

6646

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DAHİLİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

KORDON KANI
ERİTROSİT MEMBRAN LİPİD DEĞERLERİ

Dr.Hasan ÖZKAN
(Uzmanlık Tezi)

Tez Yöneticisi: Yard.Doç.Dr.Nur OLGUN

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İ Z M İ R - 1988

İ Ç İ N D E K İ L E R

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	24
BULGULAR	27
TARTIŞMA	36
SONUÇLAR	45
ÖZET	48
KAYNAKLAR	49

K I S A L T M A L A R

ACH esteraz	: Asetilkolin esteraz
ADP	: Adenozin difosfat
Alb	: Albumin
ANSA	: L-amino- 2 naftol 4 sülfonik asid
ATP	: Adenozin trifosfat
ATPaz	: Adenozin trifosfataz
C	: Kolesterol
cAMP	: Cyclic-adenozin-3-5-monofosfat
CE	: Kolesterol esteri
cm.	: Santimetre
dl.	: Desilitre
2,3 DPG	: 2,3 difosfogliserat
FFA	: Serbest yağ asidi
fl.	: Femtolitre
g.	: Gram
GL	: Glikolipid
GPC	: Gliseril fosforil kolin
G-3-PD	: Gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz
G-6-PD	: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
Hb.	: Hemoglobin
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
Hf.	: Hafta
Ht.	: Hematokrit
LCAT	: Lesitin-kolesterol açil transferaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
Le	: Lesitin
LPC	: Lizofosfatidil kolin
LPE	: Lizofosfatidil etanolamin
M	: Molar
mg.	: Miligram
mm ³	: Milimetre küp
μ ³	: Mikron küp

µg	: Mikrogram
µl.	: Mikrolitre
µmol	: mikromol
N	: Normal
NADH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
nm.	: Nanometre
PAS	: Periyodik asid Schiff
PC	: Fosfatidil kolin
PE	: Fosfatidil etanolamin
PGK	: Fosfogliserat kinaz
PS	: Fosfatidil serin
SDS	: Sodium dodecyl sulfat
SM	: Sfingomyelin
Sn.	: Saniye
TPL	: Total fosfolipid
V/V/V	: Volüm/Volüm/Volüm
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein

GİRİŞ VE AMAÇ

Eritrositlerin dolaşımında görevlerini tam olarak yapabilmeleri ve yaşam sürelerini tamamlayabilmeleri için membran, hemoglobin ve intrasellüler enzimlerin yapısal ve fonksiyonel olarak tam bir görev yapabilir halde olması gerekmektedir. Bunlardan herhangi birindeki bozukluk eritrosit ömrünün kısılmasına ve hücrenin yıkımına neden olur. Membran lipid kompozisyonundaki değişimlerin bir seri hematolojik bozukluklarla ilişkili olduğu öteden beri bilinmektedir.

İnsan fetal eritrositleri bazı metabolik, fonksiyonel ve yapısal özellikleriyle bebek, çocuk ve erişkin eritrositlerinden farklılık gösterirler. Fetal eritrositler erişkinlerinkine göre daha büyüktür, daha büyük oranda hemoglobin F içerir, yaşam süreleri daha kısadır ve daha düşük oksijen basıncında (P_{aO_2}) daha fazla oksijen taşıyabilme kapasitesine sahiptir. Ayrıca fetal eritrosit membranı fosfolipid içeriği, transport, permeabilite, deformabilite ve antijenite özellikleri yönünden erişkin eritrosit membranından farklıdır. Fetal hemoglobinin oksijen afinitesi, oksijen tüketimi ve methemoglobin içeriği daha fazla olup, oksidatif denatürasyona daha duyarlıdır. Fetal eritrositler eşirkinlere kıyasla daha fazla glukoz tüketir. Embden-Meyerhof veya anaerobik yolda rol oynayan enzimlerin büyük bir çoğunluğunun ve pentoz-fosfat (aerobik) şantında rol oynayan enzimlerin bazılarının aktiviteleri belirgin olarak artmıştır. Enzimler ve metabolizmadaki bu farklılıklara bağlı olarak da 2,3-DPG ve ATP hızla azalma göstererek membran katyon ve lipid transportu bozulur, hücre deformabilitesi artar, oksijen afinitesinde artışa ve glutathion sentezinde azalmaya yol açar. Fetal eritrositlerde glutathion sentetaz ve glutathion peroksidaz aktiviteleride azalmıştır ve eritrositler potent oksidanlarla inkübe edilirlerse glutathion konsantrasyonları azalır.

Fetal ve erişkin eritrositleri arasındaki bu farklılıkların bir bölümünden membranın yapısı ve permeabilitesi sorumludur. Bu nedenle normal ve patolojik durumlarda eritrosit membran lipid yapısında-

ki değişimler büyük ilgi uyandırmıştır. Bu çalışmada, özellikle hiperbilirubinemi ve konjenital hemolitik anemiler gibi, yeni doğan döneminin bazı önemli hematolojik problemlerinde eritrosit membran lipidleri üzerine ülkemizde daha sonra yapılabilecek olan çalışmalara ışık tutması amacıyla yeni doğan bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipidlerinin normal değerlerini ortaya koymak amaçlanmıştır. Termide normal doğum ağırlıklı, termide düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipid kompozisyonları, aralarındaki farklar ve nedenleri çalışmanın temasını oluşturmuştur.



GENEL BİLGİLER

İlk kez 1674 yılında Hollanda'lı mikroskopist Leeuwenhoek tarafından doğru bir şekilde tanımlanan eritrositler morfolojik, biyokimyasal ve metabolik bakımından organizmanın diğer hücrelerinden farklı bir durum gösterirler. Normal bir eritrositin yapısı, lipoid ve protein bir zarın çevrelediği, stroma jeli içersindeki hemoglobinden oluşmuştur. Olgun bir eritrositin %70 kadarını su ve kuru kısmın %90 kadarını da hemoglobin oluşturur (1). Kuru kısmın geri kalanı da stromatin, lipidler, karbonhidrat, protein ve başta potasyum olmak üzere elektrolitlerden oluşur. Olgun bir insan eritrositi bikonkav disk şeklinde olup, ortalama çapı $7.82 \pm 0.62 \mu\text{m}$, ortalama volümü $94 \pm 14 \text{ fl.}$, ortalama yüzey alanı $135 \pm 16 \mu\text{m}^2$, minimum kalınlığı $0.81 \pm 0.35 \mu\text{m}$. ve maksimum kalınlığı da $2.58 \pm 0.27 \mu\text{m}$.dır (2).

Olgun bir memeli eritrositi nükleusa ve mitokondrium, ribozom gibi stoplazmik organellere sahip olmadığı için yeni protein sentezi yapamaz, mitoz yoluyla bölünemez ve mitokondria'larda oluşan oksidatif reaksiyonları gösteremez (2). Metabolik olarak eritrosit hemen hemen tamamen glikoliz yoluyla fonksiyon görmeye yetenklidir.

Eritrositler metabolik aktiviteleri sayesinde 120 günlük ömürleri boyunca bütünlüklerini korurlar ve yapısındaki hemoglobini oksidatif denaturasyondan korurlar. Bunun sağlanmasındaki gerekli enerji karbonhidratların yıkımı sırasında temin olunur. Bunlardan Embden-Myerhof yolu ile olan non-oksidatif yıkılda her bir mol glukozun laktata çevrilmesi sırasında iki mol adenzin trifosfat (ATF) husule gelir. Monofosfat şantı yolu ile de redükte nicotinamid-adenin-dinükleotid (NADH) meydana gelmektedir. NADH methemoglobin redüktaz gibi enzimlerin fonksiyonları için gereklidir. Bir mol glikoz fosfoglukonat yolu ile CO_2 ve H_2 ya okside olduğu sırada iki molekül yüksek redükten kapasiteli redükte nicotinamid-adenin-dinücleotid fosfat (NADP) meydana gelir. Eritrositlerin oksidatif ajanlara karşı korunmasında NADPH ile birlikte glutathion redüktaz enzimi de görevlidir. Dolayışında olgun eritrositlerin yaşlanmaları sırasında glikolitik enzimlerden bir kısmını zayıfladığı ve eritrosit zarındaki lipidlerde azalma meydana geldiği görülür (1).

Normal eritrositlerin diskoidal bir yapıda olmaları onların kapiller sistem içinde hareketlerini daha kolay yapabilmelerini sağlar. Şayet böyle olmayıpta küresel yani sferoidal bir yapıda olsalardı, kapillerden geçtikleri sırada daha kolayca parçalanırlardı. Eritrositlerin diskoidal yapıda olmaları korpüsküller ile doku hücreleri arasındaki difüzyon mesafesinide kısaltır. Diğer taraftan hemoglobinin eritrositler içinde konsantre bir şekilde bulunması hemoglobinin akciğerler ve doku kapillerinde yüksek konsantrasyonda olmasını sağlar. Şayet aynı miktar hemoglobin plazma içinde serbest halde bulunsaydı, plasmanın kolloid osmotik basıncı ileri derecede artma gösterirdi. Bu engel hemoglobinin hücre içinde konsantre olmasıyla önlenmiştir. Eritrositlerin belirtilen bu özellikleri sayesinde ki kapiller yatakta meydana gelen korpüsküller ile doku hücreleri arasındaki oksijen ve karbondioksit alış veriş en uygun bir şekilde sağlanır (1).

Eritrosit membranı 100 ila 500 angström kalınlığında olup lipidler ve proteinlerden yapılmıştır.

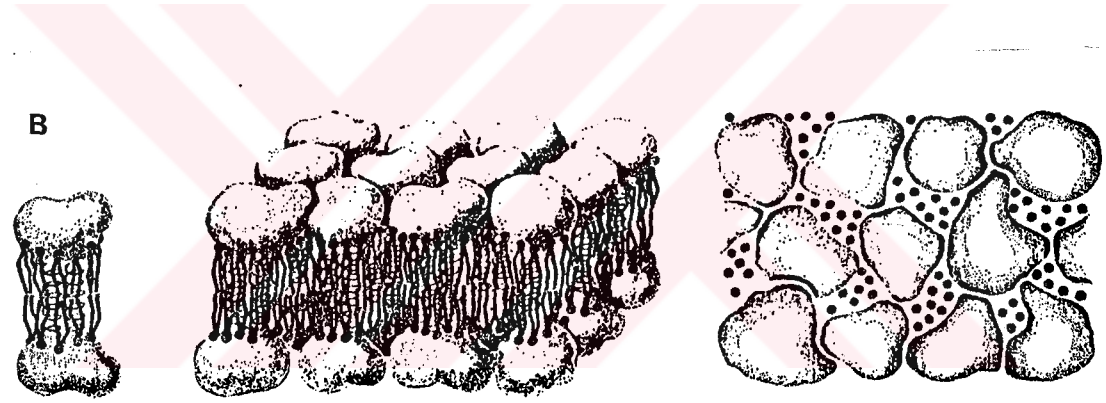
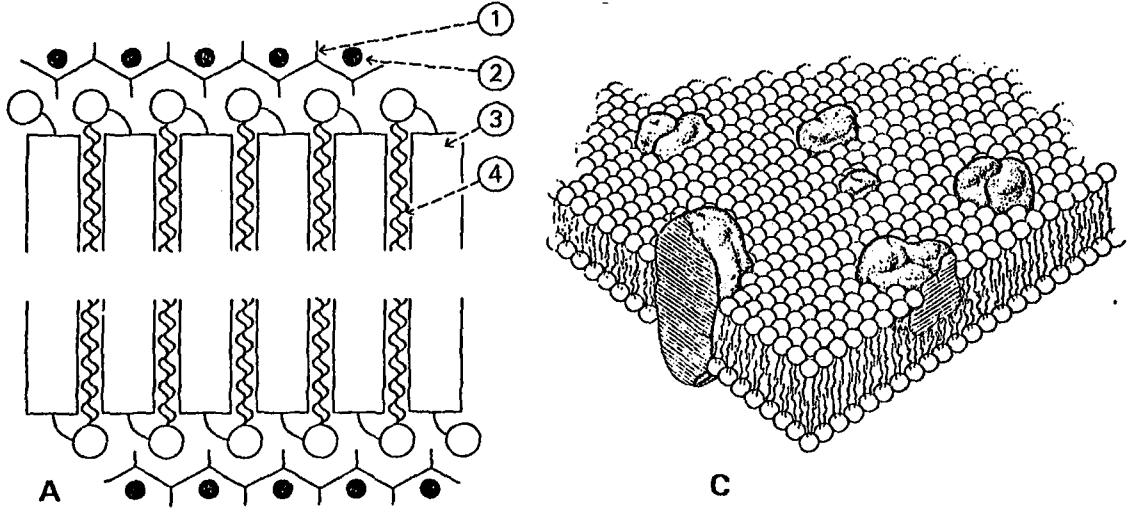
Eritrosit membranının yapısı bugüne kadar yapılan pek çok araştırmaya rağmen henüz tam olarak anlaşılamamıştır. İleri sürülen modellerin birçoğundaki temel özellik iki fosfolipid tabakasından oluşan matriksin temel yapı olarak kabul edilmesidir. Eritrosit membran yapısı ile ilgili ilk hipotez 1925 yılında Görter ve Grendel tarafından ileri sürülen "Lipid bilayer model"idir (3). Bu modele göre membran lipidlerinin, moleküllerin polar olmayan uçlarının membran içinde birbirlerine doğru ve hidrofilik polar uçlarının hücrenin içindeki ve dışındaki sulu faza yönelik bir bimoleküler tabaka (çift tabaka) şeklinde düzenlenmiş olduğu kabul edilir. Lipid bilayer modeli 1935 yılında Danielli ve Davson'un globüler proteinin yüzey tabakalarına ilişkin çalışmalarıyla daha da geliştirilmiştir (4) ve daha sonra da Robertson'un "Unit membran" düşüncesi üstünde ilerlemiştir (5). Unit membran teorisine göre membranın her iki tarafında monomoleküler tabaka şeklinde proteinler yer almaktadır (Şekil-1A).

Daha sonra geliştirilen "subunit membran" modelleri membranların makromoleküler büyüklükteki lipid-protein yapıdaki alt ünitelerden meydana geldiği düşüncesi üzerine kurulmuştur(6,7) (Şekil-1B).

1960'lı yıllardan sonra Lucy (8) tarafından "miçeller alt ünite lipid model"i, Benson (9) tarafından "lipoprotein model"i ve Vanderkoo ve Green (10) tarafından "crystal protein model"i geliştirilmiştir.

Bugün için en çok kabul gören görüş 1972'de ortaya atılan "Fluid Mosaic Model"idir (2,11). Bu model Singer ve Nicolson tarafından geleneksel basit çift tabakalı lipid modeli düşüncesine yöneltilen termodinamik itirazları yenmek için önerilmiştir. Bu modelde iki fosfolipid tabakası arasında, globüler proteinler, bir mozaik halinde dizilmiş olup, tümü dinamik ve sıvı konumdadır (12). Bu lipid denizi içinde globüler proteinler serbestçe yüzebilirler, bazı proteinler iç yüzde, bazıları dış yüzde ve bazıları da membranı boydan boya geçerek hem içte hem de dışta yer alırlar (Şekil-1C). Araştırmacılara göre, iki tip protein membranlara bağlıdır. "Periferik proteinler" membranları hasara uğratmadan çıkarılabilirler. "İntegral proteinler" ise membrandan içeriye ve membran boyunca uzanırlar. Lipidler, hidrofilik kısımları dışa ve hidrofobik kısımları içe yönelik olarak çift tabaka şeklinde düzenlenmişlerdir. Karbonhidrat grupları da ya lipidlere (glikolipid) ya da proteinlere (glikoprotein) tutunmuş şekilde bulunurlar (2) (Şekil-2).

