

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİ OLAN
BEBEKLERİN KORDON KANINDA VE ANNE
KANINDA NO, İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8, TNF α
DÜZEYLERİ**

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T 107684

**Hazırlayan:
Bio. Fatma ÖZYALIN**

**Tez Danışmanı:
Yard. Doç. Dr. Ahmet ÇIĞLI**

MALATYA – 2001

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İNRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİ (İUGG).	3
2.1.1. İUGG ETİYOLOJİSİ	3
2.1.2. İUGG'NİN İNSİDANSI	4
2.1.3. FETAL AĞIRLIĞA ETKİ EDEN FAKTÖRLER	4
2.1.4. İUGG TİPLERİ	5
2.1.5. İUGG TANISI	5
2.1.6. İUGG VAKASININ DEĞERLENDİRİLMESİ	7
2.1.7. İUGG PROGNOZU	8
2.1.8. SİGARA ALIŞKANLIĞININ FETUSA ETKİSİ	8
2.1.9. HAMİLELİKTE EK VİTAMİN ALIMI	9
2.2. ÇALIŞILAN PARAMETRELER	10
2.2.1. NİTRİK OKSİT (NO).	10
2.2.1.1. NİTRİK OKSİT HAKKINDA GENEL BİLGİLER	10
2.2.1.2. NİTRİK OKSİTİN OLUŞUMU.	11
2.2.2. SİTOKİNLER	12
2.2.2.1. İNTERLÖKİN 1 BETA (İL-1 β)	13
2.2.2.2. İNTERLÖKİN 2 RESEPTÖR (İL-2 R)	14
2.2.2.3. İNTERLÖKİN 6 (İL-6)	16
2.2.2.4. İNTERLÖKİN 8 (İL-8)	17
2.2.2.5. TÜMÖR NEKROTİZAN FAKTÖR ALFA (TNF α)	18
2.3. ÇALIŞMALARIN YENİ HEDEFLERİ	19
3. MATERYAL VE METOD	20
3.1.MATERYAL	20
3.1.1. ANNELER VE BEBEKLERE AİT BİLGİLER	20
3.1.1.1. KONTROL GRUBUNDAKİ ANNE VE BEBEKLERE AİT BİLGİLER	21
3.1.1.2. İUGG GRUBUNDAKİ ANNE VE BEBEKLERE AİT BİLGİLER	23
3.2. METODLAR	24
3.2.1. NİTRİK OKSİTİN ANALİZİ	24
3.2.1.1. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	24
3.2.1.2. NİTRİK OKSİT ANALİZİNDE KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER	25
3.2.1.3. NİTRİK OKSİT DENEYİNİN YAPILIŞI	26
3.2.2. SİTOKİNLERİN ANALİZİ	28
3.2.3. KULLANILAN İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	29
4. BULGULAR	30
4.1. KONTROL GRUBU BULGULARI	30
4.2. İUGG GRUBU BULGULARI	34
4.3. İSTATİSTİK BULGULARI	35
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
6. ÖZET (SUMMARY)	47
8. REFERANSLAR	50

TEŐEKKÜR

Yaptığım bu yüksek lisans tez çalışması esnasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Engin M. GÖZÜKARA hocamıza olmak üzere, tez boyunca her türlü destek ve katkısını gördüğüm sayın danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÇIĞLI'ya, bölümdeki diğer hocalarıma, asistan ve teknisyen arkadaşlarıma, tez düzeltilmesi sırasında yaptığı katkılardan dolayı Pediatri Bölümü Hocalarından Sayın Yrd. Doç. Dr. Hanifi SOYLU'ya yine aynı bölümden hasta temini konusunda bana yardımcı olan Sayın Dr. Ergün SÖNMEZGÖZ'e ve Sayın Dr. Taner ELMAS'a, , İstatistiksel Analizler konusunda yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Saim Yolođlu' na, numune toplamam esnasında bilgi ve tecrübelerini esirgmeden bana yardımcı Malatya Devlet Hastanesi Doğumhanesinde görev yapan hemşire arkadaşlara ,

Sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

İNTRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİ OLAN BEBEKLERİN KORDON KANINDA VE ANNE KANINDA NO, İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8, TNF α DÜZEYLERİ

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişmiş ülkelerde fetusun anne rahmindeki gelişiminin geri kalması (intrauterin gelişme geriliği, İUGG) % 4-8 kadar iken gelişmekte olan ülkelerde bunun görülme sıklığı % 6-30'dur. İUGG olan bebeklerin ağırlığı 2500 gr'dan azdır (1). Neonatal mortalite ve morbidite doğum ağırlığı, en önemli göstergedir (2). Anne veya fetusu direkt etkileyen pek çok faktör İUGG nedeni olabilir. İUGG ile perinatal morbidite ve mortalite arasında direkt korelasyon vardır. Bu nedenle İUGG erken tanısı önemlidir. Tanı konulduktan sonra etiyolojisi araştırılarak prognozu iyileştirebilecek girişimler başlatılmalıdır (3).

Endotel kaynaklı gevşeme faktörü olarak tanımlanan nitrik oksit (NO) oksitlenerek nitrit (NO₂) ve nitrat (NO₃)'a dönüşebilir (4). NO yarı ömrü çok kısa olan bir radikaldır (5). Aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır (5,6).

İnterlökin 1 (İL-1) immunolojik ve inflamatuvar medyatördür ve akut faz reaktanlarından. Gram negatif bakterilerin endotoksinlerinin etkisiyle makrofajlar tümör nekrotizan faktör (TNF), İL-1 ve diğer bazı sitokinlerin üretilmesine neden olur. Tümör nekrotizan faktör alfa (TNF α), tümör nekrotizan faktör beta (TNF- β) ve İL-1 osteoklastları aktive eden faktörlerdendir. İL-1 kemik iliğinden nötrofillerin kana geçişini de kolaylaştırır (7).

İnterlökin 2 (İL-2) ve interlökin 2 reseptör (İL-2R) kullanımı, tanı ve tedavide önemlidir. İL-2 antikanserojendir, ve tümör hücrelerine saldıran tümör infiltrating lenfositlerin aktivitesini ve proliferasyonunu stimüle eder. İL-2 ve İL-2R antikoru otoimmün hastalıkların suprese edilmesinde ve rejeksiyonun önlenmesinde önemlidir (7).

İnterlökkin 6 (İL-6) çeşitli biyolojik etkileri olan bir immün sistem medyatörüdür. T lenfositleri aktive eder. B lenfositleri için bir farklılaşma faktörü olarak rol oynar. İL-6, İL-2 varlığında T hücrelerini sitotoksik T hücrelerine farklılaştırır ve timositlerin proliferasyonunu indükler (7).

İnterlökkin 8 (İL-8), kemokin ailesinin bir üyesidir. İL-8 salgılanmasında İL-1 ve TNF'nin stimülasyon rolü vardır (8).

İmmün sistem hücreleri arasında etkileşimin çoğu, medyatör özellikte sitokinler tarafından kontrol edilir. 100'den fazla sitokin çeşidi tanımlanmıştır. Her bir sitokin değişik uyarılara cevap olarak belirli hücrelerde salgılanır ve hedef hücrelerin büyüme, mortalite, diferansiyon ve fonksiyonlarında etkili olur. Bir sitokin salgılanması başka sitokin veya medyatörlerin salgılanmasını indükleyerek biyolojik etkilerini gösterebilir (7) .

Bu çalışmanın amacı intrauterin gelişme geriliği olan bebeklerin kordon kanında ve anne kanında NO₂, NO₃, NO, sitokinlerden İL-1β, İL-2R, İL-6, İL-8 ve TNFα düzeyleri çalışılarak bunların İUGG'ne etkilerini incelemektir. Bu çalışma ile annenin İUGG'ne yatkınlığının belirlenmesine katkıda bulunulabilir ve buna karşı koruma olanağı varsa önlem alınmasına yardımcı olunabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİ (İUGG)

Yaklaşık 38 hafta süren normal bir gebeliğin sonunda gebeliğin sonunda doğan bir bebeğin ağırlığı olması gerekenden daha az ise doğmadan önce yeteri kadar gelişmemiştir; bunda intrauterin gelişme geriliği düşünülür. İntrauterin gelişme geriliğini “gebelik yaşına göre 10. persentilin altında bulunması olarak veya doğum ağırlığının gebelik yaşına göre ortalamasının 2 standart sapmasından daha düşük olması” şeklinde tanımlayanlar da vardır (9). Normal bir bebek doğduğunda yaklaşık olarak 2900 gr kadardır (3). İUGG vakaları 2500 gr’ın altındadır (3,10). Ancak düşük ağırlıklı doğanların hepsini İUGG olarak kabul etmek mümkün değildir. Uzmanlar neonatal mortalite ve morbitide doğum ağırlığının en önemli gösterge olduğunu belirtmişlerdir (2). Büyümesi sınırlanmış fetuslar, bir mekanyum aspirasyonu, asfiksi, polisitemi ve mental retardasyon gibi problemlere özellikle eğilimlidirler. İUGG’nin erken tanısı, bu komplikasyonların çoğunun olumsuz etkilerini azaltma şansı sağlar (11).

2.1.1. İUGG ETİYOLOJİSİ:

Etiyolojide bir çok farklı etken söz konusudur. Üç kategoride incelenebilir: Maternal faktörler, uterin faktörler ve plasental faktörler (3).

İUGG sıklıkla kronik hipertansiyon ile komplike olmuş gebeliklerde görülür. Risk, direkt olarak diyastolik kan basıncı düzeyleri ile ilişkilidir (3).

Preeklampsi, plasental hasar ve de uteroplakental yetmezliğe neden olur. Patogenezinde 20-22. gebelik haftalarında başlayan maternal spinal arteriollerdeki trofoblastik infüzyonun azalması olduğu düşünülmektedir (12). Yetmezliğin nedeni lümende daralma ve medial dejenerasyondur. Bu da kan akımının azalmasına ve fetusun gelişiminin durmasına neden olur (12).

İUGG’lerin % 10’unda infeksiyonlar gelişme geriliğine neden olur. Bu infeksiyonlar, *Toksoplazma gondii*, *Rubella*, *Citomegalovirus*, *Trypanozoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*dur (13).

Annenin doğum öncesi ağırlığı ve gebelik sırasındaki ağırlığı doğum ağırlığında kuvvetli belirteç olabilir (14). İkinci Dünya Savaşı sırasında uzun

malnütrüsyona uğrayan kadınlardan olan bebeklerin beklenenden 400-600 gr daha az doğduğu saptanmıştır (2). Maternal kilonun olması gerekenden 10 kg daha az olması açıkça İUGG için bir risk oluşturmaktadır (15).

Sigara içen annelerin çocuklarında Amerika'da % 30-40 arasında İUGG görülmüştür. Bir çalışmaya göre içilen sigara miktarı arttıkça doğum ağırlığı doza bağlı olarak azalmaktadır (16). Diğer bir çalışmada ise günde 11 veya daha fazla sigara içen kadınların infantları 330 g daha az ağırlıkta ve 1-2 cm daha kısa bulunmuştur (17).

Gebeliğin erken dönemlerinde alkol alımı fetal alkol sendromuna yol açar. İkinci veya 3. trimestride alkol alımı İUGG ile sonuçlanır. Günde 1 veya 2 kez alınan içkininde büyüme geriliğine neden olduğu ortaya konulmuştur (18).

İUGG ikiz gebeliklerde tek gebeliğe göre 10 kez daha fazla görülür. İkiz gebeliklerin % 15-25'inde İUGG görülür (2).

2.1.2. İNRAUTERİN GELİŞME GERİLİĞİNİN İNSİDANSI

İUGG'nin insidansı % 3-10 arasındadır (9). Yapılan bir çalışmada ülkemizde İUGG sıklığının % 8.9 olduğu saptanmıştır. Ayrıca Hacettepe Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan prematüre bebeklerin % 28'inde İUGG'li bulunduğu belirtilmiştir (1).

2.1.3. FETAL AĞIRLIĞA ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Fetal ağırlık, çeşitli faktörlerin herhangi birisinden etkilenebilmektedir: Genellikle erkekler kızlardan 150 gram daha ağır ve 0.9 cm daha uzundur. İlk doğan bebek sonraki doğanlardan daha küçük olma eğilimindedir ki bu etki üçüncü doğumdan sonra kaybolur. Irklar, etnik gruplar ve uluslar farklı doğum ağırlıklarına sahiptirler. Ayrıca deniz seviyesinden yükseklerle çıkıldıkça gebelik yaşına göre doğum ağırlığı azalır (9).

Annenin boyu ve kilosu ile fetusun büyüklüğü arasında direkt bir ilişki vardır. Annesinin boyu 170 cm ve ağırlığı 75 kg olan yenidoğanla; annesinin boyu 150 cm ve ağırlığı 40 kg olan yenidoğan karşılaştırıldığında 750 grama

varan doğum ağırlığı farkı bulunmuştur. Çoğul gebelik varsa fetusun sayısı ile birlikte ortalama doğum ağırlığı düşer (9).

Bu faktörler göz önüne alındığında büyüme eğrilerinin; gebelik sayısı, çoğul gebelik, cinsiyet ve etnik gruplara göre ayrılmasının ideal olduğu anlaşılır (9).

2.1.4. İUGG TİPLERİ

Simetrik İUGG: Ağırlık, baş ve boy 10. persentilin altındadır. Baş, karn ve uzun kemiklerde eşit olarak ağırlık azalmıştır. Genetik (kromozomal ve tek gen üzerindeki bozukluk, kromozom kopmaları, doğuştan metabolizma hastalıkları) bozukluklar, irsi anormallikler, rahim içi enfeksiyonlar, sigara içimi ve radyasyona maruz kalma simetrik İUGG neden olurlar (9) .

Asimetrik İUGG: Ağırlık 10. persentilin altındadır, fakat baş ve boyun normaldir. Uteroplasental yetersizlik, kronik yüksek tansiyon, preeklampsi, kronik böbrek hastalığı, siyanotik kalp hastalığı, hemoglobino patiler, plasental infaktlar, düşük tehdidi, fazla gebelik, rakım, beslenme bozukluğu ve sigara kullanımı İUGG nedenleri arasındadır (9).

Birleşik İUGG: Bebeklerde iskelet kısalığı ve yumuşak doku ağırlığının azalması durumu gözlenir. Beslenme bozukluğu, sigara kullanımı, plasentanın erken ayrılması, fazla gebelik birleşik İUGG neden olmaktadır (9).

2.1.5. İUGG TANISI

Ultrasonografiden önce İUGG, fundal yükseklik ölçümleriyle bulunmaya çalışılıyordu. Halen fundal yükseklik ölçümü kullanılmaktadır. Gestasyon yaşına göre fundal yüksekliği 4 cm veya daha fazla olması önemli bir işarettir. Buna rağmen ne kadar dikkatli yapılırsa yapılısın sensitivitesi sadece % 26-76 kadardır (19). Üçüncü trimestrideki maternal ağırlığın 100-200 gr artmaması veya ultrasonografik bulguların gestasyonel yaşından daha küçük olması İUGG gösterir (13).

İUGG'nin belirlenmesinde ana göstergelerden biri son menstürasyon tarihinin doğru bilinmesidir. Buna göre muhtemel doğum tarihi hesaplanır. Eğer

anne, son adet tarihi hatırlayamazsa fetusun anne karnında kaç haftalık olduğu ultrasonla belirlenebilir. Ultrasonik inceleme ile baş çevresi, başın biparietal çapı, transselebellar çap, karın çevresi, femur ve humerus uzunluğu ölçülerek İUGG araştırılır (13).

İUGG şüphesi güçlü olduğu zaman maternal risk faktörleri mutlaka ekarte edilmelidir. Bu da tıbbi ve obstetrik incelemeler, ilaç kullanımı, çeşitli enfeksiyonlar, toksik maddeler, sigara, alkol ve diğer bağımlılık yapan ilaçların araştırılmasıyla gerçekleştirilebilir (13).

İUGG'de ultrason ilk yapılan tetkiktir. Ultrasonda gebeliğin gelişimi kaydedilebilir. Ultrason eğer bir çok değişkenle kombine ise sensitivite ve pozitif tahminlerin değerini artırır (20). Fetal ağırlık, baş çevresi ve karın çevresi değişkenleri oluşturur (13).

Fetal ağırlık en çok kullanılan parametredir. Baş çevresi, karın çevresi ve femur uzunluğu standartlaştırılmış tablolara göre değerlendirilir. % 95 hastada ultrasonda % 15-18 arasında varyasyon tespit edilmiştir (20).

Büyüme geriliği olan fetuslarda karın çevresinin biometrik ölçümleri farklılık göstermektedir. İUGG fetuslarda baş çevresinin karın çevresine oranı artar. Bu oran normal fetusta 32-34. haftalarda 1, 34. haftadan sonra 1'in altındadır. % 85 büyüme geriliği olan bir fetusta bu oran 1'in üzerindedir (21).

İUGG'deki diğer bir tespit amniotik sıvının volümünün azalmasıdır. % 85 İUGG'li fetusta oligohidramniyoz tespit edilmiştir (22). Bunun nedeni kan akımının periferik organlardan beyine yönelmesidir. Renal perfüzyon ve üriner akım oranı düşer (23). Amniotik sıvı indeksinin 5 cm'den az olması İUGG riskini artırır. Vertikal cepteki amniotik sıvının 1 cm'den az olması gestasyonel yaşın geri olması % 39 İUGG'li fetusta tespit edilmiştir (21).

