

**T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
NEONATOLOJİ BİLİM DALI**

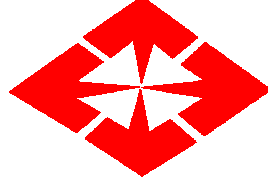
**PREMATÜRE BEBEKLERDE UMBİLİKAL KORD  
KEMPLEME ZAMANININ PERİFERİK KAN DEĞERLERİ  
VE PERİFERİK KAN HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE  
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzm. Dr. Zeynel GÖKMEN**

**ANKARA**

**2010**



**T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
NEONATOLOJİ BİLİM DALI**

**PREMATÜRE BEBEKLERDE UMBİLİKAL KORD  
KLEMPLEME ZAMANININ PERİFERİK KAN DEĞERLERİ  
VE PERİFERİK KAN HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE  
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

**YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzm. Dr. Zeynel GÖKMEN**

**Tez Danışmanı:  
Doç. Dr. Aylin TARCAN**

**ANKARA  
2010**

## TEŞEKKÜR

Yenidoğan yandal ihtisasına başlamamda ve eğitimimde bŸyŸk katkısı olan Prof Dr Berkan GŸrakan'a, eğitimim boyunca ve tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen Doç Dr Aylin Tarcan'a, tezimin plan ve yazımında birikimlerini paylaşan Prof Dr Namık Ŗzbek'e, tez kanlarımın çalışılmasında azami gayret gŖsteren Yrd Doç Dr İlknur Kozanoğlu'na, tablo, grafiklerde ve genel tez yazımında yardımını esirgemeyen Bilgi İşlem sorumlusu Mehmet H. Ejder'e, ihtisasım boyunca yol arkadaşım olan Uzm Dr Servet Ŗzkiraz'a, yoğun bakımda ekip ruhunu hiçbir zaman kaybetmeyen Yenidoğan hemşirelerine, ihtisasım boyunca her tŸrlŸ zorluğu beraber aştığımız ve desteklerini her an yanımda hissettiğim sevgili eşim ve oğullarıma sonsuz teőekkŸrler.

## ÖZET

**Gökmen Z, Prematüre bebeklerde umbilikal kord klemleme zamanının periferik kan değerleri ve periferik hematopoetik kök hücre düzeylerine etkisi. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Neonatoloji Yandal Uzmanlık Tezi, 2010**

Doğumda göbek bağının bağlanması ve kesilmesi yenidoğan bebeklerdeki en eski ve en yaygın kullanılan tıbbi müdahaledir. Buna rağmen, göbek bağının en uygun bağlanma zamanı uzun yıllardan beri tartışmalıdır ve bu konuda tam bir fikir birliği yoktur. Erken bağlandığında bebeğe hemen resusitasyon yapılması mümkün olurken geç bağlama durumunda plasentadan bebeğe daha fazla kan transfüzyonu söz konusu olmaktadır. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyonlar morbidite ve mortalite nedenleri arasında önemli bir yer tutarlar. Enfeksiyonlar hem iyatrojenik sebepler hem de yenidoğanın hematopoetik hücre havuzunun eksikliğinden ve immün sisteminin yeterince olgunlaşmamasından kaynaklanabilir. Hematopoetik kök hücreler gebeliğin 2. trimesterinde karaciğerden kemik iliğine dolaşım vasıtasıyla taşındığı için 32. gebelik haftasından önce göbek kordonunda yüksek miktarda hematopoetik kök hücre bulunur. Prematüre doğan bebeklerde kord bağlanmasının biraz geciktirilerek plasental transfüzyona izin verilmesi, kemik iliği kök hücre havuzunun gelişmesini sağlayarak neonatal immünitinin ilerlemesine katkıda bulunabilir. Bu çalışmada 32 gebelik haftasından erken doğan bebeklerde kord klemleme zamanının neonatal periferik kandaki hematopoetik kök hücrelerine düzeyine etkisi araştırıldı. Çalışma grubu 24 ile 32 gebelik haftaları arasında doğan toplam 42 prematüre bebekten (25 kız, 17 erkek) oluştu. Çalışmamızda, göbek bağı doğumdan sonra ilk 10 saniyede klempleneler erken kord klemleme (EKK) grubunu, 30-45 saniye geciktirildikten sonra klempleneler ise geç kord klemleme (GKK) grubunu oluşturdu. Doğumdan sonra ilk 30 dakika içerisinde rutin kanları alınırken ek olarak EDTA içeren tüplere 2ml kan alındı ve kan örneklerinden akım sitometri cihazında özgün antikolar kullanılarak kök hücre sayımı yapıldı. Çalışmaya alınan hastaların maternal ve neonatal demografik özellikleri birbirine benzerdi. Çalışma grubumuzda neonatal periferik kandaki tüm kök hücre sayıları beklentimizin dışında EKK grubunda daha yüksekti. Common myeloid progenitor (CMP) değerleri EKK grubunda  $93,8 \pm 144,6/\text{ml}$  iken, GKK grubunda ise  $14,9 \pm 31,1/\text{ml}$  idi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (  $p = 0.00$  ). Granülosit-makrofaj progenitor (GMP) değerleri EKK grubunda  $1778,6 \pm 2532,6/\text{ml}$  iken, GKK grubunda ise  $1047,7 \pm 811,3/\text{ml}$  idi ve aradaki fark yine istatistiksel olarak anlamlı idi (  $p = 0.05$  ). Megakaryosit-eritroid

progenitor (MEP) değerleri de EKK grubunda daha yüksek olmakla birlikte sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sonuç olarak çalışmamızda her iki grubun gestasyonel özellikleri, doğum ağırlıkları ve kan alınma zamanları benzer olması nedeniyle, GKK grubunda hematopoetik hücre sayısını yüksek beklerken düşük bulmamızın plasental faktörlerin (stromal cell derived faktör-1 = SDF-1 ve stem cell faktör = SCF gibi) hematopoetik kk hücrelerin kinetik özelliklerini değiştirmesinden kaynaklandığı dşndk.

**Anahtar kelimeler:** Prematrite, umbilikal kord klempleme zamanı, hematopoetik kk hücre

## ABSTRACT

**Gokmen Z, Effects of delayed umbilical cord clamping on peripheral hematological parameters and peripheral blood haematopoietic stem cells in premature neonates. Baskent University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Neonatology, Thesis, Ankara,2010.**

Clamping and cutting of the umbilical cord at birth is the most prevalent and oldest intervention in humans. In spite of that, the optimal timing of cord clamping is controversial in both preterm and term neonates. Immediate cord clamping provides rapid resuscitation, but delayed cord clamping provides more blood transfusion from placenta to baby. Infections are the most important reasons of neonatal morbidity and mortality in NICU. Poor hematopoietic cell pool and immaturity of immune system of neonates may be the reasons of neonatal infections. Transport of hematopoietic stem cells at 2<sup>nd</sup> trimester of pregnancy from liver to bone marrow is ensured by circulation, therefore umbilical cord involves too much hematopoietic cells before the gestation weeks 32. Delayed cord clamping in preterm neonates may support the neonatal immunity by improving the bone marrow stem cell pool due to the more placentofetal transfusion. We investigated the effects of delayed umbilical cord clamping on peripheral hematological parameters and peripheral blood hematopoietic stem cells in premature neonates. The study comprised of 42 preterm infants (male:17, female:25) was born between 24 and 32 weeks of gestation. Patients were divided into two groups as immediately cord clamping (ICC) and delayed cord clamping (DCC) groups. For the ICC group, the obstetrician clamped the umbilical cord immediately (<10 seconds) after birth. For the DCC group, the obstetrician clamped the cord at 30 to 45 seconds after birth. After management of the newborn in NICU, 2 ml blood sample was taken with an ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) containing tube while taking routine blood samples 30 minutes of life. Hematopoietic progenitor cells measured by three-colour flow cytometry using monoclonal antibodies. There were no any significant differences in either maternal and neonatal demographics between the ICC and DCC groups. In opposition to our expectance all haematopoietic stem cell counts were higher in ICC group. Common-myeloid progenitor cell (CMP) counts were  $93,8 \pm 144,6/\text{ml}$  in ICC, and  $14,9 \pm 31,1/\text{ml}$  in DCC group ( $p=0.00$ ). Granulocyte-macrophage progenitor cell (GMP) counts were  $1778,6 \pm 2532,6/\text{ml}$  in

ICC, and  $1047,7 \pm 811,3/\text{ml}$  in DCC group ( $p=0.05$ ). Megakaryocyte-erythroid progenitor cell (MEP) counts were higher in ICC group without any significant difference.

In conclusion, in opposition to our expectance, all hematopoetic stem cell counts were lower in DCC group. We suggested that some placental factors such as stromal cell derived factor-1 and stem cell factor may change the hematopoietic stem cell kinetics.

**Key words:** Prematurity, umbilical cord clamping time, hematopoietic stem cell

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ .....	xi
RESİMLER ve GRAFİKLER DİZİNİ.....	xii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1 Plasenta, göbek kordonu ve fetal dolaşım.....	2
2.2 Fetal hematopoez.....	3
2.3 Fetal ve neonatal immünoloji.....	4
2.4 Göbek kordonunun bağlanması.....	5
2.5 Göbek kordonu bağlama zamanının neonatal etkileri.....	6
2.5.1 Kardiyovasküler ve dolaşımsal etkileri.....	6
2.5.2 Hematolojik ve immünolojik etkileri.....	7
2.5.3 Santral sinir sistemi ve diğer sistemlere etkileri.....	8
2.6 Geç kord klemlemenin istenmeyen neonatal etkileri.....	9
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	11
<b>4. SONUÇLAR</b> .....	17
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	28
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	33
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	34



## KISALTMALAR

CMP, common myeloid progenitor  
CXCR4, kemokin reseptör-4  
EKK, erken kord klempleme  
EMR, erken membran rütrürü  
GBZ, göbek kordonu bağlama zamanı  
GKK, geç kord klempleme  
GMP, granülosit-makrofaj progenitor  
Hgb, hemoglobin  
HKH, hematopoetik kök hücre  
Htc, hematokrit  
ICAM-1, intersellüler adezyon molekülü-1  
IFN, interferon  
Ig, immünglobulin  
IL, interlökin  
İVH, intraventriküler hemoraji  
MEP, megakaryosit-eritroid progenitor  
MLS, mutlak lenfosit sayısı  
MmoS, mutlak monosit sayısı  
MNS, mutlak nötrofil sayısı  
NEK, nekrotizan enterokolit  
PDA, patent duktus arteriozus  
PMN, polimorf nüveli lökosit  
PVL, periventriküler lökomalazi  
ROP, prematüre retinopatisi  
SCF, stem cell faktör  
SDF-1, stromal cell derived faktör-1  
SGA, gebelik haftasına göre küçük  
TNF, tümör nekrozis faktör  
VLA-4, çok geç antijen-4

## ŞEKİLLER

Şekil 4.1	Göbek bağlama zamanı ve kan basıncı değerleri karşılaştırması .....	20
Şekil 4.2	Göbek bağlama zamanı ve transfüzyon volümü karşılaştırması .....	20
Şekil 4.3	Göbek bağlama zamanı ve Hgb değerleri karşılaştırması.....	22
Şekil 4.4	Göbek bağlama zamanı ve Htc değerleri karşılaştırması.....	22
Şekil 4.5	Göbek bağlama zamanı ve lökosit değerleri karşılaştırması .....	22
Şekil 4.6	Göbek bağlama zamanı ve ANS değerleri karşılaştırması .....	24
Şekil 4.7	Göbek bağlama zamanı ve ALS değerleri karşılaştırması.....	24
Şekil 4.8	Göbek bağlama zamanı ve MMoS değerleri karşılaştırması .....	24
Şekil 4.9	Göbek bağlama zamanı ve trombosit değerleri karşılaştırması.....	24
Şekil 4.10	Göbek bağlama zamanı ve CMP değerleri karşılaştırması .....	26
Şekil 4.11	Göbek bağlama zamanı ve GMP değerleri karşılaştırması.....	26
Şekil 4.12	Göbek bağlama zamanı ve MEP değerleri karşılaştırması .....	27

## TABLULAR

<b>Tablo 4.1</b> Maternal demografik özellikler .....	17
<b>Tablo 4.2</b> Neonatal özellikler .....	18
<b>Tablo 4.3</b> İlk 24 saatteki neonatal özellikler.....	19
<b>Tablo 4.4</b> Neonatal morbidite sonuçları .....	21
<b>Tablo 4.5</b> Örneklem günlerindeki hematolojik değerler .....	23
<b>Tablo 4.6</b> Göbek klemplenmesi ve akım sitometri sonuçları .....	25

## RESİMLER ve GRAFİKLER

<b>Resim 2.1</b> Plasental dolaşım .....	2
<b>Grafik 3.1</b> A kapısı .....	13
<b>Grafik 3.2</b> B kapısı .....	14
<b>Grafik 3.3</b> C kapısı .....	14
<b>Grafik 3.4</b> CD25 kapısı .....	14
<b>Grafik 3.5</b> D kapısı .....	15
<b>Grafik 3.6</b> E kapısı .....	15

# 1. GİRİŞ

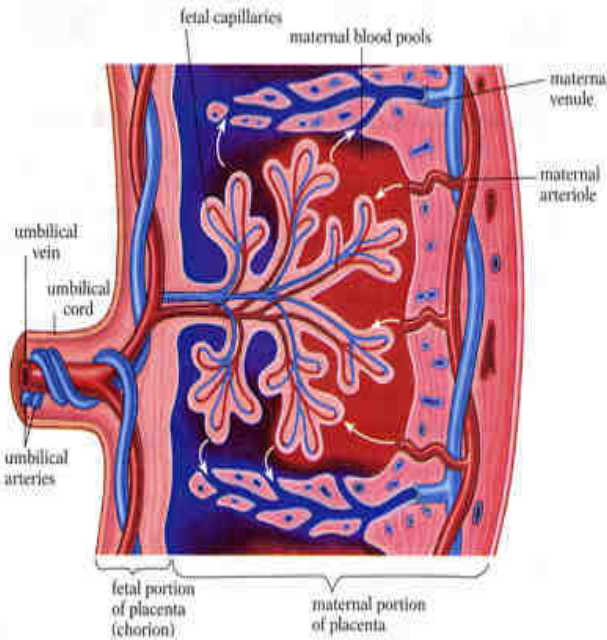
Doğumda göbek kordonunun bağlanma zamanı (GBZ) ile ilgili farklı görüşler mevcuttur. Erken bağlandığında bebeğe gerektiğinde hemen canlandırma yapılması mümkün olurken geç bağlama durumunda plasentadan bebeğe daha fazla kan geçişi söz konusu olur (1). Son 10 yılda yapılan 9 randomize, kontrollü çalışmada düşük ve çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde kordun geç bağlanması güvenilir ve etkin bulunmuştur (2,3). Gebeliğin 30. haftasında fetoplasental dolaşımında 110-120 ml/kg kan olup bunun yaklaşık yarısı plaseenta tarafında iken termde 90 ml/kg'lık kan volümünün daha yüksek oranı (2/3'ü) fetusa aittir. Prematüre olarak doğan bir bebekte kordun hemen bağlanması, term bebeğe kıyasla bebeği daha fazla miktarda (50-60 ml/kg) potansiyel bir kan kaynağından mahrum bırakır (4,5).