Eritrosit membranı üzerinde yapılan ultrastrüktürel çalışmalar konuyla ilgili yeni bilgiler kazandırmıştır (2). Eritrosit membranının osmium tetroxide veya potasyum permanganatla boyalı ince kesitlerinde üç ayrı tabaka gözlenmiştir (Şekil-3A). Yaklaşık 2nm. kalınlığındaki elektron geçirgen bir tabakanın ayırdığı 2.5nm. kalınlığında iki elektron dense (osmofilik) tabakadan oluşan membran, bu görünümüyle "lipid bilayer model"ini desteklemektedir. Elektron dense olanlar ya membran protein tabakalarını ya da fosfolipidlerin polar uçlarını temsil etmektedirler. Ancak osmium ve permanganatın membran komponentleriyle reaksiyonu tam olarak anlaşılmadığından, bu üç tabakanın moleküler anlamı tam olarak bilinmemektedir.



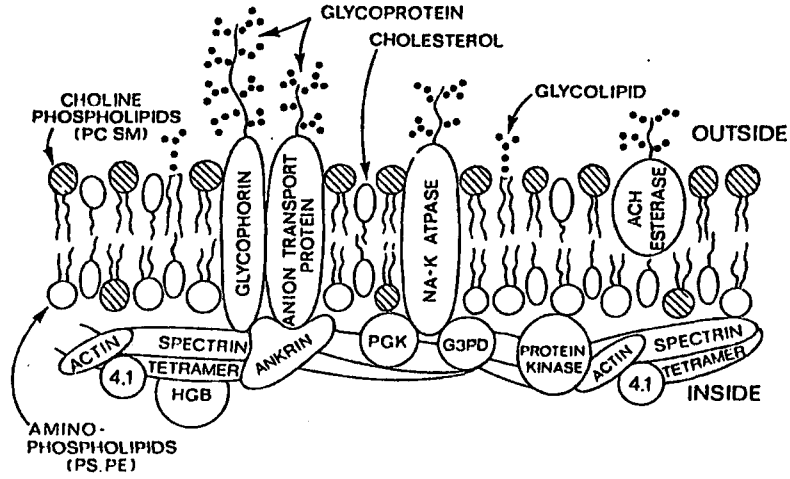
Şekil 1:Membran yapısı modelleri

A)Lipid bilayer modeli:

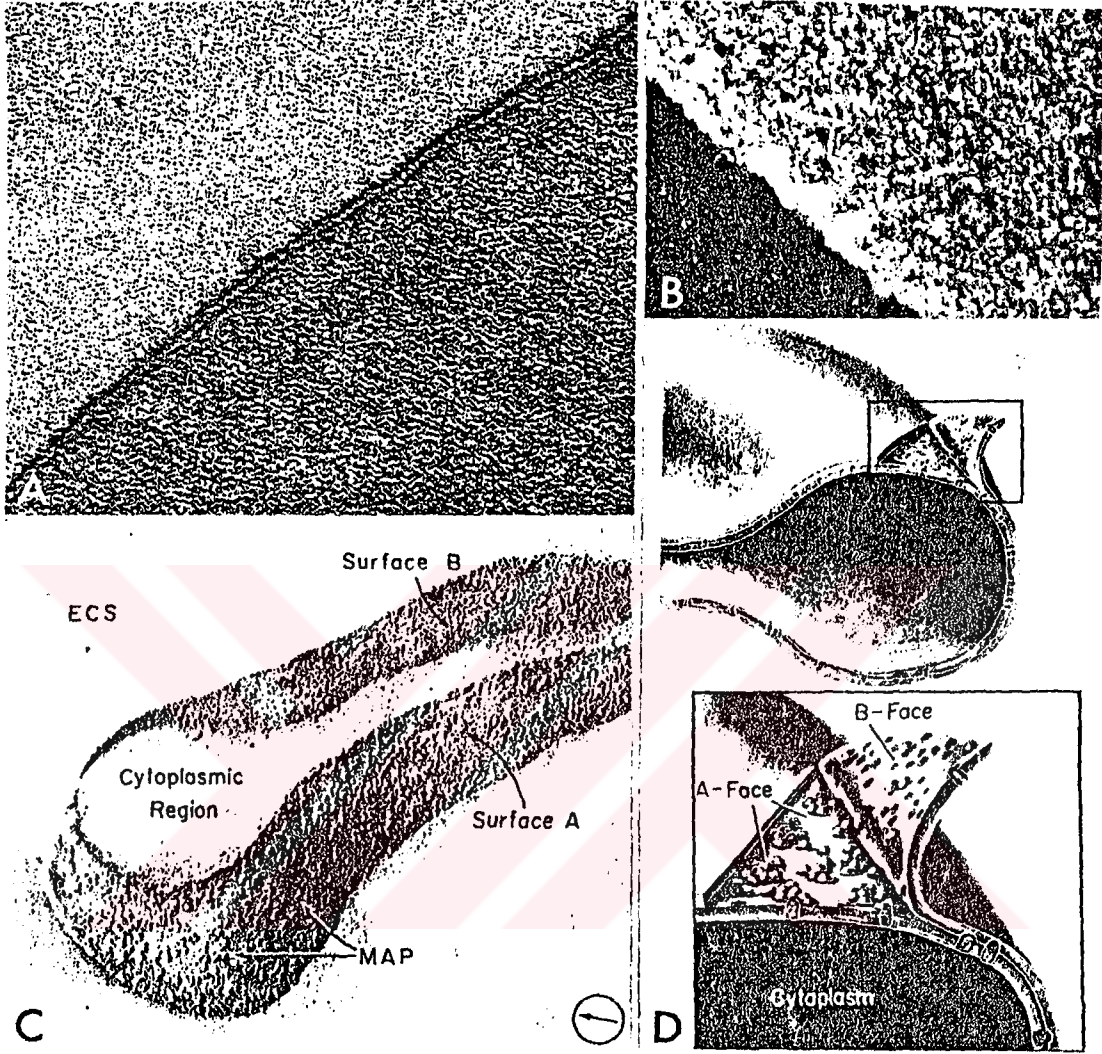
1.Protein polipeptid zinciri, 2.Mukopolisakkarid, 3.Fosfolipid (daireler polar ucu göstermekte, 4.Kolesterol.

B)Subunit membran modeli:Solda, hidrofobik bir silindirin her iki ucunda hidrofilik bölümlerin bulunduğu tek bir alt ünite gösterilmiştir. Ortada iki boyutlu alt ünite topluluğu ve sağda yüzey görünümü gösterilmiştir.

C)"Fluid mosaic model"i:Globüler yapılar şeklinde gösterilen proteinler lipid denizi içinde yüzmektedirler.



Şekil 2: Membranın "fluid mosaic model"i Hem integral hem de periferel proteinler çift tabakalı lipid matriksiyle ilişki içerisindedir. Spektrin tetramerleri bir uçta anykrin ve band 3 ile kompleks oluştururken diğer uçta da hücre iskeletini oluşturacak şekilde aktin, band 4.1. ve diğer bazı spektrin moleküllerine bağlıdır. Gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz (G-3-PD) ve fosfogliserat kinaz (PGK) enzimleri Na-K-ATP az enzimi ile etkileşebilmektedirler. Protein kinaz bazı proteinlerin fosforilasyonunda rol oynayabilir.



Şekil 3:Eritrosit membranının ultrastrüktürü

A.İnce kesit B.Metalle gölgelenmiş yüzey C.Dondurulmuş kesit Membran partiküllerine göre farklılık gösteren ve A,B olarak isimlendirilen iki yüzey görülmektedir. D.Dondurulmuş kesit tekniğiyle elde edilen yüzey görünümünün ressam tarafından çizimi.

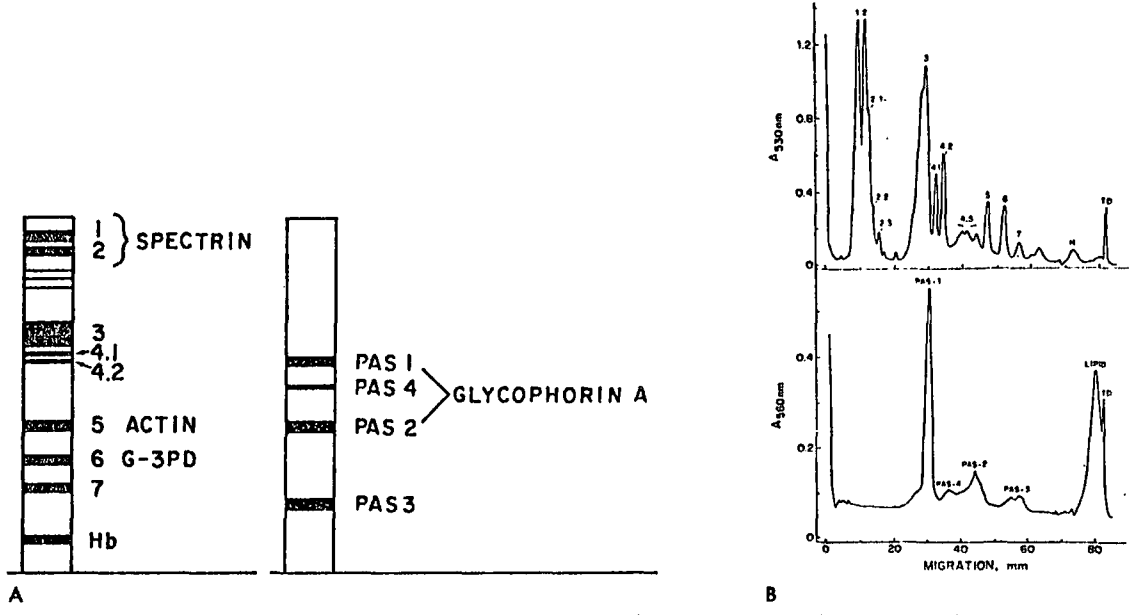
Havada kurutulmuş ve metalle gölgelenmiş (metal-shadowed) eritrosit membran preparatlarında yüzeyde rastgele dağılmış 3nm. kalınlığında ve 10 ile 50nm. çapında plaklar gözlenmiştir (Şekil-3B). Bu gözlemler her bir plağın lipid-protein alt ünitelerini temsil ettiğini ve "subunit membrane" hipotezini desteklediğini düşündürmektedir. Ancak bu şekilde hazırlanan preparatlarda membrana ait yapılar, membran yüzeyindeki membran dışı diğer yapıları ayırt etmek mümkün olmamakta ve bu nedenle tenkit edilmektedir.

Dondurulmuş membran preparatlarının elektron mikroskopik çalışmalarında iki tip membran yüzeyi gözlenmiştir (Şekil-3C,3D). Her iki yüzeyde 10nm. çapında partiküller bulunmaktadır. İki yüzey arasındaki fark A yüzeyinin B yüzeyine göre 4-5 kat fazla partikül içermesidir (A yüzeyinde $2600-3800/\mu\text{m}^2$, B yüzeyinde $575-1400/\mu\text{m}^2$ partikül). Bu partiküllerin lipid tabakasında bulunan proteinleri temsil ettiği ve "fluid mosaic model"i desteklediği düşünülmektedir. Daha az partikülün bulunduğu B yüzeyi muhtemelen dış yüzeyi ve çok sayıda protein molekülünün bulunduğu A yüzeyi de stoplazmik yüzeyi göstermektedir.

MEMBRANIN BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONU

Eritrositlerin hemolizinden sonra kalan insolubl kısımlara stroma denir. Eğer hemoliz sonrası membranlar bozulmamış olarak elde edilirse bunlara da "Red cell ghost" denir ve çok miktarda membran komponenti içerir. 0.1lt. eritrositten 230 ile 300mg. kadar stroma elde edilebilir. Yapılan çalışmalar eritrosit membranının %50-52 protein, %40 lipid ve %8-10 karbonhidrat içerdiğini ortaya koymuştur (2,13). Karbonhidratların büyük bir bölümü glikoprotein ve küçük bir bölümünde (%7) glikolipid şeklinde bulunur.

Membran proteinlerinin solubl hale getirilmeleri iyonik bir deterjan olan "Sodium dodecyl sülfate" (SDS) ile sağlanır ve daha sonra bu polipeptidler "polyacrylamide gel"de elektroforezle ayrılabilirler (2,13). Bu methodla membran proteinleri 200'ün üzerinde gösterilebilmelerine rağmen 7 major band şeklinde elde edilirler. Proteinler "Coomassie blue" boyasıyla gösterilebilirler ve bu şekilde 4 band daha tespit edilir (Şekil-4).



Şekil 4:Eritrosit membran proteinlerinin polyacrylamide gel elektroforezi. Bu sistemde polipeptidler moleküler büyüklüklerine göre en küçük molekül en uzağa hareket edecek şekilde geçediler.

A.Solda Coomassie blue ile boyanmış gel diyagramı sağda ise periyodik asid Schiff (PAS) ile boyanmış gel diyagramı görülmektedir.

B.Boyanmış Jellerin densitometrik scan'i üstte, Coomassie blue boyanması, Altta, PAS boyanması.

Singer membran proteinlerini integral ve periferel proteinler olarak iki kategoriye ayırmıştır (11). Band 3, band 7 ve bütün PAS le boyanan bantları içeren integral proteinler membrana kuvvetli bir şekilde bağlanırlar. Bunlar çift tabakalı lipidleri boydan boya geçerler, lipidlerle önemli fonksiyonel etkileşimlerde bulunurlar ve nötral sulu solüsyonlarda çözünmezler. Band 1,2,5, ve 6'yı içeren periferel proteinler membranlara zayıf olarak bağlanırlar, membranı boydan boya geçmezler, lipid matriksiyle etkileşim göstermezler, nötral sulu solüsyonlarda çözünürler ve nisbeten kolay bir şekilde ekstrakte edilebilirler.

İntegral proteinlerin globuler yapıda olduğu ve hidrofilik ve hidrofobik bölümlerinin bulunduğu düşünülmektedir. Hidrofilik bölümleri sitoplazmaya veya dış sulu ortama yönelirken, hidrofobik bölümler non-polar lipid tabakasına yönelirler.

Glycophorin A eritrosit stromasının temel glikoproteinidir. Polyacrylamide gel elektroforezinde PAS'la boyanan bantlar içinde yer alır (PAS 1 ve PAS 2). Moleküler ağırlığı 55.000 olup molekülün %40, protein ve %60'da karbonhidrattan oluşur. Membran sialik asidinin büyük bir bölümünü, heksoz ve heksozaminin yaklaşık yarısını ve küçük miktarlarda mannoz ve fukoza içeren karbonhidrat kısmı, proteinlerin N-terminal bölümlerine tutunan çok sayıda kısa, oligosakkarit zincirlerinden oluşur. Bu zincirler eritrositin dış ortamına doğru uzanarak hücrenin negatif elektrik yükünü oluştururlar. Ayrıca, karbonhidrat zincirleri A,B,M ve N gibi spesifik grup antijenlerini ve aynı zamanda influenza virus ve phytohemagglütinin reseptörlerini oluştururlar. Molekülün karboksi-terminal bölümü de membranın sitoplazmik yüzeyinde bulunur. Glycophorin'in amino asit dizilişi belirlenmiş olup, heliks şeklinde dizilmiş çoğunluğu hidrofobik olan 23 amino asit dizisi, çift tabakalı lipid matriksini boydan boya geçer.

Diğer bir integral protein de band 3 veya "component a"dır. Total membran proteinin yaklaşık dörtte birini kapsar, oldukça büyük moleküler ağırlığa sahiptir ve molekülün %5 ila 8'ini karbonhidratlardan

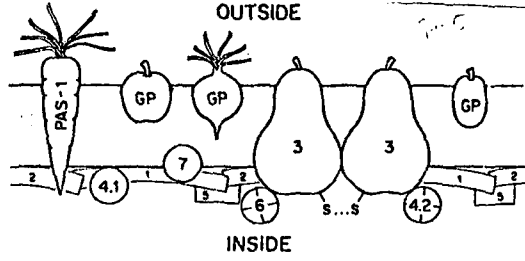
oluşur. Sitoplazmik yüzeyde band 6 ve 4-2 ile bağlı bulunan band 3'ün kesin fonksiyonu bilinmemekle birlikte, bazı anyonlar ve D-glukoz gibi bazı maddelerin difüzyonunu kolaylaştıran bir kanal görevi gördüğü düşünülmektedir.