Maternal arterial kan akımı gebeliğin erken dönemlerinde 50 ml/dk iken gebeliğin sonlarına doğru 700 ml/dk'ya çıkar. Bu artış gebelikte iç organların basıncının düşmesine göre sekonder gelişir. Doppler ultrasonla peak-sistolik ve end-sistolik kan akımı umbilikal arterlerden ölçülebilir. Sistolik akımın diyastolik akıma oranı belirlenir. Gebeliğin gelişiminde diyastolik akım artar ve bu oran azalır. İUGG'lerin bir çoğunda alternatif plasental akım vardır. Bunun sonucunda araştırmacılar sistolik/diyastolik oranı ile İUGG arasında korelasyon

tespit etmişlerdir. Sistolik akımın diyastolik akıma oranının 3'den daha büyük olması 80 veya daha fazla fetusun İUGG tespitinde % 78 sensitivite % 85 spesifite gösterdiğini tespit etmişlerdir (24).

2.1.6. İUGG VAKASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Kadın hamile kalmadan önce riskleri tahmin etmek ve azaltmak, koruyucu hekimlik yönünden önemlidir.

Simetrik İUGG ele alındığında amniosentez ve kromozom analizi önerilir. Asimetrik İUGG teşhis edildiği durumlarda anneden gelen besinlerin arttırılması, yüksek tansiyonun kontrol ve tirotoksikozisin tedavi edilmesi fetusun gelişimini arttırır (25). Annenin sigara içmesini engellemek, uyuşturucu madde almasını önlemek ve sola yatık pozisyonunu koruması plasental kan akışını arttırır (9).

Fetal büyüme açısından ultrason 3-4 hafta aralarla tekrarlanmalıdır (2, 12). Radyologla klinisyen doktorun iletişimi, sonraki müdahalelerin yönlendirilmesi açısından değerlidir. Fetal ağırlık, biperiatel mesafe, baş çevresi, karın çevresi ve amniotik sıvı miktarı önemlidir. Üçüncü trimestride fetal ağırlık haftada 100-200 gr artmalıdır. Baş çevresinin 4 haftalık sürede değişmemesi endişe vericidir ve doğum endikasyonu olabilir (12).

Düşük doz aspirinle (150 mg/gün) ilgili geçmişte bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada 3. trimestride aspirin kullanan gebelerde Doppler sonuçlarında anormal umbilikal sonuçlar alınmış, fetal ağırlık ve baş çevresinde artma saptanmıştır (26). Diğer bir çalışmada yüksek riskli hastalarda gebeliğin 15-18. haftalarında 225 mg/gün diprimadolle birlikte 150 mg/gün aspirin kullanımı doğum anındaki plasental ablasyonu ve İUGG'yi azaltmıştır (27).

İUGG tanısı konan vakalarda doğum zamanının belirlenmesi ve doğumun şekli kritik önem taşır. Doğum, fetal akciğer maturasyonu sağlandıktan sonra ve komplikasyonlar başlamadan önce gerçekleştirilmelidir. Bu da haftada iki kez nonstres (NST) testi ve fizyolojik profille birlikte düzenli fetal monitorizasyonu gerektirir (11).

Doğumun indüklenmesi için bir kontraendiksyon olmamasına rağmen, İUGG'li fetusların asfiksiyi tolere etmedeki düşük kapasitelerinden dolayı bir

sezeryan düşünülebilir. Doğum sırasında bu yüksek riskli hastalarda fetal distresin en erken bulgularını belirlemek için elektronik olarak monitorizasyon gereklidir (11).

Obstetrik neonetal kombine takımı neonatal asfiksi eğiliminden dolayı doğumda zorunlu olarak hazır bulundurulmalıdır. Doğumdan sonra yenidoğan bebek konjenital anomaliler ve enfeksiyonlar açısından dikkatlice incelenmelidir. Kan glukoz seviyelerinin monitorizasyonu önemlidir. Çünkü fetuslar yeterli hepatik glikojen deposuna sahip değildir ve hipoglisemi yaygın bir bulgudur. Ayrıca hipotermi de bu infantlarda nadir değildir. Respiratuar distres sendromu, fetal distres varlığında daha yaygındır. Çünkü fetal asidoz, sürfaktan sentez ve salınımını azaltır (11).

2.1.7. İUGG PROGNOZU

İUGG'li infantların uzun dönem prognozları, büyüme geriliğinin değişik etiyojilerine göre değerlendirilmelidir. Kromozom anomalili, otoimmün hastalıklı, konjenital anomalili ve enfeksiyonlu yeni doğanlar hariç tutulursa bu yenidoğanlar için prognoz genellikle iyidir (11).

2.1.8. SİGARA ALIŞKANLIĞINI FETUSA ETKİSİ

Sigara alışkanlığının da gebelerde fetus üzerine çok yönlü zararları bilinmektedir. Sigara içmekle alınan kadmiyum fetal morbidite ve mortalitenin spesifik nedeni olmamakla beraber gebeliği etkileyebilir. Demir deposu yetersiz kadınlar da kadmiyum toksisitesi için risk gruplarıdır (28).

Dieter demir eksikliği kadmiyum absorpsiyonunu artırır ve normalde % 2-7 olan oral emilim oranı düşük demir depoları varlığında % 25-50'ye kadar çıkabilir. Kadmiyum toksik ve karsinojenik etkileri olan, vücutta biriken bir elementtir. Hücre içine kalsiyum kanalları yoluyla girer, sitoplazmik ve nükleer elemanlara bağlanarak hücre içinde birikir. Temel olarak tiol grubuna bağlanarak mitokondri fonksiyonlarını bozarak toksik etki gösterir. Gebelerde fetusun gelişimini etkilemekte, esansiyel iz elementler, hormonlar ve vitaminleri

etkileyerek normal metabolizmayı bozmaktadır (28). Bu nedenle İUGG oluşmasında sigaranın etkisi önemlidir.

2.1.9. HAMİLELİKTE EK VİTAMİN ALIMI

Gebelerde ve süt emzirenlerde vitaminlere olan gereksinim artması nedeniyle günlük alınan vitaminlerin artırılması gerekir. Vitamin E gibi bazı vitaminlerin yetersiz alınması durumunda prematür ve intrauterin gelişme geriliği görülebilir (29).

Vitamin gereksinimiyle birlikte bazı eser elementlere de ihtiyaç artmaktadır. Hamilelikte genellikle bazı eser elementleri içeren polivitamin preparatları kullanılmaktadır. Demir, çinko, bakır, mangan, magnezyum gibi eser elementlerin vitaminlerle birlikte kullanılmasında yarar vardır. İnsanın ihtiyacı olan demir gerekli miktarda alınmalıdır. Özellikle gebelikte fetusun gereksinimi olan demir anne tarafından alınmak zorundadır (30). Kadınlarda gebelik sayısı arttıkça demir eksikliği anemisi gelişme olasılığı artar. Çünkü fetus anneden yaklaşık 400 mg kadar demir alır (31).

Çinko ve bakır, kadmiyumun sitotoksitesine karşı koruyucu rollerini sitozoldeki partiküller veya yüksek molekül ağırlıklı kadmiyum fraksiyonunun birikimini azaltarak gösterebilirler (32). Esansiyel iz elementlerden olan çinko kadmiyumun teratojenik etkilerine karşı koruyucu olabilir. Bu koruyucu etki her iki elementin de aynı ligantlara olan kompetisyonu sonucu olabilir (33). Aynı şekilde magnezyum ve selenyum, kadmiyum toksitesini sipoprotektif etkilidirler (34).

Antioksidan özelliği olan (A, C, E gibi) vitaminlerin immüniteye olumlu etkileri vardır. C vitamininin vücutta çeşitli reaksiyonlarda indirgeyici görev yapmasının yanında midede ferri demiri ferro demire indirgeyerek emilimini kolaylaştırması, immünitedeki rolü ve antioksidan etkisi bilinmektedir (35).

2.2. ÇALIŞILAN PARAMETRELER

2.2.1. NİTRİK OKSİT

2.2.1.1. NİTRİK OKSİT HAKKINDA GENEL BİLGİLER

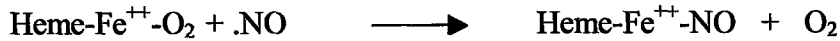
NO, endotel tarafından sürekli olarak sentezlenen suda eriyebilir bir gazdır. NO, çiftleşmemiş elektron özelliği ile bir serbest radikaldir, bundan dolayı süperoksid gibi diğer radikallerle son derece reaktiftir (4).

Oldukça toksik ve renksiz bir gaz olan nitrik oksit, yapı itibarıyla serbest radikal olduğundan yarı ömrü çok kısadır (2-30 sn) (5). NO, lipofobik özelliktedir ve oksijensiz ortamda oldukça stabildir. NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı biyoaktif hücre sekresyon ürünüdür (6).

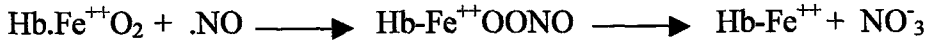
NO, diğer pek çok radikallere oranla daha dengeli olmasına rağmen, oksijen, süper oksit radikali ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek sonuçta sırasıyla NO₂, peroksinitrit (ONOO⁻) ve nitrat/nitrit (NO₃/NO₂) oluşturma eğilimine sahiptir (36).

Fizyolojik çözeltilerde dilue edilen NO'nun önemli 3 reaksiyonu vardır (37). Bu reaksiyonlar şunlardır:

1) Guanilat siklazı yapısında yer alan Heme molekülündeki ferro (Fe⁺⁺) ile nitrik oksitin bağlanmasıdır.

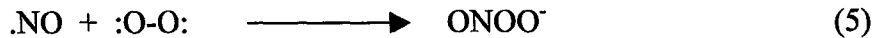


2) NO, oksihemoglobin veya oksimiyoglobin ile reaksiyona girer ve sonuçta nitrat oluşur. Bu, NO'nun in vivo olarak yıkımında izlenecek major yoldur.



Oluşan methemoglobin kırmızı kan hücrelerinde NADPH bağımlı mekanizmalarla indirgenmektedir .

3) NO, süperoksit (O₂⁻) ile geri dönüşümsüz reaksiyona girer. Bu reaksiyon sonucu güçlü bir oksidan olan peroksinitrit anyonu (ONOO⁻) oluşmaktadır:



NO, düşük konsantrasyonlarda çok yönlü biyolojik özelliklere sahiptir. NO sistemik dolaşım regülasyonunu sağlamakla kalmaz; kalp, karaciğer, beyin gibi organlarda lokal dolaşımında regüle eder (38). Damar endotelinden salgılanan NO etkisi damar düz kas hücrelerinde guanilat siklazın aktivasyonu

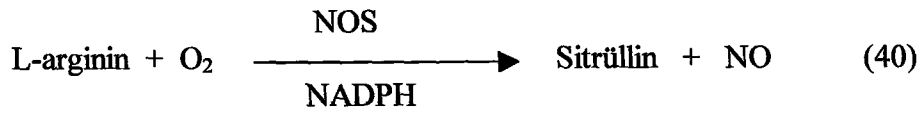
ile başlar, hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) konsantrasyonunun artışı ve düz kasların gevşemesi ile sonlanır (39). NO sempatik sinir terminallerinden norepinefrin algılanmasını inhibe etmesiyle ve güçlü bir konstrüktör peptid olan endotelin 1 inhibisyonu ile düz kas içindeki cGMP'yi arttırarak koroner ve pulmoner tonusu ayarlar (40).

Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. NO bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü olma özelliği kazanmaktadır (39). NO, bakteri, parazit, tümör gibi yabancı hücreler üzerine sitotoksik ve sitostatik etkisi vardır (41).

NO, damar duvarından girişi kolaylaştırarak ve endotelial yüzeyde inflamatuvar hücreleri kendine çekerek “sitokinler” adıyla tanıdığımız hücresel adezyon moleküllerinin sentezine engel olarak antinflamatuvar özellik gösterir (42, 43).

2.2.1.2. NİTRİK OKSİT OLUŞUMU

Nitrik oksit, kalsiyum–kalmodulin bağımlı enzim olan nitrik oksit sentaz tarafından endotel hücreleri içinde L-arjinin aminoasitinden devamlı olarak sentezlenir:



Bu reaksiyonu katalizleyen enzim nitrik oksit sentaz (NOS)'dir. NADPH, NOS için bir kosubstrattır. Yine flavin mononukleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve tetrahidrobiyopterin ise kofaktörlerdir (44).

NOS, fiziko-kimyasal özelliklerine göre iki gruba ayrılır:

1)Yapısal (konstitütif) nitrik oksit sentaz (cNOS): Bu izoformun ayırıcı özelliği, aktivitesinin $i\text{Ca}^{++}$ 'ye bağımlı olmasıdır. Özellikle damar endotel hücreleri, ürogenital sistem dokuları, santral ve periferik sinir sistemi nöronları, adrenal korteks ve medulla hücreleri, trombositler ve barsak interstisyumunda bulunmaktadır. Hücre içi $i\text{Ca}^{++}$ arttıran her türlü etkileşimde, kalsiyumun kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks (Ca^{++} -kalmodulin), cNOS'un aktifleşmesini sağlar ve

NO sentezlenir. cNOS izoformları iki kısımda incelenir ; nNOS (nöronal) ve eNOS (endotelyal)'dir.

1a) nNOS kaynaklı NO: Esas olarak sinir sisteminde bulunmakla beraber diğer dokulardada tespit edilmiştir. Nöronal tip sitozoliktir (45).

1b) eNOS kaynaklı NO: Düz kasların gevşemesini sağlayarak; kan basıncını, kan akış hızını, ve dolayısıyla kalp kasılmasını regüle eder. Trombositlerin, adezyon ve agregasyonlarını inhibe eder (46).

2) Uyarılabilir (inducible) NOS (iNOS): Bu izoformun aktivasyonu için ortamda iCa^{++} bulunması gerekmez. Özellikle başta makrofajlar (monosit, histiyosit, kupfer hücreleri vb.) hepatositler, damar düz kas hücreleri, damar endoteli, astrosit ve kondrositler tarafından üretilebilir. Enzim indüklendiği zaman NO üretimi uzun zaman devam eder. Özellikle nonspesifik immunitede rol oynar; bakteri, mantar, protozoon ve tümör hücrelerine sitotoksik ve sitostatik etki oluşturur. iNOS hücre içinde genel yapıda mevcut değildir, ancak bakteriyel ürünler ve sitokinler ile teması takiben bir çok doku ve hücre tipinde üretimi uyarılır (41).

Sitokinler tarafından aktive edilmiş makrofajların tükettiği L-argininin 1/3'ü NO üretmek için kullanılır. İnterferon (İFN), İL-1, TNF, endotoksin yada ekzotoksin gibi uygun bir stimulusun akabilinde iNOS gen transkripsiyonuyla uygun hücre tipinde indüklenir. Bu olay glukokortikoidlerle inhibe edilebilir (47).

2.2.2. SİTOKİNLER

Sitokinler, hücreler tarafından intrasellüler haberleşmeyi sağlamak için ve bu işlemi yaparken hücre içinde uygun ortamı kontrol etmek için kullanılan peptidlerdir. Bu moleküller; immun yanıt, inflamasyon, hemopoezis, yara iyileşmesi ve yaralanmaya sistemik cevapta önemli rolleri olan hücre tipleri tarafından üretilirler. Sitokinlerin çoğu, biyoassay ve immunoassay metodlar ile ölçülebilir (48).

100'ün üzerinde yapı ve genetik olarak birbirine benzemeyen sitokinler bulunmuştur. Molekülleri peptid veya glikoprotein yapısına sahiptir. Hedef hücrelere spesifik yüzey reseptörleri ile bağlanırlar. Endokrin hormonlar gibi özel bezlerde değil, değişik doku ve özelleşmiş hücrelerden salgılanırlar (7).

Sitokinlerin etkilerinin fonksiyonel olarak düzenlenebilmesi hücrel ve çözünür reseptörlerin varlığına bağlıdır. Bu reseptörlerin ekspresyonu spesifik etkilerle regüle edilir. Bunların üretimi geçici genetik transkripsiyonel aktivasyon ve kısa ömürlü mRNA'lar tarafından gerçekleştirilir. Sitokinler kısa ve küçük bir sitokin salınımı patlamasını andıracak tarzda hızla sekrete edilirler. Bu patlamalar özellikle sitokinlerin uzak aktivitelerini başarmaları için çok önemlidir. Genellikle sadece bir uyarılma neticesinde üretilirler (48).

Sitokinlerin nomenklaturünde bazıları yapısal benzerlikleri nedeniyle interlökin olarak isimlendirilir (7, 49).

2.2.2.1. İNTERLÖKİN 1 BETA (İL-1 β)

İL-1 aynı zamanda β -lenfosit aktivatör faktör, katalodin, endojen pirojen, epidermallerden salınan timosit aktivatör faktör, fibroblast aktivatör, hemoprotein-1, hepatist stimulating faktör (HSF), lökosit endojen mediatör, lenfosit aktivatör faktör, mononükleer hücre faktörü, osteoklast aktivatör faktör, proteoliz uyarıcı faktör ve serum amilod A uyarıcısı olarak bilinir (48).

