual neonatology. 2th ed. London:Prentice Hall International Limited, 1992:399-408.
5. Phelan JP, Ahn MO, Korst LM, Martin GI: Nucleated red blood cells: A marker for fetal asphyxia. Am J Obstet Gynecol 1995;173:1380-1384.
6. Fahnenstich H, Dame C, Allera A, Kowalewski S: Biochemical monitoring of fetal distress with serum-immunoreactive erythropoietin. J Perinat Med 1996;24:85-91.
7. McIntosh N, Kempson C, Tyler RM: Blood counts in extremely low birthweight infants. Arch Dis Child 1988;63:74-76.
8. Foretier F, Daffos F, Galacteros F, Bardakjian J, Rainaut M, Beuzard Y: Hematological values of 163 normal fetuses between 18 and 30 weeks of gestation. Pediatr Res 1986;20:342-346.
9. Nicolaides KH, Thilaganathan B, Mibashan RS: Cordocentesis in the investigation of fetal erythropoiesis. Am J Obstet Gynecol 1989;161:1197-1200.
10. Soothill PW, Nicolaides KH, Campbell S: Perinatal asphyxia, hyperlacticaemia, hypoglycaemia, and erythroblastosis in growth retarded fetuses. BMJ 1987;294:1051-1053.
11. Widness JA, Susa JB, Garcia JF, Singer DB, Sehgal P, Oh W, et al: Increased erythropoiesis and elevated erythropoietin in infants born to

- diabetic mothers and in hyperinsulinemic rhesus fetuses. *J Clin Invest* 1981;67:637-642.
12. Green WD, Mimouni F: Nucleated erythrocytes in healthy infants and in infants of diabetic mothers. *J Pediatr* 1990;116:129-131.
 13. Green WD, Hendon B, Mimouni FB: Nucleated erythrocytes and intraventricular hemorrhage in preterm neonates. *Pediatrics* 1995;96:475-478.
 14. Krauss Js, Dover RK, Khankhanian NK. Biochemical values, complement levels, and hemostatic data in septic leukoerythroblastosis. *Ann Clin Lab Sci* 1989;19:422-428.
 15. Leikin E, Garry D, Visintainer P, Verma U, Tejani N: Correlation of neonatal nucleated red cell counts in preterm infants with histologic chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:27-30.
 16. Philip AGS, Tito AM: Increased nucleated red cell counts in small for gestational age infants with very low birth weight. *AJDC* 1989;143:164-169.
 17. Nikolini U, Nicolaidis P, Fisk NM, Vaughan JI, Fusi L, Gleeson R, et al: Limited role of fetal blood sampling in prediction of outcome in intrauterine growth retardation. *Lancet* 1990;336:768-772.
 18. Phelan JP, Korst LM, Ahn MO, Martin GI: Neonatal nucleated red blood cells and lymphocyte counts in fetal brain injury. *Obstet Gynecol* 1998;91:485-489.
 19. Korst LM, Phelan JP, Ahn MO, Martin GI: Nucleated red blood cells: An update on the marker for fetal asphyxia. *Am. J Obstet Gynecol* 1996;175:843-846.
 20. Thomas MR, Canning CE, Cotes PM: Erythropoietin and cord blood haemoglobin in the regulation of human fetal erythropoiesis. *Br J Obstet Gynecol* 1983;90:795-800.
 21. Widness JA, Teramo KA, Clemons GK, Coustan DR, Cavalieri RL, Oh W, et al: Correlation of the interpretation of fetal heart rate records with cord plasma erythropoietin levels. *Br J Obstet Gynecol* 1985;92:326-332.
 22. Ruth V, Widness JA, Clemons G, Raivio KO: Postnatal changes in serum immunoreactive erythropoietin in relation to hypoxia before and after birth. *J Pediatr* 1990;116:950-954.
 23. Salvesen DR, Brudenell JM, Snijders RJM, Ireland RM, Nicolaidis KH: Fetal plasma erythropoietin in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. *Am. J Obstet Gynecol* 1993;168:88-94.