Periferal proteinlerin en büyük bölümünü "spectrin-aktin" kompleksi oluşturur. Membran proteinlerin yaklaşık %35'ini oluşturan bu kompleks iki büyük polipeptid zincirinden (band 1 ve band 2, moleküler ağırlıkları sırasıyla 250.000 ve 225.000) ve band 5'e karşılık gelen küçük bir zincirden oluşur. Spektrin deyimi daha önceleri her üç komponenti tanımlamak için kullanılmışsa da, bugün sadece 2 büyük komponenti içeren bir deyimdir. Daha küçük olan komponent (band 5) eritrosit aktini olarak isimlendirilir.

Spektrin özellikle glutamik asitten zengindir ve aynı zamanda sistein de içerir. Özellikle kalsiyum gibi iki değerlikli katyonların varlığında çözünmeyen lifler oluşturma eğilimindedir. Spektrin-aktin kompleksi kalsiyuma bağımlı ATP az aktivitesine sahiptir. Spektrin ve aktin birlikte eritrosit membranının iç yüzünde ağ şeklinde fibriller bir şebeke oluştururlar (2,13,14,15). Band 4-1 ve 4-2 de bu kompleks içinde yer alırlar.

Bu şebeke glycoprotein ve band 3 gibi integral proteinlerin sitoplazmik uçlarına tutunarak bunları immobilize eder. Hücrenin dış iskeletini oluşturan aktin-spektrin yapısı, hücrenin normal şeklinin idamesi gibi membrana bazı mekanik özellikleri sağlar. Spektrin-aktin iskeletinin fizyopatolojik önemi, bu yapıyı etkileyen fonksiyonel veya yapısal bozuklukların eliptositoz, piropoikilositoz ve herediter sferositoz gibi bazı herediter hemolitik anemilere yol açmasıdır. Sickle-cell anemi de irreversibl oraklaşmadan da spektrin-aktin kompleksindeki defektler sorumlu olabilir.

Membran proteinlerinin şematik düzeni şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5: Membran proteinlerinin şematik görünümü. Major integral proteinler olan glycophorin (PAS-1) ve component a (3) çift tabakalı lipid matriksini enlemesine boydan boyya geçmektedir. Bu moleküllerin karbonhidrat kısımları hücrenin dış ortamına doğru uzanmaktadır. Bazı minor glikoproteinler (GP) membranı sadece parsiyel olarak penetre edebilmektedir. Periferel proteinler olan spektrin (1 ve 2) ve aktin (5) membranın iç kısmında bir tabaka oluşturmakta ve hücre şeklinin idamesinde rol almaktadırlar. Bu kompleks integral proteinlerin sitoplazmik uzantılarıyla bağlar oluşturmaktadırlar. Diğer periferel proteinler (4.1, 4.2, 6) membranın iç yüzeyine zayıf olarak bağlı bulunabilirler.

Diğer membran proteinleri eritrosit membranına bağlı bazı enzimlerdir. Schrier bu şekilde 57 enzimin varlığını tesbit etmiştir (16). Bu enzimler iki gruba ayrılabilir: sadece membranda bulunanlar ve hem sitoplazmada hem de membran da bulunanlar. Bu enzimlerin biyolojik önemleri kesin olarak bilinmemekle birlikte 1) Membran reseptör bölgelerine bağlanan substratlarla etkileşebileceği 2)transport fonksiyonuyla ilişkili olabileceği 3)Optimal aktivite için lipidlere gerek gösterebileceği, veya 4)Membran komponentleriyle ilişkili bir multienzim sisteminin parçası olabileceği düşünülmektedir.

Aldolaz, gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz (G-3PD) ve fosfogliserat kinaz ATP yapımında rol oynayan membrana bağlı enzimlerdir. Birlikte, bu üç glikolitik enzim fruktoz difosfatı 3-fosfogliserata çevirir ve böylece ATP meydana gelir. ATP'yi utilize eden membrana bağlı enzimler de ATP'nin sıklık AMP (cAMP) ye dönüşümünü katalize eden adenil siklaz, protein kinaz enzimleri ve adenzin trifosfataz (ATPaz)'lardır.

Membranda en fazla miktarlarda bulunan enzim G-3PD olup gel elektroforezinde band 6'yı yapar. G-3PD aynı zamanda sitoplazmada da bulunur ve membrana bağlanması katalitik özelliklerini etkilemez. Band 3'ün sitoplazmik projeksiyonun bulunduğu yerde membranın iç yüzüne bağlanır fakat bu bağlandığı bölgeden kolaylıkla ayrılabilir.

Membranda iki tip protein kinaz enzimi bulunmaktadır. Bu enzimler ATP varlığında fosfoserin ve fosfothreonin bağları oluşturarak membran proteinlerini fosforilize ederler ve böylece etkiledikleri proteinin yapısını veya katalitik fonksiyonunu değiştirdikleri farzedilmektedir. Özellikle spektrinin fosforilizasyonunu etkileyerek, eritrositlerin şeklini ve deforme olabilme yeteneğini modüle edebilirler.

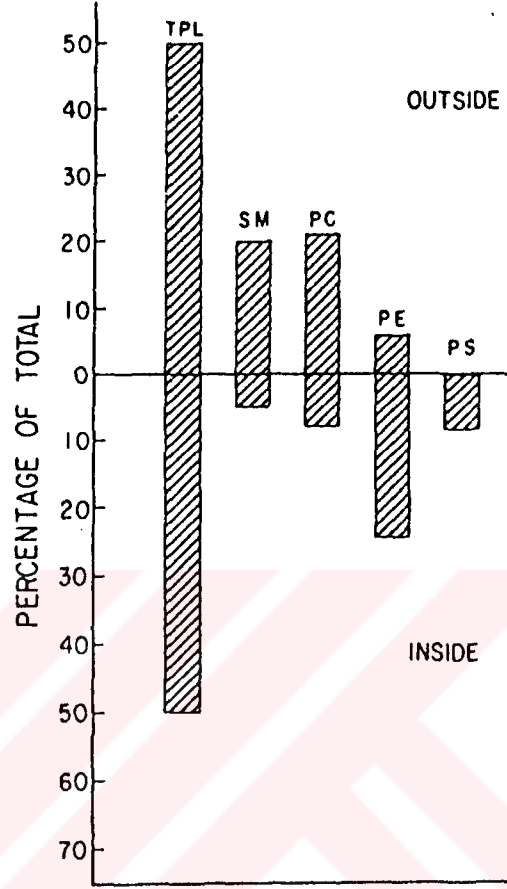
Adenzin trifosfataz (ATPaz) enzimleri sadece membranda bulunur, fakat elektroforezde band oluşturacak kadar fazla miktarda değildirler. Üç tip ATPaz aktivitesi ayırt edilebilir=1) Oubainle inhibe edilebilen Na-K-ATPaz 2) Ca-Mg-ATPaz 3) Mg ATPaz. Protein kinaz enzimleri gibi ATP az'larda membran proteinlerini fosforilize ederler.

Bir kısım eritrosit enzimleri de dış yüzde yer alırlar ve dış ortamdaki substratlarla reaksiyona girerler. Glikozidaz ve asit fosfataz gibi bazı hidrolitik enzimler bunlara örnektir. External yerleşimli bir başka enzim de asetilkolinesteraz olup, gel elektroforezinde band 3'le birlikte göçeder. Paroksizmal nokturnal hemoglobinüri ve immunoheolitik anemi gibi bazı anemilerde kolinesteraz aktivitesi belirgin olarak azalır. Bu azalış, bazı durumlarda membran muhtevasının kaybedildiği gösterebilir.

Membran lipid kompozisyonu= Olgun bir eritrositte bulunan lipidlerin tamamı membranda yer almaktadır (Tablo-1).

Tablo-1:Normal insan eritrosit membran lipidleri

	Molar konsantrasyon		Ağırlık konsantrasyonu	
	($\mu\text{mol}/10^{10}$ hücre) Tot.	%si	($\text{mg}/10^{10}$ hücre) Totalin	%si
Fosfolipidler				
Fosfatidil kolin	1.2		1.0	
Fosfatidil etanolamine	1.1		0.9	
Sfingomyelin	1.0		0.8	
Fosfaditil serin	0.6		0.4	
Lizolesitin	0.04		-	
Diğerleri	0.07		-	
Total fosfolipidleri	4.00	54	3.1(1.7-3.2)	69
Kolesterol	3.2	43	1.3(1.1-1.4)	29
Glikolipidler	0.2	3	0.1	2
Total lipidler	7.4	100	4.5(3.9-5.2)	100



Şekil 6:Membranın iç ve dış tabakaları arasında eritrosit fosfolipidlerinin dağılımı. TPL, total fosfolipid; SM, sfingomyelin; PC, fosfatidilkolin; PE, fosfatidiletanolamin; PS, fosfatidilserin

Eritrosit membranındaki fosfolipidlerin büyük bir kısmını fosfatidilkolin (lesitin), fosfatidiletanolamin (sefalin), sfingomyelin ve fosfatidilserin meydana getirir. Sfingomyelin hariç bu fosfolipidlerin herbirisi iki yağ asidi zinciri içerirler. Sfingomyelinde ise bir tane vardır. Bu yağ asitleri ile gliserole bağlanırlar. Eser miktarda bulunan diğer fosfolipidler, yalnız bir tek yağ asidi içeren lizofosfolipidler ve yağ asidi yerine vinyl eteri içeren "plasmalogen"lerdir.

Fosfolipidler membranın iki lipid tabakası arasında eşit olarak dağılmamıştır. Aminofosfatidler (fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserin) daha çok iç tabaka yer alırken, kolin içeren lipidler (lesitin ve sfingomyelin) dış tabakada yer alırlar (Şekil-6).

Fosfolipidlerin neden bu şekilde bir dağılım gösterdiği kesin olarak bilinmemektedir. Ancak lipid tabakalarının bu farklılıklarının diskosit-ekinosit ve diskosit-stomatosit transformasyonlarını izah edebileceği ileri sürülmektedir (17). Bu hipoteze göre, klorpromazin gibi katyonik ajanlar çift tabakalı lipitin stoplazmik yarısıyla etkileşim göstererek bu tabaka dış tabakaya nazaran bir genişleme oluştururlar ve stomatositoza yol açarlar. Bunun aksine, anyonik ajanlardış tabakada benzer etkiler oluşturarak diskosit-ekinosit transformasyonuna yol açarlar.

Ortak lokalizasyonlarından dolayı lesitin ve sfingomyelin muhtemelen bir dereceye kadar birbirlerinin yerlerini alabilirler. Memeli eritrositlerinde lesitin ve sfingomyelin membran fosfolipidlerinin %50 ile 60'ını oluşturur. Sfingomyelinden zengin olan membranlar, lesitinden zengin olan membranlara kıyasla daha az akıcıdırlar. Abetalipoproteinemide eritrositlerdeki bozukluktan muhtemelen artmış sfingomyelin/lesitin oranı sorumludur.

Eritrosit fosfolipidlerinde bulunan yağ asitlerinin yarısı satüre, yarısıda ansatüredir. Bu yağ asitleri fosfolipidlerde eşit olarak dağılmamıştır. Lesitin daha çok kısa zincirli satüre yağ asitlerini içerirken, fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserin 4 veya daha çok çift bağlı poliinsatüre yağ asitlerinden zengindir. Fosfatidilserin stearik asitten zengindir. Sfingomyelinde ise yirmiden

daha uzun zincirli yağ asitleri bulunur. Membran fosfolipidlerinde bulunan yağ asidi zinciri membranın özelliğine büyük ölçüde etki edip, onun kompozisyonunu ve deförmabilitesini değiştirirler (2). Bu zincirlerin uzunluğu veya hidrokarbon zincirlerinin saturasyonunu, membran lipid mobilitesini azaltır ve membranın mikrovizkositesini artırır.

Eritrosit nötral lipidleri esterleşmemiş serbest kolesterolü içerirler. Kolesterol iki lipid tabakası arasında muhtemelen eşit bir dağılım göstermektedir ve fosfolipidlerle etkileşim göstererek membranın "intermediate gel" durumunda bulunmasını sağlarlar. Sadece fosfolipidlerden oluşan membranlara kıyasla, kolesterol içeren membranlar daha az akıcıdır yani daha viskozduurlar. Anormal derecede yüksek kolesterol seviyeleri membran şeklinde distorsiyona, acaip çıkıntılar oluşmasına hücrenin deförmabilitesinde azalmaya ve hücrelerin dalak tarafından yıkılmasına yol açar.

Glikolipidler eritrosit membranındaki total lipidlerin küçük bir bölümünü oluştururlar. Bu glikolipidler, sfingozin ve uzun zincirli bir yağ asidinden oluşan seramid bazına sahiptirler. Bu baza birçok değişik heksoz molekülü bağlanır. En önemli eritrosit glikolipidi olan globosid (GL-4) dörtheeksoz ünitesi içerir: seramid-glukoz-galaktoz-galaktoz-N-asetil galaktozamin. Globosid sadece plazma membranlarının yapısında yer alır.

Normal insan eritrositleri ayrıca bir glukoz (GL-1), 1 glukoz ve 1 galaktoz (GL-2) ve 1 glukoz ve 2 galaktoz (GL-3) bağlı seramid glikolipidlerini de içerir. Bu glikolipidlerin relatif oranları şu şekildedir: GL-4, %69; GL-3, %12; GL-2,%14; ve GL-1, %5. İlaveten eser miktarlarda fukoz içeren seramid glikolipidleride bulunmaktadır. Bunların önemi A, B, H ve Lewis kan gruplarına karşılık gelen antijenik aktivitelere sahip olmalarıdır.

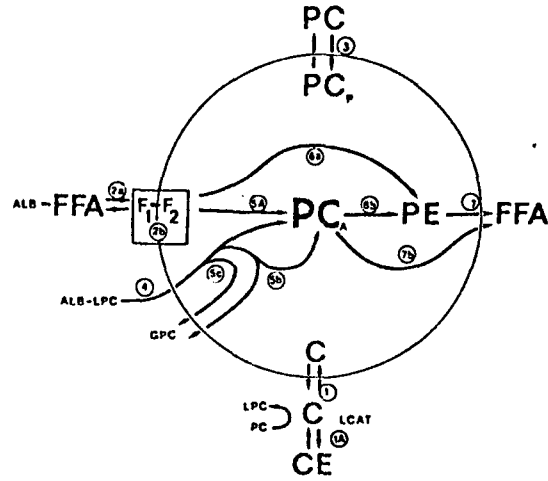
Glikolipidlerin lipid tabakalarındaki dağılımı bilinmemekle birlikte, dış tabakada yer aldıkları tahmin edilmektedir.

Membran fosfolipidleri sabit olmayıp, membran içinde hareket halindedirler (18). Oda sıcaklığında $1,3 \times 10^8 \text{ cm}^2/\text{sn}$. hızında lateral yönde hareket edebilirler ve yağ asitleride $10^8 - 10^9$ saniyede titreşimler yapabilirler. Buna karşılık iç tabakadan dış tabakaya hareketleri oldukça yavaştır (10^4 ila 10^5 saniye). Genel olarak, fosfolipidlerin mobilitesi ansatürasyon oranı ile direkt, zincir uzunluğuyla ters orantılı olarak ilişkilidir. Ayrıca, lipidler, proteinlerin lateral mobilitesini ve membran düzlemindeki rotasyonlarını ve aynı zamanda bunların membran yüzeyine dik olan projeksiyonlarının uzanımlarını etkileyebilirler. Kolesterol, yağ asidi yan zincirlerinin mobilitesini etkileyerek, fosfolipid moleküllerinin lateral difüzyonunu azaltır.