İnterlökin 1 (İL-1) en çok makrofajlardan salgılanır. İmmunolojik ve inflamatuvar mediatördür ki akut faz reaktanlarındandır. Gram negatif bakterilerin salgıladığı endotoksinlerin etkisiyle makrofajlar TNF ve İL-1 ve diğer bazı sitokinlerin üretilmesine neden olur. TNF α , TNF- β ve İL-1 osteoklastları aktive eden faktörler arasında sayılmıştır. Ayrıca İL-1 kemik iliğinden nötrofillerin kana geçişini kolaylaştırır (7) .

Mikrobiyal infeksiyon hasarı, immunolojik reaksiyon, neoplastik oluşumlar ve yangıda İL-1, İL-1 α ve İL-1 β olmak üzere iki farklı form olarak hücreler tarafından üretilir (50).

İL-1 α ve İL-1 β 'nin biyolojik aktivitesi ve potansiyelleri ve bağlandıkları yüzey proteinlerine olan affiniteleri benzerlik göstermektedir. Birçok hücre her iki İL-1 genlerini taşır fakat ortalama salgılanmaları geniş oranda farklılık gösterir. Örneğin human monositler daha çok İL-1 β yapımında etkili iken keratonistler genellikle İL-1 α yapımında görevlidir (7) .

2.2.2.2. İNTERLÖKİN 2 RESEPTÖR (İL-2R)

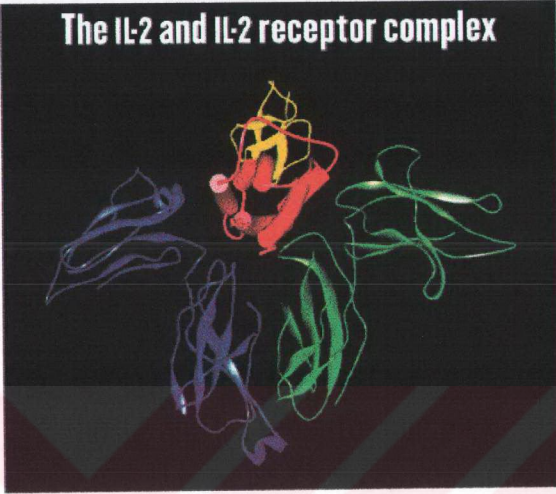
İL-2 primer olarak T lenfositlerinde sentezlenir ve salınır (51). Bu interlökin aynı zamanda T hücre büyüme faktörü olarak bilinir (TCGF) (48). İL-2 üreten başlıca hücreler şunlardır: Timositler, gama ve delta T hücreleri, B hücreler, CD4 ve CD8 T hücreleri, nöronlar ve astrositler (51) ve mast hücreleride İL-2 üretebilirler (48).

İL-2 biyolojik etkisini spesifik membran reseptörlerine bağlanarak gösterir. Dinlenme halindeki T hücrelerinde İL-2R bulunmaz, ancak antijen yada mitojenlerin aktivasyonundan sonra T hücrelerinde İL-2R ortaya çıkar. İL-2R immun cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynar. İL-2'nin T lenfosit yüzeyindeki reseptöre bağlanması istirahat halindeki hücrenin aktivasyonu ve sonuçta Helper supressor ve sitotoksik hücrelerin gelişeceği T hücre proliferasyonu ile sonuçlanan bir çok intrasellüler olayı başlatır (7, 52, 53, 54).

İL-2R, 3 tane polipeptit zincirinin nonkovalent olarak bağlanması ile oluşur. Bunlar α , β ve γ 'dır (48) (Şekil 1) (55). İL-2'nin biyolojik aktivitesi, multisubunit hücresele reseptörlere bağlanması ile gerçekleşir (51).

Bunlardan α subünitesi İL-2'ye spesifik olmasına rağmen affinitesi düşüktür ve sinyal yeteneği yoktur. β subünitesi üzerinde asitçe zengin, serince zengin ve proline zengin sinyal bölgeleri vardır. γ subünitesi aktiftir. β ve γ zincirleri sinyal iletimi için sitoplazmik bölgelerle etkileşime girer. γ zinciri; İL-4 (tip 1), İL-7, İL-9, İL-15 gibi diğer interlökinlerde de bulunur. Bu üç ayrı subünitenin varlığı kendi aralarında farklı kombinasyonlara yol açar, ki bu da sinyal iletiminde önemlidir. Embriyonik fibroblastlarla yapılan çalışmalar γ subünitesinin eksikliğinin fizyolojik cevabı etkilediğini göstermiştir (51).

The IL-2 and IL-2 receptor complex



Şekil 1: İL-2 ve İL-2 reseptör kompleksi. İL-2 şemada kırmızı renkli, α reseptör zinciri mor, β zinciri sarı ve γ zinciri yeşil renkle gösterilmiştir (55).

İstirahatteki T hücreler, β hücreler, büyük granüler lenfositler ve monositler yüzeylerinde anlamlı sayıda reseptör eksprese etmezler. Aktif olduklarında hücre yüzeyinde reseptör molekülleri eksprese olur ve çözünür İL-2R salgılanır. Bu çözünür İL-2R'nin sağlıklı bireylerin serumunda düşük seviyede, neoplastik hastalıklar ve otoimmün bozuklukları da içine alan bir çok hastalıkta belirgin düzeyde yüksek bulunduğu gösterilmiştir (7, 49).

İL-2'nin bol miktarda üretimi gebelik, multipl myeloma, ARA ve kronik romatizmal kalp hastalıklarında görülür (48).

İL-2 ve İL-2R monitorizasyonu ve kullanımı tanı ve tedavide önemlidir. İL-2 antikanserojen olarak kullanılmaktadır, çünkü İL-2 tümör hücrelerini saldıran tümör infiltrating lenfositlerin aktivitesini ve proliferasyonunu stimüle eder. İL-2 ve İL-2R antikorları otoimmün hastalıkların suprese edilmesinde ve rejeksiyonun önlenmesinde önemlidir (48).

2.2.2.3. İNTERLÖKİN 6 (İL-6)

İL-6 çok değişik biyolojik etkileri olan bir immun sistem medyatörüdür. T lenfositleri aktive ederken, B lenfositleri için bir farklılaşma faktörü olarak rol oynar. İL-6, İL-2 varlığında T hücrelerini sitotoksik T hücrelerine farklılaştırır ve timositlerin proliferasyonunu indükler. Artmış İL-6 serum düzeyleri, sepsis, otoimmün hastalıklar, lenfomalar, enfeksiyon ve transplant reddi gibi durumlarda gözlenir (56).

İL-6; T ve B lenfositler, monositler/makrofajlar, fibroblastlar, endotel hücreleri, epitel hücreleri, mast hücreleri, nöron hücreleri, astrositler, mikrogliyal mezansimal hücreler, osteoblastlar, epidermal langerhans hücreleri, dentritik hücreler ve keratinositleri içine alan çok yaygın bir hücre grubu tarafından sekrete edilirlir (49, 57, 58, 59, 60, 61).

İL-6'nın B lenfositler, hepatositler, T lenfositler ve naturel killer hücreler, ve diğer tipte hücreler ve endotel hücreleri üzerine etkileri vardır. Ayrıca kemotaksis, immunoinflamatuar reaksiyonlar, ateş, nörendokrin aksis üzerine de etkileri vardır (48).

Gr(-) bakteri enfeksiyonu inflamatuvar reaksiyonları takiben sirkülasyonda İL-6 seviyesi artar. Deneysel olarak bakteriyel sepsis oluşturulan hayvanların veya sepsisli hastaların serumlarında İL-6 tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar İL-6'nın virus enfeksiyonlarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bu da koruyucu etkisini en azından kısmen nötrofiller üzerinden yaptığını göstermektedir (49, 62, 63). Bu tür durumlarda kanda en kolaylıkla ölçülebilecek sitokinlerden biri şüphesiz İL-6'dır. Düşük ve yüksek düzeyde yüksek dansiteli lipoproteinlere sahip hayvanlardan elde edilen tam kanda, proinflamatuvar sitokinlerin (İL-1 β , İL-6, İL-8 ve TNF α) lipopolisakkaritlere duyarlılığı farklıdır. Bu da inflamasyon ve aterosenezdeki önemini göstermektedir (64).

İL-6 bir çok hücre tipi için otokrin bir büyüme faktörü olduğundan dolayı bunun yüksek üretimi; plazmasitoma, multipl myeloma, uterus servikal karsonomi ve kaposi sarkoma gibi bir çok malignensi ile birliktelik göstermektedir (49, 65).

Cerrahi girişimler, tümör gelişimi, otoimmün hastalıklar, infeksiyöz hastalıklar ve diğerlerinin de içine alan hem lokal hem de sistemik hastalıkların

patogenezinde seyreden bazı hastalıklar ile normal deride İL-6'nın aktivitesinin olduğu düşünülmüştür (61, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73).

2.2.2.4. İNTERLÖKİN 8 (İL-8)

Proinflamatuvar sitokinler ailesinin bir üyesi olan İL-8 pek çok inflamatuvar durumda önemli rol oynar. Psoriasis, kistik fibröz, idiyopatik pulmoner fibrozis, romatoid artrit ve plözilerde artmış İL-8 düzeyleri rapor edilmiştir (56).

İnterlökin 8 (İL-8), proinflamatuvar sitokinler olarak isimlendirilen kemokin ailesinin bir üyesidir. Nötrofiller için kemoatraktandır. Monositler, epitelial hüceler, hepatositler, fibroblastlar, kondrositler ve endotelial hücreler tarafından üretilir. Bu hücrelerin İL-8 salgılanmasında İL-1 ve TNF'nin stimülasyon rolü vardır (8).

İL-8 kemokin ailesinin bir üyesi olup (7, 49) molekül ağırlığı 8000 olan İL-8 nonglikosile bir proteindir. Önemli biyokimyasal fksiyonlarından biri nötrofiller için kemoatraktan olmasıdır. Bu nedenle daha önce nötrofil aktive edici protein (NAP-1), nötrofil aktive edici faktör (NAF) ve monosit derive nötrofil kemotaktik faktör (MDNCF) olarak da isimlendirilmiştir (74).

İL-8 ilk olarak monositlerden pürifiye edilmiş ve proteinin major kaynağı olarak bu hücreler olduğuna inanılmıştır (75, 76). Daha sonra endotelial hücreler, epitelial hücreler, hepatositler, fibroblastlar ve kondrositlerin de İL-8 ürettiği görülmüştür (77, 78).

İL-8 dolaşımdaki nötrofilleri uyarır ve diğer yandan da bu hücreleri dokulardaki daha ileri kemotaktik gradiyanlara karşı desensitize eder (79).

İL-8 birçok inflamatuvar olayda rol oynar. Psöriasis, kistik fibrozis, pulmoner fibrozis ve romatoid artrit gibi bir çok hastalıkta İL-8 düzeyinin arttığı gözlenmiştir (48).

2.2.2.5. TÜMÖR NEKROTİZAN FAKTÖR ALFA (TNF α)

TNF α eskiden kaşektin, sitotoksin, sitotoksik faktör, farklılaşmayı inhibe edici faktör, hemorajik faktör, makrofaj sitotoksik faktör ve nekrosin gibi adlarla bilinirdi (48).

TNF α primer olarak aktive olmuş monositler, makrofajlardan ve daha az bir miktarda aktive olmuş T hücreler, B hücreler, naturel killer hücreler, mast hücreleri, endotelial hücreler, fibroblastlar, keratinositler, mikroglia, astrositler, kuppfer hücreleri, düz kas hücreleri, sinoviyal yüzeyi döşeyen hücreler ve bazofiller gibi diğer birçok hücre tipi tarafından üretilir (49, 54, 57, 60, 65, 80, 81, 82).

TNF α ; bakteriye, virüslere, protozoalara, bazı sitokinlere (GM-CSF, İL-1, İL-2, İFN γ , TNF α kendisi), immün komplekslere, kompleman komponent C₅, nöropeptid substans P'ye ve reaktif oksijen intermediatlarına cevap olarak salınır (48).

TNF α , üretimi İL-10, TGFB, siklosporin A, PGE₂ dekzametazon, ibuprofen, metilprednizolon ve pentoksifiline tarafından inhibe edilir (48).

TNF α hem spesifik hem de non-spesifik biyolojik cevapların medyatörleridir ve immün ile inflamatuvar reaksiyon arasında önemli bir bağlantıdır. Ancak TNF'ler iki ucu keskin kılıç gibidir, bu sitokinlerin kontrolsüz fazla üretimi kötü katabolik etkilere (örneğin: kaşeksi), doku hasarına ve ölüme yol açabilir (60, 63, 65, 82).

Düşük konsantrasyonlarda TNF'lerin lokal etkileri olarak endotel hücrelerinde adhezyon moleküllerin adhezyonu ve dolayısıyla inflamasyonun lokal bölgesinde lökositlerin birikimi, muhtemelen TNF'lerin en önemli lokal fizyolojik etkisidir. TNF α , inflamator lökositlerin mikroorganizmalar yada tümör hücrelerine karşı savaşmaları için aktivasyonunu (özellikle nötrofiller için etkindir, fakat ayrıca eozinofiller ve mononükleer fagositler içinde) sağlar. Mononükleer fagositler ve diğer hücre tiplerince sitokin sentezinin (İL-1, İL-6, TNF α kendisi, CK'lar) uyarır. Ayrıca virüslere karşı interferon benzeri koruyucu etkisi vardır (48).

2.3. ÇALIŞMALARIN YENİ HEDEFLERİ

Gelişmekte olan ülkelerdeki İUGG oranını gelişmiş ülkeler düzeyine (% 3-10) indirmek öncelikli hedefdir. Bu konuda yapılan bir araştırma ülkemizdeki İUGG oranının gelişmiş ülkelerdeki sıklıkta olduğunu ortaya koymuştur (3). Ancak ülkemizde istatistik kayıtlarının kapsamlı ve yeterli olmadığı bilinmektedir. Yorum yaparken bunu gözönüne alırsak çalışmaların daha geniş bir popülasyonda yapılması gereği ortadadır.

İUGG ile ilgili çok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Amaç, etiopatogenezi çok yönlü olarak aydınlatmak ve dolayısıyla olanakları kullanarak İUGG morbidite, mortalite ve insidansını azaltmaktır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

Çalışma gruplarımız Turgut Özal Tıp Merkezine ve Malatya Devlet Hastanesine doğum için başvuran gebelerden oluşturuldu. Son menstürasyon tarihini hatırlayamayanlar ya da ultrasonik inceleme yapılmadığı için muhtemel doğum tarihi hesaplanamayanlar incelemeye alınmadı. Anamnezden önce çalışma gruplarımıza katılmayı reddedenler çalışma dışında bırakıldı. Metabolik, immünojenik, endokrinolojik, yahut sistemik hastalık anamnezi olanlar parametrelere etkileyebileceği endişesiyle çalışma dışı bırakıldı. Düzensiz ve az olsa bile alkol veya ilaç alışkanlığı olanlar çalışma grubuna alınmadı. Tansiyonu yüksek olanlar gruplara alınmadı. Hiç ilaç kullanmayanlarla ek vitamin ve/veya mineral alanlar çalışma grubumuza dahil edildi. Bunların içinde günde 3 taneden fazla sigara yahut sarma tütün içenler ile hiç sigara içmeyenler belirlendi. Kaçmıcı doğumu yapacağı soruldu. Boyu ve kilosu ölçüldü. Doğum zamanına kadar beklendi.

Doğum esnasında göbek kordonundan 10 ml kan alındı. Doğumdan sonra annelerden 10 ml venöz kan alındı. Doğan bebeklerin ağırlıkları belirlendi ve boyları ölçüldü; 2200 gr'dan az olan 12 tanesi İUGG grubu, sağlıklı ve kilosu normal bebek doğuran 90 anne kontrol grubunu olmak üzere toplam 102 gebenin kanları alındı. Göbek kordonundan alınan kanlar ve doğumdan hemen sonra anneden alınan kanlar deiyonize edilmiş kapaklı tüplere alındı, 3000 devirde 10 dakika santrifüje edildi, serumu deiyonize tüplere ayrıldı, iyonize kalsiyum çalışıldı, kalan serumların tüp kapakları kapatılarak derin dondurucuda (-20°C'de) analiz gününe kadar saklandı.

3.1.1. ANNELER VE BEBEKLERİNE AİT BİLGİLER

Anne ve bebeklere ait bilgiler tablolarda gösterildi. Tablolarda sütun başlarında kısaltmalar kullanıldı. Sıra no (No), anne adı soyadının ilk harfleri (AD), anne yaşı (YAŞ), sigara sigara içen anne (S+), annede sarma tütün içme alışkanlığının olması (T+), anne kaç yıldan beri sigara içiyor (SÜRE), annenin günde içtiği sigaranın ortalama sayısı (GÜN), annenin ek vitamin ve/veya

mineral alıp almadığı (VİT), bebek boyu, bebek ağırlığı (BEBEK KG) ve annenin kaçınıcı doğumu olduğu (DOĞUM SAYISI) sütunlarda kısaltılmış başlık olarak kullanılmıştır.

3.1.1.1. KONTROL GRUBUNDAKİ ANNE VE BEBEKLERE AİT BİLGİLER

Normal bebek doğuran annelerden oluşan kontrol grubundaki 90 anne ve bebeklerine ait bazı tanımlayıcı özellikler Tablo 1’te verilmiştir.