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyonlar, morbidite ve mortalite nedenleri arasında önemli bir yer tutarlar. Enfeksiyonlar kateterizasyon, entubasyon, parenteral nutrisyon gibi iatrojenik sebepler yanında yenidoğanın hematopoetik hücre havuzunun eksikliğinden ve immün sisteminin olgunlaşmamasından da kaynaklanabilir. Fetusta hematopoetik kök hücreler yolk kesesinden köken alır ve dolaşım ile diğer hematopoetik organlara taşınır. İkinci trimesterde ana hematopoetik organ karaciğer iken 34. haftadan sonra kemik iliği esas hematopoetik organ görevini üstlenir. Hematopoetik kök hücreler 2. trimesterde karaciğerden kemik iliğine dolaşım vasıtasıyla taşındığı için 32. gebelik haftasından önce göbek kordonunda yüksek miktarda hematopoetik kök hücre bulunur (6,7). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kord bağlanmasının biraz geciktirilerek plasental fazla kan geçişine izin verilmesinin neonatal sepsis insidansını azalttığı görülmüş ve bu durumun preterm bebeklerin kord kanının yüksek miktarda kök hücre içermesine bağlı olabileceği düşünülmüştür (3). Bu çalışmada 32 gebelik haftasından önce doğan bebeklerde kord klempleme zamanının neonatal periferik kandaki hematopoetik kök hücrelerine etkisinin araştırılması planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Plasenta, göbek kordonu ve fetal dolaşım

Döllenmeden kısa süre sonra zigot bölünmeye başlar; önce ‘morula’ sonrada ‘blastosist’ adı verilen çok hücreli yapılar gelişir. Ortasında kistik alan içeren blastosist iç ve dış olmak üzere iki hücre tabakasından oluşur; iç hücre tabakasına embriyoplast, dış hücre tabakasına da trofoblast adı verilir. Trofoblasttan fetal zarlar ve plasentanın fetuse ait kısmı gelişir. Döllenmeden yaklaşık 6 gün sonra blastosist iç hücre kitlesine yakın yerden endometriyal epitele tutunur ve implantasyon 2. haftanın sonunda tamamlanır. Döllenmeden sonraki 19.günde plasenta ve embriyo arasında direk damarsal bağlantı gelişir ve gebeliğin 5½ haftasında ise iki yapı arasında umbilikal dolaşım belirginleşir.



**Resim 2.1:** Plasental dolaşım

Plasenta, anne ile fetus arasındaki besleyici maddeler ve gaz değişiminin yapıldığı başlıca yerdir (Resim 2.1). Koryon kesesinden gelişen fetal kısım ve endometriumdan köken alan maternal kısım olmak üzere iki elemanı bulunan plasenta; 15-20 cm çapında, 2-3 cm kalınlığında ve ortalama 500-600gr ağırlığında bir organdır. Fetus ve anne dolaşımının karşılaştığı çok ince bir zar olan plasenta zarında madde değişimi yapılır ve çok sayıda koryon villus dalları bu bölgede geniş bir yüzey sağlar. Oksijenden fakir kan fetustan çıkar ve umbilikal arterlerden geçerek plasentaya ulaşır. Kan damarları villuslar içinde yoğun bir arteriyo-venöz kapiller sistem oluşturur, böylece fetus kanı ile anne kanı birbirine çok yaklaşırlar. Bu sistem anne ve fetus kan akımlarının arasındaki metabolizma ve gaz

değişiminin gerçekleşmesini sağlar fakat normalde bu süreçte anne ile fetus kanı hiçbir zaman birbirine karışmaz. Fetus kapillerlerindeki bol oksijenli fetal kan, göbek bağına tutunduğu koryon arterlerini izleyen ince duvarlı venlere geçer; bu venler de birleşerek umbilikal veni oluşturur. Bu büyük damar da fetusa oksijenden zengin kanı taşır.

Gebelik boyunca anne ile fetus arasında bağlantıyı sağlayan göbek kordonu; termlerde ortalama 40 gram ağırlığında, 30-90 cm (ortalama 55 cm) uzunluğunda ve 1-2 cm çapında bir bağıdır. Dış kısmı amniyotik bir zarla çevrili olan göbek kordonu 2 arter ve 1 ven içerir. Umbilikal damarların göbek bağından uzun olması nedeniyle damarların kıvrılıp bükülmeleri yaygındır. Damarlar ve dış zar arasında Warton's jeli adı verilen özel embriyonik bağ dokusu bulunur. Warton's jeli içindeki damarların bükülmesi, basılanması ve torsiyonunu önleyerek anne ile bebek arasındaki dolaşımın devamını sağlar. Göbek bağının plasentaya tutunması genellikle fetal yüzün ortalarına yakın bir yerden olur, fakat başka herhangi bir noktadan da olabilir. Aşırı uzun göbek bağlarının sarkmaya ve fetus etrafında dolanmaya bir eğilimi vardır. Çok kısa bir göbek bağı ise doğum sırasında plasentanın uterus duvarından erken ayrılmasına neden olabilir. Gebeliklerin yaklaşık %1'inde görülen gerçek göbek bağı düğümleri ise fetal anoksi ve fetus ölümüne yol açabilirler (8,9).

## 2.2 Fetal hematopoez

Hematopoez hem farklılaşma hem de çoğalma özelliğine sahip olabilen bir kök hücre popülasyonunun birden fazla kategorideki kan hücrelerine farklılaşmasıyla meydana gelen kompleks bir süreçtir. Hematopoez erken embriyonik yaşamda başlar ve embriyonik 7. günde yolk-sac'ta ilk hematopoetik kök hücreler (HKH) oluşur. Bu kök hücreler mezoderm orjinli olan hemanjioblastlardan köken alırlar ve dolaşım vasıtasıyla tüm diğer hematopoetik organlara taşındıklarına inanılır. Embriyonik 10. günde aortada görülen kök hücreler aktif taşınmayla karaciğere göç ederler (10). Gebeliğin 5-10 haftaları arasında HKH fetal karaciğerde belirgin olarak artış gösterirlerken yolk-sac'ta azalırlar. Fetüste 2. trimesterin sonuna kadar primer hematopoetik organ olarak fetal karaciğer görev yapar. Birinci trimesterin sonunda bazı kemiklerde kemik iliği boşluğu gelişmesine rağmen hematopoetik progenitor hücreler ilk olarak 15-16. haftalar civarında kemik iliğinde görülmeye başlarlar. HKH'lerin dolaşım aracılığı ile bir hematopoetik organdan diğerine taşındıklarına inanılır. Fetal karaciğerde 20-22. haftaya kadar HKH konsantrasyonu artarken 24. haftadan sonra azalmaya başlar ve 32. haftadan sonra en alt seviyelere düşer. Bu dönemde HKH fetal dolaşımında yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. HKH dolaşım aracılığı ile fetal

karaciğerden kemik iliğine aktif transferi 25-31. haftalar arasında en üst seviyeye ulaşır ve 34. haftada bu transfer büyük ölçüde tamamlanır. Kemik iliği 34. haftadan sonra primer hematopoetik organ görevini üstlenir (6,7).

### 2.3 Fetal ve neonatal immünoloji

Fetal ve neonatal immün sistem 2 ana başlıkta incelenir;

1. Doğal immün sistem
2. Edinsel immün sistem

İnflamatuvar yanıt esnasında primer fonksiyon gösteren polimorf nüveli (PMN) lökositler, monosit ve makrofajlar ile kompleman-kinin-koagülasyon sistemleri doğal immün sistemi oluştururken, hümmoral ve hüccresel aracılıklı immün yanıtta görev yapan T ve B lenfositler ise edinsel immün sistemi oluştururlar. Doğal ve edinsel immün sistem bir stres anında birbirleriyle yakından ilişkili ve bağımlı olarak çalışırlar. Fetal hayatta immün sistemin gelişimi hematolojik sistemin gelişimi ile paralellik gösterir. Fetusta immün sistemin gelişim basamakları kısaca şöyle özetlenebilir:

- Gebeliğin 4. haftasında yolk-sac'ta ilk kan merkezleri belirir
- Gebeliğin 5.5 haftasında kompleman sentezi başlar
- Gebeliğin 7. haftasında periferik kanda lenfositler görülür
- Gebeliğin 7-9. haftalarında timusta lenfositler görülmeye başlar
- Gebeliğin 11. haftasında karaciğer ve dalakta B lenfosit maturasyonu başlar
- Gebeliğin 12. haftasında antijen tanıma gösterilebilir
- Gebeliğin 17. haftasında serum IgM düzeyleri tespit edilebilir
- Gebeliğin 20. haftasında sekonder lenfoid merkez görülür
- Gebeliğin 20-25. haftaları arasında kandaki lenfosit sayısı yaklaşık 10000/mm<sup>3</sup>'e ulaşır
- Gebeliğin 22. haftasında serumda kompleman düzeyleri tespit edilebilir
- Gebeliğin 30. haftasında serum IgA düzeyleri tespit edilebilir.

Doğal ve edinsel immün sistemlerde kalitatif ve kantitatif anormallikler yenidoğan bebeği, özellikle de prematüre doğan bebeği ciddi olarak etkileyebilir. Yenidoğan bebekte diğer yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında savunma sistemlerinde enfeksiyonlara eğilimi artıran bazı eksiklikler vardır:

- Doğum esnasında veya invaziv işlemler sırasında anatomik bariyer olarak görev yapan cilt bütünlüğü kolayca bozulabilir



- PMN lökosit depo havuzu küçüktür
- PMN lökositlerin aderhans fonksiyonları zayıftır
- PMN lökositler ve monositlerin kemotaksi fonksiyonları zayıftır
- Stres altındaki yenidoğanda PMN lökositlerin hücre içi öldürme kabiliyetleri zayıftır
- Stres altındaki yenidoğanda fagositoz kabiliyeti zayıftır
- Stres altındaki yenidoğanların PMN lökosit sayısını artırabilme kapasiteleri azdır
- Compleman düzeyleri yetersizdir
- IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-12 gibi sitokinlerin düzeyleri yetersizdir
- T hücrelerinin immünoregülasyon fonksiyonları zayıftır
- IgA ve IgM düzeyleri yetersizdir
- Özellikle prematüre yenidoğanlarda IgG düzeyleri yetersizdir
- Antikorların fonksiyonel özellikleri zayıftır .

Yenidoğan immün sistemindeki bu eksiklikler prematüre doğan, özellikle de 32 haftadan küçük doğan prematüre bebeklerde daha belirgindir ve enfeksiyonlar bu bebeklerde mortalite ve morbiditenin halen en önemli nedeni olmaya devam etmektedirler. Yenidoğan ve prematüre bebeklerin immün sistemlerindeki bu immatüriteyi azaltmak ve destek olmak için antimikrobiyal tedavi yanında intravenöz Ig, granülosit transfüzyonu ve hematopoetik sitokinler gibi çeşitli tedaviler verilmekte ve çeşitli tedaviler de araştırılmaktadır (11,12).

## **2.4 Göbek kordonunun bağlanması**

Doğumda göbek bağının bağlanması ve kesilmesi yenidoğan bebeklerdeki en eski ve en yaygın kullanılan tıbbi müdahaledir. Buna rağmen, göbek bağının en uygun bağlanma zamanı uzun yıllardan beri tartışmalıdır ve bu konuda tam bir fikir birliği yoktur (1,13,14). Göbek bağının bağlanması doğumun 3. evresinin bir parçasıdır ve dünya genelinde göbek bağlama pratiği değişik olmakla birlikte, batılı ülkelerde doğumdan sonra göbek bağının hemen klempe edilip kesilmesi yaygın olarak kabul gören uygulamadır (13).