Olgun bir eritrositte lipidler yeniden sentez edilemez (2). Bu nedenle herhangi bir şekildeki lipid kaybı membran ve plasma arasındaki değişim yollarıyla kompanse edilmelidir (Şekil-7).

Kantitatif olarak, bu yolların en önemlisi plasma lipoproteinlerinden eritrosite kolesterol ve lesitin transferidir (1 ve 3. yollar). Transfer oranı, bu lipidlerin rölatif plasma ve eritrosit seviyelerine, ayrıca plasmadaki serbest kolesterolu ester kolesterola dönüştüren "Lesitin kolesterol acyl transferaz" (LCAT) enziminin aktivitesine bağlıdır. Bu enzim yağ asitlerini katalize ederek lesitinin 2.pozisyonundaki yağ asidini serbest kolesterole transfer eder, kolesterol esteri ve lizolesitin meydana gelir. Lesitin+Serbest kolesterol $\xrightarrow{\text{LCAT}}$ Lizolesitin +Kolesterol esteri. LCAT aktivitesinin azlığında membranda serbest kolesterol birikir ve bu membran yüzeyinin genişlemesine neden olur. Aktivitenin azlığı veya yokluğu membranda kolesterol/fosfolipid oranını da arttırır. Aksine LCAT aktivitesindeki artış membrandan kolesterol kaybına ve buna bağlı olarak da eritrosit yüzeyinin azalarak eritrositlerin sferosit şeklini almasına yol açar.

Eritrosit ve plasma arasında lesitin ve kolesterol değişimine etki eden bir başka faktör de plasma safra tuzu konsantrasyonudur. Eğer eritrositler safra tuzu ilave edilmiş normal plasma ile enkübe edilirse, hücrelerde kolesterol artımına ve buna bağlı olarak yüzey



Şekil 7: Olgun bir eritrositte lipid turn over'ı C, kolesterol; CE, kolesterol esteri; PC, fosfatidil kolin (lesitin); LPC, lizofosfatidil kolin; PE, fosfatidil etanolamin; LPE, lizofosfatidil etanolamin; FFA, serbest yağ asidi; Alb, albumin; GPC, gliserilfosforil kolin; LCAT, lesitin-kolesterol açiltransferaz. Reaksiyonlar ve yollar: 1. Plasma lipoproteinleriyle kolesterol değişimi; 1A, LCAT reaksiyonu; 2a- Albuminden membrana serbest yağ asidi transferi; 2b. serbest yağ asidinin metabolik olarak aktif bir bölgeye penetrasyonu; 3. fosfatidil kolinin plasma lipoproteinleri ile değişimi; 4-Albuminden membrana LPC transferi; 5A-LPC+FFA \longrightarrow PC; 5b. 2LPC \longrightarrow FFA+GPC; 5c. LPC \longrightarrow FFA+GPC; 6a. LPE+FFA \longrightarrow PE; 6b. PC+LPE \longrightarrow LPC+PE; 7. PE \longrightarrow LEP+FFA; 7b. PC \longrightarrow LPC+FFA

alanının genişlemesine ve target hücre oluşumuna neden olur. Safra tuzlarının bu olaydaki etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte safra tuzlarının LCAT aktivitesini inhibe ettiği ve ayrıca plasma ve eritrosit arasında serbest kolesterol dağılımını değiştirdiği ileri sürülmektedir.

Fosfolipidler bundan başka üç ayrı yol ile de membrana eklen-
nebilirler. Albumine bağlı lizofosfolipid membrana transfer edilebilir (Şekil-7,4. yol) ve tamamen bir fosfolipid oluşturacak şekilde açıl-
nir. (reaksiyon 5a ve 6a). Daha az kantitatif önemi olan bir yolda, iki lizofosfolipid molekülünün transferi ve konjugasyonu ile bir fosfolipid (reaksiyon 5b) ve plasmaya geri dönen gliseril-fosforilkolin (GPC)'in oluşumudur. Bir kısım fosfatidil etanolamin (PE)'de, lesitin-
den lizofosfatidil etanolamine bir yağ asidi transaçilasyonu ile oluşturulur (reaksiyon 6b). Bu son reaksiyonda ki konjenital bir defekt membranda lesitin artışı ve fosfatidil etanolamin azalışına yol açar. Bu değişiklikler de non-sferositik hemolitik anemi ile birlikte.

Membran fosfolipidleri diyetten etkilenmemekle birlikte, yağ asid kompozisyonu diyetle değişir. Yağdan fakir diyetlerle linoleik asid azalır, zengin diyetlerle ise eritrosit linoleik asidi artar. Fakat bu değişiklikler yaklaşık 4 ila 6 haftalık bir periyotta meydana gelirler.

Glikolipidlerin kemik iliğinde sentez edildiği ve olgun eritrositin kemik iliğinden salınımından önce membrana inkorpore olduğu zannedilmektedir. Glikolipidler, eritrositin yaşamı boyunca hücrede kalırlar ve makrofajlar tarafından enzimatik olarak parçalanırlar.

Eritrosit membranı iç ve dış ortamı birbirinden ayırması yanında solütlerin penetrasyonuna karşı parsiyel bir bariyer olarak görev görür. Non-polar maddeler organik çözücülerde çözünülebilirlikle-
riyle orantılı bir şekilde membranı geçebilirler. Polar solütler ise membranı bazı spesifik bölgelerde geçebilirler.

Glukoz ve diğler monosakkaritler non-polar solütlerle ilgili bu genellemeye istisna teşkil ederler. Monosakkaritler membran bariyerini kolaylıkla geçebilirken, lipidde daha fazla eriyebilen dissakkaritler geçemez. Sadece D-izomer yapısında olanlar membranı geçebilir, L-izomer yapıdakiler geçemez. D-heksozlar içerisinde en hızlı glukoz ve daha sonra sırasıyla mannoz, galaktoz, ksiloz ve arabinoz geçiş gösterir. Fruktoz ise normal fizyolojik koşullarda membranı geçemez. Her eritrositte ortalama 300.000 spesifik D-glukoz bağlanma bölgesi bulunmaktadır. Diğler bazı dokuların aksine, eritrosite glukoz penetrasyonu için insüline gerek yoktur. Bununla birlikte eritrosit membranında insülin reseptörleri tespit edilmiştir.

Glukoz transportu sadece basit diffüzyonla izah edilemeyecek kadar hızlı ve spesifik bir işlemdir. Glukozun, plasma yüzeyinde bir membran taşıyıcı proteinine bağlanarak taşındığı düşünülmektedir. D-glukozun bu taşınma ve transport sisteminin band 3 (companent a) de yer aldığı bilinmektedir.

Su ve klor, bikarbonat gibi birçok anyon membranı serbestçe ve pasif olarak geçebilirler. Buna karşılık, sodyum ve potasyum gibi monovalan katyonlara karşı membranın geçirgenliği çok azdır ve bu katyonların transportu için enerji gerektiren transport mekanizmaları gerekmektedir. Eritrosit içinde en fazla miktarda bulunan katyon potasyum iken sodyum oldukça az miktarlardadır. Plasmada ise bu durum tersinedir.

Pasif difuzyon ("leak") ve aktif transport ("pump") arasındaki denge sonucu eritrosit içinde sabit katyon konsantrasyonları sağlanır. Sodyum pompası, hücre içindeki sodyumun hücre dışındaki potasyumla değişimini sağlar ve gerekli olan enerji ATP'den sağlanır. ADP'ye dönüşen her ATP molekülü için, 3 sodyum iyonu dışarıya pompalanırken 2 potasyum iyonu hücre içine girer. Elektrik nötraliteyi sağlamak için genellikle klor iyonu da pasif olarak hücreden dışarıya çıkar. Bu olayda rol oynayan enzim Na-K adenozin trifosfataz (ATPaz) enzimidir.

ATPaz reaksiyonunda iki önemli basamak bulunmaktadır. ATP'nin ADP'ye dönüşümü sırasında sodyum ve magnezyum fosforilasyonu ve potasyuma bağımlı fosfataz reaksiyonu. Diğer ATPaz Ca^{++} - Mg^{++} az olup bu enzimde kalsiyumun hücre dışına pompalanmasına ve böylece hücrenin hidrasyon ve deformabilitesinin idamesine yardımcı olur. Eritrositlerde ayrıca Oubaine duyarlı exchange diffüzyon (Na ile Na, K ile K) da tanımlanmıştır (2,13).

Anyonlar membranı iki farklı yoldan birisiyle geçebilirler. Bunlardan birincisi hücre içindeki bir anyonla hücre dışındaki bir anyonun değişmesidir. Oldukça hızlı olan bu değişim muhtemelen band 3'te yer alan anyon kanallarıyla yapılır. Bu işlemde, hücre içi anyon içeriğinde net bir değişiklik meydana gelmez fakat bu yolla akciğerler ve dokularda klor-bikarbonat değişimi sağlanabilir. İkinci anyon yolu ise oldukça yavaş iyon diffüzyonu olup net anyon kaybı kazancıyla sonuçlanır (2,13).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 1987 Temmuz-Eylül ayları arasında İzmir Doğumevinde doğan bebeklerde yapılmıştır. Çalışmaya alınan 31 bebek anamnez, doğum öncesi annenin obstetrik ve ultrasonografik olarak değerlendirilmesi ve doğumu takiben yeni doğanın fizik muayene, doğum kilosu ve Dubowitz kriterlerine göre saptanan gestasyonel yaş göz önüne alınarak üç gruba ayrılmıştır. Gestasyonel yaşı 38 ila 41 hafta arasında ve doğum ağırlığı 2500 ila 4200g. arasında olan bebekler terimde doğan normal doğum ağırlıklı bebek olarak kabul edilmiştir. Gestasyonel yaşı 37 hafta+6 günden küçük olan bebeklerde prematüre bebek olarak kabul edilmiştir. Bu bebeklerin hepsinin doğumu vajinal yolla olmuş ve perinatal bir özellik tespit edilememiştir. I.grubu oluşturan terimde normal ağırlıklı 10 bebeğin (6'sı kız, 4 ü erkek) ortalama gestasyonel yaşı 40 hafta ve ortalama doğum ağırlığı 3260g. (2900-3700g.) (tablo II), terimde düşük doğum ağırlığı 10 bebekten (5 erkek, 5 kız) oluşan II.grubun ortalama gestasyonel yaşı 39.7 hafta (38-40 hf.) ve ortalama doğum ağırlığı 2385 gram (2200-2450)g.) olarak tespit edilmiştir (tablo III). III. grubu oluşturan prematüre 11 bebeğin (6'sı kız, 5 i erkek) ise ortalama gestasyonel yaşı 31 hafta (24-36 hf.) ve ortalama doğum ağırlığı 1500 gram (1100-2200g.) olarak bulunmuştur (tablo IV).

Her üç gruptaki bebeklerden doğumu hemen takiben umbilikal venadan heparinli tüplere kordon kanı alınmıştır. Aynı anda kordon kanından hematokrit, hemoglobin ölçümü ve eritrosit sayımı da yapılmıştır.

Heparinli tüplere alınan kanlar 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazması atılmış, geriye kalan kısım üç kez eşit volümde izotonik NaCl çözeltisi ile yıkanarak santrifüj edilmiştir. Her seferinde üst kısım atılmıştır. En son 30 dakika 3500 devirde santrifüj edildikten sonra üst faz trompla dikkatlice atılmıştır. Paketlenmiş eritrositin bir volümü eşit volümde bidistile su ile hemoliz edilmiştir (10). Bu hemolizatın ekstraksiyonu bazı ufak değişikliklerle Sperry-Brand yöntemine göre yapılmıştır(20). Bu yöntemine göre hemolizattan lipid ekstraksiyonunda(fosfolipid tayini için) 8,3ml.metanol içeren

bir kaba 1ml. hemolizat damlatılarak ilave edilmiş, 10 dakika oda temperaturünde bekletildikten sonra 8,3 ml. klaroform ilave edilmiş, 2 dakika 50°C lik su banyosunda çalkalanmıştır. Tekrar 10 dakika oda temperaturünde bırakılmış ve cam kapaklı bir firole süzümüştür. Filtratın üzerine 0.001 M CaCl_2 'den 5ml. konup 15 saniye şiddetle çalkalandıktan sonra bir gece +4°C de karanlıkta bekletilmiştir. Üst faz su trombu ile dikkatlice alınmıştır. Ara faz iki kez 3ml. Metanol/0.001 M CaCl_2 /kloroform (42=56=2,V/V/V) karışımı ile yıkanıp üst faz atılmıştır (21). Eritrosit lipidlerini içeren alt faz fiolden 100ml.lik evaporatör balonuna aktarılmıştır. Çalışma temperaturünün 50°C'yi aşmamasına ve çözeltinin kuruluğa kadar uçurulmamasına özellikle dikkat edilmiştir. Kalıntı kloroformla cam kapaklı bir tüpe alınarak, azot gazı altında kuruluğa dek uçurulmuştur. 1ml. kloroformda çözülen maddenin ince tabaka kromatografisi ile fosfolipidlerinin ayırımına geçilmiştir. Total lipid tayini gravimetrik yöntemle , total kolesterol, tayinide enzimatik yöntemle ölçülmüştür.

Eritrositlerden Sperry-Brand yöntemine göre ekstrakte edilen lipid ince tabaka kromatografisinde uygun solvent sisteminde fraksiyonlarına ayrılmıştır. İnce tabaka kromatografisinde plakların hazırlanmasında 20X20cm. boyutunda cam plaklar kullanılmıştır. 40g. Silikagel-H adsorbantı 0.0025 M Na_2CO_3 ile kapaklı bir erlende karıştırılarak 0.4 mm. kalınlığında cam plaklara yayılmıştır. Plaklar bir gece oda temperaturünde kurutulduktan sonra 105°C de 1 saat aktive edilmiş, aktivasyondan 15-20 dakika sonra lipid ekstraktları plağa ekilmiştir. 1ml. hemolizattan elde edilen total lipid ekstraktından 100 µl. Hamilton enjektörü ile 1.5cm. genişliğinde çizgi şeklinde plağa ekilmiştir. Fosfolipidlerin ayırımında tek dimensiyonlu ince tabaka kromatografisi uygulanmıştır. Developman sistemi olarak taze hazırlanan kloroform/Metanol/Su (65=25=4, V/V/V) uygulanmıştır (22,23,24,25). Oda temperaturünde kurutulan plaklarda iyod buharı ile fraksiyonlar belirginleştirilerek, standartlarla karşılaştırılıp tanımlamaya geçilmiştir.