Tablo 1: Kontrol grubundaki anneler ve bebeklerine ait bilgiler.

No	AD	YAŞ	BOY	KG	S+	T+	SÜRE	GÜN	VİT	BEBEK BOYU	BEBEK KG	DOĞUM SAYISI
1	E.I	29	1,70	62		-	-	-	+	51	3,7	2
2	N.A	19	1,62	64		-	-	-	-	50	3,5	1
3	L.Y	31	1,50	57		-	-	-	-	50	3,5	3
4	M.D	25	1,66	74		-	-	-	+	50	4	4
5	A.Ç	25	1,59	60	+	-	10	8	-	50	3	3
6	H.İ	29	1,64	61		-	-	-	-	48	3,3	1
7	H.G	23	1,62	60	+	-	8	5	-	48	3	2
8	G.Ç	18	1,65	60		-	-	-	-	48	3,2	1
9	S.D	19	1,60	63	+	-	7	20	+	50	3	1
10	Ş.G	19	1,62	57		-	-	-	+	52	3,7	1
11	Z.K	22	1,64	56	+	-	3	5	-	50	3,6	1
12	R.M	26	1,67	65	+	-	4	1-2	+	52	3,6	4
13	G.D	27	1,58	68		-	-	-	-	50	3,5	2
14	B.A	35	1,65	64		-	-	-	-	50	3,1	5
15	G.G	21	1,60	59	+	-	4	3	-	49	3	1
16	Z.K	25	1,48	63		-	-	-	-	50	3,6	2
17	E.Ö	27	1,57	67		-	-	-	-	48	3	1
18	N.K	21	1,66	70		-	-	-	-	49	3	2
19	Y.A	18	1,64	65	+	-	5	4-5	+	49	3	1
20	A.G	29	1,60	61	+	-	7	6	+	48	2,9	3
21	M.G	21	1,68	67		-	-	-	+	50	3,5	2
22	R.G	23	1,62	63		-	-	-	+	50	3	1
23	H.Ö	30	1,55	58		-	-	-	-	50	4	2
24	A.İ	26	1,72	70		-	-	-	-	54	3,4	2
25	D.K	26	1,63	65		-	-	-	-	50	3,5	2

No	AD	YAŞ	BOY	KG	S+	T+	SÜRE	GÜN	VİT	BEBEK BOY	BEBEK KG	DOĞUM SAYISI
26	R.S	24	1,60	68		-	-	-	-	49	3	3
27	C.K	28	1,61	60		-	-	-	-	50	3	3
28	T.Y	32	1,63	67		-	-	-	+	49	3	1
29	H.E	24	1,54	65		-	-	-	-	50	3,5	3
30	S.T	22	1,70	69		-	-	-	+	50	3,7	1
31	Ş.A	36	1,68	62		--	-	-	+	50	3,9	4
32	S.K	25	1,59	64		-	-	-	-	50	3,5	1
33	A.K	22	1,66	73		-	-	-	-	50	3,5	2
34	N.A	32	1,60	65		-	-	-	+	53	4,7	2
35	S.D	31	1,69	72	+	-	15	5-6	-	50	4	3
36	E.T	20	1,59	64		-	-	-	-	50	3,6	1
37	R.K	24	1,67	70	+	-	5	1-2	+	50	3,8	2
38	E.A	36	1,62	72		-	-	-	-	50	4,2	5
39	G.A	22	1,67	75		-	-	-	-	50	3	3
40	A.B	35	1,63	57		-	-	-	-	50	3,6	5
41	Z.İ	30	1,59	61		-	-	-	-	50	4	2
42	M.K	29	1,67	64		-	-	-	+	50	3,2	1
43	S.K	30	1,70	62	+	-	15	6-7	-	50	3	1
44	F.B	32	1,52	65		-	-	-	-	52	3,3	2
45	M.A	20	1,64	58	+	-	8	8	+	50	3,5	3
46	H.E	24	1,62	76		-	-	-	-	50	3,6	3
47	Z.A	23	1,60	61		-	-	-	-	49	3,5	1
48	S.A	19	1,64	72		-	-	-	+	50	3	1
49	E.A	20	1,50	56		-	-	-	-	50	3	1
50	R.A	23	1,60	60		-	-	-	+	50	3,2	1
51	Z.G	24	1,65	58		-	-	-	+	50	3,5	2
52	A.Ö	23	1,62	62		-	-	-	-	50	3,7	1
53	N.K	25	1,60	71		-	-	-	+	50	3,5	3
54	T.A	30	1,64	60	+	-	10	5	-	50	3,8	1
55	Z.S	24	1,65	66		-	-	-	-	50	3,3	2
56	A.K	23	1,68	60		-	-	-	+	49	3,5	2
57	T.A	32	1,69	60		-	-	-	-	50	3,5	1
58	G.İ	33	1,64	56		-	-	-	-	50	3,6	1
59	Y.P	20	1,67	62		-	-	-	-	48	3,2	1
60	D.K	26	1,61	68	+	-	3	4	-	50	3,5	2
61	N.K	23	1,59	64		-	-	-	+	50	3,2	3
62	S.G	30	1,54	60		-	-	-	+	50	3,5	3
63	D.K	17	1,62	63		-	-	-	+	49	3	1
64	H.Ö	25	1,57	75		-	-	-	-	50	3,2	1
65	G.Ç	40	1,62	72		-	-	-	-	52	4	8
66	Y.Ç	24	1,67	64		-	-	-	-	52	3,5	1
67	A.Y	30	1,56	61	+	+	10	5	-	50	4	2
68	S.U	27	1,54	71		-	-	-	+	50	3,8	1

No	AD	YAŞ	BOY	KG	S+	T+	SÜRE	GÜN	VİT	BEBEK BOY	BEBEK KG	DOĞUM SAYISI
69	B.Ç	28	1,70	78		-	-	-	+	50	3	2
70	M.Ç	36	1,60	58		-	-	-	-	50	4	2
71	B.E	26	1,67	57	+	-	6	2	-	50	4	2
72	T.Y	32	1,63	72		-	-	-	+	49	3	1
73	A.K	23	1,68	77		-	-	-	-	50	3,7	3
74	H.K	25	1,62	62		-	-	-	+	50	3,5	2
75	A.H	20	1,65	62	+	-	3	2	-	50	3,2	1
76	N.G	30	1,56	65		-	-	-	+	50	3,5	1
77	L.Ç	23	1,62	59		-	-	-	+	50	3,5	3
78	Y.E	26	1,58	61		-	-	-	-	50	3	4
79	A.A	20	1,64	65		-	-	-	-	50	3,5	2
80	Ş.T	24	1,71	82	+	-	5	2	-	50	3	3
81	C.Ç	27	1,62	75	+	-	9	5	+	50	4,4	2
82	Y.A	28	1,65	60		-	-	-	-	52	3,9	4
83	Ş.B	25	1,62	66		-	-	-	-	50	3	6
84	N.Ç	20	1,52	64		-	-	-	+	50	3,6	5
85	M.Y	19	1,56	89	+	-	7	4	-	48	3	4
86	K.Ç	28	1,69	56	+	-	11	5	-	50	3,5	2
87	N.A	26	1,59	72		-	-	-	-	50	4	4
88	S.A	27	1,61	67		-	-	-	+	48	3,2	1
89	S.Ö	25	1,64	74		-	-	-	+	50	3,5	1
90	A.G	28	1,65	88	-	-	-	-	-	50	3,5	2

Kontrol grubuna ve İUGG grubuna annesi ve bebeği sağlıklı olmayanlar dahil edilmemiştir. Hiç ikiz vakası yoktur.

3.1.1.2. İUGG GRUBUNDAKİ ANNE VE BEBEKLERE AİT BİLGİLER

İUGG olan bebek doğuran annelerden oluşan kontrol grubundaki 12 anne ve bebeklerine ait bazı tanımlayıcı özellikler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: İUGG olan bebekler ve annelerinin bazı tanımlayıcı özellikleri.

No	AD	YAŞ	BOY	KG	S+	T+	SÜRE	GÜNDE	VİT	BEBEK BOYU	BEBEK KG	DOĞUM SAYISI
1	S.S	23	1,60	56	-	-	-	-	+	35	1,7	1
2	M.Ş	30	1,56	62	-	-	-	-	-	48	2,4	3
3	K.Ö	19	1,50	57	-	-	-	-	-	46	2,2	1
4	A.D	27	1,59	70	-	-	-	-	-	47	1,5	2
5	Y.G	24	1,64	65	-	-	-	-	-	42	1,4	1
6	G.M	23	1,65	64	+	-	6	5	-	48	2,4	2
7	S.P	24	1,68	59	-	-	-	-	+	49	2,3	1
8	E.H	40	1,55	62	-	-	-	-	-	49	2,4	5
9	Y.Ş	29	1,62	68	-	-	-	-	-	48	2,3	2
10	E.K	27	1,60	66	-	-	-	-	+	48	2,4	3
11	A.G	26	1,56	63	-	-	-	-	-	49	2,4	2
12	M.G	32	1,60	68	-	-	-	-	-	47	2,1	2

3.2. METODLAR

NO₂ ve NO₃ analizi için gerekli çözeltileri laboratuvarımızda hazırlayıp spektrofotometrede çalıştık, ve NO değerlerini hesaplayarak bulduk İL-1β, İL-2R, İL-6, İL-8 ve TNFα ticari kitler kullanılarak kemiluminisans yöntemiyle çalıştık.

3.2.1. NİTRİT VE NİTRAT ANALİZİ

NO spontan olarak oksitlenir, NO₂ ve NO₃'e dönüşür. Bu nedenle NO₂ ve NO₃ çalışılacak, NO ise hesaplamayla bulunacaktır.

3.2.1.1. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

1) **Glisin-NaOH tamponu:** 7,5 gram glisin (Sigma) bir 100 ml kadar deiyonize suda çözüldü. 3,2 gr NaOH tartılıp 40 ml suda çözüldü. Hazırlanan bu NaOH solüsyonu ile glisin pH sı 9,7'ye ayarlandı. Daha sonra çözelti 500 ml'ye tamamlandı. Bu tampon çözelti 4-8°C'de buzdolabında saklanarak bir ay içinde kullanıldı .

- 2) **Sülfanilamid Çözeltisi:** 66,2 ml 3M HCl alınıp bir mezür içerisinde hacmi 250 ml'ye tamamlandı. Bu çözelti içine 2,5 gr sülfanilamid (Sigma) eklendi. Sülfanilamid sıcak HCl içinde iyice çözüldü. Bu çözelti oda sıcaklığında saklandı.
- 3) **N-Naftiletilen diamin (NNDA) çözeltisi:** 50 mg NNDA (Sigma) tartıldı, 250 ml deiyonize suda çözüldü. Bu çözelti, 0-8°C'de iki ay süreyle kullanıldı.
- 4) **Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi:** 55 mmol/L'lik NaOH (Merck) çözeltisi hazırlandı, sonra bu çözeltiden 1,1 gr alınıp 500 ml'ye tamamlandı.
- 5) **Bakır sülfat (CuSO₄) çözeltisi:** 5 mmol/L'lik CuSO₄ çözeltisi hazırlandı ve bu çözeltiden 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.
- 6) **Çinko sülfat (ZnSO₄) çözeltisi:** Hazırladığımız 75 mmol/L'lik ZnSO₄'tan 10,8 gr alınıp 500ml'ye tamamlandı.
- 7) **Standart sodyum nitrit (NaNO₂) çözeltileri:** 1 mM'luk stok NaNO₂ (Sigma) çözeltisi hazırlandı, bu kullanılarak 100, 50, 25, 10, 5 µmol konsantrasyonlarında nitrit standartları hazırlandı. Nitrit standartları hazırlanırken çözücü olarak konsantrasyonu 10 mmol/L olan Na₂B₄O₇ çözeltisi kullanıldı.
- 8) **Standart potasyum nitrat (KNO₃) çözeltileri:** 1 mM'luk stok KNO₃ (Sigma) çözeltisi hazırlandı, bu çözelti kullanılarak 100, 50, 25, 10, 5 µmol konsantrasyonlarında nitrat standartları hazırlandı. Nitrat standartları hazırlanırken çözücü olarak konsantrasyonu 10 mmol/L olan Na₂B₄O₇ çözeltisi kullanıldı.
- 9) **Kadmiyum Granüllerinin Hazırlanması:** Kadmiyum granülleri (Fluka) bir tel kesici kullanılarak 20-40 mg'lık küçük parçalara bölündü. 0,1 mol/L'lik H₂SO₄ (Merck) çözeltisi içinde muhafaza edildi.

3.2.1.2. NİTRİK OKSİT ANALİZDE KULLANILAN ARAÇ VE

GEREÇLER

Çalışmada santrifugasyon için Hermle marka Z 383 K model santrifüj kullanıldı.

Kan örneklerinin serumu, deiyonize hale getirilmiş kapaklı polipropilen tüpler içine aktarıldıktan sonra -20°C'de derin dondurucuda analiz gününe kadar

saklandı. Nitrit ve nitrat ölçümleri, Cortas ve arkadaşlarının modifiye metoduna göre (83) spektrofotometrik yöntemle Milton Roy firması yapımı Spectronic 20 D kullanarak yapıldı.

3.2.1.3. NİTRİK OKSİT DENEYİNİN YAPILIŞI:

Serumların deneye hazırlanması: Derin dondurucudan çıkarılan numuneler oda sıcaklığında bekletilerek çözünmesi sağlandı.

Deproteinizasyon: Çözülen serumlar deproteinizasyon işlemine tabii tutuldu. Bu işlem için her bir serumundan 0,5 ml alınıp üzerine 2 ml ZnSO₄ çözeltisi ve 2,5 ml NaOH çözeltisi eklendi. Böylelikle elde edilen deproteinize serum 10 kez sulandırılmış oldu Karışım vortekslenip iyice karışması sağlandı. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi, 3500 g'de 10 dakika santrifüje edildi. (83). Proteinler çöktürülerek, süpernatant kısmı ayrıldı. Bu süpernatantlar deneyin bir sonraki aşamasında numune olarak kullanıldı.

Nitrit deneyinin yapılması ve nitrit standartları çalışması: Numuneler ve standart çözeltiler olarak hazırladığımız 5 µmol, 10 µmol, 25 µmol, 50 µmol ve 100 µmol'lük nitrit çözeltileri (S₁, S₂, S₃, S₄, S₅) Tablo 1'deki şekilde tüplere (ml hacimde) pipetlendi.

Tablo 1: Nitrit çalışması şeması.

	Kör tüp	Numune tüpü	S ₁ 5 µmol	S ₂ 10 µmol	S ₃ 25 µmol	S ₄ 50 µmol	S ₅ 100µmol
Numune	-	2	-	-	-	-	-
NNDA	1	1	1	1	1	1	1
Sülfonilamid	1	1	1	1	1	1	1
Distile su	2,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Nitrit çözelt.	-	-	2	2	2	2	2

Pipetlemeden sonra tüpler vortekslendi ve 45 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı (84). İnkübasyonda sülfonilamid, NNDA ve nitritle pembe renkli kompleks oluştu. Bu renkli kompleksin nitrit konsantrasyonunun

artmasıyla koyuluğu fazlalaştı. Bunların optik dansiteleri spektrofotometrede 545 nanometrede köre karşı okundu. Standartların konsantrasyonu bilindiğinden optik dansite değerleri kullanılarak faktör hesaplandı. Faktör, numunelerin optik dansiteleri ve dilüsyon oranları kullanılarak nitrit konsantrasyonları belirlendi.

Kadmiyum granüllerinin deneye hazırlanması: Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu için 12 saat süreyle 0,1 mol/L'lik H₂SO₄ içinde muhafaza edilen kadmiyum granülleri rejenere edildi. Asitten çıkarıp deiyonize su ile 3 kere yıkanarak asidi uzaklaştırıldı. Üzerine 2 ml CuSO₄ çözeltisi konulup 2 dakika bekletildi. Glisin-NaOH tamponu ile 3 kere durulandı. Kurutma kağıdı kullanılarak kurutuldu. Nitrat deneyinde kullanmaya hazır duruma getirildi (85).

Nitrat çalışması: Numuneler ve standart çözeltiler olarak hazırladığımız 5 µmol, 10 µmol, 25 µmol, 50 µmol ve 100 µmol'lük nitrat çözeltileri (S₁, S₂, S₃, S₄, S₅) Tablo 2'deki şekilde tüplere (ml hacimde) pipetlendi.

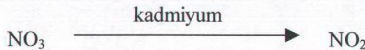
Tablo 2: Nitrat çalışması şeması.

	Kör tüp	Numune tüpü	S ₁ 5 µmol	S ₂ 10 µmol	S ₃ 25 µmol	S ₄ 50 µmol	S ₅ 100µmol
Numune	-	1	-	-	-	-	-
Glisin-NaOH	1	1	1	1	1	1	1
H ₂ O	3	2	1	1	1	1	1
Nitrat çözelt.	-	-	2	2	2	2	2
Kadmiyum	2,5-3gr	2,5-3 gr	2,5-3 gr	2,5-3 gr	2,5-3 gr	2,5-3 gr	2,5-3 gr

90 dakika oda sıcaklığında bekletildi, nitratlar nitrite dönüştü; deneye devam edildi.