24. Stangenberg M, Legarth J, Hong-Lie C, Lingman G, Persson B, Rahman F, et al: Erythropoietin concentrations in amniotic fluid and umbilical venous blood from Rh-immunized pregnancies. *J Perinat Med* 1993;21:225-234.
25. Moya FR, Grannum PAT, Widness JA, Clemons GK, Copel JA, Hobbins JC: Erythropoietin in human fetuses with immune hemolytic anemia and hydrops fetalis. *Obstet Gynecol* 1993;82:353-358.
26. Jazayeri A, Tsibris JCM, Spellacy WN: Umbilical cord plasma erythropoietin levels in pregnancies complicated by maternal smoking. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:433-435.
27. Maier RF, Böhme K, Dudenhausen JW, Obladen M: Cord blood erythropoietin in relation to different markers of fetal hypoxia. *Obstet Gynecol* 1993;81:575-580.
28. Christensen RD: Developmental Hematopoiesis. In Polin and Fox. (Eds) *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998; 1737-1761.
29. Ohls RK: Developmental Erythropoiesis. In Polin and Fox. (Eds) *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998; 1762-1786.
30. Sieff CA, Nathan DG: The anatomy and physiology of hematopoiesis. In Nathan DG, Oski FA. (Eds) *Hematology of Infancy and Childhood* 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993;156-215.
31. Frostier F, Daffos F, Catherine N, Renard M, Andreux JP: Developmental hematopoiesis in human fetal blood. *Blood* 1991;77:2360-2363.
32. Bernard J: The erythroblastic island: Past and future. *Blood Cell* 1991;17:5-17.
33. Mohandas N: Cell-cell interaction and erythropoiesis. *Blood Cell* 1991;17:59-64.
34. Schibler KR, Ohls RK, Le T, Liechty KW, Christensen RD: Effect of recombinant stem cell factor on clonogenic maturation and cycle status of human fetal hematopoietic progenitors. *Pediatr Res* 1994;35:303-306.
35. Suda T, Suda J, Ogawa M, Ihle JN: Permissive role of interleukin-3 in proliferation and differentiation of multipotential hematopoietic progenitors in culture. *J Cell Physiol* 1985;124:182-190.

36. Cairo MS, Suen Y, Knoppel E, Ven C, Nguyen A, Sender L: Decreased stimulated GM-CSF production and GM-CSF gene expression but normal numbers of GM-CSF receptors in human term newborns compared with adults. *Pediatr Res* 1991;30:362-367.
37. Roodman GD, Lee J, Gidani AS: Effects of dexamethasone on erythroid colony and burst formation from human fetal liver and adult marrow. *Br J Hematol* 1983;53:621-628.
38. Christensen RD, Rothstein G: Erythropoietin affects the maturation pattern of fetal G-CSF responsive progenitors. *Am J Hematol* 1992;39:108-112.
39. Emerson SG, Thomas S, Ferrara JL, Greenstein JL: Developmental regulation of erythropoiesis by hematopoietic growth factors: Analysis on populations of BFU-E from bone marrow, peripheral blood and fetal liver. *Blood* 1989;74:49-55.
40. Valtieri M, Gabbianelli M, Pelosi E, Bassano E, Petti S, Russo G, et al: Erythropoietin alone induces erythroid burst formation by human embryonic but not adult BFU-E in unicellular serum-free culture. *Blood* 1989;74:460-470.
41. Umemura T, Papayannopoulou T, Stamatoyannopoulos G: The mechanism of expansion of late erythroid progenitors during erythroid regeneration: Target cells and effects of erythropoietin and interleukin-3. *Blood* 1989;73:1993-1998.
42. Yiğit G, Yiğit R: Eritropoietik stimulan faktör etkisinde eritropoezin moleküler ve ultrastrüktürel değişimleri hakkında yeni görüşler. *İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası*. 1987;50:587-593.
43. Holbrook ST, Ohls RK, Schibler KR, Yang YC, Christensen RD: Effects of interleukin-9 on clonogenic maturation and cell-cycle status of fetal and adult hematopoietic progenitors. *Blood* 1991;77:2129-2134.
44. Monroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R: The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr* 1979;95:89-98.
45. Stevenson DK, Bucalo LR, Cohen RS, Vreman HJ, Ferguson II JE, Schwartz HC: Increased immunoreactive erythropoietin in cord plasma and neonatal bilirubin production in normal term infants after labor. *Obstet Gynecol* 1986;67:69-73.
46. Jelkmann W: Renal erythropoietin: Properties and production. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1986;104:139-215.