Fosforun kantitatif tayini silikagel'den bir ön işlem uygulanmadan direkt olarak yapılmıştır (26,27). Burada Fiske-Subbarow (28) yönteminin Bartlett (21) tarafından modifiye edilmiş şekli kullanılmıştır. Her bir fosfolipid fraksiyonu ucu keskin spatülle kazınarak içlerine cam boncuk konulmuş 15-25ml.lik "Kjeldahl" balonlarına dikkatlice aktarılmıştır. Paralel olarak plaktan fosfolipid fraksiyonlarının büyüklüğüne eşit büyüklükteki temiz silikagel kazınarak Kjeldahl balonlarına konmuştur. (kör örnek). Daha sonra bütün örneklere 10 N H_2SO_4 'den 1.25 ml. konup 150-160°C'deki etüvde üç saat ısıtılmışlardır. Bu sürenin sonunda 1-2 damla hidrojen peroksit ilave edilerek tekrar aynı ısıda bir saat bekletilmişlerdir. Örneklerin sağıtılmasından sonra 5 ml.lik fiollere pipete edilmişlerdir. Balonların içi 1-2 defa distile su ile yıkanıp, bunlarda fiollere ilave edilmiş ve distile su ile 5 ml.ye tamamlanmıştır. Fioller 30 saniye kadar şiddetle çalkalandıktan sonra mavi bantlı süzgeç kağıdından tüplere süzölmüştür. Süzöntülerden 2'şer ml. alınıp, cam kapaklı tüplere konmuştur. Bu arada standart ve reaktif körleri de hazırlanmıştır. Standarda 1ml. de 10 $\mu g.$ P içeren çözeltiliden 0.2 ml. ve 2 ml. distile su konmuştur. Her ikisinde de 0.5 ml. 10 N H_2SO_4 'ten ilave edilmiştir. Bundan sonra bütün tüplere 0.2ml. Amonyum Molibdat, 0.2ml. ANSA reaktifi ilave edilmiş ve hepsi distile su ile 5 ml.ye tamamlanmıştır. Tüplerin cam kapakları kapatılarak 100°C lik su banyosunda 10 dakika kaynatılmıştır, 20 dakika oda temperaturünde soğutulduktan sonra, örnekler "Bausch-Lomb Spectronik-100" spektrofotometresinde 830 m μ .da reaktif körne karşı okunmuştur.

Eritrosit fosfolipidlerinin içerdikleri fosfor (P) miktarları aşağıdaki formülden hesaplanmıştır.

$$\frac{AX5X2X1}{BX2X0.1} \times 2 = \mu g. P/1 \text{ ml. hemolizat}$$

- A= Spektrofotometrede okunan örneğin optik dansitesi
 5= Dijestiyondan sonra tamamlanan toplam hacim
 2 $\mu g/1ml$ = Standardın içerdığı fosfor miktarı
 1ml= Eritrosit hemolizatının toplam hacmi
 B= Standardın spektrometrede okunan optik dansitesi
 2ml= Dijestiyondan sonra 5ml.'lik toplam hacimden alınan miktar.
 0.1ml= Eritrosit ekstraktından plağa tatbik edilen miktar.

Çalışmamızda elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesi Ege Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Bilgisayar Mühendislik Bölümünde Minitab isimli paket program kullanılarak basit istatistikler hesaplanmış, ayrıca korelasyon analizi ve student-t testi yapılmıştır.

B U L G U L A R

Terminde doğan normal doğum ağırlıklı 10 bebekten oluşan I.grubun (6sı kız, 4'ü erkek) kordon kanı ortalama hematokriti %52.2, ortalama hemoglobini 16.95.g./dl. ortalama eritrosit sayısı 4930 000/mm³ ve ortalama eritrosit hacmi de 104.8µ³ olarak bulunmuştur. Eritrosit membran lipidi incelemelerinde total lipid ortalama %103.30±13.42mg., total kolesterol ortalama 39.30±6.00mg., sfingomyelin/lesitin oranı ortalama 0.90±0.02, % kolesterol (Total lipidin yüzdesi olarak kolesterol) değeri ortalama % 37.99±2.85 ve % fosfor değeri de ortalama % 2.11±0.18 olarak bulunmuştur (Tablo-II).

Terminde doğan düşük doğum ağırlıklı 10 bebekten oluşan II.grubun (5 erkek, 5 kız) kordon kanı ortalama hematokriti %58.8, ortalama hemoglobini 16.95g./dl., ortalama eritrosit sayısı 5065 000/mm³ ve ortalama eritrosit hacmi de 104.8µ³ olarak bulunmuştur. Eritrosit membran total lipidi ortalama %70.30±12.52mg., total kolesterolu ortalama % 27.40±6.69mg, sfingomyelin/Lesitin oranı ortalama 0.96±0.05, % kolesterol değeri ortalama % 38.67±3.96 ve % fosfor değeri de ortalama % 2.13±0.14 olarak bulunmuştur (Tablo-III).

Prematüre doğan 11 bebekten oluşan III grubun (5 erkek, 6 kız) kordon kanı ortalama hematokriti % 60.18, ortalama hemoglobini 18.95g./dl., ortalama eritrosit sayısı 4 880 000/mm³, ve ortalama eritrosit hacmi de 123.72µ³ olarak bulunmuştur. Eritrosit membranı total lipidi ortalama % 55.82±12.18mg., total kolesterolu ortalama % 21.45±4.84mg., sfingomyelin/lesitin oranı ortalama 0.96±0.03, % kolesterol değeri ortalama % 38.49±4.71 ve % fosfor değeri de ortalama % 2.04±0.14 olarak bulunmuştur (Tablo-IV).

Her üç grubun kordon kanı eritrosit membran total lipid, total kolesterol, sfingomyelin/lesitin oranı, % kolesterol ve % fosfor değerleri ayrı ayrı istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve şu sonuçlar elde edilmiştir (Tablo-V).

1-I. grubun ortalama eritrosit total lipid değeri II. gruba göre anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.01$).

I. grubun ortalama eritrosit total lipid değeri III. gruba göre anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.01$).

II. grubun ortalama eritrosit total lipid değeri III. gruba göre anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.05$). (Şekil-8).

2-I. grubun ortalama eritrosit total kolesterol değeri hem II. gruptan hem de III. gruptan anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.01$; $p < 0.01$).

II. grubun ortalama eritrosit total kolesterol değeri III. gruba göre anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.05$). (Şekil-9).

3-I. grubun ortalama eritrosit sfingomyelin/lesitin oranı II. gruba göre anlamlı olarak düşüktür ($p < 0.01$).

I. grubun ortalama eritrosit sfingomyelin/lesitin oranı III. gruba göre de anlamlı olarak düşüktür ($p < 0.01$).

II. grubun ortalama eritrosit sfingomyelin/lesitin oranı III. gruba göre farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Şekil-10).

4-I. grubun ortalama eritrosit % kolesterol değeri II. ve III. gruba farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$; $p > 0.05$)

II. grubun ortalama eritrosit % kolesterol değeri de III. gruba göre farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Şekil-10).

5-I. grubun ortalama eritrosit % fosfor değeri II. gruba ve III. gruba göre farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$; $p > 0.05$)

II. grubun ortalama eritrosit % fosfor değeri III. gruba göre farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). (Şekil-12).

Sonuç olarak terimde doğan normal doğum ağırlıklı bebek grubunun kordon kanı ortalama eritrosit membran total lipid ve total kolesterol değerleri terimde doğan düşük doğum ağırlıklı bebek grubundan ve prematüre grubundan, terimde doğan düşük doğum ağırlıklı bebek grubunda prematüre gruptan yüksek bulunmuştur. Terimde doğan normal doğum ağırlıklı bebek grubunun kordon kanı ortalama eritrosit membran sfingomyelin/lesitin oranı hem terimde doğan düşük doğum ağırlıklı bebek grubundan hem de prematüre bebek grubundan anlamlı

olarak düşük bulunmuş, termide doğan düşük doğum ağırlıklı bebek grubunun değerleriyle prematüre grubunun değerleri arasında bir farklılık saptanmamıştır. Her üç grup arasında kordon kanı ortalama eritrosit membran % kolesterol ve % fosfor değerleri bakımından herhangi bir farklılık bulunamamıştır.



I. GRUP

Örnek Cins	Doğum Ağır.g.	Gestasyonel Yaş hf.	Total Lipid	Total kolesterol	Sm/Le	%Kolesterol	%Fosfor	Ht	Hb (g/dl)	Eritrosit 3 (Milyon/mm ³)	MCV (µ ³)	
1	K	2900	40	130	50	0.94	38.46	2.22	52	16.8	5.2	100
2	K	3100	40	115	45	0.92	39.13	2.10	53	17.6	5.1	104
3	E	3200	40	112	40	0.87	35.70	2.18	55	18.0	5.0	100
4	K	3600	40	99	40	0.90	40.40	2.15	51	16.8	4.9	104
5	K	3000	40	86	30	0.88	34.88	1.90	50	16.5	4.7	106
6	K	3000	40	111	40	0.90	36.03	1.80	52	16.2	4.8	108
7	E	3200	40	99	40	0.93	40.40	2.27	50	16.5	4.7	106
8	E	3700	40	95	40	0.89	42.10	2.40	50	16.2	4.6	109
9	E	3500	40	96	38	0.90	39.50	2.10	52	16.5	4.8	108
10	K	3400	40	90	30	0.92	33.30	1.98	57	18.4	5.5	103
ORTALAMA DEĞERLER												
10	6K,4E	3260	40	103.30	39.30	0.90	37.99	2.11	52.2	16.95	4.93	104.8
				±13.42	±6.00	±0.02	±2.85	±0.18				

TABLO II:Terminde doğan normal doğum ağırlıklı bebeklerin kordon kanı eritrosit membranı lipid değerleri

II. GRUP

Örnek Cins	Doğum ağırlığı	Gestasyonel yaş hf.	Total Lipid	Total kolesterol	SM/Le	%Kolesterol	%Fosfor	Ht	Hb (g/dl)	Eritrosit (milyon/mm ³)	MCV (µ ³)
1 K	2450	40	70	30	1.00	42.81	2.18	50	18.0	4.9	102
2 K	2450	40	85	35	0.96	41.17	2.38	50	18.0	5.5	91
3 E	2450	39	89	40	0.98	44.94	1.98	47	12.0	4.1	115
4 K	2400	38	60	25	1.03	41.60	2.11	52	17.8	4.9	106
5 K	2350	40	58	20	0.86	34.48	2.20	53	16.8	5.25	102
6 E	2200	40	70	28	0.90	40.00	1.95	53	17.33	5.0	106
7 K	2400	40	70	26	1.02	37.14	2.11	54	18.0	5.4	100
8 E	2400	40	86	30	0.95	34.88	1.98	60	15.6	4.9	122
9 E	2350	40	55	20	0.95	36.36	2.10	56	19.0	5.5	102
10 E	2400	40	60	20	0.98	33.33	2.30	53	17.0	5.2	102
ORTALAMA DEĞERLER											
10 SK.5E	2385	39.7	70.30	27.40	0.96	38.67	2.13	52.8	16.95	5.065	104.8
			±12.52	±6.69	±0.05	±3.96	±0.14				

TABLO III:Terminde doğan düşük doğum ağırlıklı bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipid değerleri

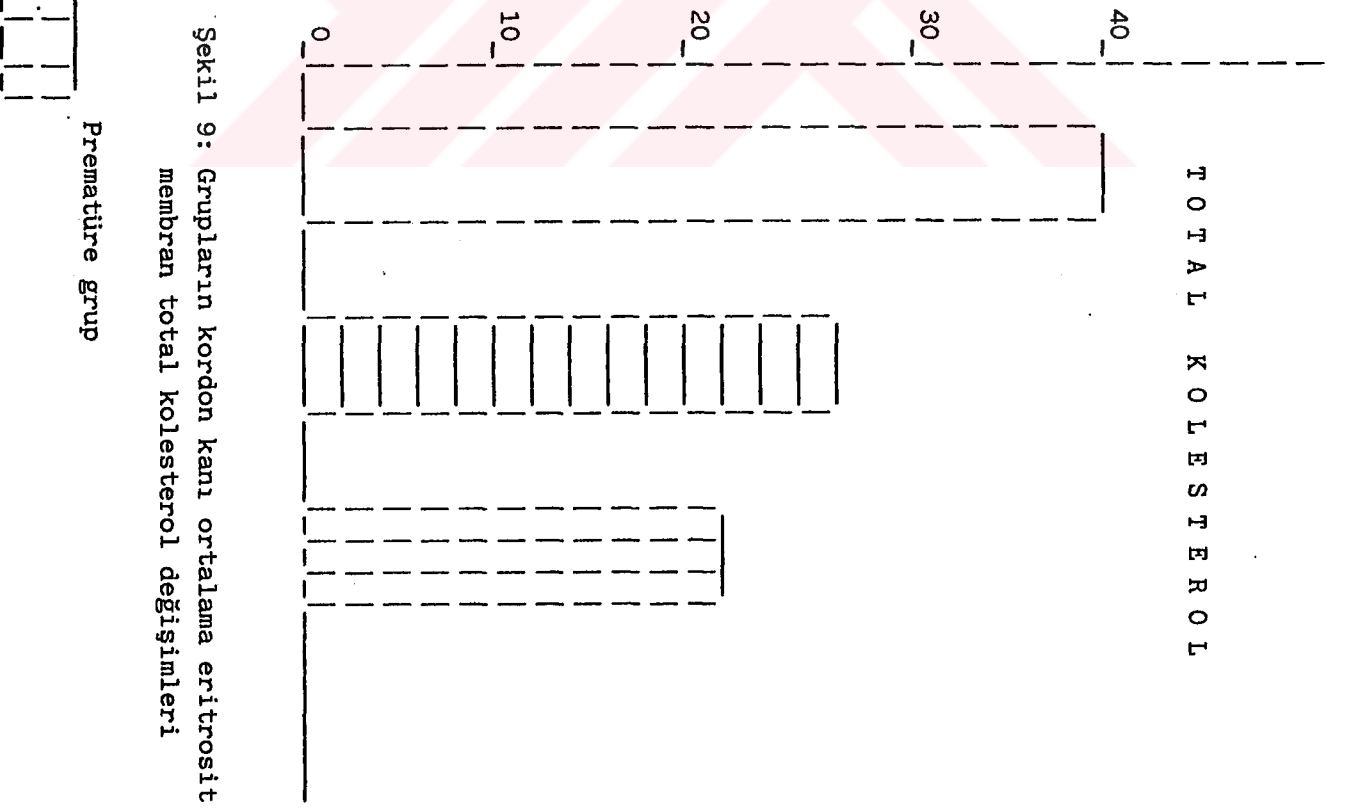
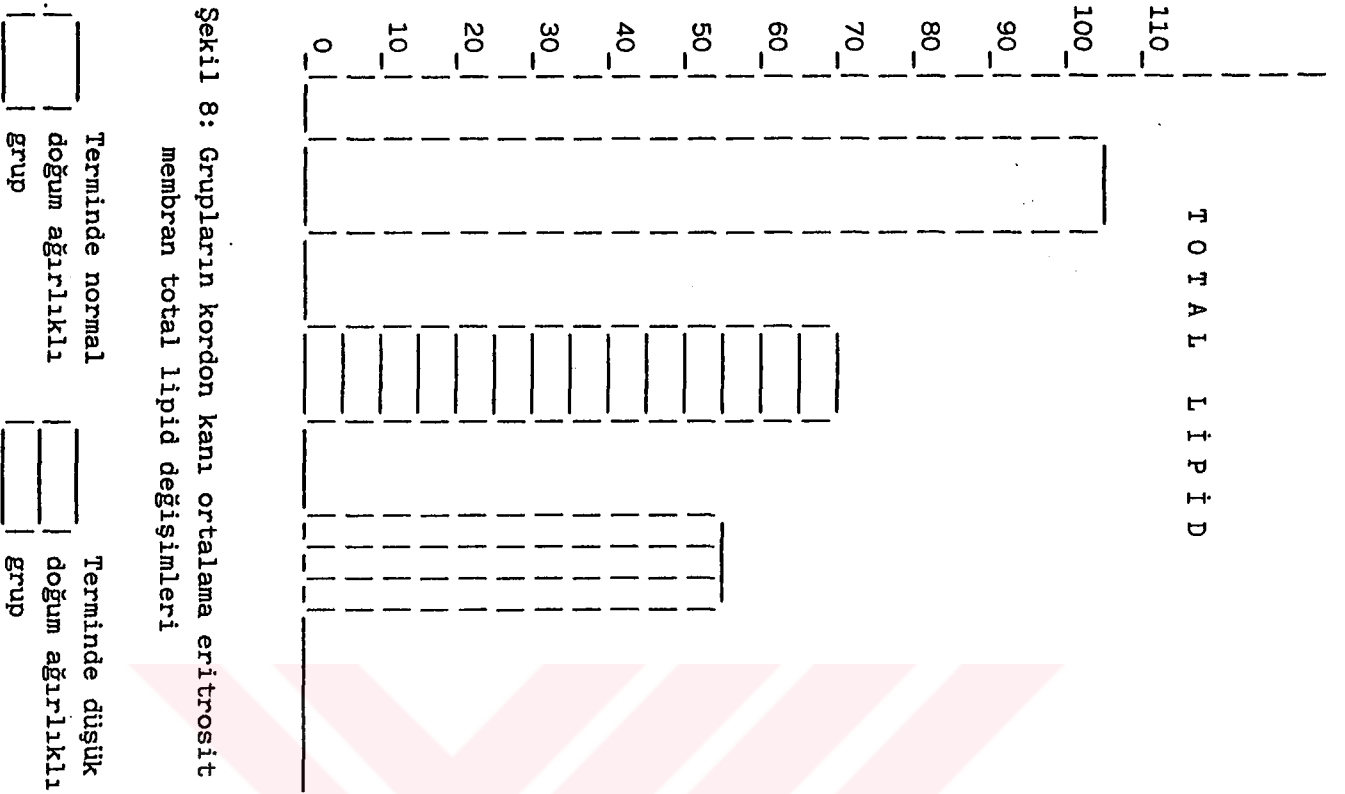
III.GRUP