Doğumdan sonra göbek bağının bağlanması hemen (erken kord klempleme) yada bir süre geciktirilerek (geç kord klempleme) yapılabilir. Doğumdan sonra göbek bağının ilk 5-10 saniyede yada bazı pratiklerde ilk 20 saniyede bağlanması EKK olarak kabul edilirken, 30-60 saniye yada bazı pratiklerde 1-5 dakika kadar geciktirildikten sonra göbek bağının bağlanması ise GKK olarak adlandırılır (1,15). Doğumda göbek bağının hemen bağlanması

resusitasyonda geçikmeye ve hipotermiye neden olmamak içindir. Fakat son 10-20 yılda yapılan çok sayıda randomize çalışmada göbek bağıının geçiktirilerek bağlanması hem term hem de preterm doğumlarda perinatal asfiksi, solunum ve kardiyovasküler problemler, polisitemi, intraventriküler hemoraji gibi sorunlarda artışa neden olmadığı gösterilmiştir(1-3,14,15,18).

## **2.5 Göbek kordonu bağlanma zamanının neonatal etkileri**

### **2.5.1 Kardiyovasküler ve dolaşımsal etkileri**

Feto-plasental dolaşımdaki toplam kan volümü term bir gebelikte yaklaşık 90 ml/kg iken 30-32 hafta civarında bu volüm yaklaşık 110-115 ml/kg fetal ağırlık kadardır. Term bir gebelikte bu kan volümünün yaklaşık 2/3'ü fetusa ait iken, pretermelerde ise yarısı kadarı fetusa aittir. Fetal kardiyak atımın yaklaşık %40'ı plasentaya giderken %8-10 kadarı fetal akciğere ulaşır. Doğumdan hemen sonra pulmoner kan akımı artar ve pulmoner vasküler yatağın kardiyak out-put'tan aldığı kan volümü %40-45 'e ulaşır. Doğumdan sonraki bu kardiy-respiratuvar adaptasyon pretermelerde term bebeklere göre daha yavaş gerçekleşir. Doğum sonrasındaki dolaşımsal değişiklikler ve postnatal stabilizasyon sırasında kan volümü önemlidir; doğum sonrası ilk gün yenidoğan bebekler hipovolemi açısından risk altındadırlar, bu risk prematüre bebeklerde daha da ciddidir (4,5,14,18).

Term gebeliklerde göbek bağıının 30-60 saniye geçiktirilerek bağlanmasının total kan volümünde %11, eritrosit volümünde ise %23 kadar artış sağladığı gösterilmiştir (16). Takip eden çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Preterm gebeliklerde yapılan çalışmalarda da göbek bağıının 30-45 saniye geç bağlanması; 10-30 ml/kg kadar ilave plasental kan tranfüzyonu sağlayarak, total kan volümünde %8-30 artışa yol açtığı saptanmıştır (1-4,14,15,17). Göbek bağıının geç bağlanarak kan volümünde artış sağlanması özellikle prematüre doğan bebeklerde kardiyovasküler stabilizasyonda olumlu etkiler gösterir. Bu etkiler:

- Hipovolemi ve buna bağlı hipotansiyon riski azalır
- Doku ve organ perfüzyonu daha iyi olur
- Hipotansiyon ve hipovolemi tedavisi için kullanılan volüm genişletici ve pozitif inotropik ajan ihtiyacı azalır.

GKK ile kardiyovasküler sistemdeki bu olumlu etkiler sayesinde prematüre bebeklerde hem morbidite hem de mortalitede iyileşme sağlanabilir.

## 2.5.2 Hematolojik ve immünolojik etkileri

Term yenidoğanlarda göbek bağı'nın 1-3 dakika geciktirilerek bağlanması'nın yenidoğanın Hgb ve Htc düzeylerinde artışla ve anemik infant oranında ciddi azalmayla sonuçlandığı gösterilmiştir (19-21). Cernadas ve arkadaşları (20) 276 yenidoğanda yaptıkları çalışmada göbek bağı 1-3 dakika geç bağlanan grupta 6.-24. ve 48. saatteki Htc değerlerinde anlamlı artış saptamışlardır. Term yenidoğanlarda yapılan 15 kontrollü ve 3 kontrollü çalışmanın dahil edildiği 2 farklı meta-analizde de geç kord bağlanan grupta hem 24. ve 48. saatteki Hgb düzeylerinde anlamlı artış saptanmış hem de bu artışın 2. ve 4. aydaki Hgb kontrollerinde de devam ettiği gösterilmiş; ayrıca EKK ve GKK karşılaştırıldığında yenidoğan demir depolarında ve 2-3. aylardaki ferritin düzeylerinde de anlamlı artış saptanmıştır (13,19). Term yenidoğanlardaki bu hematolojik iyileşmeler özellikle sosyo-ekonomik olarak geri kalmış ülkelerde daha önemli olarak görünmektedir (21).

GKK ile sağlanabilecek hematolojik iyileşmeler prematüre bebeklerde termlere göre daha da önemlidir. Prematüre doğan bebeklerin %60-80'i ilk 6 haftada en az 1 kez kan transfüzyonuna ihtiyaç gösterirler. Göbek bağı'nın geç bağlanması prematüre bebeklerde hem kan volümünde hem de eritrosit volümünde önemli derecede artış sağlayarak kan ve eritrosit transfüzyon ihtiyacını azaltır; dolayısıyla da bebeği tranfüzyona bağlı olası risklerden korur ve stabilizasyonunu hızlandırır (1-3,18,21). Prematüre bebeklerde yapılan pek çok çalışmada EKK ile GKK grupları arasında kan volümünde ve eritrosit volümünde belirgin farklılık saptanmasına rağmen Hgb ve Htc değerleri ile ilgili sonuçlar farklılık göstermektedir. Ultee ve arkadaşları (22) ile Strauss ve arkadaşlarının (23) çalışmalarında doğum sonrası 1.-4. saatteki Hgb ve Htc değerleri GKK grubunda artmış bulunmuşken; Rabe ve arkadaşları (24) ile Aladangady ve arkadaşlarının (17) yaptıkları çalışmalarda ise farklılık saptanmamıştır. Prematüre bebeklerde GKK ile hematolojik parametrelerde sağlanan iyileşmeye ikincil olarak santral sinir sistemi, kardiyovasküler sistem ve diğer sistemlerde de fonksiyonel iyileşme sağlanarak neonatal morbidite ve mortalitede ilerleme sağlanabilmektedir (21).

Gebeliğin ikinci 3 aylık döneminde esas fetal hematopoetik organ karaciğer olup gebeliğin 32. haftasından sonra ana hematopoez görevini kemik iliği üstlenmeye başlar. Fetüste hematopoetik kök hücrelerin bir hematopoetik anatomik bölgeden diğerine dolaşım aracılığıyla taşındığına inanılır (6,7). Clapp ve arkadaşları (6) 13 preterm (25-36 hafta arası) ve 10 term bebeğin doğum esnasında kord kanlarından yaptıkları çalışmada, gebelik haftası ilerledikçe kord kanlarında hematopoetik kök hücrelerin önemli derecede azaldığını göstermişlerdir. Haneline ve arkadaşları (7) da çalışmalarında; 23-31 hafta arasındaki pretem

bebeklerin kord kanlarının term bebeklerinkine göre 3 kat daha fazla hematopoetik kök hücre içerdiğini saptamışlardır. Prematüre bebeklerde GKK ile plasental transfüzyona izin verilmesi, kemik iliğinde kök hücre havuzunun gelişmesine olanak sağlayabilir (25). Mercer ve arkadaşları (3) 32 haftanın altında doğan bebeklerde yaptıkları çalışmada, GKK grubunda EKK grubuna göre anlamlı derecede düşük oranda geç başlangıçlı neonatal sepsis saptamışlardır. Neonatal sepsisteki bu düşüşü bu haftalarda kord kanının yüksek oranda hematopoetik kök hücre içermesine ve bu hematopoetik kök hücrelerin prematüre bebeğin immünesini geliştirmesine bağlamışlardır. Kugelman ve arkadaşları (26) ise 35 haftanın altında doğan prematüre bebeklerde yaptıkları çalışmada EKK ve GKK gruplarında immünglobulin, komplemen düzeyleri ve enfeksiyon parametrelerinde herhangi bir fark saptamamışlardır. Fakat bu çalışma Mercer ve arkadaşlarının çalışmasına göre daha büyük bebeklerde yapılmıştır. Prematüre bebeklerde göbek bağlama zamanının enfeksiyonlar ve bunlara bağlı neonatal morbiditede bir iyileşme sağlayıp sağlamadığı ile ilgili ileri ve daha büyük çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (3,26).

### **2.5.3 Santral sinir sistemi ve diğer sistemlere etkileri**

GKK, özellikle prematüre doğan bebeklerde, kan ve eritrosit volümünde artış sağlayarak kardiyovasküler stabilizasyon ve doku-organ perfüzyonunda ciddi iyileşmeler sağlar (2,3). Kan volümünün artması ve dolaşım sal iyileşmeler hem beyin kan akımını hem de beyne ve diğer organlara oksijen sağlanmasını olumlu olarak etkiler (27). Baenziger ve arkadaşları (28) 24-32 hafta arasında doğan prematüre bebeklerde yaptıkları çalışmada, göbek bağının 60-90 saniye geç bağlanmasının serebral kan akımını ve serebral doku oksijenasyonunu olumlu olarak etkilediğini göstermişlerdir. Mercer ve arkadaşları (3), 24-32 hafta arasında doğan prematüre bebeklerde yaptıkları çalışmada göbek bağı 30-45 saniye geç bağlanan grupta EKK grubuna göre evre 3-4 intraventricüler hemorajiyi (İVH) anlamlı derecede düşük oranda bulmuşlardır. Son 10 yılda yapılan 297 prematüre bebeğin dahil edildiği 7 randomize kontrollü çalışmanın dahil edildiği meta-analizde; GKK'nın İVH insidansında önemli derecede azalma sağladığı saptanmış, 1 çalışmada ise ek olarak periventricüler lökomalazi (PVL) insidansını da azalttığı gösterilmiştir (18). GKK'nın kan volümünü artırarak kardiyovasküler stabiliteyi artırdığı, beyin kan akımının daha iyi olmasını sağladığı ve serebral hipoksiyi azaltarak prematüre bebeği İVH ve PVL'ye karşı koruduğu düşünülmektedir (1,3,4,18).

Prematüre bebeklerde GKK ile kan volümünde artış sağlanması doğum sonrasında hem kardiyovasküler stabiliteyi hızlandırır hem de pulmoner adaptasyonu artırır. Son 20-30 yılda yapılan çalışmalarda GKK' nin respiratuvar distress sendromu üzerine etkisi ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmiş olup, bu konu tartışmalıdır (4,14,25). Kinmond ve arkadaşları (25) 27-33 hafta arasındaki prematüre bebeklerde yaptıkları çalışmada, GKK grubunda ortalama arterio-alveolar oksijen basıncını daha yüksek ve oksijen ihtiyaç süresini ise daha düşük bulmuşlardır. Mercer ve arkadaşları (4) da çalışmalarında 24-32 hafta arasındaki prematüre bebeklerde GKK grubunda düzeltilmiş 36. haftada ve taburculukta oksijen ihtiyacını daha düşük bulmuşlar fakat ventilasyon ihtiyacı gün sayısı ve oksijen ihtiyacı gün sayısında bir fark saptamamışlardır. Bu konuda daha büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

Prematüre bebeklerde yapılan çalışmalarda kord bağlama zamanı ile nekrotizan enterokolit (NEK), patent duktus arteriozus (PDA), prematüre retinopatisi (ROP) ve bronkopulmoner displazi gelişimi ile ilgili veriler yetersiz olup, bu konudaki sonuçlar farklılık göstermektedir. Göbek bağlama zamanı ile ilgili çalışmalar arttıkça bu konularda da daha kesin verilere ulaşılabilecektir (1,3,4,18).

## **2.6 Geç kord klemplemenin istenmeyen neonatal etkileri**

Doğumda göbek bağının hemen bağlanması genellikle preterm doğumlarda resusitasyonda geçikmeye neden olmamak, termlerde ise hipotermi ve hipervolemiye yol açmamak için yapılır (1,14,15,18). Bu konuda yapılan çalışmaların meta-analizinde; EKK ile GKK grupları arasında kord pH ve laktat düzeylerinde, 1. ve 5. dakika APGAR skorlarında ve yoğun bakıma kabul vücut ısıları arasında herhangi bir fark saptanamamıştır. GKK ile bebek ölümleri arasında da hiçbir ilişki bulunmamıştır (1,18). GKK, çalışmalarda güvenli bulunmasına karşın, istenmeyen olumsuz etkiler olarak halen tartışılan konular:

- Polisitemi ve buna bağlı komplikasyonlar
- Hipervizkozite ve buna bağlı komplikasyonlar
- Hiperbilürübünemi
- Yenidoğanın geçici takipnesi ve diğer solunumsal sorunlardır (14).

Göbek bağı bağlama zamanı ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda, GKK grubunda polisitemi insidansında artış endişe yaratmıştır. Fakat son 20 yılda hem term hem de preterm bebeklerde yapılan çalışmaların meta-analizinde EKK ile GKK arasında semptomatik polisitemi açısından hiçbir fark bulunmamıştır. Aynı meta-analizlerde preterm bebeklerde Htc

değerinin %65'in üzerinde olması açısından EKK ile GKK grupları arasında herhangi bir fark saptanmamıştır (14,18).

Hipervizkozite genellikle polisitemi ile ilişkilidir. Plasental transfüzyon ve kan transfüzyonu yenidoğanlarda kan vizkositesini artırabilir. İki farklı kan reoloji çalışmasında GKK bebeklerde kan vizkositesinde belirgin artış saptanmıştır. GKK bebeklerdeki vizkosite artışı vasküler rezistansta belirgin düşme ile birlikte olup, vasküler rezistanstaki bu düşme doğum sonrası dolaşımdaki değişiklikler için şarttır. Sonraki dönem çalışmalarda da GKK bebeklerde polisitemi ve hipervizkozite ile ilişkili olumsuz bir sonuç saptanmamıştır (18).