47. Erslev AJ: Erythropoietin. *New Eng J Med* 1991;324:1339-1344.
48. Krantz SB: Erythropoietin. *Blood* 1991;77:419-434.
49. Widness JA, Teramo KA, Clemons GK, Garsia JF, Cavalieri RL, Piasecki GJ, et al. Temporal response of immunoreactive erythropoietin to acute hypoxemia in fetal sheep. *Pediatr Res* 1986;20:15-19.
50. Zanjani ED, Ascensao JL, McGlave PB, Banisadre M, Ash RC: Studies on the liver to kidney switch of Erythropoietin production. *J Clin Invest* 1981;67:1183-1188.
51. Naughton BA, Dornfest BS, Preti RA, Johnson R, Gordon AS: Hepatic and renal erythropoietin production during various intervals of short-term hypoxia. *J Med* 1984;15:45-58.
52. Ohneda O, Yanai N, Obinata M: Erythropoietin as a mitogen for fetal liver stromal cells which support erythropoiesis. *Experimental Cell Res* 1993;208:327-331.
53. Zanjani ED, Poster J, Burlington H, Mann LI, Wasserman LR: Liver as the primary site of erythropoietin formation in the fetus. *J Lab Clin Med* 1977;89:640-644.
54. Cazzola M, Guarnone R, Cerani P, Centenara E, Rovati A, Beguin Y: Red blood cell precursor mass as an independent determinant of serum erythropoietin level. *Blood* 1998;91:2139-2145.
55. Clemons GK, Fitzsimmons SL, DeManincor D: Immunoreactive erythropoietin concentrations in fetal and neonatal rats and the effects of hypoxia. *Blood* 1986;68:892-899.
56. Zanjani ED, Mann LI, Burlington H, Gordon AS, Wasserman LR: Evidence for a physiologic role of erythropoietin in fetal erythropoiesis. *Blood* 1974;44:285-290.
57. Zanjani ED, Pixley JS, Slotnick N, MacKintosh FR, Ekhterae D, Clemons G: Erythropoietin does not cross the placenta into the fetus. *Pathobiology* 1993;61:211-215.
58. Zanjani ED, Peterson EN, Gordon AS, Wasserman LR: Erythropoietin production in the fetus: role of the kidney and maternal anemia. *J Lab Clin Med* 1974;83:281-287.
59. Rollins MD, Maxwell AP, Afrasiabi M, Halliday HL, Lappin TRJ: Cord blood erythropoietin, pH, PaO₂ and haematocrit following caesarean section before labour. *Biol Neonate* 1993;63:147-152.

60. Millard DD, Gidding SS, Socol ML: Effects of intravascular intrauterine transfusion on prenatal and postnatal hemolysis and erythropoiesis in severe fetal isoimmunization. *J Pediatr* 1990;117:447-454.
61. Soothill PW, Nicolaides KH, Rodeck CH, Clewell WH, Lindridge L: Relationship of fetal hemoglobin and oxygen content to lactate concentration in Rh isoimmunized pregnancies. *Obstet gynecol* 1987;69:268-270.
62. Nakamura Y: Differentiation and maturation of erythroblasts. *Rinsho Byori* 1998;46:435-440.
63. Lacombe C, Mayeux P: Biology of erythropoietin. *Haematologica* 1998;83:724-732.
64. White P: Diabetes mellitus in pregnancy. *Clin Perinatol* 1974;1:331-347.
65. National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;28:1039-1057.
66. Heritage K: Infants of diabetic mother. In Gomella TL, Cunningham Md, Eyal FG. (Eds) *A large clinical Manual- neonatology*. 2th ed. London:Prentice Hall International Limited, 1992:333-337.
67. Moor RT: Endocrine disorders in pregnancy. In Taeusch HW, Ballard RD. (Eds) *Avery's Diseases of the newborn*. 7th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998:65-74.
68. Coustan DR: Diabetes in pregnancy. In Polin and Fox. (Eds) *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998:258-263.
69. Sohl B, Moor RT: Abnormalities of fetal growth. In Taeusch HW, Ballard RD. (Eds) *Avery's Diseases of the newborn*. 7th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998:90-97.
70. Kliegman RM: Intrauterin growth retardation. In Polin and Fox. (Eds) *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998:203-240.
71. Desai NS: Intrauterin growth retardation (Small for gestational age infant). In Gomella TL, Cunningham Md, Eyal FG. (Eds) *A large clinical Manual- neonatology*. 2th ed. London:Prentice Hall International Limited, 1992:367-372.