Örnek Cins	Doğum Ağırlığı.g.	Gestasyonel Yaş hf.	Total Lipid	Total kolesterol	SM/Le	%Kolesterol	%Fosfor	Ht	Hb g/dl	Eritrosit 3 (milyon/mm ³)	MCV ₃ (µ ³)
1 E	1400	29	70	25	0.98	35.71	1.98	56	17.0	4.7	119
2 K	1750	36	45	15	0.99	33.30	2.20	57	17.0	4.9	116
3 K	2200	35	50	20	1.03	40.00	1.89	64	19.2	5.3	121
4 K	1400	32	50	18	0.96	36.00	2.11	58	21.3	4.9	118
5 K	1300	35	45	20	0.97	44.40	2.30	62	19.6	5.1	122
6 E	1100	30	50	15	0.93	30.00	2.14	59	18.4	4.7	126
7 K	1300	30	60	25	0.94	41.66	1.90	60	19.3	4.7	128
8 E	1200	28	55	25	0.89	45.00	2.15	61	20.0	4.6	133
9 K	1600	24	45	18	0.95	40.00	1.96	62	19.0	4.5	138
10 E	1750	31	60	25	0.98	41.60	1.95	61	18.6	5.5	111
11 E	1500	31	84	30	0.96	35.71	1.90	62	19.1	4.8	129
11 6K5E	1500	31	55.82	21.45	0.96	38.49	2.04	60.18	18.95	4.88	123.72
			₺12.18	₺4.84	₺0.03	₺4.71	₺0.14				

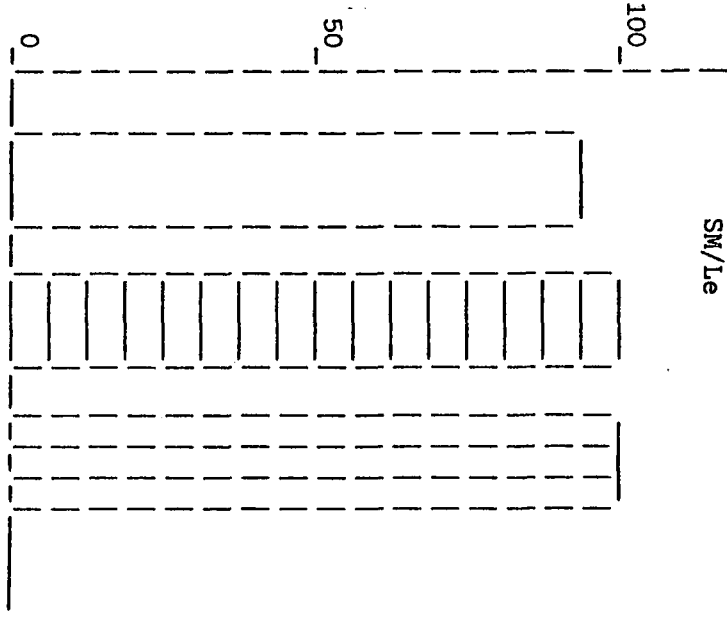
TABLO IV: Premature bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipid değerleri

GRUPLAR	Total lipid	Total kolesterol	SM /Le	%Kolesterol	%Fosfor
I. GRUP	103.30±13.42	39.30±6.00	0.90±0.02	37.99±2.85	2.11±0.18
II GRUP	70.30±12.52	27.40±6.69	0.96±0.05	38.67±3.96	2.13±0.14
P DEĞERİ	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P>0.05	P>0.05
I. GRUP	103.30±13.42	39.30±6.00	0.90±0.02	37.99±2.85	2.11±0.18
III. GRUP	55.82±12.18	21.45±4.84	0.96±0.03	38.49±4.71	2.04±0.14
P DEĞERİ	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P>0.05	P>0.05
II. GRUP	70.30±12.52	27.40±6.69	0.96±0.05	38.67±3.96	2.13±0.14
III. GRUP	55.82±12.18	21.45±4.84	0.96±0.03	38.49±4.71	2.04±0.14
P DEĞERİ	P<0.05	P<0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05

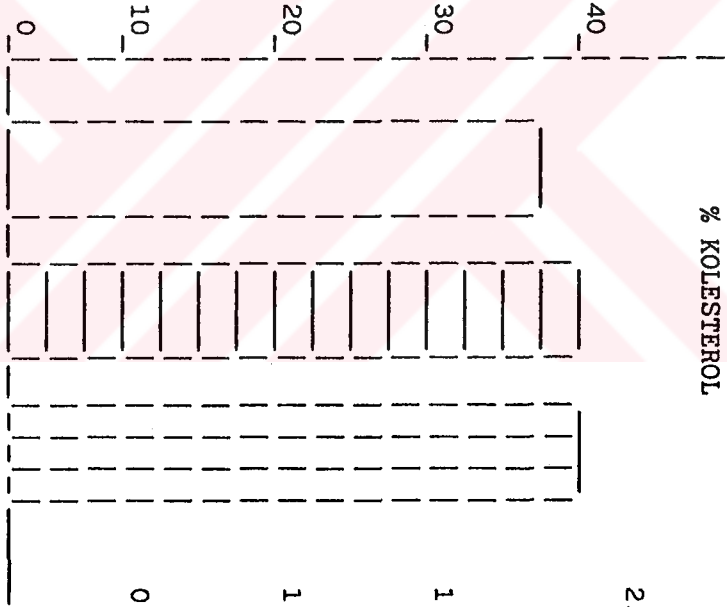
TABLO V: Termide doğan normal doğum ağırlıklı, düşük doğum ağırlıklı ve premature bebeklerin kordon kanı ortalama eritrosit membran lipid değerleri ve bu değerlerin istatistiksel değerlendirme sonuçları



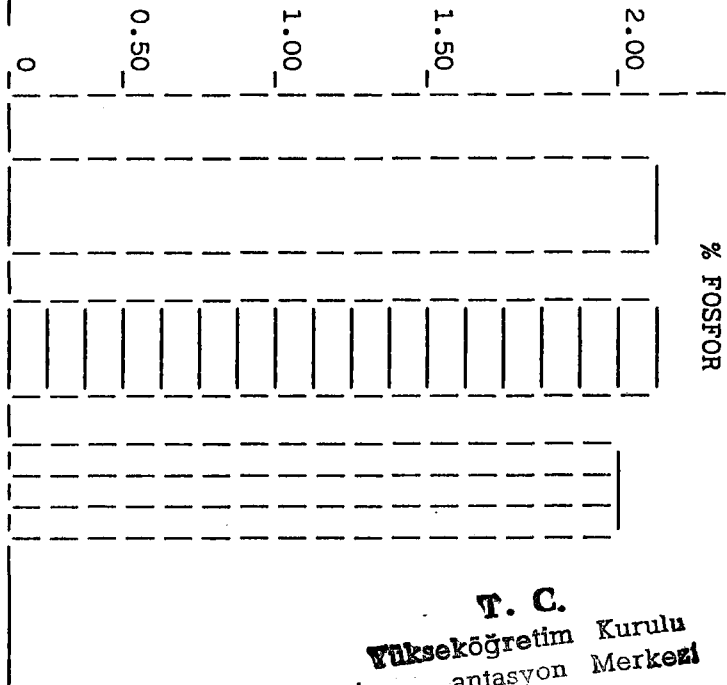
Termine normal doğum ağırlıklı grup
 Termine düşük doğum ağırlıklı grup
 Prematüre grup



Şekil 10: Grupların kordon kanı ortalamama eritrosit membran sfin-gomyelin/lesitin değişimleri



Şekil 11: Grupların kordon kanı ortalamama eritrosit membran % Kolesterol değişimleri



Şekil 12: Grupların kordon kanı ortalamama eritrosit membranı % Fosfor değişimleri

T A R T I Ő M A

İnsan fetal eritrositleri bazı metabolik, fonksiyonel ve yapısal özellikleriyle bebek, çocuk ve erişkin eritrositlerinden farklılık gösterirler (13).

A)Membran**1)Fosfolipid içeriği**

- a)Artmış sfingomyelin, azalmış lesitin
- b)Artmış lipid fosforu ve kolesterolu
- c)Azalmış linoleik asid

2)Transport ve permeabilite

- a) Oubaine duyarlı ATP az azlığı
- b)Azalmış potasyum "influx"u
- c)Gliserol ve thioüreye karşı azalmış permeabilite
- d)Glukoza karşı artmış afinite

3)Hücre bütünlüğü ve deformabilitesi

- a)Azalmış deformabilite.
- b)İnkübasyon ve depolanma ile değişen morfoloji
- c)Membran sülfidril gruplarında azalma

4)Antijenite

- a)İ antijenlerinin varlığı

B)Hemoglobin

- 1)Artmış oksijen afinitesi
- 2)Artmış methemoglobin içeriği ve oluşumu
- 3)Azalmış methemoglobin redüksiyonu
- 4)Oksidatif denaturasyona artmış duyarlılık
- 5)Artmış oksijen tüketimi ve H₂O₂ üretimi

C)Enzimler ve metabolizma**1)Karbonhidrat metabolizması**

a)Artmış glukoz tüketimi

b)Artmış galaktoz utilizasyonu, galaktokinaz ve galaktoz-1-fosfat üridil transferaz.

c)Sorbital "pathway" in azalmış aktivitesi

2)Emden-Meyerhof (anaerobik yol)

a)Heksokinaz, fosfoglukoz izomeraz, aldolaz, gliseraldehid-3Fosfat dehidrogenaz, fosfogliserat kinaz, fosfogliserat mutaz, enolaz, prüvat kinaz, laktik dehidrogenaz aktivitelerinde artış.

b)Azalmış fosfofruktokinaz

c)2,3-DPG ve ATP'nin hızlandırılmış azalışı

3)Pentoz-fosfat (aerobik) şantı

a)Artmış G-6-PD, 6-fosfoglukonik dehidrogenaz ve glutathion redüktaz.

b)Azalmış glutathion stabilitesi, glutathion peroksidaz ve glutathion sentetaz.

4)Nonglikolitik enzimler

a)Azalmış katalaz, karbonik anhidraz ve adenilat kinaz

b)Artmış glutamik oksalasetik transaminaz.

Genel olarak, yeni doğanın eritrosit membranları daha fazla sfingomyelin, daha az lesitin ve daha fazla total lipid, fosfolipid, kolesterol ve poliinsatüre yağ asidi içerir. Prematüre ve yeni doğan eritrosit membranları lipid peroksidasyonuna daha fazla duyarlıdır. Azalmış ATP az miktarları azalmış potasyum "influx"u ile birlikte. Bundan başka yeni doğan eritrositindeformabilitesi azalmıştır (artmış rijidite) ve inkübasyon ve depolanma ile krenasyon ve fragmentasyon ile karakterli morfolojik değişiklikler oluşur.

Hemoglobinin oksijene karşı artmış afinitesinden dolayı, yeni doğanın hemoglobini oksidasyona ve oksidatif denaturasyona daha duyarlıdır. Methemoglobin içeriği artmıştır ve methemoglobin redüksiyonunda rol oynayan major enzim NADH a bağımlı methemoglobin redüktaz miktarı azalmıştır. Oksijen tüketimindeki artış ve hidrojen peroksid yapımındaki artış hemoglobinin oksidatif denatürasyonuna katkıda bulunur.

Prematüre ve terimde yeni doğan eritrositleri erişkinlere kıyasla daha fazla glukoz tüketir. Ancak hücreler yaşlanınca, glikolitik oran yeni doğanlarda erişkinlere göre daha düşüktür. Glikoliz oranını sınırlayıcı bir enzim olan fosfofruktokinaz'ın relatif eksikliğinden dolayı yeni doğan eritrositleri beklenildiği kadar fazla glukoz tüketemez. Embden-Meyerhof veya anaerobik yolda rol oynayan diğer bütün enzimlerin aktivitesi artmışlardır.

ATP konsantrasyonu yeni doğan eritrositlerinde yüksek olmasına rağmen inkübasyon ve depolama ile hızla azalır. ATP içeriğindeki azalma membran katyon ve lipid transportunu bozar, hücre deformabilitesini azaltır, oksijen afinitesinde artışa ve glutathion sentezinde azalmaya yol açar.

Pentoz fosfat şantında rol oynayan bir takım enzim aktiviteleri artmıştır. Glutathion anstabilidir ve eritrositler potent oksidanlarla inkübe edilirse konsantrasyonları azalır. Glutathion sentetaz ve glutathion peroksidaz aktiviteleri de azalmıştır.

Bir çinko metaloenzimi olan karbonik anhidraz karbon dioksidin fizyolojik transportunda önemlidir. Normal terimde bebekler erişkinlerin enzimatik aktivitesinin yaklaşık %25'ine sahiptir.

Fetal hemoglobinin ve i antijeninin ilk 12 ayda kaybolma eğrileri birbirlerine benzerdir ve bu da her ikisinin ortak bir kontrol mekanizmasıyla olduğunu gösterir.

Fetal ve erişkin eritrositleri arasında bu farklılıkların bir bölümünden membranın yapısı ve permeabilitesi sorumludur. Bu

nedenle fetal eritrosit membran lipidleri çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (29,30,31). Fetal eritrosit erişkin eritrositten daha fazla total lipid, kolesterol ve fosfolipid içerir. Fosfolipid fraksiyonları yönünden incelendiğinde fetal eritrosit erişkine kıyasla daha fazla sfingomyelin ve daha az fosfatidil kolin içerir. Fosfolipid yağ asidi kompozisyonu yönünden de fetal eritrositler erişkine kıyasla daha az linoleik ve oleik asid, daha fazla palmitik ve arakinodik asid içerir.

Yeni doğan döneminde yüksek olan eritrosit total lipid, kolesterol ve fosfolipid değerleri ilk 6 ayda belirgin bir azalma gösterir ve 6 ay ile 6 yaş arasında sabit değerlerde kalır. 6 yaşından sonra bu değerler tekrar yükselme göstererek 10-14 yaşlarında erişkin değerlerine ulaşır. Eritrosit membran lipid içeriğindeki değişimler ortalama eritrosit hacmindeki değişimlere paralellik göstermektedir. Yeni doğan dönemindeki yüksek eritrosit total lipid değerleri bu dönemdeki ortalama eritrosit hacminin yüksek olmasına bağlı olarak düşünülmektedir. Daha sonra birkaç hafta içinde makrositer hücre popülasyonunun selektif kaybı, ortalama eritrosit hacminin ve dolayısıyla eritrosit membran lipidlerinin progresif kaybı ile sonuçlanabilir (32). Küçük yaş gruplarında 6 yaş üzerindeki göre total lipidin yüzdesi olarak fosfolipid değerleri düşük, kolesterol değerleri ise yüksektir. Fosfolipid fraksiyonlarından sfingomyelin yenidoğan dönemi dışındaki yaş gruplarında sabit seviyelerde bulunurken, fosfatidil kolin 6-12 ay arasındaki en düşük değerlerinden artarak 6 yaşından sonra erişkin değerlerine ulaşır.