H ₂ O	2,5 ml	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sülfonilamid	1	1	1	1	1	1	1
NNDA çöz.	1	1	1	1	1	1	1

Bakır kaplı kadmiyum granülleri nitratları nitrite dönüştürdü:



Tüpler vortekslendi, 45 dakika oda sıcaklığında bekletildi, 545 nanometrede optik dansiteleri okundu. Dilüsyon miktarları ve standart

çalışmalarıyla hesaplanan faktör kullanılarak toplam nitrit değerleri hesaplandı. Toplam nitrit düzeyleri NO değerleri olarak değerlendirildi (86). Bulunan değerler kullandığımız yöntemden dolayı göreceli (arbitrary) değerler olup sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ cinsinden belirlenmiştir.

NO, biyolojik sistemlerde üretildikten sonra çok kısa sürelerde NO_2 , ardından NO_3 'a oksitlenir. NO_3 formu, NO türevlerinin en kararlı yapısıdır. Stabil bir yapıda olmaması nedeniyle, NO direkt ölçmek oldukça zordur. Bu yüzden numunede bulunan NO_3 'ı NO_2 formuna redükleyerek ortamda bulunan toplam NO_2 formu ölçülür (86). Toplam NO_2 , ilk ölçülen NO_2 değeri ile NO_3 değerinin toplamıdır.

3.2.2. SİTOKİNLERİN ANALİZİ

İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8, ve $\text{TNF}\alpha$ testleri için Diagnostik Products Corporation (DPC)/Los Angeles firmasının ürettiği ticari kitler ve bu kitleri kemiluminisans yöntemle çalışan Immulite One model otoanalizör kullanıldı.

Immulite system testlerinin çalışma yöntemi, solid fazda çalışan iki basamaklı immünetrik yöntemlerdir. Immulite test ünitesinde, polistiren boncuktan oluşan bu solid faz kitler bir antiligand ile kaplıdır. Serumlar direkt olarak numune şeklinde kullanılmaktadır. Bu numuneler, alkalin fosfataz konjuge monoklonal antikor ve ligand-labeled antikor 37°C 'de 30-60 dakika süreyle, aralıklı çalkalanarak inkübe edilirse numunedeki interlökinlerin herbirisi, sitokin molekülünün farklı epitoplarmı tanıyan bu iki antikor ile sandviç kompleksi oluşturur. Sandviç, ligand-anti-ligand köprü ile solid faza bağlıdır. Bağlanmamış konjugant, santrifüj ve yıkama ile ayrılır ve substrat eklenerek test ünitesi 10 dakika daha inkübe edilir. Kemiluminisan substrat, adamantil dioksitan'ın fosfat esteridir ve alkalin fosfataz ile hidrolize olarak unstabil intermediate oluşur. Bu intermediate'in devamlı üretimi ışık emisyonunu sürdürür ve multipl okumalar için pencere oluşmasını sağlar. Bağlı kompleks, böylece luminometre ile ölçülen foton salınması numunedeki sitokin konsantrasyonu ile orantılıdır.

İmmulite sistem numuneyi alma, kitleri pipetleme, inkübasyon, ayırmayı ve sıcaklık kontrollü foton salınımının ölçümünü otomatik olarak yapar. Test sonuçlarını kontrol ve numuneye göre okur ve hastaya ait yüklenmiş bilgilerle birlikte basılı olarak verir.

Otoanalizöre düşük ve yüksek konsantrasyonlardaki kalibratörler verilerek kalibre edildi. Kontrol serumları kullanıldığında değerlerin olması gereken sınırlar içinde olduğu görüldü. Bu kalibrasyonun 10 gün geçerli olduğu bilinmektedir.

Bazı sitokinlerin analizi için derin dondurucuda saklanan serumlar test yapılacağı gün oda ısısında bekletilerek çözüldü. Göbek kordonu kanından elde edilip saklanan serumlardan 0,5 ml kadar numune kaplarına konularak analizöre yüklendi, İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8, ve TNF α testleri çalışıldı. Aynı testler anne venöz kan serumu ile ayrıca yapıldı.

3.2.3. KULLANILAN İSTATİSTİK YÖNTEMLERİ

İstatistiksel analiz için SPSS paket programı kullanıldı. Kontrol ve çalışma grubumuzda çalışılan bebek göbek kordon kanı serumları ve anne venöz kan serumlarında çalıştığımız NO, İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8 ve TNF α testleri sonuçları Mann-Whitney U testi karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak belirtildi (87).

4. BULGULAR

4.1. KONTROL GRUBU BULGULARI

Kontrol grubumuzu oluşturan gruptaki bebek kordon kanı bulguları Tablo 3'te, anne venöz kanı bulguları Tablo 4'te gösterilmiştir. Tablo 3'te kullanılan sıra No, Tablo 1'dekinin aynıdır.

Tablo 3: Kontrol grubundaki annelerin bebeklerinin kordon kanına ait analiz sonuçları.

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
1	E.I	46,6	<5	473	18,8	786	14,9
2	N.A	64,5	<5	934	33,5	71	30,2
3	L.Y	135,1	<5	1059	34,6	447	8,6
4	M.D	54,1	<5	726	15	218	14,5
5	A.Ç	42,6	<5	1073	47,6	322	12,4
6	H.İ	97,9	<5	636	<5	8,5	17,9
7	H.G	61,9	<5	1200	7	9,3	18,5
8	G.Ç	86,4	<5	682	11,8	140	13,1
9	S.D	61,9	<5	1033	25,2	681	20,3
10	Ş.G	69,5	<5	437	8,9	18,8	10,2
11	Z.K	41,9	12,0	778	196	264	22,2
12	R.M	101,9	10,3	560	14	328	13,0
13	G.D	137,9	15	590	33	328	42
14	B.A	97,9	<5	563	12,2	12,2	12,9
15	G.G	102,6	<5	540	68,3	11,8	11,5
16	Z.K	46,6	<5	839	<5	142	11,8
17	E.Ö	56,5	5,9	891	60,5	527	11,6
18	N.K	75,9	<5	705	15,8	149	14,2
19	Y.A	45,9	10	105	80	522	28
20	A.G	73,2	<5	691	11,6	235	6,6
21	M.G	98,6	<5	522	7,3	63,7	7,6
22	R.G	44,6	<5	666	7,6	13,2	5,4
23	H.Ö	46,6	<5	634	131	93,5	14,7
24	A.İ	58,6	<5	549	23,5	264	10,2
25	D.K	90,6	17	844	51,6	664	14,1
26	R.S	45,2	<5	654	<5	53,9	9,6
27	C.K	105,9	<5	494	102	194	15,3
28	T.Y	135,1	<5	761	<5	88,6	7,3
29	Y.A	98,6	6,3	1266	15,5	47	7,9
30	S.T	34,6	<5	999	15,2	328	19,4
31	Ş.A	38,4	<5	365	11,4	794	15,5
32	S.K	91,8	<5	719	28,2	16,2	11,5
33	A.K	49,7	<5	871	22,8	357	15,3

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
34	N.A	42,4	<5	737	11,6	8,5	6,8
35	S.D	37,9	<5	699	45,2	837	55,1
36	E.T	33,2	<5	460	11,6	8,9	11,7
37	R.K	41,7	<5	799	7,7	7,3	11,7
38	E.A	71,6	<5	731	31,8	20,1	19,7
39	G.A	68,3	5,5	774	49,3	611	35,7
40	A.B	71,8	<5	860	<5	218	14,8
41	Z.İ	29,9	<5	663	47,6	322	6,8
42	M.K	37,9	<5	754	46,2	157	10,3
43	S.K	117,9	<5	569	57,6	496	22,6
44	F.B	93	<5	524	44,5	285	5,9
45	M.A	86,4	<5	849	5	130	13,5
46	H.E	77,9	<5	775	24,1	536	14,7
47	Z.A	97,2	<5	270	37,2	<5	8,4
48	S.A	85,9	30,9	534	357	2816	14,0
49	E.A	65,2	<5	622	36,3	188	11,9
50	R.A	79,6	<5	795	9,2	25	5,7
51	Z.G	109,7	7,3	726	409	1887	22,8
52	A.Ö	94,4	<5	855	<5	222	16,4
53	N.K	115,8	<5	468	21	336	22,6
54	T.A	53,9	<5	1281	14,7	326	14,9
55	Z.S	57,2	<5	523	<5	14,4	18,9
56	A.K	74,4	<5	499	312	124	17,4
57	T.A	53,2	<5	566	206	88,3	8,6
58	G.İ	60,5	12	792	31,4	125	16,0
59	Y.P	83,8	<5	528	<5	53,5	6,3
60	D.K	90,6	11,8	607	51,8	128	16,7
61	N.K	81	<5	397	<5	57,5	7,3
62	S.G	67,8	6,1	906	96,4	119	12,7
63	D.K	81,7	<5	759	12,9	189	10,4
64	H.Ö	35,8	80,5	780	63	1575	15,1
65	G.Ç	77	<5	598	8,1	62,6	10,4
66	Y.Ç	153,7	<5	619	<5	20,3	10,5
67	A.Y	89,9	7,9	884	78,3	896	59,3
68	S.U	77,9	<5	295	50	55,6	6,5
69	B.Ç	81	<5	800	<5	14	12
70	M.Ç	116,1	11,5	645	8,5	256	13,6
71	B.E	72,3	33,8	794	432	353	16
72	T.Y	135,1	35,6	770	269	164	13,9
73	A.K	69	<5	800	48	150	15
74	H.K	57,2	<5	663	35	180	16,3
75	A.H	76,5	<5	677	18,2	30,3	18,3
76	N.G	40,3	<5	772	62	45	14

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
77	L.Ç	89	11,1	840	107	211	10,7
78	Y.E	39,8	12,4	629	68,3	435	11,8
79	A.A	83,8	8,7	735	260	198	6,4
80	Ş.T	40,5	<5	598	350	2317	10,8
81	C.Ç	44,5	6,1	785	94,5	272	9,7
82	Y.A	36,5	<5	646	20,2	579	8,9
83	Ş.B	36,5	27,1	570	139	304	15
84	N.Ç	80,5	<5	746	<5	105	10
85	M.Y	37,2	<5	586	<5	5,3	10,5
86	K.Ç	60,5	<5	765	5,6	7,1	6,4
87	N.A	78,6	<5	801	7,8	24,2	5,2
88	S.A	80,5	<5	820	21,7	553	15
89	S.Ö	60,5	<5	529	<5	125	12,4
90	A.G	63,6	<5	623	312	486	23

Tablo 4: Kontrol grubundaki annelerin kanına ait biyokimyasal analiz sonuçları.

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
1	E.I	45,2	<5	580	24,6	66,9	14,9
2	N.A	69,2	<5	469	67,5	9,7	10,1
3	L.Y	111,8	<5	396	16,8	9,7	13,1
4	M.D	41,7	<5	367	14,1	10,7	13
5	A.Ç	65,2	<5	658	20,1	19,6	10,3
6	H.İ	117,9	<5	454	14,4	<5	13,2
7	H.G	70,6	<5	370	7,2	<5	8,3
8	G.Ç	93,7	<5	328	9,8	27	19,2
9	S.D	69,2	<5	751	28,6	12,1	27,1
10	Ş.G	69,9	<5	222	72,8	7	7,3
11	Z.K	53,2	<5	317	21,9	92,1	9,3
12	R.M	99,6	<5	433	24,7	168	30,8
13	GD	95,8	<5	427	7,7	77	17,9
14	B.A	94,2	<5	338	6,8	<5	14,8
15	G.G	117,9	<5	736	18,5	40,5	11,2
16	Z.K	56,5	<5	265	7,9	<5	8,1
17	E.Ö	46	<5	531	23,7	93,9	14,5
18	N.K	73,2	<5	535	63,1	6,1	<4
19	Y.A	34,6	14	412	87	73	18
20	A.G	77,2	<5	356	14	41	14,4
21	M.G	77,5	<5	378	6,0	14,7	<4
22	R.G	112,3	<5	237	16,8	7	<4
23	H.Ö	85,2	<5	570	69,3	21,2	4,2

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
24	A.İ	53,2	<5	344	11,0	27,2	7,8
25	A.A	73,2	<5	369	38,7	145	5,9
26	R.S	36,5	<5	556	21,3	17,2	10
27	C.K	57,9	<5	328	39	8,7	<4
28	T.Y	91,8	<5	445	54,8	30	4,5
29	Y.A	77,9	<5	555	68	17	19
30	S.T	28,5	<5	889	15,2	<5	7,8
31	Ş.A	31,8	<5	429	10,1	<5	12,5
32	S.K	42,4	<5	517	31,8	<5	<4
33	A.K	53	<5	471	<5	<5	12,6
34	N.A	49	<5	348	68,2	<5	11,4
35	S.D	35,8	<5	468	17,8	32,4	16,7
36	E.T	35,1	<5	503	74,4	5,7	14,3
37	R.K	99,6	<5	490	14,4	<5	19,8
38	E.A	59,6	<5	286	45,8	<5	<4
39	G.A	125	<5	431	37,9	39,8	21,8
40	A.B	61,2	<5	364	16,4	307	34,4
41	Z.İ	61,2	<5	205	<5	25,4	15,9
42	M.K	52,5	<5	368	28,8	11,7	14,2
43	S.K	57,2	<5	448	112	204	23,5
44	F.B	114	<5	265	17,2	35,6	10,3
45	M.A	91,1	<5	548	<5	7	15,3
46	H.E	80,5	<5	556	10	26,1	8,9
47	Z.A	64,5	<5	811	<5	12,4	9,5
48	S.A	109,2	<5	379	44,6	105	13,7
49	E.A	61,9	<5	301	56	11,6	11,5
50	R.A	93,6	<5	471	<5	<5	9,9
51	Z.G	76,3	<5	631	95	172	10,5
52	A.Ö	105,7	<5	415	7,4	11,9	11
53	N.K	96,5	<5	705	34,9	125	16,9
54	T.A	36,5	<5	350	26,2	11,2	4,8
55	Z.S	81,9	<5	135	9,3	<5	6,4
56	A.K	85,7	<5	336	18,9	12,9	14,4
57	T.A	36,5	11,6	677	37,4	941	16,9
58	G.İ	60,5	<5	216	36,5	127	6,8
59	Y.P	52,5	11,8	346	97,8	354	9,6
60	D.K	73,2	5,3	471	18	59,2	11,7
61	N.K	82,4	<5	380	20	60	16
62	S.G	75,1	8,6	1000	42,3	119	13,2
63	D.K	99,4	<5	354	17,6	33,9	8,8
64	H.Ö	32,5	<5	1260	109	56	57,3
65	G.Ç	58,4	<5	213	6,5	6,1	8,2
66	Y.Ç	90,4	<5	267	18,4	<5	10,7

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
67	A.Y	113,9	<5	465	6,5	130	17,9
68	S.U	45,2	<5	1070	<5	14,3	10
69	B.Ç	69,7	<5	715	8,1	<5	12
70	M.Ç	114,4	<5	370	43	107	44,2
71	B.E	89	<5	455	67,9	347	7,6
72	T.Y	91,8	<5	155	393	6,6	<4
73	A.K	86,4	<5	800	36	110	14
74	H.K	88,5	<5	369	12,3	78,6	18,9
75	A.H	83,8	<5	308	120	7,3	7,1
76	N.G	67,6	<5	566	66,4	77,6	4,8
77	L.Ç	67,6	<5	462	9,4	<5	8,4
78	Y.E	91,1	<5	165	39,7	194	4,8
79	A.A	68,5	<5	610	163	90,3	12,6
80	Ş.T	37,2	<5	269	<5	53,4	4
81	C.Ç	57,2	<5	815	16,1	12,4	<4
82	Y.A	85,9	<5	378	25,7	220	11,6
83	Ş.B	61,2	<5	219	<5	5,4	11,3
84	N.Ç	41,2	<5	418	14,7	26	10,4
85	M.Y	56,5	<5	472	<5	<5	5,5
86	K.Ç	77,2	<5	618	19,3	<5	6,5
87	N.A	84,5	<5	636	51,1	10,1	11,3
88	S.A	73,2	<5	303	19,4	11,4	11,9
89	S.Ö	71,1	<5	285	14,6	68,1	10,4
90	A.G	68,5	<5	333	25	25,2	16,8

4.2. İUGG GRUBU BULGULARI

İUGG olan bebeklerin kordon kanı serumu analiz sonuçları Tablo 5'te, anneleri-nin venöz kan serumu bulguları da Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 5: İUGG'li bebeklerin umbilikal venöz kan serumuna ait bulgular

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
1	S.S	43,8	63	80,5	780	1575	15,1
2	M.Ş	76,5	15,7	<5	1234	17	17,6
3	K.Ö	43,8	<5	<5	612	63	8,3
4	A.D	62,6	22,5	6,4	905	45	25,2
5	Y.G	29,2	<5	<5	631	15,6	21
6	G.M	57,2	6,9	5,6	1153	459	22,7
7	S.P	34,4	99	35,1	989	190	27
8	E.H	32,5	<5	<5	571	21,4	14,3
9	Y.Ş	28,5	<5	<5	743	14	12,7
10	E.K	34,6	<5	<5	528	200	19,8
11	A.G	27,8	53,2	<5	404	66	<4
12	M.G	28,8	<5	<5	775	120	47

Tablo 6: İUGG'li bebeklerin maternal venöz kan serumu bulguları.