Prematüre bebeklerde bilirubin yüksekliği çok yaygın görülürken, anne sütü ile beslenen term bebeklerde ise geç başlangıçlı hiperbilirubinemi oldukça sık ortaya çıkar. Eski bir çalışmada GKK prematüre bebeklerde hiperbilirubinemide artış saptanmış, fakat bu çalışmada gebelik haftasına göre küçük (SGA) olan bebekler de çalışmaya dahil edilmiştir (29). Son 20 yılda yapılan çalışmalarda sonuçlar daha farklı olup; hem 409 term bebeğin dahil edildiği 4 randomize çalışmada EKK ve GKK bebeklerde bilirubin düzeyleri açısından bir fark saptanmamış (14), hem de prematüre bebeklerde yapılan 7 randomize çalışmada erken ve geç göbek bağı bağlanan gruplar arasında bilirubin düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (2,14,24,25,30-33).

Göbek bağlama zamanının solunum sistemi üzerine etkisiyle ilgili çalışma sonuçları tartışmalıdır. GKK bebeklerde yenidoğanın geçici takipnesi insidansında artış olduğunu bildiren birkaç eski çalışma olmasına rağmen, çalışmalardan çıkan genel sonuç göbek bağının geç bağlanmasının doğum sonrası pulmoner adaptasyonu hızlandırdığı ve solunum sistemi problemlerini azalttığı yönündedir. Fakat bu konuda daha büyük çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (4,14,25).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### Hasta Populasyonu ve Klinik Protokol

Çalışma grubu Eylül 2008 - Nisan 2009 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Konya Araştırma ve Uygulama Hastanesinde, 24 ile 32 gebelik haftaları arasında doğan toplam 42 prematüre bebekten (25 kız, 17 erkek) oluştu. Çalışmadan önce Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan onay alındı. Doğumdan en az 2 saat önce aileden yazılı izin alındı. Çalışma son adet tarihi ve/veya erken obstetrik ultrasonografiye göre gebelik haftası < 32 hafta olan, prematüre doğan bebeklerde yapıldı. Çalışma dışı bırakma kriterleri şunlardı:

- Ciddi maternal hastalık
- Major konjenital anomali
- Resusitasyondaki gecikmenin tehlike yaratabileceği hastalıklar.

Çalışmaya dahil edilen bebekler rasgele örneklem yöntemi ile erken ve geç kord klempleme grubu olarak ikiye ayrıldı. Çalışmamızda, göbek bağı doğumdan sonra ilk 10 saniyede klemlenenler EKK grubunu, 30-45 saniye geciktirildikten sonra klemlenenler ise GKK grubunu oluşturdu. GKK grubunda, hem normal hem de sezeryan seksiyoyla doğumlarda, bebekler vajen seviyesinde 30-45 saniye bekletildi.

Doğumdan sonra yenidoğan yoğun bakım ünitesine kabul edilen bebeklerden ilk 30 dakika içerisinde rutin kanları (tam kan sayımı, C-reaktif protein ve kan grubu) alınırken ek olarak EDTA içeren tüplere 2ml kan alındı. Hematoloji Araştırma Laboratuvarına +4°C'de ulaştırılan kan örneklerinden akım sitometri cihazında özgün antikorlar kullanılarak kök hücre sayımı yapıldı.

Çalışmamızın esas amacı, göbek bağı bağlama zamanının prematüre doğan bebeklerin periferik kanlarındaki kök hücre sayısını etkileyip etkilemediğini tespit etmek idi. Yan bulgular olarak da çalışmaya dahil edilen bebeklerde:

- Yoğun bakıma kabuldeki ilk vücut ısıları
- 1. saatteki kan gazı değerleri
- 1. ve 5. dakika APGAR skorları
- İlk 24 saatteki kan basıncı değerleri
- İlk 3 gün inotropik ajan ihtiyacı
- Solunum durumu
- Ventilasyon süresi
- Oksijen tedavi süresi
- NEK

- Sepsis
- İVH
- ROP
- PDA varlığı
- En yüksek bilirubin düzeyi
- Transfüzyon sayısı
- 1.- 3.- 7. günlerdeki hemoglobin, hematokrit ve lökosit sayıları kaydedildi.

Tüm örneklerde Cell-Dyne 3700 (Abbott Lab., IL, USA) tam kan sayım cihazı kullanılarak lökosit sayıları belirlendi. Lökosit formülünden gidilerek mutlak nötrofil sayısı (MNS), mutlak lenfosit sayısı (MLS) ve mutlak monosit sayıları (MmoS) hesaplandı. Göbek bağı bağlama zamanının bu parametreleri etkileyip etkilemediği de araştırıldı.

## **Akım sitometri incelemeleri**

### **Örneklerin Hazırlanması**

Hastalara ait tam kan örnekleri EDTA içeren tüplerde +4°C'de Hematoloji Araştırma Laboratuvarına ulaştırıldı. Progenitör hücrelerin immunofenotipik özelliklerini göstermek amacıyla akım sitometri cihazında özgün antikorlar kullanıldı. Antikor paneline bu hücrelere özgü CD45 RA-FITC, CD34-ECD, CD25-PE, CD38-PC5 monoklonal antikorları kullanıldı. Çalışmalar Beckman Coulter Epics XL-MCL cihazı ile yapıldı ve analizler EXPO 32 ADC (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA) yazılımı kullanılarak çözümlendi. Akım hızı saniyede yaklaşık 200 hücre olacak şekilde her bir örnekten 200.000 hücre sayıldı.

### **Çalışma Prosedürü**

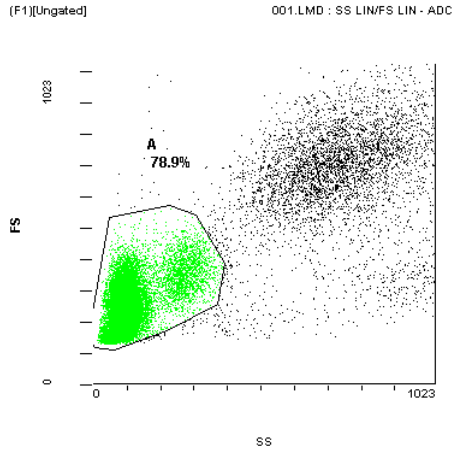
1.TÜP: CD45 RA FITC / CD25 PE / CD34 ECD / CD38 PC5

- Her tüpe konulacak monoklonal antikorlardan 10<sup>3</sup> ar µL eklendi.
- EDTA tüple gelen periferik kan örneklerinden her tüpe 100 µL (5x10<sup>5</sup> lökosit olacak şekilde) eklendi ve 5 saniye hafifçe karıştırıldı (lökosit sayısı yüksek olan hastalarda, PBS ile dilüsyon yapılarak lökosit sayısı 5x10<sup>3</sup>/µL'ye ayarlandı).
- Oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Süre sonunda her bir tüpe 2 ml lizis solüsyonu eklendi ve 5 saniye vorteksle karıştırıldı.
- 13 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildi.
- Süre sonunda akım sitometride okutularak analiz edildi.

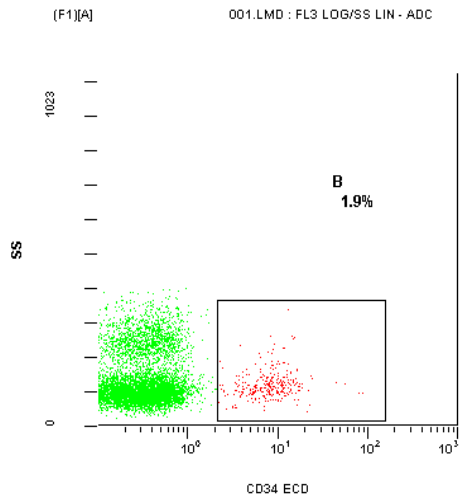


### Grafiklerin Yorumlanması

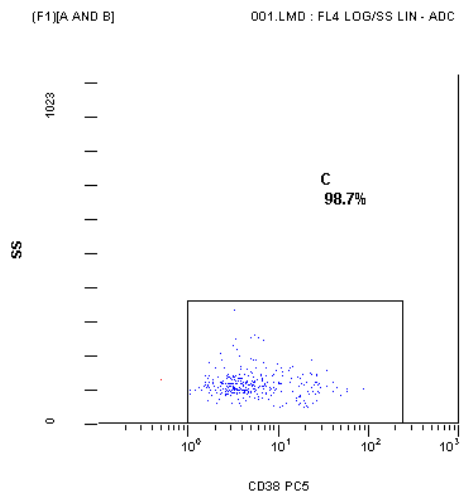
1. Grafik: Forward Scatter (FS)/ Side Scatter (SS) grafiğinde mononükleer hücreler seçildi (A kapısı)
2. Grafik: A kapısındaki hücreler CD34/SS grafiğine tanıtıldı ve CD34 pozitif hücreler seçildi (B kapısı).
3. Grafik: B kapısındaki hücreler CD38/SS grafiğine tanıtıldı ve CD34 ve CD38 pozitif hücreler seçildi (C kapısı)
4. Grafik: C kapısındaki hücreler CD25/SS grafiğine tanıtıldı. CD25 pozitif hücreler D kapısı ve CD25 negatif hücreler E kapısı olarak tanımlandı.
5. Grafik: CD25 pozitif hücreler (D kapısı) CD45RA /SS grafiğine tanıtıldı. Bu grafikte CD45RA pozitif hücreler GMP hücreler olarak tanımlandı. CD45RA negatif hücreler ise CMP hücreler olarak tanımlandı.
6. Grafik: Dördüncü grafikte CD25 negatif olan hücreler (E kapısı) CD45 RA/SS grafiğine tanıtıldı ve CD45 RA negatif olan hücreler MEP hücreler olarak tanımlandı.



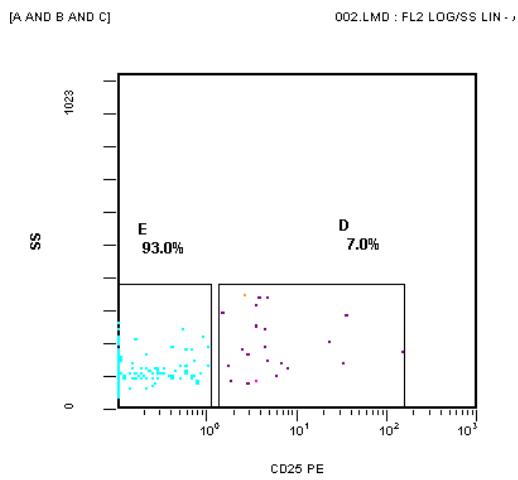
**Grafik 3.1** A kapısı



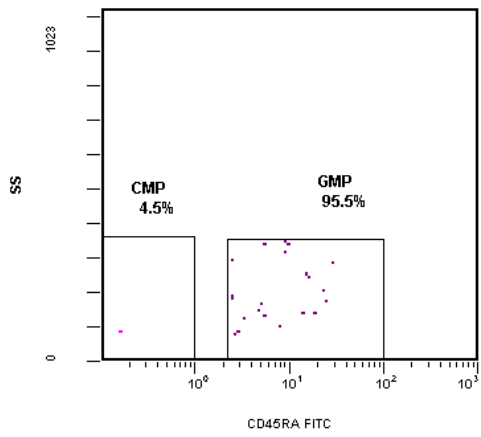
**Grafik 3.2 B kapısı**



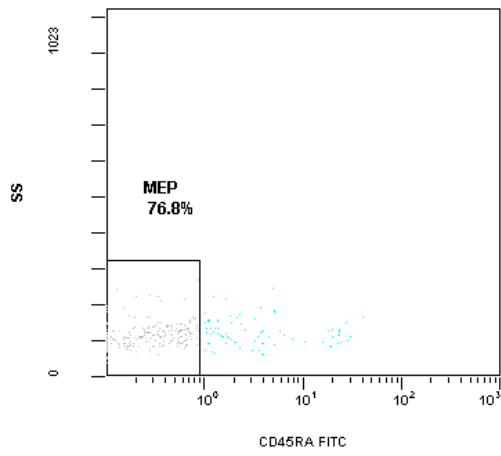
**Grafik 3.3 C kapısı**



**Grafik 3.4 CD25 kapısı**



**Grafik 3.5** D kapısı



**Grafik 3.6** E kapısı

## **İstatistiksel Analiz**

- İstatistiksel analiz için “*SPSS 11.0 for Windows*” paket programı kullanıldı.
- Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama, ortanca, standart sapma ve %95 güvenilirlik aralığı, kesikli değişkenler ise sayı ve yüzdeler olarak verildi.
- Bir gruptaki hasta sayısı 30’un altında olduğu için sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında non-parametrik testlerden “*Mann Whitney-U*” kullanıldı.
- Yüzdelerin karşılaştırılmasında “*ki-kare testi*” kullanıldı.
- Tam kan sayımı parametrelerinin zamanla değişiminin gruplar arası farklılığını test etmek için “*tekrarlayan ölçümler varyans analizi*” yapıldı.