Sfingomyelin/lesitin oranı doğumda yüksek değerlerde olup, bu yüksek oran 6 yaşına kadar devam eder. 10-14 yaşlarında azalarak erişkin düzeylerine erişir.

Fosfolipid yağ asitleri de 6-12 ay içinde erişkin değerlerinde olurlar. Yağ asitleri içinde en çarpıcı artışı linoleik asid gösterir. Kontrollü çalışmalar eritrosit membranı linoleik asid içeriğinin diyetle alınan linoleik asidle yakın bir ilişki içinde olduğunu göstermektedir (32,33,34).

Fetal plasmada lipid profili incelenecek olursa total lipid, total kolesterol, total fosfolipid ve trigliserid miktarlarının erişkin değerlerinin yarısından daha az olduğu görülür (31,35,36,37,38). Fetal plasmada total fosfolipid miktarlarının düşük olması yanında fosfolipidlerin dağılımında erişkinlerden farklılık gösterir. Eritrosit membranında olduğu gibi plasmada da sfingomyelin yüzdesi erişkinlerden yüksek ve fosfatidil kolin yüzdesi erişkinlerden düşüktür (31,32). 6-14 yaş grubunda plasma sfingomyelin/lesitin oranı 0.24 iken, kordon kanında bu oran 0.26'dır.

Bazı araştırmacılar prenatal ve perinatal komplikasyonların kordon kanı lipid seviyelerini etkileyebileceklerini bildirmişlerdir (39,40,41,42,43). Prematüre bebeklerde total kolesterol değerlerinde yükselme ve trigliserid düzeylerinde azalma tesbit edilmiştir (40,42,44). Plasental yetmezlik, amniyon sıvının mekonyumla boyanması ve düşük Apgar skoru gibi durumlarda ise kordon kanı trigliserid düzeyleri yükselir (39,45).

Kord kanı lipoprotein ve apolipoprotein düzeyleride erişkinlere göre belirgin şekilde düşüktür (35,36,37). Erişkinlerin aksine kordon kanında önde gelen lipoprotein HDL (high-density lipoprotein) dir. Erişkinlerde ise LDL (low-density lipoprotein) belirgindir (46,47,48,49). Davis ve arkadaşları (46) sağlıklı terimde doğan bebeklerle lipoprotein seviyelerinin 100mg/dl.den düşük olduğunu ve kordon kanı HDL'sinin erişkinlerden büyüklüklerine göre dağılım ve apolipoprotein içeriğiyle farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Kordon kanı HDL ve LDL kompozisyonu erişkinlerinkine benzemekle birlikte kordon kanı VLDL (very low density lipoprotein) kompozisyonu daha düşük trigliserid ve daha yüksek protein içermesiyle erişkinlerden farklıdır (35). İne kord kanında HDL kolesterol/total kolesterol oranı erişkinlere göre belirgin derecede yüksektir.

Lipoprotein metabolizmasında rol oynayan enzimlerden lesitin-kolesterol açıltransferaz aktivitesi kordon kanında oldukça düşüktür (36,37,50,51). Buna karşılık yeni doğanda lipoprotein lipaz aktivitesi erişkinlerle aynıdır, hepatik lipaz aktivitesi ise yeni doğanlarda 2-3

misli daha fazladır (52). Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde ve prematürelere lipolitik enzimler, lipoprotein lipaz ve LCAT, terimde doğan bebeklere göre daha düşüktür (53).

Fetal lipid metabolizması gözden geçirilecek olursa, yağ asidlerinin plasenta yoluyla sağlanabildiği ve özellikle gebeliğin ikinci yarısında fetal karaciğer tarafından sentez edilebildiği bilinmektedir. Fetal karaciğerde yağ asidi sentezi insülin tarafından aktive edilirken, glukagon ve cAMP tarafından inhibe edilir. Maternal diyetdeki değişiklikler fetal karaciğer tarafından yağ asidlerine asetat inkorporasyon oranını etkileyebilir. Fetal dokulardaki yüksek oranda bulunan satüre yağ asidleri, desatürasyonda rol oynayan enzimlerin düşük aktivitelerini ve poliinsatüre yağ asidlerinin büyük bir oranda maternal orijinli olduğunu gösterir. Ya asidlerinin β -lipoprotein şeklinde diğer dokulara transportu gebeliğin son dönemlerine kadar yetersizdir. Gelişme ve büyüme esnasında membran fosfolipid kompozisyonunda değişim gösterir. Özellikle poliinsatüre yağ asidleri oranı doğumdan sonra belirgin bir şekilde yükselir. Bu değişiklikler bir dereceye kadar maternal diyetle modifiye edilebilir (54).

Kolesterol hem fetal karaciğer tarafından yüksek oranlarda sentez edilebilir, hem de plasental transferle sağlanır. Maternal diyetle yüksek oranda kolesterol bulunduğu durumlarda fetal karaciğer tarafından yapılan sentez baskılanır (54).

Terimde doğan bebeklerde kordon kanı eritrosit membran lipidleri için literatürde bildirilen değerler total lipid için $5.71-6.93 \times 10^{-10}$ mg/hücre, total kolesterol için $1.42-1.58 \times 10^{-10}$ mg/hücre, total fosfolipid için $0.133-0.148 \times 10^{-10}$ mg/hücre, % kolesterol için 27.1 ± 2.3 , % fosfor için 2.40 ± 0.17 ve sfingomyelin/lesitin içinde 0.94 'tür (29,31). Bu çalışmadaki terimde doğan bebeklerin değerleri literatür değerleri ile karşılaştırıldığında; % kolesterol değerlerinin hafif yüksek (37.99 ± 2.85), % fosfor değerleri (2.11 ± 0.18) ve sfingomyelin/lesitin oranlarının (0.90 ± 0.02) literatür değerleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Total lipid, total kolesterol ve lipid fosforu için bu çalışmada verilen değerler 100ml. hemolizatta mg. cinsinden literatür değerleriyle tam olarak mukayese edilememiştir.

Daha öncede belirtildiği gibi bu çalışmada termide düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebek gruplarının kordon kanı eritrosit total lipid ve total kolesterol değerleri termide normal doğum ağırlıklı bebeklere göre daha düşük, sfingomyelin/lesitin oranı daha yüksek, % kolesterol ve % fosfor değerleride benzer şekilde bulunmuştur. Literatürde bu konuyla ilgili bulabildiğimiz tek çalışma Neerhout'a aittir. Bu çalışmada (30) doğum ağırlığı 1200 gramdan az olan bebeklerin kordon kanı eritrosit total lipid, total kolesterol ve lipid fosforu değerleri (hücre başına mg. olarak) termide doğan bebeklere göre anlamlı olarak yüksek olarak bulunmuş ve bu durum doğum ağırlığı azaldıkça ortalama eritrosit hacminin artması ve dolayısıyla eritrosit yüzey alanının artmasının bir yansıması olarak yorumlanmıştır. Yine aynı çalışmada doğum ağırlığı 1200 gramdan fazla olan bebeklerin kordon kanı eritrosit total lipid, total kolesterol ve lipid fosforu değerleri, doğum ağırlığı 2500 gramdan fazla olan termide bebeklere göre farklılık göstermemiştir. Ayrıca doğum ağırlığı ister 1200 gramdan az, isterse fazla olsun 100ml. hemolizatta lipid içeriği, % fosfor ve % kolesterol değerleri termide doğan 2500 gram üzeri bebeklere göre farklılık göstermemiştir. Diğer bir deyişle, bütün gruplarda her membran birimi için lipid dağılımı aynı olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada da gruplar arasında % kolesterol ve % fosfor değerleri açısından literatüre uygun olarak farklılık saptanmamıştır. Ancak eritrosit total lipid ve total kolesterol değerleri Neerhout'un çalışmasının (30) aksine düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebek grubunda düşük bulunmuştur. Bu çalışmada eritrosit total lipid ve total kolesterol değerleri hücre başına mg. olarak değil 100 ml. hemolizatta mg. olarak verilmiştir. Dolayısıyla prematürelere ve düşük doğum kilolu bebeklerde yüksek olan ortalama eritrosit hacmine bağlı olarak yüksek lipid içeriği değil aksine termide bebeklerle aynı değerleri bulmak beklenir. İkincisi bu çalışmadaki düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebek gruplarının ortalama doğum ağırlıklarının 1200 gramdan fazla olması bu gruplarda anlamlı yüksek değerler bulunmamasına yol açmış olabilir. Üçüncüsü ve en önemlisi de daha öncede belirtildiği gibi olgun bir eritrosit membran lipid sentezi yapamaz (2,55).Dola -

yısıyla membran lipidleri şekil-7'de gösterildiği gibi, ya plasma kolesterol ve fosfolipidleriyle direkt değişim yoluyla, yada membran diaçil fosfolipidleri oluşturacak şekilde plasma monoaçil fosfolipidlerinin açillenmesiyle idame ettirilir. Gerekse düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebeklerde plasma total lipid, fosfolipid ve kolesterol değerlerinin termide bebeklere göre daha düşük olması (total lipid= $\langle 2100\text{g.}, 243\text{mg/dl.}; \rangle 2500\text{g.}, 283\text{mg/dl};$ fosfolipid: $\langle 2100\text{g}-90\text{mg/dl.}; \rangle 2500\text{g.}, 110\text{mg/dl.};$ kolesterol= $\langle 2100\text{g.}, 56\text{mg/dl}; \rangle 2500\text{g.}, 68\text{mg/dl}$), gerekse lipoprotein ve apolipoprotein düzeylerinin daha düşük olması, gerekse lipoprotein lipaz ve LCAT aktivitelerinin daha az olması, ve gerekse yağ asitleri ve kolesterolün karaciğerin immatüritesi nedeniyle yetersiz sentezi ve gestasyon süresinin kısa olması nedeniyle yetersiz plasental transferi, prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklere termide normal doğum ağırlıklı bebeklere göre daha düşük kordon kanı eritrosit total lipid ve total kolesterol değerlerinden sorumlu olabilir. Sfingomyelin/Lesitin oranının prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebek grubunda termide doğan normal doğum ağırlıklı bebek grubuna göre yüksek bulunması plasma sfingomyelin konsantrasyonunun daha yüksek ve lesitin konsantrasyonunun daha düşük olmasıyla ilişkili olabilir.

Buraya kadar konuyla ilgili yapılan yorumların hemen hepsi dolaşımda bulunan olgun eritrositlerle ilgilidir. Oysa bu aşamaya dek eritrositin olgunlaşma basamaklarında nerede ve ne tür membran lipid değişimleri olduğu konusunda pek bilgi sahibi değiliz. Prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde eritrositlerin yüksek bir yüzdesini retikülositlerin oluşturduğunu ve retikülositlerin ortalama hacimlerinin, total lipid, fosfolipid ve kolesterol miktarlarının daha fazla olduğunu fakat fosfolipid ve fosfolipid yağ asidi kompozisyonunun daha yaşlı eritrositlerle farklılık göstermediğini biliyoruz (56). Ancak daha öncede belirtildiği gibi değerler 100ml. hemolizatta mg. olarak verilirse önemli değildir. Diğer yandan eritroblastozisli bebeklerden elde edilen çok sayıda normoblast ve retikülosit içeren kordon kanı membran lipid çalışmaları bu bebeklerde doğum ağırlığı 1200 gramdan az olan bebeklere göre daha düşük total lipid, lipid fosforu ve kolesterol değerlerinin

varlığını göstermiştir (57). Mamafih, eritrositler olgunlaşmaları esnasında hangi değişimlerden geçerse geçsin, genede buldukları plasma ortamından etkilenmektedirler. Olgun bir insanın eritrositleri fetusa transfüze edildiği zaman, bu eritrositlerin fetal eritrositlerin bazı lipid karakteristiklerini kazandıkları gözlenmiştir (57).

Eritrositlerin dolaşımında görevlerini tam olarak yapabilmeleri ve yaşam sürelerini tamamlayabilmeleri için membran, hemoglobin ve intrasellüler enzimlerin yapısal ve fonksiyonel olarak tam bir görev yapabilir halde olması gerekmektedir. Bunlardan herhangi birindeki bozukluk eritrosit ömrünün kısılmasına ve hücrenin yıkımına neden olur. Membran lipid kompozisyonundaki değişimlerin bir seri hematolojik bozukluklarla ilgili olduğu bilinmektedir (2,13,58,59,60). Bu çalışmada, özellikle hiperbilirubinemi, hemolitik anemiler gibi yeni doğan döneminin bazı hematolojik problemlerinde eritrosit membran lipidleri ile ilgili daha sonra ülkemizde yapılabilecek çalışmalara ışık tutması amacıyla yeni doğan bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipidlerinin normalleri ortaya konulmuştur. Terminde normal doğum ağırlıklı, terminde düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipid içerikleri araştırılarak, prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebek grubunun terminde normal doğum ağırlıklı bebeklere göre daha düşük total lipid ve total kolesterol değerlerine, daha yüksek sfingomyelin/lesitin oranlarına sahip olduğu, % kolesterol ve % fosfor değerlerinin gruplar arasında farklılık göstermediği ortaya konmuş ve nedenleri üzerinde durulmuştur. Ancak, konuyla ilgili daha kesin bilgilerin ve nedenlerinin ortaya konulabilmesi için çok daha geniş kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

S O N U Ç L A R

1. Terminde normal doğum ağırlıklı bebeklerin kordon kanı eritrosit membran ortalama total lipid değeri % 103.30±13.42mg., ortalama total kolesterol değeri % 39.30±6.00mg., sfingomyelin/lesitin oranı ortalama 0.90±0.02, % kolesterol değeri 37.99±2.85 ve % fosfor değeri 2.11±0.18 olarak bulunmuştur (tablo-II).

2. Terminde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipidleri incelemelerinde; total lipid=% 70.30±12.52mg., total kolesterol=% 27.40±6.69mg., sfingomyelin/lesitin= 0.96±0.05, % kolesterol=% 38.67±3.96 ve % fosfor=% 2.13±0.14 olarak bulunmuştur (tablo III).

3. Prematüre bebeklerin kordon kanı eritrosit membran lipidleri incelemelerinde; total lipid=% 55.82±12.18mg., total kolesterol=% 21.45±4.84mg., sfingomyelin/lesitin= 0.96±0.03, % kolesterol=% 38.49±4.71 ve % fosfor=% 2.04±0.14 olarak bulunmuştur (tablo IV).

4. Terminde normal doğum ağırlıklı bebeklerin kordon kanı eritrosit membranı total lipid ortalaması hem terminde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hem de prematüre bebeklerin total lipid ortalamasından anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$; $p < 0.01$). (Tablo V, Şekil 8).

Terminde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin total lipid ortalaması da prematürelerinkinden yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). (Tablo V Şekil 8).

5. Terminde normal doğum ağırlıklı bebeklerin eritrosit membranı total kolesterol ortalaması hem terminde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hem de prematüre bebeklerin total kolesterol ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$; $p < 0.01$). (Tablo V).

Benzer şekilde terminde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin eritrosit membranı total kolesterolü de prematüre bebeklerin total kolesterol değerinden yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). (Tablo V, Şekil 9).

6-Termide normal doğum ağırlıklı bebeklerin ortalama sfingomyelin/lesitin oranı hem termide düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hem de prematüre bebeklerin ortalama sfingomyelin/lesitin oranından anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.01$; $p < 0.01$). (Tablo V, Şekil-10).