No	AD	NO μmol/L	İL-1β pg/ml	İL-2R U/ml	İL-6 pg/ml	İL-8 pg/ml	TNFα pg/ml
1	S.S	39,1	92	8,3	992	119	12
2	M.S	101,9	9	<5	460	8,9	16,1
3	K.Ö	40,5	11,9	<5	314	11,2	6
4	A.D	19,1	46,3	<5	645	9,6	7,9
5	Y.G	23,1	11,2	<5	800	10,6	24,6
6	G.M	29,5	5,1	<5	349	96,3	16,2
7	S.P	41,7	29,4	<5	734	8,2	18,4
8	E.H	35,1	<5	<5	1871	5,8	27,7
9	Y.Ş	33,9	22	<5	1311	<5	7,6
10	E.K	26,6	16,4	<5	715	5,5	9,6
11	A.G	21,2	212	<15,6	814	33,4	14,8
12	M.G	29,5	5,9	<5	320	18,4	26,1

4.3. İSTATİSTİK BULGULARI

Kontrol grubu ve İUGG grubundaki bireylerin bebek göbek kordon kanı ve anne venöz kanı bulgularının deskriptif istatistiksel değerlendirilmesi bulguları Tablo 7, 8, 9 ve Tablo 10'da gösterilmiştir. Tablolarda kullanılan kısaltmalarda

vaka sayısı (n), aritmetik ortalama (AO), standart sapma (standart deviation, SD) ve standart hata (standart error, SE) olarak gösterildi.

Tablo 7: İUGG'li bebeklerin maternal venöz kan serumu bulgularının deskriptif istatistiksel sonuçları.

Parametreler	n	AO	SD	SE
Nitrik oksit	12	36,77	21,84	6,30
İL-1 β	12	5,33	3,46	1,01
İL-2R	12	777,08	453,28	130,85
İL-6	12	38,77	59,97	17,31
İL-8	12	25,57	38,52	11,12
TNF α	12	15,58	7,45	2,15
Sigara kullanma süresi	12	0,50	1,73	0,50
Doğum sayısı	12	2,08	1,16	0,34

Tablo 8: Kontrol grubundaki bebeklerin maternal venöz kan serumu bulgularına ait deskriptif istatistiksel değerlendirme sonuçları.

Parametreler	n	AO	SD	SE
Nitrik oksit	90	72,33	23,80	2,51
İL-1 β	90	4,35	1,61	0,17
İL-2R	90	455,42	200,72	21,16
İL-6	90	28,36	24,56	2,59
İL-8	90	43,85	55,82	5,88
TNF α	90	12,53	8,30	0,87

Tablo 9: İUGG'li bebeklerin umbilikal kan serumu bulgularının deskriptif istatistiksel değerlendirme sonuçları.

Parametreler	n	AO	SD	SE
Nitrik oksit	12	41,64	15,88	4,59
İL-1 β	12	13,30	22,94	6,62
İL-2R	12	777,08	253,13	73,07
İL-6	12	23,69	31,28	9,03
İL-8	12	232,17	441,75	127,52
TNF α	12	19,56	10,95	3,16

Tablo 10: Kontrol grubundaki bebeklerinin umbilikal venöz kan serumu bulgularının deskriptif istatistiksel sonuçları.

	n	AO	SD	SE
Nitrik oksit	90	72,39	27,78	2,93
İL-1 β	90	7,25	9,97	1,05
İL-2R	90	699,46	197,98	20,87
İL-6	90	61,24	94,82	9,99
İL-8	90	310,63	464,59	48,97
TNF α	90	14,74	8,99	0,95

Tablo 11: İUGG ve kontrol grubundaki bebeklerin maternal venöz kan serumu bulgularının karşılaştırılması.

Gruplar	Birimi	n	AO	SE	p =	p < 0.05 anlamlı
İUGG bebekli anne NO	$\mu\text{mol/L}$	12	36,77	6,30	0,001	p < 0,001
Kontrol grubu anne NO		90	72,33	2,51		
İUGG bebekli anne İL-1 β	pg/mL	12	5,33	1	0,1483	NS
Kontrol grubu anne İL-1 β		90	4,35	0,17		
İUGG bebekli anne İL-2R	U/ml	12	777,08	130,85	0,0086	p < 0,001
Kontrol grubu anne İL-2R		90	455,42	21,16		
İUGG bebekli anne İL-6	pg/ml	12	38,77	17,31	0,6034	NS
Kontrol grubu anne İL-6		90	28,36	2,59		
İUGG bebekli anne İL-8	pg/ml	12	25,57	11,2	0,3646	NS
Kontrol grubu anne İL-8		90	43,85	5,88		
İUGG bebekli anne TNF α	pg/ml	9	15,58	2,15	0,1119	NS
Kontrol grubu anne TNF α		12	12,53	0,87		
İUGG bebekli anne ağırlığı	kg	12	63,33	1,28	0,4536	NS
Kontrol grubu anne ağırlığı		90	65,31	0,67		
İUGG bebekli anne doğumu	kaç tane	12	2,08	0,34	0,9091	NS
Kontrol grubu anne doğumu		90	2,20	0,53		

NS: non significant, p>0.05, istatistiksel olarak anlamlı değil.

Tablo 12: İUGG ve kontrol grubundaki bebeklerin umbilikal venöz kan serumu bulgularının karşılaştırılması.

Gruplar ve parametreler	Birim	n	A.O.	SE	p =	p < 0.05 anlamlı
İUGG'li bebek NO	μmol/L	12	41,64	4,59		
Kontrol bebek NO		90	72,39	2,93	0,0001	p<0,001
İUGG'li bebek İL-1β	pg/ml	12	13,30	6,62		
Kontrol Bebek İL-1β		90	7,25	1,05	0,5426	NS
İUGG'li bebek İL-2R	U/ml	12	777,08	73,07		
Kontrol bebek İL-2R		90	699,46	20,87	0,4090	NS
İUGG'li bebek İL-6	pg/ml	12	23,69	9,03		
Kontrol bebek İL-6		90	61,24	9,99	0,0494	P<0,05
İUGG'li bebek İL-8	pg/ml	12	232,17	127,52		
Kontrol bebek İL-8		90	310,63	48,97	0,2184	NS
İUGG'li bebek TNFα	pg/ml	12	19,56	3,16		
Kontrol bebek TNFα		90	14,74	0,95	0,0378	P<0,05

İUGG olan bebeklerin annelerinden sadece 1 tanesi sigara içtiğinden çalışma gruplarımızda sigara içenler ile içmeyenler karşılaştırılmadı.

Vitamin ve/veya mineral suplementasyonu konusunda anamnezde elde ettiğimiz bilgiler standart olmadığı için istatistiksel karşılaştırma verileri yanıtıcı olabileceğinden değerlendirmeye alınmadı.

Anlamlı bulgular koyu yazılarak (**p<0.05**) vurgulandı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışma gruplarımıza katılmayı kabul edenlere, sigara ve/veya sarma tütün içip içmediğini sorduk. Gebe annelerin sigara kullanmasının fetusa zararı bilinmektedir (16, 17, 28). Gelişmiş ülkelerde İUGG'nin görülme sıklığı % 3-10 kadar (9) olduğu halde Amerikada yapılan bir araştırmaya göre bu oran % 30-40'a kadar yükselmektedir (16). Yapılan bir araştırmada günde 11 ve daha çok sigara içenlerin bebekleri yaklaşık 330 gr daha az ağırlıklı olduğu belirlenmiştir (17). Ancak araştırmamızda, İUGG vakalarımızın annelerinin bir kişi hariç diğerlerinin sigara içmemesi, sigaranın İUGG etiyojisine etkisi konusunda istatistik yapma ve yorumlama olanağı vermemiştir.

Sarma tütünün, sigara imalatında olduğu gibi işlemlerden geçmediğinden daha ağır etkilerinin olabileceği varsayımı ile bunun İUGG'ne etkisini araştırmak istedik; ancak sarma tütün içen bir tek anne bulabildik, o da İUGG grubunda değildi. Bu ise ayrı bir çalışma grubu oluşturmamıza yetmedi ve bu konuda yorum yapmak mümkün olmadı.

Gebelerde vitamin gereksinimi artmıştır. Vitamin alımı da artırılmalıdır. Vitamin E ve bazı vitaminlerin yeterli alınmaması durmunda İUGG görülebilir (29). Antioksidan özelliği olan A, C, E gibi vitaminlerin immüniteye olumlu etkileri vardır. C vitamininin çeşitli reaksiyonlarda indirgeyici görev yapar ve midede ferri demiri ferro demire indirgeyerek demir emilimini kolaylaştırır. İmmünitede de rolü ve antioksidan etkisi (35). Vitaminle birlikte, başta demir, çinko, bakır, mangan, magnezyum içeren preparatlar olmak üzere mineral suplementasyonu gereklidir (30). Özellikle çinko ve bakır, hücrelerin sitozollerinde, sigara dumanıyla alınan kadmiyum birikimini azalttığından kadmiyum toksisitesine karşı yararlı olabilir (32). Çinko, kadmiyumun teratojenik etkilerine karşı koruyucu olabilir (33). Magnezyum ve selenyum, kadmiyum toksisitesine karşı koruyucu etkilidirler (34). Çalışma grubumuzdaki annelerin çoğu, vitamin ve mineral alımlarının düzenli olmadığını, bir süre kullandıklarını, mineral içerip içermediğini düzgün tarif edemediler. Standart bir kullanım olmadığından dolayı ek vitamin alımı ile ilgili sağlıklı karşılaştırma

yapılamayacağını ve bulguların güvenilirliğinin şüpheli olabileceğini düşünerek bununla ilgili karşılaştırma yapmadık.

İstatistik yöntemi olarak bağımsız iki grup ortalaması için Mann-Whitney U testi uygulandı. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığını bilmediğimizden bunu tercih ettik (83, 87).

Çalışmalarımızda daima deiyonize tüpler kullandık. Bazı metal iyonlarının beklemekte olan serum içindeki nitratları nitrite indirgeme olasılığı ve bunun deneyimize kısmen de olsa inferte etme olasılığıdır.

Deneyimizde kullandığımız NO₂ ve NO₃ analiz yöntemi daha yaygın kullanılmaktadır; duyarlı ve ucuzdur (83). Enzimatik ve iyon-kromotografik yöntem daha duyarlı ve spesifiktir , ancak gerekli enzimleri ve ekipmanları daha pahalıdır (83, 88, 89).

Fizyolojik miktarlarda NO vazodilatatör etkilidir, ancak fazla salınırsa doku hasarına neden olur (90, 91).

Lyall ve ark., preeclampsia vakalarında hem maternal venöz kan numuneleri, hem de umbilikal venöz kan numunelerinde NO₂ çalışmışlar ve bunların farklılıklarının önemini vurgulamışlardır (92). Biz de benzer şekilde İUGG ve normal vakalarda maternal (anneye ait) ve umbilikal (göbek kordonuna ait) venöz kanla çalıştık.

Cortas ve arkadaşlarının modifiye yöntemiyle yapılan serum analizlerinde NO₃ düzeyleri 31.4-80.2 µmol/L aralığında bulunmuştur (83). Tablolarımızda bulunmamakla birlikte gruplarımızdaki serum NO₃ düzeyleri, kullandığımız referans yöntem (83) değerleri dışına çıkmamıştır ve literatürle uyumludur .

Cortas ve ark. da NO₃ değerlerini hesaplamışlar ve bulguların yorumunu buna göre yapmışlardır. Çalışma gruplarının birisinde NO₂ değerlerini 1 µmol/L'nin altında bulmuşlar (83). Belki de NO₂ değerlerini ihmal edilebilecek kadar küçük bulmaları, NO₃ değerleri üzerinden yorum yapmanın daha anlamlı olabileceği kanaatini oluşturmuş olabilir. Benzer çalışmaların bazısında total NO₂ çalışmışlar, total NO₂ artmasının NO artışını yansıtabileceği bildirilmiştir

(92). Biz de bunu esas alarak çalışmamızda total nitrit düzeylerini NO olarak değerlendirdik. Tablolarda gösterilmemiş olmasına rağmen, karşılaştırılan grup sonuçlarımızda NO₃ ve NO değerlerinin anlamlılık derecesi (p<0.05 ve daha küçük) arasında fark bulunmadı.

Normal bir gebelik süresince uterusu ait damarların ve sistemik damarların fonksiyonları çarpıcı bir şekilde değişiklik göstermektedir. Fetusun sağlığı ve gelişimi için maksimal bir dilatasyon ve düşük bir damar direnci yardımıyla yeterli düzeyde fetoplasental dolaşımın sağlanması gerekmektedir (93). Plasental dolaşım, innervasyonun yokluğu (veya yetersizliği) nedeniyle başlıca vazodilatör maddelerin etkileri ile düzenlenmektedir (94). İUGG olan annelerin venöz kan NO değerleri kontrol grubu annelerin değerlerinden anlamlı derecede düşük (36.77±6.30, 72.33±2.51 µmol/L ve p<0,001) olarak bulunmuştur. Dikets ve ark. (94) eksperimental çalışmayla, uzun süre NO sentezinin inhibisyonu uygulanan ratlarda İUGG yaptığını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımızda bunu doğrulamaktadır. İUGG oluşmasının nedenleri vardır (1, 3). NO düşüklüğünün İUGG nedeni olduğunu net olarak söyleyemesek bile etiopatogeneizde çok önemli bir etken olduğunu söyleyebiliriz.

Preeklamps, İUGG nedenlerinden birisidir (1, 3). Preeklampside NO'nin rolü açık değildir. Lyall ve ark., normal ve preeklampşik kadınlarda damar rezistansının endotel bağımlı relaksasyonu üzerinde çalışmışlar; Maternal sirkülasyon içinde NO üretiminde bir anormalliğin olmadığını, umbilikal ven serum NO düzeylerinin arttığını belirlemişlerdir. Bunun sebebi, hipertansiyonun annelerin sistolik kan basınçlarındaki değişiklikler nedeniyle NO sentezinde kompensatör bir artışın homeostazisi devam ettirmeye çalışan gebe kadınlarda oluşmasıdır (92). Biz, çalışmamızda bebek bekleyen annelerin eklamps, yahut preeklampsili olup olmadığını araştırmadık; ancak maternal venöz kanlardaki NO düzeylerinin İUGG'li bebeklerin annelerinde anlamlı derecede düşük bulunması (p<0.001, Tablo 11), İUGG olan annelerde NOS inhibisyonu olabileceğini ve bunun NO sentezini azaltabileceğini akla getirmektedir. NO, damar tonusunun düzenlenmesinde bir anahtar rolü oynamaktadır (5, 40). NO'nin yeterli düzeyde olamaması, plasentadaki damarlara vazodilatör etki gösteremediğinden dolayı

vazospazm oluşabilir ve fetoplasental dolaşım azalmasına neden olabilir ki bu da İUGG oluşturabilir.

Eksperimental çalışmaların bir kısmı NO inhibitörlerinin NO sentezi inhibe ederek İUGG oluşturmuşlardır. Molnar ve ark. ratlarla yapılan bir çalışmada, NO sentezinin potansiyel bir inhibitörü olan L-NAME, gebelik süresi 21-22 hafta olan ratlara hamileliğin 14.haftasında uygulandığında, hamile ratların bu vazopresörlere karşı duyarlılıklarının bir müddet sonra bozulduğu ve 18. gebelik haftalarında fetal gelişme geriliği olduğu gözlenmiştir. NO sentezinin kronik inhibisyonu oluşturarak hipertansiyon, proteinüri, trombositopeni, İUGG oluştuğunu belirlemişlerdir (96).

Tablo 12'de görüldüğü gibi İUGG olan bebeklerin kordon kanında NO değerleri kontrol grubunun NO değerlerinden anlamlı derecede düşük (41.64 ± 4.59 , 72.39 ± 2.93 $\mu\text{mol/L}$ ve $p < 0,001$) bulunmuştur. İUGG'li bebek doğuran annelerin kanındaki NO düşüklüğü ($p < 0,001$), İUGG olan bebeklerin kordon kanında, kontrol grubuna kıyasla daha anlamlı ($p < 0,001$) bulunmuştur. Bunun anlamı, plasental faktörlerin de NO üretimi ve/veya yıkımı ile direkt ilişkisinin olabilir. Plasental villuslarda NOS mRNA'sı vardır, ancak NO üretiminin olması için yeteri kadar indüklenme gerçekleşmiyor olabilir.

L-argininden NO sentezleyen enzim NOS'dur (44). NOS indüklenmesini sağlayan çeşitli etkenler vardır. İUGG olan bebeklerin annesinde görülen NO düzeyi düşüklüğüne neden olan etken bebeklere daha aktif etkiyebilir. İUGG'nin tek nedeni olmasa bile NOS inhibisyonu İUGG etiyopatogenezinde önemli rol oynayabilir. Farklı bir yaklaşım olarak bunun aksini düşünürsek plasentada üretilen bir NOS inhibitörü olabilir ve bebekte daha fazla olmak üzere annede de etkisini gösterip NO düzeyini düşürebilir ki bu mümkün değildir. Kord kanı akışını sadece NO ve NOS ile ilişkilendirmeye çalışmak da doğru olmaz. Bunların etkilerinin yanında farklı çalışma ve yorumlara gereksinim vardır.