## 4. SONUÇLAR

### Değerlendirmeye alınan hastalar ve hasta özellikleri

Çalışma 24 ile 32 gebelik haftaları arasında doğan 26 kız ve 18 erkek toplam 44 prematüre bebekte yapıldı. 24 ve 25 haftalık iken doğan ve ilk 24 saatte perinatal asfiksi ve intraventriküler kanama nedeniyle ölen 2 bebek çalışmadan çıkarıldı. Çalışmaya alınan hastaların maternal demografik özellikleri tablo 4.1'de verilmiştir. Her iki grubun maternal demografik özellikleri birbirine benzerdi. Ortanca anne yaşı EKK grubunda 30 iken GKK grubunda ise 26 idi. Erken doğumun en sık nedenleri her iki grupta benzer olup; erken eylem, erken membran rüptürü (EMR) ve preeklampsi idi.

<b>Tablo 4.1 Maternal Demografik Özellikler</b>			
	Grup-1 EKK n = 21	Grup-2 GKK n = 21	p - Değeri
Anne Yaşı	31,2 ± 6,5 ( 22 - 40 ) ( median = 30 )	27,7 ± 4,9 ( 22 - 38 ) ( median = 26 )	0,10
Antenatal Steroid Kullanım			
Tek doz	10 (% 48)	8 (% 38)	0,35
Tam doz	8 (% 38)	12 (% 57)	0,16
Erken Membran Rüptürü			
12-24 saat arası	3 (% 14)	4 (% 19)	0,91
24 saat'den uzun	7 (% 33)	7 (% 33)	0,87
Doğum Nedeni			
Erken eylem	3 (% 14)	6 (% 29)	
EMR	9 (% 43)	10 (% 48)	
Koryoamnionit	1 (% 5)	-	
Preeklampsi	8 (% 38)	4 (% 19)	
PI Previya	-	1 (% 5)	

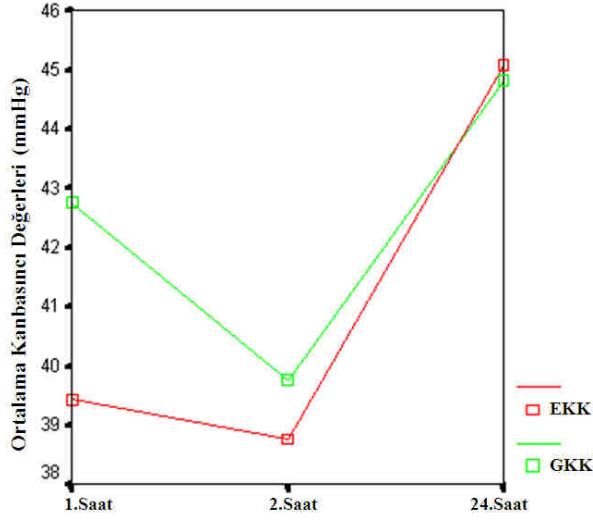
Çalışmaya dahil edilen bebeklerin özellikleri tablo 4.2’de verilmiştir. Her iki grubun incelenen özellikleri birbirine benzerdi. EKK grubunda ortalama doğum ağırlığı  $1323 \pm 358$  gr iken, GKK grubunda ise  $1360 \pm 413$  gr idi. Doğum haftası EKK grubunda  $29,4 \pm 1,5$  hafta iken, GKK grubunda ise  $29,3 \pm 1,2$  hafta idi. Erkek/kız oranı ve 1. ile 5. dakika APGAR skorları her iki grupta da birbirine benzerdi.

<b>Tablo 4.2 Neonatal Özellikler</b>			
	Grup-1 EKK n = 21	Grup-2 GKK n = 21	p - Değeri
Doğum ağırlığı	$1323 \pm 358$ (750 - 2040) ( median = 1250 )	$1360 \pm 413$ (720 - 2140) ( median = 1260 )	0,87
Doğum haftası	$29,4 \pm 1,5$ (26 - 31) ( median = 29 )	$29,3 \pm 1,2$ (27 - 31) ( median = 29 )	0,18
Erkek / Kız	8 / 13	10 / 11	
APGAR			
1. Dakika	$6,5 \pm 0,9$	$6,3 \pm 1,6$	
5. Dakika	% 100’ü 5 ve üzerinde	% 95’i 5 ve üzerinde	

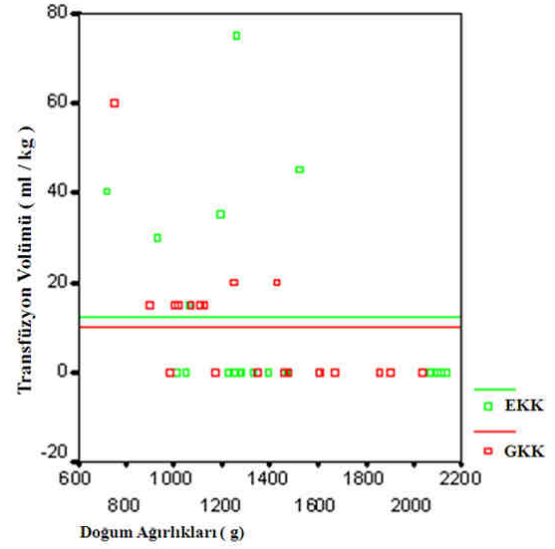
## Değerlendirmeye alınan hastalarda neonatal veriler

Hastaların yenidoğan yoğun bakım ünitesine kabul edilmelerinden sonraki ilk 24 saatteki sonuçlar tablo 4.3'te verilmiştir. Hastaların yoğun bakıma kabullerindeki vücut ısıları birbirine benzerdi. Yoğun bakıma kabuldeki ortalama kan basıncı değerleri GKK grubunda anlamlı olarak daha yüksek olup (  $p = 0.05$  ), 2. ve 24.saatteki ortalama kan basıncı değerleri ise her iki grupta birbirine benzerdi (Şekil 4.1). Bu sonuçlara paralel olarak hastaların ilk 3 gündeki inotropik ajan ihtiyacı EKK grubunda GKK grubuna göre daha fazla olma eğiliminde idi. Hastaların 1. saatteki kan gazı değerleri ( pH, HCO<sub>3</sub>, laktat) her iki grupta da birbirine benzer olup, perinatal asfiksi yönünden iki grup arasında herhangi bir fark yoktu.

<b>Tablo 4.3 İlk 24 Saatteki Neonatal Sonuçlar</b>			
	Grup-1 EKK n = 21	Grup-2 GKK n = 21	p - Değeri
Vücut ısı	36,1 ± 0,2	36,1 ± 0,2	0,91
Kan basıncı (ortalama)			
Kabul	39,4 ± 8,9	42,8 ± 6,5	<b>0,05</b>
2. Saat	38,8 ± 8,1	39,8 ± 7,2	0,56
24. Saat	45,1 ± 6,2	44,8 ± 7,4	0,28
İnotropik ajan ihtiyacı			
Yok	n = 14	n = 18	0,28
Var	n = 7	n = 3	
Kan gazı			
pH	7,3 ± 0,1	7,3 ± 0,1	0,30
HCO <sub>3</sub>	20,4 ± 2,5	20,6 ± 4	0,76
Laktat	3,4 ± 1,8	2,9 ± 2,9	0,89



**Şekil 4.1:** Göbek bağlama zamanı ve kan basıncı değerleri karşılaştırması



**Şekil 4.2:** Göbek bağlama zamanı ve transfüzyon volümü karşılaştırması (Paralel çizgiler transfüzyon hacmi için ortalama değerlerdir)

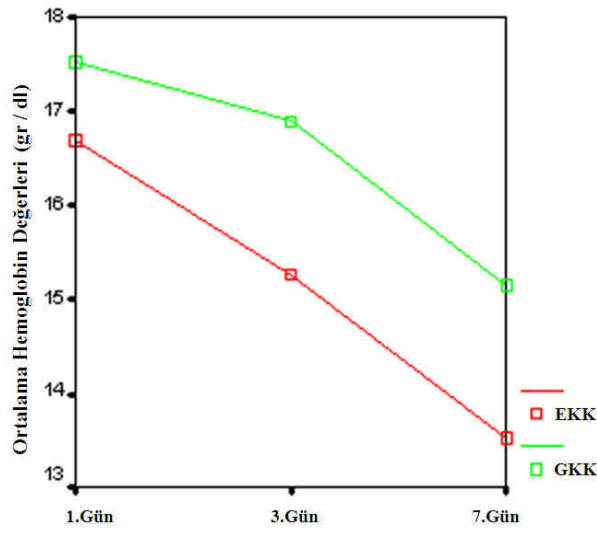
Hastaların yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatışları esnasındaki morbidite sonuçları tablo 4'te verilmiştir. Hastaların yatışları süresince transfüzyon ihtiyaçları EKK grubunda  $9,8 \pm 3,1$  ml, GKK grubunda ise  $12,1 \pm 4,6$  ml (  $p = 0,67$ ) idi, hem volüm hem de transfüzyon sayısı olarak her iki grup birbirine benzerdi (Şekil 4.2). Hastaların izlemlerinde saptanan en yüksek bilirubin düzeyi GKK grubunda daha yüksek olup, EKK grubunda maksimum bilirubin düzeyi  $13,0 \pm 2,6$  iken GKK grubunda ise  $14,2 \pm 5,3$  idi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (  $p = 0,004$ ). Solunum sistemi ile ilgili olarak hastaların ventilasyon süresi ve oksijen tedavi süreleri birbirine benzer idi. NEK gelişme insidansı her iki grupta birbirinden farklı değil iken, gram (-) sepsis gelişme insidansı GKK grubunda daha yüksek olma eğiliminde olup istatistiksel olarak ise anlamlı değildi. İVH ve PDA gelişme sıklığı her iki grupta birbirine benzer olup, ROP gelişme insidansı ise EKK grubunda daha yüksek olmaya eğilimli (  $p = 0,08$  ) olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi.



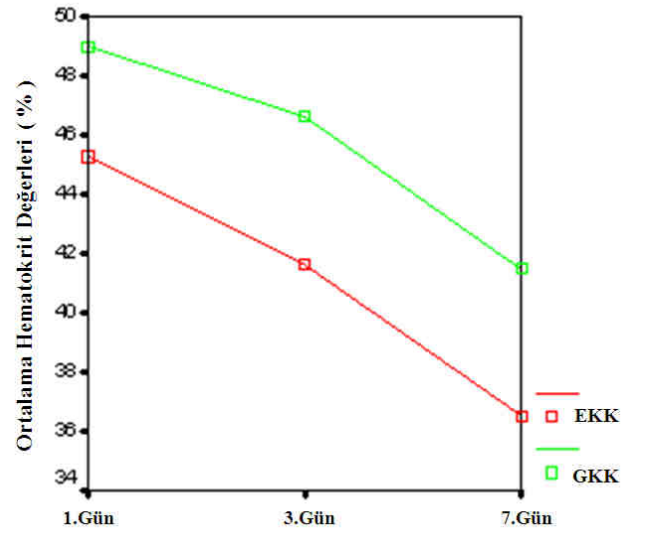
<b>Tablo 4.4 Neonatal Morbidite Sonuçları</b>			
	Grup-1 EKK n = 21	Grup-2 GKK n = 21	p - Değeri
Maksimum bilirubin düzeyi (mg/dl)	13,0 ± 2,6	14,2 ± 5,3	<b>0,004</b>
Transfüzyon sayısı	0,7 ± 1,3	0,7 ± 1,2	0,46
NEK			0,82
Yok	n = 16	n = 16	
Evre 1	n = 3	n = 2	
Ever 2 ve üzeri	n = 2	n = 3	
Sepsis			0,20
Yok	n = 16	n = 13	
Gram ( - )	n = 2	n = 6	
Gram ( + )	n = 1	n = 2	
Gram ( - ve + )	n = 2		
İVH			0,20
Yok	n = 21	n = 18	
Grade 2 ve üzeri		n = 2	
PVL		n = 1	
PDA			0,47
Yok	n = 15	n = 17	
Var	n = 6	n = 4	
ROP			0,08
Yok	n = 16	n = 20	
Var	n = 5	n = 1	
Ventilasyon süresi ( gün )	2,2 ± 4,8	1,6 ± 3,1	0,42
O <sub>2</sub> tedavi süresi ( gün )	21,8 ± 24,3	17,0 ± 20,6	0,56

Hastaların hematolojik değerlendirmeleri tablo 4.5’ de verilmiştir. 1. gün Hgb değerleri GKK grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha yüksekti. Üçüncü ve 7. günkü Hgb değerleri yine GKK grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( p = 0.01 ve 0.02 ). Benzer şekilde Htc değerleri de GKK grubunda daha yüksek olup; Htc değerleri açısından istatistiksel olarak farklılık sadece 7. gün Htc değerlerinde saptandı ( p = 0.04). Hemoglobinin zamanla değişimine göbek klemleme zamanının etkisi tekrarlayan ölçümler varyans analizi ile incelendiğinde hem Hgb, hem de Htc için farklı bulundu ( p = 0.007, p = 0.002 ) (Şekil 4.3, 4.4). Hastaların lökosit sayıları her iki grupta da benzer olmakla birlikte; GKK grubunda 1. gün lökosit sayıları daha düşük, 3. ve 7. günde ise daha yüksek olmaya eğilimli idi (Şekil 4.5). Lökosit değişimine grup etkisi ise anlamlı değildi. Hastaların

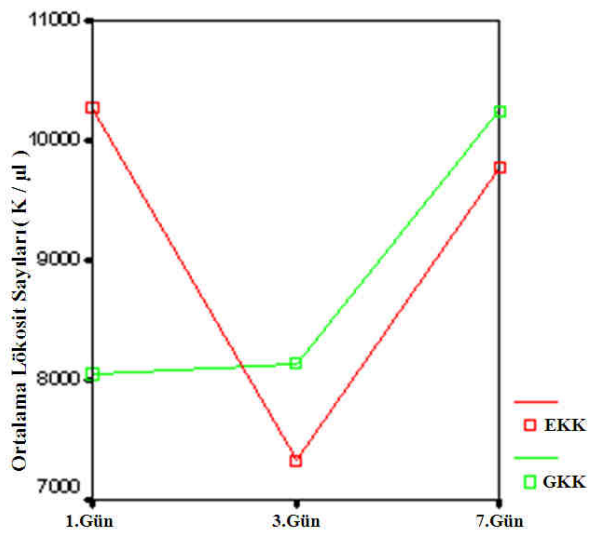
lökosit alt grupları incelendiğinde; hem 1. hem 3. hem de 7.günlerdeki MNS, MLS ve MMoS her iki grupta birbirine benzer olmakla birlikte, MNS 3. ve 7. gün GKK grubunda daha yüksek olmaya eğilimli idi. (Şekil 4.6, 4.7 ve 4.8). MNS, MLS ve MmoS değerlerine grup etkisi bakıldığında ise sadece MLS için 1. ve 3. gün arasındaki değişim her iki grupta farklı idi (  $p=0.02$  ). Trombosit sayıları ise 1. gün GKK grubunda anlamlı olarak düşük (  $p = 0.05$  ) olmakla birlikte 3. ve 7. günkü trombosit değerleri açısından anlamlı fark yoktu (Şekil 4.9) ve 7. günkü trombosit değerleri her iki grupta birbirine çok yakın değerde idi (  $EKK = 279286 \pm 148050$ ,  $GKK = 253162 \pm 138320$  ). Trombosit değişimine grup etkisi anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).