72. Lubchenco L, Hansman C, Boyd E. Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live birth at gestational ages from 26 to 42 weeks. *Pediatrics* 1966;37:403-408.
73. Snijders RJM, Abbas A, Melby O, Ireland RM, Nicolaides KH: Fetal plasma erythropoietin concentration in severe growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:615-619.
74. Maier RF, Günther A, Vogel M, Dudenhausen JW, Obladen M: Umbilical venous erythropoietin and umbilical arterial pH in relation to morphologic placentation abnormalities. *Obstet Gynecol.* 1994;84:81-87.
75. Bernstein PS, Minior VK, Divon MY: Neonatal nucleated red cell counts in small-for-gestational age fetuses with abnormal umbilical artery Doppler studies. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1079-1084.
76. Lemery DJ, Santolaya J, Serre AF, Denoix S, Besse GH, Vanlieferinghen PC, et al: Serum erythropoietin in small for gestational age fetuses. *Biol Neonate* 1994;65:89-93.
77. Weiner CP, Williamson RA: Evaluation of severe growth retardation using cordocentesis-hematologic and metabolic alterations by etiology. *Obstet Gynecol* 1989;73:225-229.
78. Kipikasa J, Bolognese RJ: Obstetric management of prematurity. In Polin and Fox. (Eds) *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998;264-284.
79. Goddard-Finegold J, Mizrahi EM, Lee RT: The newborn nervous system. In Taeusch HW, Ballard RD. (Eds) *Avery's Diseases of the newborn*. 7th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998:839-851.
80. American Academy of Pediatrics, American College of Obstetricians and Gynecologists: Relationship between perinatal factors and neurologic outcome. In: Poland RL, Freeman RK. (Eds) *Guidelines for Perinatal Care*. 3th ed. American Academy of pediatrics, 1992;221-224.
81. Brann AW: Hypoxic ischemic encephalopathy (asphyxia). *Pediatr Clin North Am* 1986;33:451-464.
82. Passernak JF: Hypoxic-ischemic brain damage in the term infant (lessons from the laboratory). *Pediatr Clin North Am* 1993;40:1061-1073.
83. Snyder EY, Cloherty JP: Perinatal asphyxia. In: Cloherty JP, Stark AR. (Eds) *Manual of Neonatal Care*. 3th ed. London, Little-Brown Company, 1993;393-411.

84. Rothman SM: Biochemistry of hypoxic-ischemic brain injury. In: Polin and Fox. (Eds) *Fetal and Neonatal Physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998;2118-2123.
85. Goplerud JM, Delivori-Papadopoulos M: Nuclear magnetic resonance imaging and spectroscopy following asphyxia. *Clin Perinatol* 1993;20:345-364.
86. Penrice J, Candy EB, Lorek A, Wylezinska M, Amess PN, Aldridge RF, et al: Protonmagnetic resonance spectroscopy of the brain in normal preterm and term infants, and early changes after perinatal hypoxia-ischemia. *Pediatr Res* 1996;40:6-14.
87. Levene MI, Evans DJ, Mason S, Brown J: An international network for evaluating neuroprotective therapy after severe birth asphyxia. *Seminars in Perinatology* 1999;23:226-233.
88. Kitanaka T, Alonso JG, Gilbert RD, Sui BL, Clemons GK, Longo LD: Fetal responses to long-term hypoxemia in sheep. *Am J Physiol* 1989;256:R1348-1354.
89. Finn PH: Erythropoietin levels in cord blood as an indicator of intrauterine hypoxia. *Acta Paediatr Scandinav* 1966;55:478-489.
90. Richey SD, Ramin SM, Bawdon RE, Roberts SW, Dax J, Roberts J, et al: Markers of acute and chronic asphyxia in infants with meconium-stained amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1212-1215.
91. Widness JA, Clemons GK, Garsia JF, Oh W, Schwartz R: Increased immunoreactive erythropoietin in cord serum after labor. 1984;148:194-197.
92. Anderson GW, Buffalo NY: Studies on the nucleated red cell count in the chorionic capillaries and the cord blood of various ages of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1941;42:1-14.
93. Merenstein GB, Blackmon LR, Kushner J: Nucleated red-cells in the newborn. *Lancet* 1970:1293-1294.
94. Thilaganathan B, Athanasiou S, Özmen S, Creighton S, Watson NR, Nicolaidis KH: Umbilical cord blood erythroblast count as an index of intrauterine hypoxia. *Arch Dis Child* 1994;70:F192-F194.
95. Costongs GM, van Oers RJ, Leerkes B, Janson PC: Evaluation of the DPC IMMULITE random access immunoassay analyser. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:887-892.

96. Naeye RL, Localio:AR: Determining the time before birth when ischemia and hipoxemia initiated cerebral palsy. *Obstet Gynecol* 1995;86:713-719.
97. Eckardt KU, Hartmann W, Vetter U, Pohlandt F, Burghardt R, Kurtz A: Serum immunoreactive erythropoietin of children in health and disease. *Eur J Pediatr* 1990;149:459-464.
98. Meberg A: Heamoglobin concentrations and erythropoietin levels in appropriate and small for gestational age infants. *Scand J Heamatol* 1980;24:162-168.
99. Ruth V, Autti-Ramo I, Granström ML, Korkman M, Raivio R: Prediction of perinatal brain damage by cord plasma vasopressin, erythropoietin, and hypoxanthine values. *J Pediatr* 1988;113:880-885.