Sitokinler hücre içinde yapılır ve hücre içinde haberleşmede kullanılır. İmmun yanıt, inflamasyon, yara iyileşmesi ve yaralanmaya sistemik cevapta rolleri olan hücreler tarafından sentezlenirler (48). Birbirinden farklı 100'den fazla

sitokin vardır. Sitokinler sinerjistik bir etkiye sahiptirler ve birbirlerinin salınımını da stimule ederler. Örneğin İL-6, İL-1 tarafından stimule edilir (97).

Doğumun başlamasında sitokinlerin rolü Cunningham ve ark. tarafından araştırılmıştır (98). Sitokin düzeyindeki artış basit bir şekilde vaginal sekresyonlar ile intrauterin membranların temasının artışının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Sitokinlerin sistemik hormonlar ile etkileşime girmek suretiyle doğumda bir rol oynayabilmeleri de mümkündür. Örneğin, sitokinlerin hipotalamik, hipofizer ve adrenal hormonlar ile etkileşime girerek kortikotropin releasing faktör, adrenokortikotropik hormon ve kortizol salınımını uyaracağı gösterilmiştir (99).

Bunlardan konumuzla ilgili olabilecek beş tanesini çalışabildik. İUGG etiopatogenezinde bazı enfeksiyonların olabileceği bilinmektedir (3). Bu nedenle etiopatogenezde rolü olabilecek daha çok parametre çalışmak isterdik, fakat olanaklarımızla ancak İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8 ve TNF α çalışabildik.

İL-1, İL-1 α ve İL-1 β olmak üzere iki farklı formda üretilir (50). İL-1 α ve İL-1 β 'nin biyolojik aktivitesi ve potansiyelleri ve bağlandıkları yüzey proteinlerine olan affiniteleri benzerlik göstermektedir. Birçok hücre her iki İL-1 genlerini taşır fakat ortalama salgılanmaları geniş oranda farklılık gösterir. Örneğin human monositler daha çok İL-1 β yapımında etkili iken keratonistler genellikle İL-1 α yapımında görevlidir (7).

İUGG ve kontrol bebeklerin annelerinin venöz kan bulgularında İL-1 β düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır (5.33 \pm 1 ve 4.35 \pm 0.17, p>0,05). İUGG olan bebeklerin kordon kanı ile kontrol grubundaki bebeklerin kordon kanı İL-1 β düzeyleri karşılaştırıldığında İUGG grubunda daha yüksek bulunmuştur (13.30 \pm 6.62 ve 7.25 \pm 1.05, p>0,05) ancak bulguların dağılımı düzenli bulunmadığından fark anlamlı çıkmamış olabilir.

İUGG'deki İL-1 β hakkında literatürde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmadı. Fakat İL-1 β düzeyi açısından Rinehart ve ark. preeklampitik hastalarda çalışma yapmışlardır. Preeklampitik hastalarda İL-1 β ve İL-10, TNF α oluşumunu arttığını ispatlamışlardır. Bu çalışmada hipertansiyonlu hamilelerde plasental doku değişimi gözlenmiştir. Bu durumda uteroplasental damarlar, böbrek ve karaciğer endotelial hücrelerinde harabiyet söz konusudur.

İnflamatuvar sitokinler preeklempside vasküler endotelial disfonksiyon sırasında bir araç olarak rol oynarlar (100). Bizim çalışmamızda İUGG olan bebeklerin kordon kanında NO düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,001$). İUGG vakalarında NO eksikliğine bağlı olarak plasenta vasküler tonus bozukluğu oluşabilir ve bunun sonucu olarak hücreler yeterli kan alamazlar ve hücre harabiyeti söz konusu olabilir Buna bağlı olarak İUGG grubunda kordon kanı İL-1 β ve TNF α artışı olabilir.

İL-2 primer olarak T-lenfositlerinde sentezlenir ve salınır. İL-2'nin biyolojik aktivitesi reseptörlere bağlanmasıyla gerçekleşir. İL-2'nin afinitesinin belirgin olarak ortaya çıkmasında üç ayrı kombinasyon vardır ki NK hücreler, nötrofiller, monositler ve CD8+ T hücreler bunu etkiler. İL-2 ve soluble İL-2R'nin serumda artması allograft rejeksiyonunun başladığını gösterir. İL-2 ve İL-2R antikorları otoimmün hastalıkların süprese edilmesinde ve rejeksiyonun önlenmesinde önemli bir potansiyel arzeder (51). İL-2 ve İL-2R üretiminde görülen yetersizlik T hücreleri tarafından üretilen immün cevabın yokluğu ile birliktedir (101). Bizim çalışmamızda İUGG grubunda maternal İL-2R artışı anlamlıdır ve bu İUGG nedeni olabilen faktörlerin rejeksiyona sebep olmasını engellemek için bir maternal cevap olabilir.

İL-2'nin α , β , γ reseptörlerinin her birisi ve bunların kombinasyonlarının etkilerini araştırmak daha spesifik sonuç olmayı sağlayabilirdi, ancak biz İL-2R düzeyine bakabildik.

Bizim çalışmamıza yakın bir çalışma, Saito ve ark. tarafından yapılmıştır. Erken doğumda, İUGG ve normal doğanlarda aborte edilmiş fetüsün mononükleer hücreleri OK 432 ve PHA ile stimule edilerek interferon γ ve İL-2 düzeyi çalışılmıştır. İL-2 üretimi erken doğum yapan grupta erişkinlerden yüksek, yine İUGG'de normal erişkinlerden yüksek bulunmuştur (102). İL-2'nin gebelikte artması doğaldır (101). Bunun artmasıyla birlikte İL-2R'nin artması beklenir. Araştırmamızda İUGG'li bebeklerin ve kontrol grubu bebeklerin maternal venöz kanlarında İL-2R düzeyleri $777.08\pm 130,85$ ve $455\pm 21,16$ U/ml olarak bulunmuştur ve fark anlamlıdır ($p<0,001$). Bunun nedeni, hamilelik esnasında İUGG'ne neden olabilen bir enfeksiyon geçirilmiş olmasıdır ve bu da CD8+ T hücreleri proliferasyonunun artmasına ya da T hücrelerinde uyarılmaya

bağlı İL-2 ve/veya İL-2R sentez ve salınımında artış olabilir. Bu artış, İUGG nedenine karşı annenin immünitede rolü olan ilgili hücreleri tarafından fetusa koruma amaçlı olarak artırılmış olabilir.

Araştırmamızda İUGG ve kontrol bebeklerin umbilikal venöz kanındaki İL-6 düzeyi 23.69 ± 9.03 , 61.24 ± 9.99 pg/ml bulunmuştur ve fark anlamlıdır ($p < 0.05$). Annelerde yüksek tansiyon veya başka nedenlerle plasentada iskemi oluşmasına bağlı olarak plasentanın yeteri kadar gelişmemiş olması nedeniyle İL-6 üretiminde veya transportunda yetersizlik olabileceğinden (103) İUGG grubunun umbilikal venöz kanlarındaki İL-6 düzeyleri kontrol grubu bulgularına kıyasla düşük bulunmuş olabilir.

Hipoksidede endotelial hücreler İL-8 üretimini artırırlar (104, 105). İUGG grubu ve kontrol grubunun maternal venöz kan İL-8 düzeyleri araştırmamızda 25.57 ± 11.12 ve 43.85 ± 5.88 pg/ml, $p > 0.05$ bulunmuştur. İUGG'li bebek kordon kanı ve kontrol grubu bebeklerin kordon kanı İL-8 düzeyleri ise 232.17 ± 127.52 ve 310.63 ± 48.97 pg/ml, $p > 0.05$ bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Sepsisli hastalarda İL-8 ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. İL-8'in bir yandan dolaşımdaki nötrofilleri uyarırken, diğer yandan da bu hücreleri dokulardaki daha ileri kemotaktik gradyanlara karşı desensitize ettiği belirlenmiştir (79). İUGG vakalarında hipoksi olabileceği ve buna bağlı olarak İL-8 artması beklenirdi; ancak İUGG etiopatogenezinde İL-8'in rolünün ne olduğu belirsizdir.

Endotelial hasarda $TNF\alpha$, İFN- γ ve muhtemelen diğer sitokinler serbest radikallerin artmasıyla ilişkili olabilir (105). $TNF\alpha$ ve İFN- γ NO üretiminde sinerjik rol oynarlar (106, 107).

$TNF\alpha$, araştırmamızda İUGG ve kontrol grubu maternal venöz kan örneklerinde 15.58 ± 2.15 ve 12.53 ± 0.87 pg/ml, $p > 0.05$ 'tir. İUGG ve kontrol grubu umbilikal venöz kanda ise 19.56 ± 3.16 ve 14.74 ± 0.95 pg/ml, $p < 0.05$ olup istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bizim çalışmamıza benzer bir çalışma Ann ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışma malarya enfeksiyonunda plasental sitokin salınımı ve plasental sitokinin intrauterin gelişme geriliği ile ilişkisi araştırılmıştır. Hamilelikte malarya enfeksiyonlarının düşük doğum ağırlıklı bebeklerin doğmasına yol açtığı gözlenmiştir. Malaryayla enfekte olan

plasentalarda olmayanlara nazaran, İL-1, İL-8 ve TNF α salınımında önemli ölçüde bir artış tespit edilmiştir. TNF α ve İL-8 maternal olarak, plasental makrofajlarda hemozin-ladenden türelenerek üretilmiştir. Artmış TNF α ekspresyonu, artmış plasental hemozin konsantrasyonları ile ilişkili bulunmuştur. Plasentada artmış TNF α veya İL-8 ekspresyonu intrauterin gelişme geriliğiyle ilişkili olmakla birlikte preterm doğumla ilişkili değildir. Sonuçlara göre, malarya enfeksiyonları plasentada potansiyel olarak zararlı proinflamatuvar cevabı indüklemektedir. Yüksek oranda malarya transmisyonunun olduğu bölgelerde hamileliğin erken dönemindeki enfeksiyonlar İUGG'ne yol açar. Enfekte plasentalarda, 2-4 kat daha fazla İL-1 β , İL-8, TNF α mRNA bulunmuştur. Bu çalışmada TNF α veya İL-8'in artmış solunum İUGG ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (108). Bu çalışmaya dayanarak hamilelik esnasında plasentanın enfekte olmasıyla bebeklerde İUGG görülebileceğini düşünebiliriz. Yükselmış plasental TNF α , fetusün besin alınımını engelleyerek İUGG'ne neden olabilir (109).

TNF α , prolaktin, luteinizan hormon ve adrenokortikotropik hormonda artışa yol açmaktadır (110). Sitokinlerin immün sistemi regüle ettiği açığa kavuşmuştur. Şimdiye kadar erken doğum yapanlarda veya İUGG'de azalmış immün fonksiyon olduğu araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Fakat bu konuda çok az çalışma vardır (102).

İL-6 ve İL-8 bireyin strese yanıtını belirten önemli araçlardır. Fakat normal fetuste fetal distresli bireylerdeki fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. İL-8'in son raporlara göre doku hipoksisinde üretildiği gözlenmiştir. İL-6 ve İL-8'in artmış üretimi nötrofilleri aktive eder. Bu konuda Japonya'da bir araştırma yapılmıştır: Dört grup denek seçilmiş 30 normal gelişen fetal distresi olmayan (A); 10 gelişme geriliği olan fetal distres bulunmayan (B); 5 normal gelişen fetal distresli (C) ve 5 gelişme geriliği olan fetal distresli gruplar (D) seçilmiştir. Bunlar İL-8 yönünden karşılaştırıldığında grup A ile B veya grup C ile D arasında anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir (111).

TNF α , İL-1 β endotelial hücrelerin değişimine neden olurlar. Bu sitokinler plateletten türeyen growth faktörü regüle edemezler. Plasental harabiyet oluşturabilirler, bu dokularda hipoksiye neden olur. Bu açıdan düşündüğümüzde

plasentanın harabiyeti demek dokunun yeterince kan açısından yararlanamaması demektir. Dolayısıyla bu doku beslenemeyince doğal olarak fetüste yeterince besin alamaz ve fetüste gelişme geriliği olabilir.

6. ÖZET

İntrauterin gelişme geriliği olan 12 bebek ve sağlıklı 90 bebeğin umbilikal ve maternal venöz serumunda NO, İL-1 β , İL-2R, İL-6, İL-8 ve TNF α çalışıldı.

İUGG grubundaki bebeklerin maternal venöz kan serumu NO düzeyleri 36.77 ± 6.30 $\mu\text{mol/L}$ kontrol grubunda ise 72.33 ± 2.51 $\mu\text{mol/L}$, olup fark ($p < 0,001$) anlamlı bulunmuştur. İUGG grubunda maternal venöz kan serumu İL-2R düzeyleri 777.08 ± 130.85 U/ml ve kontrol grubunda 455.42 ± 21.16 U/ml, fark anlamlı bulunmuştur. İL-6, İL-8 ve TNF α düzeylerinde anlamlı fark bulunamamıştır.

İUGG grubundaki bebeklerin umbilikal venöz kan NO düzeyleri 41.64 ± 4.59 $\mu\text{mol/L}$ ve kontrol grubunda ise 72.39 ± 2.93 $\mu\text{mol/L}$, fark çok anlamlı bulunmuştur. İL-6 düzeyleri İUGG grubunda $23,69 \pm 9.03$ pg/ml ve kontrol grubunda 61.24 ± 9.99 pg/ml, fark anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur. TNF α düzeyleri İUGG grubunda 19.56 ± 3.16 pg/ml ve kontrol grubunda 14.74 ± 0.95 pg/ml, fark anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur. İL-1 β , İL-2R ve İL-8 düzeylerinde anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

NO'in maternal venöz kan serum düzeyleri İUGG grubunda anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0,001$). İUGG oluşmasının en önemli nedeni bu olabilir

İUGG grubu maternal venöz kan serumu İL-2R değerleri kontrollere göre anlamlı derecede yüksek ($p < 0,001$) bulunmuştur. Bunun nedeni hamilelik esnasında CD8+ T hücre proliferasyonu artması yahut T hücrelerinin uyarılması sonucu İL-2 ve/veya İL-2R sentez ve salınımında artış olabilir ya da İUGG nedenlerinin rejeksiyon oluşturmaması için maternal cevap olarak İL-2R artmış olabilir.

İUGG grubunun umbilikal venöz kan serumu İL-6 düzeyleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşük ($p < 0,05$) bulunmuştur. İL-6 üretim ve transportunu etkileyen fetal nedenler olabilir ya da plasentanın yeteri kadar gelişmemiş olması İL-6 sentezini azaltmış olabilir.

İUGG grubunda umbilikal venöz kan serumunda TNF α düzeyleri anlamlı derecede yüksek ($p < 0,05$) bulunmuştur. Maternal kanda da TNF α yüksektir, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Enfeksiyonların plasentaya etkisiyle TNF α artabilir ya da plasental harabiyeti önlemek için doğal bir cevap olarak İUGG olan bebeklerde artmış olabilir.

7. SUMMARY

NO, IL-1 β , IL-2R, IL-6, IL-8, and TNF α were measured from umbilical and maternal venous blood of twelve intrauterine growth retardation infants and ninety infants who were healthy.

Maternal NO blood concentrations in neonates with intrauterine growth retardation were approximately 36.77 ± 6.3 $\mu\text{mol/L}$ and in control samples were 72.3 ± 2.5 $\mu\text{mol/L}$. The difference was significant ($p < 0.001$). The difference between IL-2R levels of two groups was also significant and in neonates with intrauterine growth retardation were 777.08 ± 130.85 U/ml and in control group were 455.42 ± 21.16 U/ml. It wasn't found significant difference in IL-6, IL-8 and TNF α levels of two groups.

NO levels of umbilical venous blood in neonates with intrauterine growth retardation were 41.64 ± 4.59 $\mu\text{mol/L}$ and in control group were 72.39 ± 2.93 $\mu\text{mol/L}$. The difference was very significant. IL-6 levels in neonates with intrauterine growth retardation were 23.69 ± 9.03 pg/ml and in control group were 61.24 ± 9.99 pg/ml, the difference was found significant ($p < 0.05$). TNF α levels in IUGR group were 19.56 ± 3.16 pg/ml and in control group were 14.74 ± 0.95 pg/ml the difference was found significant ($p < 0.05$). It wasn't found significant difference in IL-1 β , IL-2R and IL-8 levels ($p < 0.05$).

Maternal NO venous blood levels in IUGR group were found significantly low ($p < 0.05$). It may be major cause of IUGR.

IL-2R levels of maternal venous blood in neonates with intrauterine growth retardation were significantly higher than controls ($p < 0.001$). Its cause might be the increase of CD8+T cell proliferation during pregnancy or increase of IL-2 and /or IL-2R synthesis and secretion because of T cell stimulation or IL-2R may increase as maternal answer to prevent the causes of IUGR exist rejection.

IL-6 levels of umbilical venous blood at IUGR group were found significantly over than controls ($p < 0.05$). There might be fetal causes that effect the production and transport of IL-6 or the immaturity of placenta may decrease IL-6 production.

TNF α levels of umbilical venous blood at IUGR group were significantly high ($p < 0.05$). TNF α levels of maternal blood were also high, but statistically not significant. TNF α may be increase because of the effect of infection on placenta or might be increase

in neonates with intrauterine growth retardation to prevent plasental damage as a nature answer.