Şekil 4.3: Göbek bağlama zamanı ve Hgb değerleri karşılaştırması



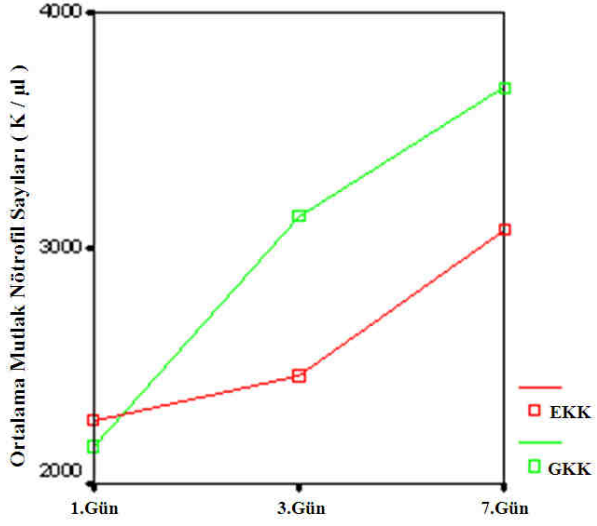
Şekil 4.5: Göbek bağlama zamanı ve Htc değerleri karşılaştırması



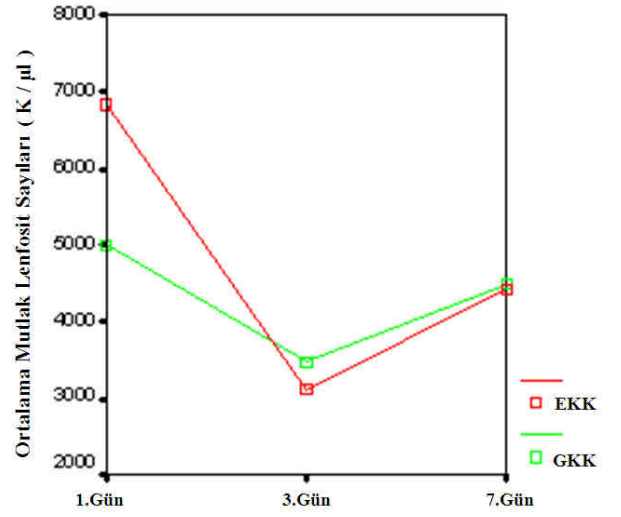
Şekil 4.5: Göbek bağlama zamanı ve lökosit değerleri karşılaştırması

**Tablo 4.5** *Örnekleme günlerindeki hematolojik değerler*

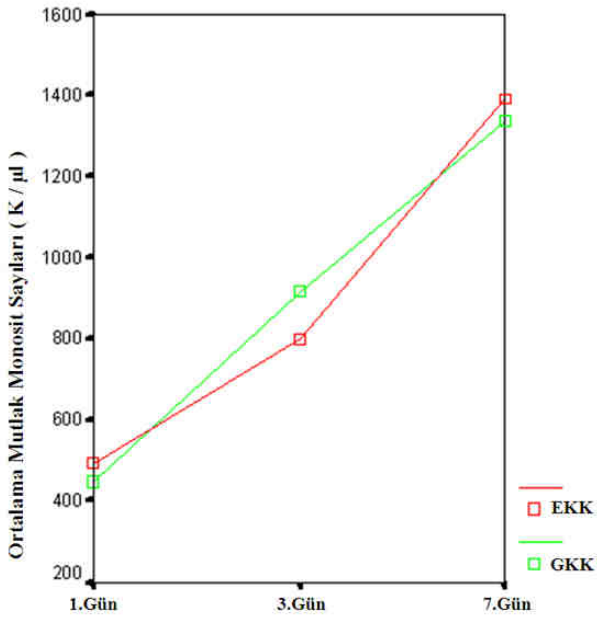
		Grup 1-EKK n = 21	Grup 2-GKK n = 21	p – Değeri
Hgb (g/dl)	1. gün	16,7 ± 1,4	17,5 ± 1,3	0,94
	3. gün	15,3 ± 1,5	16,9 ± 2,5	<b>0,01</b>
	7. gün	13,5 ± 1,9	15,2 ± 2,6	<b>0,02</b>
Htc (%)	1. gün	45,3 ± 4,1	49,0 ± 4,1	0,96
	3. gün	41,7 ± 4,6	46,7 ± 7,0	0,08
	7. gün	36,6 ± 5,2	41,6 ± 7,4	<b>0,04</b>
Lökosit (K/ $\mu$ l)	1. gün	10285 ± 4605	8064 ± 3320	0,62
	3. gün	7345 ± 2415	8151 ± 3052	0,18
	7. gün	9786 ± 3327	10250 ± 4019	0,39
ANS (K/ $\mu$ l)	1. gün	2269 ± 1222	2158 ± 1144	0,76
	3. gün	2460 ± 1655	3136 ± 1809	0,21
	7. gün	3084 ± 1676	3683 ± 3264	0,46
ALS (K/ $\mu$ l)	1. gün	6832 ± 4281	5000 ± 2540	0,10
	3. gün	3135 ± 1168	3469 ± 1136	0,35
	7. gün	4428 ± 1813	4495 ± 2325	0,92
AMoS (K/ $\mu$ l)	1. gün	495 ± 340	448 ± 329	0,65
	3. gün	799 ± 395	917 ± 747	0,53
	7. gün	1392 ± 733	1334 ± 789	0,81
Trombosit (K/ $\mu$ l)	1. gün	231952 ± 55302	197852 ± 83358	<b>0,05</b>
	3. gün	257200 ± 179555	202410 ± 87937	0,30
	7. gün	279286 ± 148050	253162 ± 138320	0,87



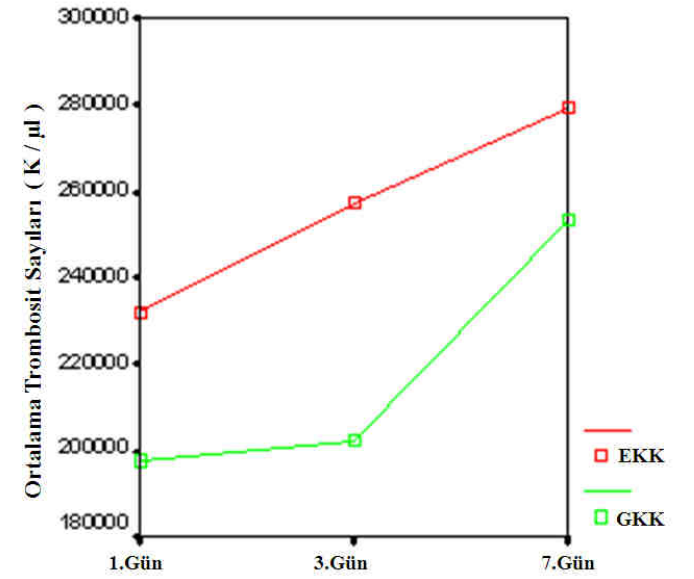
Şekil 4.6: Göbek bağlama zamanı ve MNS değerleri karşılaştırması



Şekil 4.7: Göbek bağlama zamanı ve MLS değerleri karşılaştırması



Şekil 4.8: Göbek bağlama zamanı ve MMoS değerleri karşılaştırması

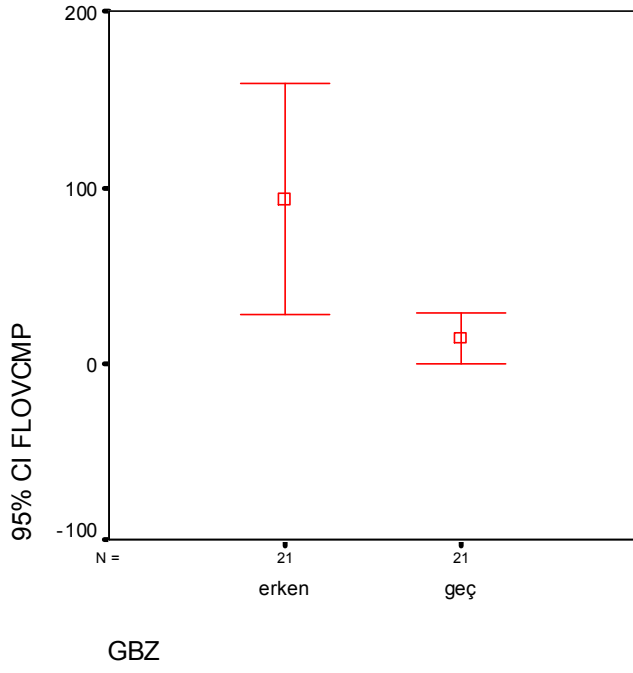


Şekil 4.9: Göbek bağlama zamanı ve trombosit değerleri karşılaştırması

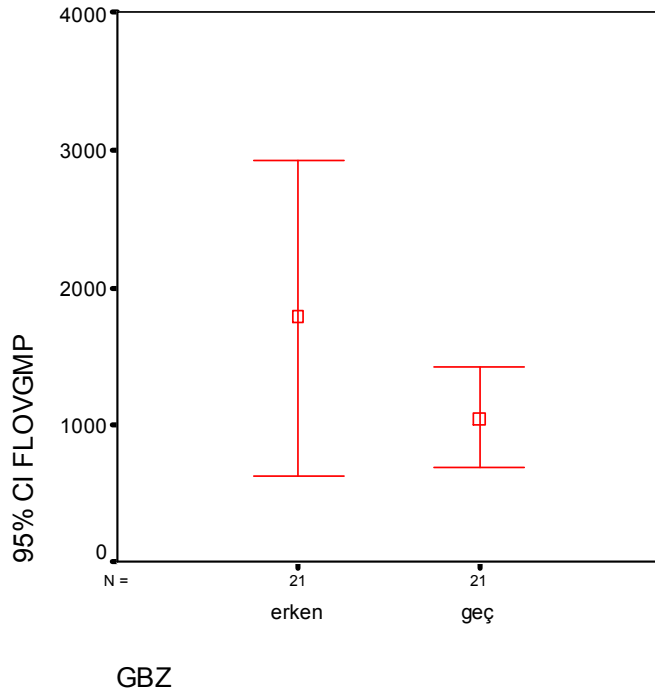
## Değerlendirmeye alınan hastalarda akım sitometri sonuçları

Çalışmamızın asıl amacı, göbek kordonu klemleme zamanının prematüre doğan bebeklerde kök hücre sayılarını etkileyip etkilemeyeceğini tespit etmek idi. Doğumdan sonraki ilk 1 saatte bebeklerden alınan kanların akım sitometri ile çalışılması ile saptanan kök hücre ( CMP, GMP, MEP ) değerleri tablo 4.6'da verilmiştir. Çalışılan tüm kök hücre sayıları beklentimizin dışında EKK grubunda daha yüksek idi (Şekil 4.10, 4.11, 4.12). CMP değerleri EKK grubunda  $93,8 \pm 144,6/\text{ml}$  iken, GKK grubunda ise  $14,9 \pm 31,1/\text{ml}$  idi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (  $p = 0.00$  ). GMP değerleri EKK grubunda  $1778,6 \pm 2532,6/\text{ml}$  iken, GKK grubunda ise  $1047,7 \pm 811,3/\text{ml}$  idi ve aradaki fark yine istatistiksel olarak anlamlı idi (  $p = 0.05$  ). MEP değerleri de EKK grubunda daha yüksek olmakla birlikte sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi.