Termide düşük doğum ağırlıklı bebeklerle prematüre bebekler arasında ortalama sfingomyelin/lesitin oranı yönünden istatistiksel anlamı olan bir farklılık saptanamamıştır ($p > 0.05$). (Tablo V, Şekil 10).

7-Termide normal doğum ağırlıklı, termide düşük doğum ağırlıklı ve prematüre bebekler arasında % kolesterol ortalamaları yönünden anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p > 0.05$; $p > 0.05$; $p > 0.05$). (Tablo V, Şekil-11).

8-Gruplar arasında % fosfor ortalamaları bakımından da anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p > 0.05$; $p > 0.05$; $p > 0.05$). (Tablo V, Şekil-12).

9-Kordon kanı eritrosit membranı total lipid, total kolesterol ve sfingomyelin/lesitin oranlarının gestasyonel yaş ve doğum kilosuyla ilişkili olarak farklılık gösterdiği, ancak % kolesterol ve % fosfor değerlerinde anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Bu durum, membran birimi başına lipid dağılımının bütün gruplarda aynı olduğunu düşündürmektedir.

Ö Z E T

Bu çalışmada termide normal doğum ağırlıklı, termide düşük doğum ağırlıklı ve prematüre yeni doğanların kordon kanı eritrosit membran lipidleri çalışılmıştır. Araştırmaya alınan vakalar üç grup içinde incelenmiştir. Birinci grup, 10 termide normal doğum ağırlıklı yeni doğanı, ikinci grup 10 termide düşük doğum ağırlıklı yeni doğanı ve üçüncü grup da 11 prematüre yeni doğanı kapsamaktadır. Her üç grubun kordon kanı örneklerinde 100 ml. hemolizatta lipid ve kolesterol miktarları, sfingomyelin/lesitin oranları ve total lipidin yüzdesi olarak fosfolipid ve kolesterol oranları saptanmış ve elde edilen sonuçlar birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Doğum ağırlığı 2500 gramdan fazla olan termide yeni doğanlar (total lipid = % 103.30±13.42 mg. ; total kolesterol = % 39.30±6 mg.), termide düşük doğum ağırlıklı yeni doğanlara (total lipid = % 70.30±12.52 mg. ; total kolesterol = % 27.40±6.69 mg.) ve prematüre yeni doğanlara (total lipid = % 55.82±12.18 mg. ; total kolesterol = % 21.45±4.84 mg.) göre daha fazla total lipid ve kolesterol miktarlarına sahiptirler. Termide yeni doğanların sfingomyelin/lesitin oranı (0.90±0.02) termide düşük doğum ağırlıklı yeni doğandan (0.96±0.05) ve prematüre yeni doğanlardan (0.96±0.03) anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Termide yeni doğanların % kolesterol (37.99±2.85) ve % fosfor (2.11±0.18) değerleri termide düşük doğum ağırlıklı (% kolesterol = 38.67±3.96 ; % fosfor = % 2.12±0.14) ve prematüre yeni doğanlarla (% kolesterol = % 38.49±4.71 ; % fosfor = % 2.04±0.14) benzerdir. Gruplar arasında total lipidin yüzdesi olarak kolesterol ve fosfolipid değerleri bakımından anlamlı bir fark yoktur (p>0.05). Bu çalışma, membranın lipid dağılımı önemli ölçüde değişmemekle birlikte eritrosit membranı lipid kompozisyonunun doğum kilosu ve gestasyonel yaşla değişebildiğini düşündürmektedir.

S U M M A R Y

The present study is undertaken to characterize the membrane lipid composition of erythrocytes from the cord blood of full term neonates, low birthweight term neonates, and preterm neonates. The subjects in the research have been studied in three groups. The first group consists of 10 full-term neonates, the second group 10 low birthweight term neonates and the third group 11 preterm neonates. The lipid and cholesterol content per 100 ml. packed cells, sphingomyelin/lecithin ratio and the percentage of total lipid as phospholipid and cholesterol are determined in cord blood samples of each group and the findings are compared with each other. Full term neonates weighing more than 2500 g. at birth have increased total lipids and cholesterol (total lipid = $\% 103.30 \pm 13.42$ mg.; total cholesterol = $\% 39.30 \pm 6.00$ mg.) when compared with low birthweight term neonates (total lipid = $\% 70.30 \pm 12.52$ mg.; total cholesterol = $\% 27.40 \pm 6.69$ mg.) and preterm neonates (total lipid = $\% 55.82 \pm 12.18$ mg.; total cholesterol = $\% 21.45 \pm 4.84$ mg). The ratio of sphingomyelin/lecithin in the full term neonates (0.90 ± 0.02) is significantly lower than the value of low birthweight term neonates (0.96 ± 0.05) and the value of preterm neonates (0.96 ± 0.03). The percentage of total lipid as cholesterol and percentage of total lipid as phosphorus (P%) in the full term neonates (cholesterol $\% = 37.99 \pm 2.85$; P% = 2.11 ± 0.18) are similar to those in the low birthweight term infants (cholesterol $\% = 38.67 \pm 3.96$; P% = 2.13 ± 0.14) and preterm neonates (cholesterol $\% = 38.49 \pm 4.71$; P% = 2.04 ± 0.14). The percentage of total lipid as phospholipid and cholesterol do not differ significantly between the three groups ($p > 0.05$). This study suggests that the erythrocyte stromal lipid composition varies with the birthweight and gestational age of the subject although membrane lipid distribution does not vary greatly.

K A Y N A K L A R

- 1.Gündüz, M.:Fizyopatoloji cilt I.Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, İzmir, s.299,327, 1977.
- 2.Wintrobe, M.M., Lee, G.R., Boggs, D.R., Bithell, T.G., Foerster, J., Athens, J.W., Lukens, J.N.:Clinical Hematology, Eighth Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 75-88, 1981.
- 3.Gorter,E., Grendel,F.:Bimolecüler layers of lipids on the chromocytes of the blood. J.Exp.Med., 41:439, 1925.
- 4.Danielli,J.F., Davson,H.A.:A contribution to the theory of the permeability of thin films. J.Cell. Comp.Physiol., 9:89, 1936.
- 5.Robertson, J.D.:New observations on the ultrastructure of the membranes of frog peripheral nerve fibers. J.Biophys. Biochem.Cytol., 3:1043, 1957.
- 6.Zahler,P.:The structure of the erythrocyte membrane. Experientia, 25: 449, 1969.
- 7.Green, D.E.:The structural protein of mitochondria. Biochem. Biophys. Res.Commun., 5:81,109, 1961.
- 8.Lucy,J.A.:Globuler lipid micelles and cell membranes. J.Theor.Biol., 7:360, 1964.
- 9.Benson,A.A.:On the orientation of lipids in chloroplast and cell mebranes.J.Am.Oil.Chem.Soc., 43:265, 1966.
- 10.Vanderkooi,G., Green,D.E.:Biological membrane structure. I.The protein crystal model for membranes.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 66:615, 1970.
- 11.Singer,S.J., Nicolson,G.L.:The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.Science, 175:720, 1972.
- 12.Menteş,N.K., Menteş,G.:Harper'in biyokimyaya bakışı (I.kısım). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, İzmir, 100:267-284, 1986.
- 13.Miller,D.R., Boehner,R.L., McMillan,C.W.:Blood diseases of infancy and childhood, Fifth Ed.The C.V.Mosby Company, St.Louis, Toronto, Princeton, pp.21-26, 262-270, 1984.
- 14.Chasis,J.A., Shohet,S.B.:Red cell biochemical anatomy and membrane properties.Ann.Rev.Physiol., 49:237-248, 1987.
- 15.Hochmuth,R.M.:Erythrocyte membrane elasticity and viscosity.Ann.Rev. Phy si ol. 49: 1977

16. Schrier, S.L.: Human erythrocyte membrane enzymes: current status and clinical correlates. *Blood*, 50:227, 1977.
17. Sheetz, M.P., Singer, S.J.: Biological membrane as bilayer couples. A molecular mechanism of drug-erythrocyte interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 71:4457, 1974.
18. Deveaux, P., McConnell, H.M.: Lateral diffusion in spin labeled phosphatidyl-choline multibilayers. *J. Am. Chem. Soc.*, 94:4475, 1972.
19. Phillips, G.B., Roome, N.S.: Phospholipids of human red blood cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 43:566, 1957.
20. Sperry, W.M., Brand, F.C.: The determination of total lipids in blood serum. *J. Biol. Chem.* 213:69, 1955.
21. Bartlett, G.R.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, 234:466, 1959.
22. Atzpopien, W., Kremer, G.J.: Plasma glycosphingolipids concentration and distribution. *Clin. Wochenschr.*, 54:585, 1976.
23. Feldman, G.L., Rouser, G.: Ultra micro fatty acid analysis of polar lipids: Gas liquid chromatography after column and thin-layer chromatographic separation. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, 42:290, 1965.
24. Feuster, M.E., Bruns, B.J., Mead, J.F.: Quantitative densitometric thin-layer chromatography of lipids using cooper acetate reagent. *J. Chromatg.*, 43:120, 1969.
25. Gray, G.M.: Chromatography of lipids. I and improved chromatographic procedure for the quantitative isolation of the neutral ceramide-containing glycolipids from mammalian tissue. *Biochem. Biophys. Acta.*, 144: 511, 1967.
26. Parker, F., Peterson, N.F.: Quantitative analysis of phospholipids fatty acids from silicagel thin-layer chromatograms. *J. Lip. Res.* 6:455, 1965.
27. Robinson, N., Phillips, B.M.: Quantitative thin-layer chromatography of serum phospholipids. *Clin. Chim. Acta.* 8:385, 1963.
28. Fiske, H.C., Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66:375, 1925.

29. Neerhout, R.C.: Erythrocyte lipid in the neonate. *Pediatr. Res.*, 2:172, 1968.
30. Neerhout, R.C.: Erythrocyte lipids in infants with low birth weights. *Pediatr. Res.* 5:101, 1971.
31. Crowley, J., Ways, P., Jones, J.W.: Human fetal erythrocyte and plasma lipids. *J. Clin. Invest.* 44(6): 989-997, 1965.
32. Neerhout, R.C.: Erythrocyte lipids in childhood. *Pediatr. Res.* 6:736-741, 1972.
33. DeGier, J., Van Deenen, L.L.: A dietary investigation on the variations in phospholipid characteristic of red cell membranes. *Biochim-Biophys. Acta*, 84:294, 1964.
34. Farquhar, J.W. Ahrens, E.H.: Effects of dietary fats on human erythrocyte fatty acid patterns. *J. Clin. Invest.* 42(5):675-685, 1963.
35. Taylor, G.O. Albers, J.J., Warnick G.R., Adolphson, J.L., McFarlane, H., Sullivan, D.R., West, C.E., Sri-Hara, V., Edwards, R.: Studies of lipoproteins and fatty acids in maternal and cord blood of two racial groups in Trinidad. *Lipids*, 22(3):173-177, 1987.
36. Genzel-Boroviczeny, O., Forte, T.M., Austin, M.A.: High-density lipoprotein subclass distribution and human cord-blood lipid levels. *Pediatr. Res.*, 20(6):487-491, 1986.
37. Lane, D.M., McConathy, W.J.: Changes in the serum lipids and apoprotein in the first four weeks of life. *Pediatr. Res.*, 20(4):332-337, 1986.
38. Martinez, F.E., Goncalvez, A.L., Jorge, S.M.: Vitamin E in placental blood and its interrelationship to maternal and newborn levels of vitamin E. *J. Pediatr.*, 99(2):298-300, 1981.
39. Andersen, G.E., Friis-Hansen, B.: Neonatal hypertriglyceridemia. *Acta. Paediatr. Scand.* 65:369-374, 1976.
40. Christensen, H.C.: Concentrations of triglycerides, free fatty acids, and glycerol in cord blood of newborn infants with a birth weight of \leq 2700 grams. *Acta. Paediatr. Scand.*, 66:43-48, 1977.
41. Fosbrooke, A.S., Wharton, B.A.: Plasma lipids in umbilical cord blood from infants of normal and low birth weight. *Biol. Neonate*, 23:330-338, 1973.

42. Ginsburg, B.E., Zetterstrom, R.: Serum cholesterol concentrations in newborn infants with gestational ages of 28-42 weeks. *Acta.Pædiatr Scand.*, 69:587-592, 1980.
43. Cress, H.R., Shaher, R.M., Laffin, R., Karpowicz, K.: Cord blood hyperlipoproteinemia and perinatal stress. *Pediatr. Res.*, 11:19-23, 1977.
44. Hardell, L.I.: Serum lipids and lipoproteins at birth based on a study of 2815 newborn infants: II, relations between materno-foetal factors and the concentrations of triglycerides and cholesterol. *Acta. Pædiatr. Scand. (Suppl)*, 285:11-20, 1981.
45. Tsang, R.C., Glueck, C.J., Evans, G., Steiner, P.M.: Cord blood hypertriglyceridemia. *Am. J. Dis. Child.* 127:78-82, 1974.
46. Davis, P.A., Forte, T.M., Nichols, A.V., Blum, C.B.: Umbilical cord blood lipoproteins: isolation and characterization of high-density lipoproteins. *Arteriosclerosis* 3:357-365, 1983.
47. Dyerberg, J., Hjørne, N., Nymand, G., Olsen, J.S.: Reference values for cord blood lipid and lipoprotein concentrations. *Acta.Pædiatr. Scand.* 63:431-436, 1974.
48. Ginsburg, B.E., Zetterstrom, R.: High density lipoprotein concentrations in newborn infants. *Acta. Pædiatr. Scand.* 66:39-41, 1977.
49. Hardell, L.I.: Serum lipids and lipoproteins at birth based on a study of 2815 newborn infants, I. Concentrations and distributions of triglyceride and cholesterol. *Acta.Pædiatr. Scand. (Suppl)* 285:5-10, 1981.
50. Lacko, A.G., Rutenberg, H.L., Soloff, L.A.: On the rate of cholesterol esterification in cord blood serum. *Lipids*, 7:426-429, 1972.
51. Dobiasovo, M., Stozicky, F., Kopecka, J.: Lecithin-Cholesterol acyltransferase activity in children in the early neonatal period. *Biol. Neonate.*, 45:165-168, 1984.
52. Romavo, L., Taskinen, M.R., Kuusi, T., Nikkila, E.A., Ehnholm, C., Raivio, K.O.: Postheparin plasma lipase activities and plasma lipoproteins in newborn infants. *Pediatr. Res.*, 18:642-647, 1984.
53. Hamosh, M.: Lipid metabolism in premature infants. *Biol. Neonate*, 52:suppl. 1:50-64, 1987.

54. Jones, C.T., Rolph, T.P.: Metabolism during fetal life: A functional assesment of metabolic development. *Physiological Reviews*, 65(2): 357-430, 1985.
55. Marks, P.A., Gellhorn, A., Kidson, C.: Lipid synthesis in human leukocytes platelets, and erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 235: 2579, 1960.
56. Van Gastel, C., Van Den Berg, D., DeGier, J., Van Deenen, L.L.M.: Some lipid characteristics of normal red blood cells of different age. *Brit. J. Haematol.* 11:193, 1965.
57. Neerhout, R.C.: Alteration of adult erythrocyte lipids during fetal circulation. *Western. Soc. Pediat. Res.*, Denver, Colo. November, 1968.
58. Takaku, F., Maezawa, M.: Pathophysiology of red cell lipids. *Acta. Haem. Jap.*, 39:589-596, 1976.
59. Fondu, P., Mozes, N., Neve, P., Sohet-Robazza, L., Mandelbaum, I.: The erythrocyte membrane disturbances in protein-energy malnutrition: Nature and mechanisms. *Brit. J. Haematol.*, 44:605-618, 1980.
60. Ways, P., Reed, C.F., Hanahan, D.J.: Red cell and plasma lipids in acanthocytosis. *J. Clin. Invest.*, 42(8): 1248-1260, 1963.