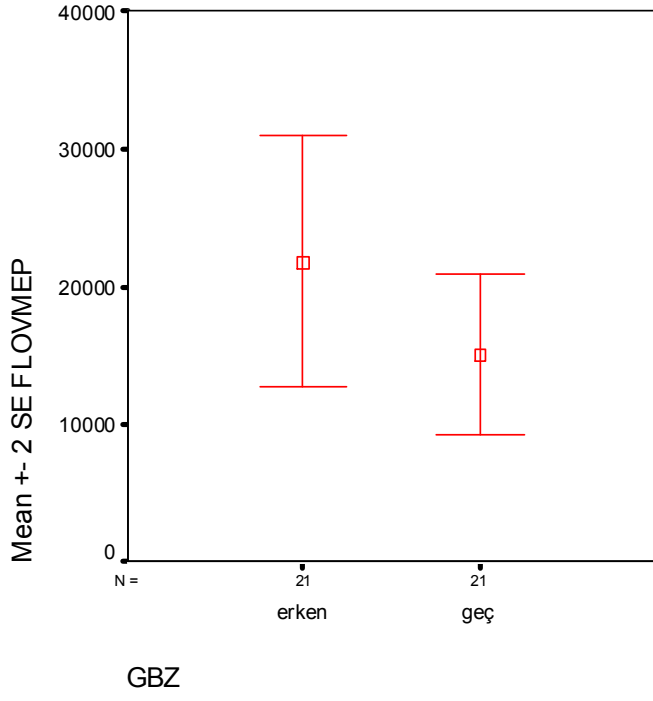
	Grup-1 EKK n = 21	Grup-2 GKK n = 21	p – Değeri
Lökosit	10285 ± 4605	8064 ± 3320	0,62
CMP	93,8 ± 144,6	14,9 ± 31,1	<b>0,00</b>
GMP	1778,6 ± 2532,6	1047,7 ± 811,3	<b>0,05</b>
MEP	21771 ± 20868	15049 ± 13262	0,08



Şekil 4.10: Göbek bağlama zamanı ve CMP değerleri karşılaştırması



Şekil 4.11: Göbek bağlama zamanı ve GMP değerleri karşılaştırması



Şekil 4.12: Göbek bağlama zamanı ve MEP değerleri karşılaştırması

## 5. TARTIŞMA

Doğumda göbek bağının hemen bağlanması genellikle preterm doğumlarda resusitasyonda gecikmeye neden olmamak, termlerde ise hipotermi ve hipervolemiye yol açmamak için yapılır (1,14,15,18). Bu konuda yapılan çalışmaların meta-analizinde; EKK ile GKK grupları arasında kord pH ve laktat düzeylerinde, 1. ve 5. dakika APGAR skorlarında ve yoğun bakıma kabul vücut ısıları arasında herhangi bir fark saptanamamış, GKK ile bebek ölümleri arasında da hiçbir ilişki bulunamamıştır (1,18). Buna benzer şekilde çalışmamızda da; 32 haftadan küçük doğan prematüre bebeklerde erken ve geç klemplenen gruplar arasında 1. ve 5. dakika APGAR skorları ile bebeklerin 1.saatlerindeki kan pH ve laktat düzeyleri arasında herhangi bir fark saptanamamış olup, çalışma grubumuzda GKK prematüre bebeklerde güvenli bulunmuştur.

Göbek bağının geç bağlanması prematüre bebeklerde hem kan volümünde hem de eritrosit volümünde önemli derecede artış sağlayarak kan ve eritrosit transfüzyon ihtiyacını azaltır; dolayısıyla da bebeği tranfüzyona bağlı olası risklerden korur ve stabilizasyonunu hızlandırır (1-3,18,21). Çalışmamızda bebeklerin yoğun bakıma kabullerindeki ortalama kan basıncı değerleri GKK grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ( $p = 0.05$ ). Bu bulgu GKK grubunda daha fazla plasento-fetal kan geçişine izin verilmesine bağlandı. Buna karşılık yoğun bakımda yatışları süresince eritrosit transfüzyon ihtiyacı (hem volüm hem de sayı olarak) her iki grupta da benzerdi. Bu durum çalışma grubumuzun küçüklüğüne ya da hastalarımızın 32 haftadan küçük olup yoğun bakımda uzun süre yatmalarına bağlı olabilir.

Prematüre bebeklerde yapılan pek çok çalışmada EKK ile GKK grupları arasında plasento-fetal kan transfüzyonuna bağlı olarak kan volümünde ve eritrosit volümünde belirgin farklılık saptanmasına rağmen Hgb ve Htc değerleri ile ilgili sonuçlar farklılık göstermektedir. Ultee ve arkadaşları (22) ile Strauss ve arkadaşlarının (23) çalışmalarında doğum sonrası 1.-4. saatteki Hgb ve Htc değerleri GKK grubunda artmış bulunmuşken; Rabe ve arkadaşları (24) ile Aladangady ve arkadaşlarının (17) yaptıkları çalışmalarda ise farklılık saptanamamıştır. Çalışmamızda da Ultee ve Strauss' un bulgularına benzer olarak Hgb değerleri GKK grubunda daha yüksekti. Benzer şekilde Htc değerleri de GKK grubunda daha yüksekti. Kan sayımı değerlerinden lökosit sayısı açısından iki grup arasında fark olmamasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 3. ve 7. gün ölçümlerinde MNS değerleri GKK grubunda daha yüksek bulundu. Her ne kadar iki grubun da MNS değerleri normal sınırlarda olsa da GKK grubunun MNS değerlerinin fazla oluşu infeksiyon açısından fark yaratabilir.



Çalışma grubumuzdaki bebeklerin sayısının az olması nedeniyle, bu durumun neonatal sepsis üzerine etkisinin izlenmediğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda ilk günkü trombosit sayısı EKK grubunda anlamlı olarak daha yüksek (  $p = 0.05$  ) idi. Buna karşın 7.günkü trombosit sayısı her iki grupta birbirine yakın değerlerde idi ( EKK =  $279286 \pm 148050$ , GKK =  $253162 \pm 138320$  ). GKK grubunda ilk gün trombosit sayısının düşüklüğü beklenmedik bir bulgu olup, bu durum hgb değerinin GKK grubunda daha yüksek ve daha polisitemik değerlere yakın olmasından kaynaklanabilir. Benzer durum term ve preterm SGA'lı yenidoğan bebeklerin ilk gün tam kan sayımı değerlerinde de görülebilmektedir (34). Literatürde polisitemi ve trombositopeni ilişkisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, hipervizkozite ve intravasküler kolloid basıncın artmasının bu durumdan sorumlu olduğu düşünülmektedir (35). Bizim değerlerimizde ne polisitemi ne de trombositopeni olmadığı düşünüldüğünde, görece düşük trombosit sayısı ve yüksek hgb miktarı, viskozite farklılığı ile açıklanabilir.

Çalışmamızda göbek bağlama zamanının neonatal morbidite üzerine etkisi de değerlendirilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda kord bağlama zamanı ile NEK, PDA, ROP ve bronkopulmoner displazi gelişimi ile ilgili sonuçlar farklılık göstermektedir (1,3,4,18). İVH ve PVL ciddi neonatal morbiditelerden olup, GKK'nın özellikle prematüre doğan bebeklerde, hem beyin kan akımını hem de beyne ve diğer organlara oksijen sağlanmasını olumlu olarak etkilediği düşünülmektedir (27). Son 10 yılda yapılan 297 prematüre bebeğin dahil edildiği 7 randomize kontrollü çalışmanın incelendiği meta-analizde; GKK'nın İVH insidansında önemli derecede azalma sağladığı saptanmış, 1 çalışmada ise ek olarak PVL insidansını da azalttığı gösterilmiştir (18). Çalışmamızda neonatal morbiditeler açısından her iki grup arasında herhangi bir fark saptanmamış olup, bu konularda daha büyük gruplarda çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızın sonuçlarına göre, bu hasta grubunda kord bağlama zamanının neonatal morbiditeyi etkilemediği söylenebilir.

GKK, çalışmalarda güvenli bulunmasına karşın, istenmeyen olumsuz etkiler olarak polisitemi, hipervizkozite, hiperbilirubinemi ve yenidoğanın geçici takipnesi gibi sorunlar bildirilmiştir (14). Çalışmamızda istenmeyen etkiler açısından sadece bilirubin düzeyi GKK grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuş fakat bu nedenle hiçbir hastada kan değişimi yapılması gerekmemiştir. Göbek bağlama zamanı ve bilirubin düzeyi ile ilgili olarak farklı veriler olmasına karşın son yıllarda prematüre bebeklerde yapılan 7 randomize çalışmada erken ve geç göbek bağı bağlanan gruplar arasında bilirubin düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır (2,14,24,25,30-33). Bilirubin ile ilgili sonuçlarımız son dönem yapılan

çalışmalardan farklılık göstermektedir. Ancak çalışma grubumuz hiperbilirubinemi etiyojileri ve fototerapi süreleri açısından ayrıntılı incelenmemiştir.

Çalışmamızın asıl amacı göbek bağlama zamanının prematüre doğan bebeklerin periferik kanlarındaki kök hücre düzeylerini karşılaştırmak idi. Fetüste hematopoetik kök hücrelerin bir hematopoetik anatomik bölgeden diğerine dolaşım aracılığıyla taşındığına inanılır (6,7). Clapp ve arkadaşları (6) 13 preterm (25-36 hafta arası) ve 10 term bebeğin doğum esnasında kord kanlarından yaptıkları çalışmada, gebelik haftası ilerledikçe kord kanlarında hematopoetik kök hücrelerin önemli derecede azaldığını göstermişlerdir. Haneline ve arkadaşları (7) da çalışmalarında; 23-31 hafta arasındaki preterm bebeklerin kord kanlarının term bebeklerinkine göre 3 kat daha fazla hematopoetik kök hücre içerdiğini saptamışlardır. Prematüre bebeklerde GKK ile plasental transfüzyona izin verilmesi, kemik iliğinde kök hücre havuzunun gelişmesine olanak sağlayabileceğini speküle etmişlerdir. (25). Mercer ve arkadaşları (3) 32 haftanın altında doğan bebeklerde yaptıkları çalışmada, GKK grubunda EKK grubuna göre anlamlı derecede düşük oranda geç başlangıçlı neonatal sepsis saptamışlardır. Neonatal sepsisteki düşüşü, bu haftalarda kord kanının yüksek oranda hematopoetik kök hücre içermesine ve bu hematopoetik kök hücrelerin prematüre bebeğin immünitesini geliştirmesine bağlamışlardır. Çalışmamızda 32 haftadan küçük doğan prematüre bebeklerden ilk 30 dakika içerisinde periferik kan örneği alınarak akım sitometri cihazı ve özgün antikorlar ile lökosit kök hücre sayımı yapıldı. Kök hücre sayımı sonucunda hem CMP hem de GMP değerleri beklentimiz dışında EKK grubunda GKK grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. MEP değerleri de EKK grubunda daha yüksek olmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Hematopoetik kök hücreleri diğer hücrelerden ayıran en önemli özellikleri repopülasyon (kendini yenileme ve çok kökene ayrışma) ve yuvalanma (homing) yetenekleridir. Kök hücrelerin yuvalanma yeteneği hem fetal hayatta hematopoetik organların gelişiminde hem de kök hücre transplantasyonunda kritik öneme sahiptir (36,37). Hematopoetik kök hücrelerin göç etme ve repopülasyon mekanizmaları günümüzde henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu hücrelerin salınımı, göç etmesi ve kemik iliğine yuvalanması; farklı mobilizasyon yolları, hematopoetik hücreler, stromal hücreler, proteolitik enzimler, sitokinler, kemokinler ve adezyon molekülleri arasındaki karşılıklı etkileşimi içeren kompleks bir olaylar zinciri şeklinde gerçekleşmektedir (38). Yuvalanma oldukça hızlı bir olay saatler içinde olur süreç 2 günü geçmez. Dolaşımdaki hematopoetik hücreler aktif olarak endoteliumu geçerek kemik iliği veya diğer ekstrasvasküler hematopoetik dokulara yerleşir (36). Li ve arkadaşları (39) term bebeklerde yaptıkları çalışmada, kord kanıyla

karşılaştırıldığında, doğumdan hemen sonra alınan neonatal periferik kanda CD34+ hücrelerin hızla azaldığını ve azalmanın devam ederek 2 - 48. saatler boyunca devam ettiğini göstermişlerdir. Gonzalez ve arkadaşları (39) ise çalışmalarında CD34+ hücrelerin doğumdan sonraki 3. saatte % 25 ± 29, 12. saatte ise % 51 ± 42 oranında azaldığını saptamışlardır. Son dönemde yapılan pek çok çalışmada çok geç antijen-4 (VLA-4), kemokin reseptör-4 (CXCR4), I-Selektin ve intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon molekülleri ve kemokin reseptörlerinin hematopoetik kök hücre yuvalanmasında önemli role sahip oldukları öne sürülmüştür (36,40,41). Yuvalanma sürecinde önemli bir diğer organ da plasentadır. Placenta önemli bir hematopoetik organ olarak tanımlanmakta, ayrıca placenta tarafından salgılanan bazı kemokinlerin hematopoetik kök hücrelerin yuvalanmasında önemli rol oynadığı öne sürülmektedir (40,42). Coulomb-L'Hermine ve arkadaşları (43) plasental hücreler tarafından kök hücrelerin hareketlerinde anahtar rol üstlenen SDF-1'in sentezlendiğini saptamışlardır. Kemik iliği stromal hücreleri ve osteoklastlar tarafından da sentezlenen SDF-1' in reseptörü ise CXCR4 kemokin reseptörüdür. CXCR4 reseptörü CD34+ hücrelerin yüzeyinde oluşur ve hematopoetik kök hücrelerin homing'inde önemli rol oynar. SDF-1 ve onun reseptörü olan CXCR4 arasındaki etkileşim, hematopoetik hücreler ile plasental dokunun tam bir koordinasyon içinde bulunduğunu gösterir (42). Kauma ve arkadaşları (44) ise çalışmalarında, hematopoetik hücrelerin yaşam süreleri, proliferasyonu ve hareketleri üzerine etki eden SCF'nin placenta tarafında da sentezlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda GKK grubunda hematopoetik kök hücre sayısı EKK grubuna göre beklentimiz dışında anlamlı olarak düşük bulundu. Her iki grubun gestasyonel özellikleri, doğum ağırlıkları ve kan alınma zamanları benzer olup, GKK grubunda hematopoetik hücre sayısını yüksek beklerken düşük bulmamız, muhtemelen bu grupta kök hücre homing'ini etkileyen ve placenta tarafından sentezlenen SDF-1 ve SCF gibi kemokinlerin düzeyinin daha yüksek olmasıyla açıklanabilir. Kim ve arkadaşları (42) çalışmalarında kord kanında, neonatal periferik kanla karşılaştırıldığında daha yüksek oranda CD34+ ve CD34CXCR4+ hücreler saptamışlar ve doğumdan sonrada bu hücrelerin oranının tedrici olarak azaldığını tespit etmişler ve bu değişikliklerin hematopoetik kök hücrelerle plasental dokular arasındaki koordinasyonu gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamızdaki sonuçlarda bu ilişkiyi desteklemektedir.

Term bebeklerin kord kanı kök hücre transplanstasyonunda kullanılmakta ve kinetik özellikleri daha iyi bilinmektedir. Preterm bebeklerin kord kanından elde edilen hematopoetik kök hücrelerin homing ve repopülasyonu ile ilgili ise çok az bilgi bulunmaktadır (45). Surbek ve arkadaşları (46) kord kanı çalışmalarında, gebelik yaşı ilerledikçe CD34+ hücrelerin

üzerindeki adezyon molekülü reseptörlerinin oluşumunun arttığını göstermişlerdir. Nakajima ve arkadaşları (45) ise term bebeklerin kord kanındaki CD34+ hücrelerde CXCR4 kemokin reseptörü oluşum oranının preterm bebeklerin kord kanındaki CD34+ hücrelerdekine göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermişler ve term bebek kord kanının preterm bebek kord kanına göre kök hücre transplantasyonu için daha uygun olduğunu savunmuşlardır. Çalışmamızda her iki grupta benzer olarak prematüre bebeklerden oluşmakta olup, iki grup arasında değişen tek faktör göbek bağlanma zamanı idi. İki grup arasında kök hücre sayısındaki çok anlamlı farklılığın; geç bağlama sonucu geçen kanın hematopoetik kök hücrelerinin plasental faktörlerin etkisiyle kinetik özelliklerinin değişmesinden kaynaklandığını düşündük.

Sonuç olarak, çalışma grubumuzdaki prematüre bebeklerde; kord klempleme zamanının neonatal morbidite üzerine etkisi gözlenmedi. GKK grubunda hematopoetik hücre sayısı EKK grubuna göre düşük bulundu. Bu farklılığın plasental faktörlerin hematopoetik hücrelerin kinetik özelliklerini değiştirmesinden kaynaklandığı düşünüldü. Bu konuda, prematüre bebeklerde kord klempleme zamanının kemik iliği kök hücre havuzunu ve plasental kemokin ve sitokin düzeylerini etkileyip etkilemediği ile ilgili yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada ilk kez prematüre bebeklerde göbek kordonu bağlama zamanının neonatal periferik kandaki hematopoetik kök hücre düzeyine etkisi araştırıldı. Kök hücre sayımı sonucunda hem CMP hem de GMP değerleri beklentimiz dışında EKK grubunda GKK grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Ancak bu farklılığın plasental faktörlerin hematopoetik hücrelerin kinetik özelliklerini değiştirmesinden kaynaklandığı düşünüldü. Ayrıca çalışma grubunda kord klempleme zamanının neonatal morbidite üzerine etkisi olmadığı izlendi.

### Öneriler:

1. Prematüre bebeklerde GBZ'nin neonatal immünite ve kemik iliği hematopoetik kök hücre düzeyine etkisini tam değerlendirebilmek için sağlıklı yenidoğanda kemik iliği incelemesi yapmak etik olmayacağı için hayvan çalışmaları yapılması daha kesin bilgilere ulaşılmasına katkıda bulunabilir.
2. GBZ'nin plasental kemokin ve sitokin düzeylerini etkileyip etkilemediği ile ilgili daha çok hastayı kapsayan yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.
3. GKK'nın prematüre bebeklerde, hem ilk gün hemodinamik stabilizasyonda, hem eritrosit indeks değerlerinde hem de hematopoetik kök hücrelerin kemik iliği havuzunda iyileşmeye yardımcı olabileceğinden dolayı preterm doğumlarda göbek kordonunun rutin olarak geç klempe edilmesi önerilebilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Rabbe H, Reynolds G, Diaz-Rossello J. Early versus delayed umbilical cord clamping in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(4):CD003248
2. Ibrahim H, Krouskop R, Lewis D, Dhanireddy R. Placental transfusion: umbilical cord clamping and preterm infants. *J Perinat.* 2000;20:351-354
3. Mercer J, Vohr B, McGrath M, Padbury J, Wallach M, Oh W. Delayed cord clamping in very preterm infants reduces the incidence of intraventricular hemorrhage and late-onset sepsis: randomized, controlled trial. *Pediatrics.* 2006;117:1235-1242
4. Mercer J, McGrath M, Hensman A, Silver H, Oh W. Immediate and delayed cord clamping in infants born between 24 and 32 weeks: a pilot randomized controlled trial. *J Perinatol.* 2003;23:466-472
5. Wardrop CA, Holland BM. The roles and vital importance of placental blood to the newborn infant. *J Perinat Med.* 1995;23:139-143
6. Clapp DW, Baley JE, Gerson SL. Gestational age-dependent changes in circulating hematopoietic stem cells in newborn infants. *J Lab Clin Med.* 1989;113(4):422-427
7. Haneline LS, Marshall KP, Clapp DW. The highest concentration of primitive hematopoietic progenitor cells in cord blood is found in extremely premature infants. *Pediatr Res.* 1996;39:820-825
8. Gilbert WM, Machin GA. Placental function and diseases: the placenta, fetal membranes, and umbilical cord. *Avery's Diseases of The Newborn.* Eighth edition (Elsevier Saunders). 2005, P:23-31
9. Moore KL, Persaud TVN. Placenta ve fetal zarlar. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (Türkçe 2. baskı).* Eighth edition (Elsevier Saunders). 2008, S:111-144
10. Juul SE. Developmental biology of hematologic system. *Avery's Diseases of The Newborn.* Eighth edition (Elsevier Saunders). 2005, P:1135-1144
11. Bellanti JA, Zeligs BJ, Pung YH. Immunology of the fetus and newborn. *Avery's Neonatology - Pathophysiology & Management of the Newborn.* 6th edition (Lippincott Williams & Wilkins). 2005, P:1135-1168
12. Carr R. Neutrophil production and function in newborn infants. *B J of Haematol.* 2000;110:18-28

13. Hutton EK, Hassan ES. Late vs early clamping of the umbilical cord in full-term neonates: systematic review and meta-analysis of controlled trials. *JAMA*. 2007;297(11):1241-52
14. Mercer JS. Current best evidence: a review of the literature on umbilical cord clamping. *J Midwifery Womens Health*. 2001;46:402-414
15. Singhal N, Niermeyer S. Neonatal resuscitation where resources are limited. *Clin Perinatol*. 2006;33(1):219-228
16. Yao AC, Moinian M, Lind J. Distribution of blood between infant and placenta after birth. *Lancet*. 1969;2(7626):871-873
17. Aladangady N, McHugh S, Aitchison TC, Wardrop CA, Holland BM. Infants' blood volume in a controlled trial of placental transfusion at preterm delivery. *Pediatrics*. 2006;117(1):93-98
18. Rabe H, Reynolds G, Diaz-Rossello J. A systematic review and meta-analysis of a brief delay in clamping the umbilical cord of preterm infants. *Neonatology*. 2008;93(2):138-144
19. McDonald SJ, Middleton P. Effect of timing of umbilical cord clamping of term infants on maternal and neonatal outcomes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;(2):CD004074
20. Ceriani Cernadas JM, Carroli G, Pellegrini L, Otano L, Ferreira M, Ricci C, Casas O, Giardino D, Lardizabal J. The effect of timing of cord clamping on neonatal venous hematocrit values and clinical outcome at term: a randomized, controlled trial. *Pediatrics*. 2006;117(4):e779-786
21. Eichenbaum-Pikser G, Zasloff JS. Delayed clamping of the umbilical cord: a review with implications for practice. *J Midwifery Womens Health*. 2009;54(4):321-326
22. Ultee CA, van der Deure J, Swart J, Lasham C, van Baar AL. Delayed cord clamping in preterm infants delivered at 34-36 weeks' gestation: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008;93(1):20-23
23. Straus RG, Mock DM, Johnson KJ, Cress GA, Burmeister LF, Zimmerman MB, Bell EF, Rijhsinghani A. A randomized clinical trial comparing immediate versus delayed clamping of the umbilical cord in preterm infants: short-term clinical and laboratory endpoints. *Transfusion* 2008;48(4):658-665
24. Rabe H, Wacker A, Hülkamp G, Hörnig-Franz I, Schulze-Everding A, Harms E, Cirkel U, Louwen F, Witteler R, Schneider HP. A randomised controlled trial of

- delayed cord clamping in very low birth weight preterm infants. *Eur J Pediatr.* 2000;159(10):775-777
25. Kidmond S, Aitchison TC, Holland BM, Jones JG, Turner TL, Wardrop CAJ. Umbilical cord clamping and preterm infants: a randomised trial. *BMJ* 1993;306:172-175
  26. Borenstein-Levin L, Kessel A, Riskin A, Toubi E, Bader D. Immunologic and infectious consequences of immediate versus delayed umbilical cord clamping in premature infants: A prospective, randomized, controlled study. *J Perinat Med.* 2009;37(3):281-287
  27. Nelle M, Hocker C. Effects of red cell transfusion on cardiac output and blood flow velocities in cerebral and gastrointestinal arteries in premature infants. *Arc Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1994;71:45-48
  28. Baenziger O, Stolkin F, Keel M, Siebenthal K, Fauchere JC, Kundu SD, Dietz V, Bucher HU, Wolf M. The influence of the timing of cord clamping on postnatal cerebral oxygenation in preterm neonates: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2007;119(3):455-459
  29. Saigal S, O'Neil A, Surainder Y, Chua LB, Usher R. Placental transfusion and hyperbilirubinemia in the premature. *Pediatr* 1972;49:406-419
  30. Nelle M, Fischer S, Conze S, Beedgen B, Brischke EM, Linderkamp O. Effects of later cord clamping on circulation in prematures. *Pediatr Res* 1998;44:420
  31. Rabe H, Wacker A, Hulskamp G, Homig-Franz I, Jorch G. Late cord clamping benefits extrauterine adaptation. *Pediatr Res* 1998;44:454
  32. Narende A, Beckett C, Aitchison T, Kyle E, Coutis J, Turner T, et al. Is it possible to promote placental transfusion at preterm delivery? *Pediatr Res* 1998;44:453
  33. McDonnell M, Henderson-Smart DJ. Delayed umbilical cord clamping in preterm infants: a feasibility study. *J Paediatr Child Health* 1997;33:308-310
  34. Ozyurek E, Cetintas S, Ceylan T, Ogus E, Haberal A, Gurakan B, Ozbek N. Complete blood count parameters for healthy, small-for-gestational-age, full-term newborns. *Clin. Lab. Haem* 2006;28:97-104
  35. Ozek E, Soll R, Schimmel MS. Partial exchange transfusion to prevent neurodevelopmental disability in infants with polycythemia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(1):CD005089



36. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood* 2005;106(6):1901-1910
37. Yong KL, Fahey A, Pahal G, Linch DC, Pizzey A, Thomas NSB, Jauniaux E, Kinnon C, Thrasher AJ. Fetal haemopoietic cells display enhanced migration across endothelium. *B J of Haematol.* 2002;116:392-400
38. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: The roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol.* 2002;30(9):973-981
39. Li K, Liu J, Fok TF, et al. Human neonatal blood: stem cell content, kinetics of CD34+ cell decline and ex vivo expansion capacity. *B J of Haematol.* 1999;104:178-185
40. Gonzalez S, Amat L, Azqueta C, Madrigal JA, Laila JM, Garcia J, Querol S. Factors modulating circulation of hematopoietic progenitor cells in cord blood and neonates. *Cytotherapy.* 2009;11(1):35-42.
41. Quesenberry PJ, Becker PS. Stem cell homing: Rolling, crawling, and nesting. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95:15155-15157
42. Kim JP, Lee YH, Lee YA, Kim YD. A comparison of the kinetics of nucleated cells and CD34+ cells in neonatal peripheral blood and cord blood. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(4):478-485
43. Coulomb-L'Hermine A, Emilie D, Durand-Gasselín I, Galanaud P, Chauat G. SDF-1 production by placental cells: a potential mechanism of inhibition of mother-to-fetus HIV transmission. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2000;16(11):1097-1098
44. Kauma S, Huff T, Krystal G, Ryan J, Takacs P, Turner T. The expression of stem cell factor and its receptor, c-kit in human endometrium and placental tissues during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):1261-1266.
45. Nakajima M, Ueda T, Migita M, Oue Y, Shima Y, Shimada T, Fukunaga Y. Hematopoietic capacity of preterm cord blood hematopoietic stem/progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;389(2):290-294
46. Surbek DV, Holzgreve W, Jansen W, Heim D, Garritsen H, Nissen C, Wodnar-Filipowicz A. Quantitative immunophenotypic characterization, cryopreservation, and enrichment of second- and third-trimester human fetal cord blood hematopoietic stem cells (progenitor cells). *Am J Obstet Gynecol.* 1998;(5):1228-1233