8. REFERANSLAR

1. Küçüködük Ş. Yenidoğan ve Hastalıkları. Feryal Matbası, Ankara.
2. McCormick MC. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N Engl J Med* 1985; 312: 82-90 .
3. Bahado-Singh R, Martinez E, Gomez KJ, Deren Ö. Intrauterine Growth Restriction (IUGR). In: Kişnişci HA, Gökşin E, Durukan T, Üstav K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS, eds. *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. Güneş Kitabevi, Ankara, 1996; 1623-1645.
4. Brede DS, Hwang PM, Glatt CE, Lowenstein C, Reed RR, Sayder SH. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase *nature* 1991; 351: 714-718 .
5. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991; 43 (29): 109-37.
6. Lancaster J: Nitric oxide, principles and actions. Copright by Academic Press. Inc. 1996 California / USA .
7. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. *Medical Immunology* (Eds Stites DP, Parslow IG), Appleton & Lange, Connecticut, 1997, pp: 146-168.
8. Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL, Neutrophil activating peptide-1/IL-8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* 1989; 84: 1045-1049.
9. Arie Alkalay, MD, Staff Neonatologist, Cedars-Sinai Medical Center. Intrauterine Growth Retardation (IUGR). Copright©1998 Neonatology on the web/Webmaster @ neonatology.org.
10. Samancı N. Düşük tartılı bebekler. In: Dağoğlu T, Ovalı F, Samancı N. *Neonatoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. İstanbul, 2000: 181-188.
11. O. Anthony Ogundipe and Le, Hamilton JR, Intrauterin growth restriction, post-term pregnancy and intrauterin wis A fetal demise. *Maternal-fetal Medicine*. Chapter 28, part 2.1999, page: 324-332 .
12. Bernstein I, Gabbe SG. Intrauterin growth restriction. In: Gabbe SG, Niebly JR, Simpson JL, Annas GJ, eds. *Obstetrics: Normal and problem pregnancies*. New York: Churchill-Livingstone, 1996; 863-886 .

13. Robert C. Vandenbosche, M.D., and Jeffrey T. Kirchner, D.O. Intrauterine Growth Retardation. Copyright © American Family Physician. October, 1998; 33-45.
14. Abrahams BF, Laros RK Jr. Prepregnancy weight, weight gain, and birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154: 503-509.
15. Creasy RK, Resnik R. Intrauterine growth restriction. In: Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal-fetal medicine: Principles and practice*. Philadelphia: WB Saunders, 1994; 588-674 .
16. Dougherty CR, Jones AD. The determinants of birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 144: 190-200.
17. Nilsen ST, Sagen N, Kim HC, Bergsjø P. Smoking, hemoglobin levels, and birth weights in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 752-758.
18. Mills JL, Graubard BI, Harley EE, Rhoads GG, Berendes HW: Maternal alcohol consumption and birth weight. How much drinking during pregnancy is safe? *JAMA* 1984; 148: 752-760.
19. Calvert JP, Crean EE, Newcombe RG; Pearson JF. Antenatal screening measurements by symphysis-fundal height. *BMJ (Clin Res)* 1982; 285: 846-855.
20. Doubilet PM, Benson CB. Sonographic evaluation of intrauterine growth retardation. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 164: 709-726.
21. Hadlock F. Ultrasound evaluation of fetal growth: In: Callen P, ed. *Ultrasonography in obstetrics and gynecology*. 3d ed. Philadelphia: Saunders, 1994; 129-142 .
22. Queenan JT, ed. *Management of high-risk pregnancy*. 3d ed. Boston: Blackwell Scientific, 1994: 402-414.
23. Veille JC, Kanaan C. Duplex Doppler ultrasonographic evaluation of fetal renal artery on normal and abnormal fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161(6 Pt 1): 1502-1509.
24. Fleischer A, Schulman H, Farmakides G, Bracero L, Blattner P, Randolph G. Umbilical artery velocity waveforms and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 502-507.
25. Nagey DA, et al. In: *Neonatology for the clinician*, Pomerance JJ, Richardson CJ (eds). Appleton & Lange (publisher), East Norwalk, CT, 1993 pp83.

26. Trudinger BJ, Cook CM, Thompson RS, Giles WB. Low-dose aspirin therapy improves fetal weight in umbilical placental insufficiency. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 681-685 .
27. Uzan S, Beaufile M, Breart G, Bazin B, Capitant C, Paris J. Prevention of fetal growth retardation with low-dose aspirin: findings of the EPREDA trial. *Lancet* 1991; 337 (8755): 1427-1431.
28. Aydın HH, Ersöz B. Kadmiyum Biyokimyası. *Biyokimya Dergisi*, 1999; 24, 4; p: 53-60.
29. McCormick DB. Vitamins. In: Burtis CA, Aswood ER, eds. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Co, 1996, P: 469-484.
30. Rand ML, Harnfenist EJ, Murray RK. Plazma proteinleri, immüoglobulinler ve kan pıhtılaşması. İn: Murray RK, Graner DK, Mayer PA, Rodwell VW, Harperin Biyokimyası (Çeviri: Dikmen N, Özgünen T), Barış Kitabevi, İstanbul, 1998, p: 753-780.
31. Weksler BB. Hematology. In: Andreoli TE, Bennet JC, Carpenter CJ, Plum F, Smith LH, Eds. *Cecil Essentials of Medicine*. WB Saunders Co, 1993. Çeviri: Tuzcu M, ed. Yüce yayınları, İstanbul, 1995; p: 359.
32. Saamoto M, Kozuka H. (1992) Possible mechanism for zinc protection against cadmium cytotoxicity in cultured vascular endothelial cell. *Toxicol* 76(3), 257-270.
33. Hartsfield JK Jr, Lee M, Morel JG, Hilbelink MK. Statistical analysis of the effect of cadmium and zinc on hamster teratogenesis. *Biochem Med Metab Biol* 1992; 48, 2; p:159-173.
34. Quamme GA. (1992) Free cadmium activity in renal epithelial cell is enhanced by Mg²⁺ depletion. *Kidney int* 41(5), 1237-1244.
35. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları*, Konya. p: 62-63 1995.
36. Henry, Y., Ducrocq, C. Drapier, C ., Servent, D ., Pellat, C & Guissani, A. Nitric oxide a biological effector electron paramagnetic resonance detection of nitrosyl-iron protein complexes in whole cells. *Eur Biophys J*. 1991, 20:1-15.
37. Chwalisz K, Buhimschi I and Garfield E : Role of NO in dostetric. *Prenat Neonat Med* 1996; 1: 292-328.

38. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis (USA)*.1995; 38(2): 87-104.
39. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide; A physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994;120: 227-237.
40. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine *Nature* 1988; 333: 664-666 (Medline) .
41. Cendan JC, Topping DL. Pruitt J, Snowdy J, Copeland EM, Lind DS. Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer line. *J Surg Res. USA*. 1996; 60(2): 248-288.
42. Bath PMW, Hassall DG, Gladwin A-M, Palmer RMJ, Martin JF. Nitric oxide and prostacyclin: divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium in vitro. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 254-260 (Medline) .
43. De Caterina R, Libby P, Deng H-B, Thanickal VJ, Rajavasthith TB, Gimbrone MA, JR, et al. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines, *J.Clin. Invest*. 1995, 96: 60-68.
44. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalia cells. *FASEB J* . 1992; 6: 3051-3064.
45. Beckman JS, Crow JP. Pathological implications of nitric oxide, super oxide and peroxy-nitrite formation. *Biochem Soc Trans* 1993; 21: 330-334.
46. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis (USA)*. Sep-Oct 1995; 38(2): 87-104.
47. Adcock IM, Brown CR, Kuvon OJ, Barnes PJ. Oxidative stress induces NF- κ B. DNA-binding and inducible NOS mRNA in human epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199: 1518-1524 .
48. Cytokines. Mire-Sluis, Anthony; Thorpe, Robin; Page, Clive. Academic Press Inc April, 1998.
49. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Second edition. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994.

50. Dower SK, Kronheim SR, Hopp TP, et al. The cell surface receptor for interleukin-1 alpha and interleukin -1 beta are identical Nature 1986; 324: 266-268.
51. Interleukin 2. Cytokine Mini-Reviews, 2000 R & D Systems. http://www.rdnsystems.com/asp/r_il2_mini.asp. 2000:1-5.
52. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. Immunol Today. 1989; 10: 299-304.
53. Thomson AW: The Cytokine Handbook, 2nd Ed. Academic Press, San Diego, 1994.
54. Callard RE, Gearing AJH: The Cytokine Factsbook, Academic Press, San Diego, 1994.
55. Smith K. IL-2 and IL-2 Receptor Complex. In: Sather C. The Brookhaven Protein Databank. 1998-2000 Physicians' Research Network, The PRN Notebook, Online Edition; p:1.
56. Klinger, W., Schönhörl, G., Dostatni, R., Sustarsic, D., Sahakian, N., El Shami, A.S. DPC Biermann, Bad Nauheim, Germany; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, U.S.A. news & views. July 1998.
57. Elgert. K.D.: Immunology: Understanding the Immune System New York, Wiley-Liss, 1996.
58. Kruger-Krasagakes, S., Moller, A., Kolde, G., et al.: Production of interleukin-6 by human mast cells and basophilic cells. J. Invest. Dermatol., 1996; 106: 75-79.
59. Lafortune, L., Nalbantoglu, J., Antel, J.P.: Expression of tumor necrosis factor α (TNF α) and interleukin 6 (IL-6) mRNA in adult human astrocytes: comparison with adult microglia and fetal astrocytes. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 1996; 55: 515-521.
60. Male, D., Cooke, A., Owen, M., Trowsdale, J., Champion, B.: Advanced Immunology. St. Louis, C.V. Mosby, 1996.
61. Paquet, P., Pierard, G.E.: Interleukin-6 and the skin. Int. Arch. Allergy Immunol., 1996; 1109: 308-317.

62. Dalrymple, S.A., Slattery, R., AUD, D.M., et al.: Interleukin-6 is required for a protective immune response to systemic Escherichia coli infection. *Infect Immun.*, 1996; 64: 3231-3235.
63. Revillard, J.P.: *Immunologie*. 2nd ed. Paris, De Boeck & Larcier S.A., 1995.
64. Eggesbo, J.B., Hjermann, I., Hostmark, A.T., Kierulf, P.: LPS induced release of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α in EDTA or heparin anticoagulated whole blood from persons with high or low levels of serum HDL. *Cytokine*. 1996; 8: 152-160.
65. Seymour, G.J., Savage, N.W., Walsh, L.J.: *Immunology: An Introduction for the Health Sciences*. New York, McGraw-Hill, 1995.
66. Ellstrom, M., Bengtsson, A., Tylman, M., et al.: Evaluation of tissue trauma after laparoscopic and abdominal hysterectomy: measurements of neutrophil activation and release of interleukin-6, cortisol and C-reactive protein. *J. Am. Coll. Surg.*, 1996; 182: 423-430.
67. Fiebich, B.L., Biber, K., Gyufko, K., et al.: Adenosine A2b receptors mediate an increase in interleukin (IL)-6 mRNA and IL-6 protein synthesis in human astrogloma cells. *J. Neurochem.*, 1996; 66: 1426-1431.
68. Lagneaux, L., Delforge, A., Snoeck, R., et al.: Human cytomegalovirus increases constitutive production of interleukin-6 and leukemia inhibitory factor by bone marrow stromal cells. *Blood*. 1996; 87: 59-66.
69. Law, K., Weiden, M., Harkin, T., et al.: Increased release of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor - α by bronchoalveolar cells lavaged from involved sites in pulmonary tuberculosis. *Am J. Respir. Crit. Care Med.*, 1994; 153: 799-804.
70. Navikas, V., Matusevicius, D., Soderstrom, M., et al.: Increased interleukin-6 mRNA expression in blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 1996; 64: 63-69.
71. Reichner, J.S., Mulligan, J.A., Palla, M.E., et al.: Interleukin-6 production by rat hepatocellular carcinoma cells is associated with metastatic potential but not with tumorigenicity. *Arch. Surg.*, 1996; 131: 360-365.

72. Tang, G.J., Kuo, C.D., Yen, T.C., et al.: Perioperative plasma concentrations of tumor necrosis factor - α and interleukin-6 in infected patients. *Crit. Care Med.*, 1996; 24: 423-428.
73. Thuma, P.E., Weiss, G., Herold, M., Gordeuk, V.R.: Serum neopterin, interleukin-4, and interleukin-6 concentrations in cerebral malaria patients and the effect of iron chelation therapy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1996; 54: 164-168.
74. Larsen CG, Anderson AO, Appella E, Oppenheim JJ, Matsushima K. The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for lymphocytes. *Science*.1989; 243: 1464-6.
75. Yoshimura TK, Matsushima K, Tanaka S, Robinson EA, Appella E, Oppenheim JJ, Leonard EJ. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84: 9233-9240.
76. Peveri P, Walz A, Dewald B, Baggiolini M. A novel neutrophil-activating factor produced by human mononuclear phagocytes. *J Exp Med*.1988; 167: 1547-1559.
77. Schroeder JM, Christophers E. Secretion of novel and homologous neutrophil-activating peptides by LPS-stimulated human endothelial cells. *J Immunol*.1989; 142: 244-251. .
78. Strieter RM, Phan SH, Showell HJ, Remick DG, Lynch JP, Genord M, Raiford C, Eskandari M, Marks RM, Kunkel SL. Monokine-induced neutrophil chemotactic factor gene expression in human fibroblasts. *J Biol Chem*.1989; 264: 10621-10626.
79. Jean-Marc Cavaillon Department of Immuno-allergy Institutue of Pasteur Paris/France. news & views. July 1998.
80. Anderson, W.H., Davidson, T.m., Broide, D.H.: Mast cell TNF mRNA expression in nasal mucosa demonstrated by in situ hybridization: a comparison of mast cell detection methods. *J. Immunol. Methods*. 1995; 189: 145-155.

81. Pettipher, E.R., Salter, E.D.: Resident joint tissues, rather than infiltrating neutrophils and monocytes, are the predominant sources of TNF- α in zymosan-induced arthritis. *Cytokine*. 1996; 8: 130-133.
82. Sigal, L.H., Ron, Y.: *Immunology and Inflammation: Basic Mechanisms and Clinical Consequences*. New York, McGraw-Hill, 1994.
83. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36(8): 1440-1443.
84. West PW, Ramachandran TP. Spectrophotometric determination of nitrate using chromotropic acid. *Anal Chim Acta* 1966; 35: 317-324.
85. Henriksen A, Selmer-Olsen A.R. Automatic methods for determining nitrate and nitrite in water and soil. *Analyst* 1970; 95: 514-518 .
86. Bories PN and Bories C.: Nitrate determination in biological fluids by enzymatic one-step assay with nitrate reductase. *Clin Chem* 1995; 41(6): 904-907.
87. Bilgisayarda istatistik ve tıp. Hayran H, Özdemir O. Hekimler Yayın Birliği/ANKARA.1996,294-296.
88. Taniguchi S, Takahashi K, Noji S. Nitrate. In: Bergmeyer H, ed. *Methods of enzymatic analysis*, Vol.7. F.R.G.: VCH Verlagsgesellschaft, 1985; 578-585.
89. Schild J, Klemme JH. Enzymatic nitrate assay by a kinetic method employing *E. coli* nitrate reductase. *Z Naturforsch*, 1985; 40:134-137.
90. Hibbs JF Jr, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage toxicity: role of L-arginine deaminase and iminonitrogen oxidation to nitrates. *Science* 1987; 235: 473-476.
91. Higachi M, Higachi N, Taki H, Osawa T. Cytolytic mechanism of cell macrophage: tumor necrosis factor and L-arginine dependent mechanisms act synergistically as major cytolytic mechanisms. *J Immunol* 1990; 144: 1426-1433.
92. Lyall F, Young A, Greer IA. Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 714-718.

93. Gant N, Daley G, Chand S, Whalley P, MacDonald P. A study of angiotensin 2 pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest* 1973; 52: 2682-2689.
94. Spivak M. On the presence and absence of nerves in the umbilical blood vessels of man and guinea pig. *Anatomical Record*. 1943; 85: 85-109.
95. Diket AL, Pierce MR, Munshi UK, Voelker CA, Eloby – Childress S, Greenberg SS, Zhang X, Clark DA, Miller MJS. Nitric oxide inhibition causes intrauterine growth retardation and hind-limb disruptions in rats. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; 171: 1243-1250.
96. Moln'ar M, Sütö T, T ScandMC, Volpe A, Facchinetti F. Effects of L-arginine on utero-placental circulation in growth-retarded fetuses. by the Italian National Council. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; 170: 1458-1466.
97. Dudley DJ, Trautman MS, Edwin SS, Lundin-Schiller S, Mitchel MD: Biosynthesis of Interleukin – 6 by Cultured Human Chorion Laeve Cells: Regulation by Cytokines. *J Clin Endocrin Metab* 1992; 75: 1081-1086 .
98. Cunningham FG, Macdonald PC, Leveno KJ, Gant NF, Gilstrap LC (EDS): Parturition: Biomolecular and Physiological Process. In Williams Obstetrics, edn 1992 ;19: 2297-2361.
99. Guillermo J. Valenzuela, Alfredo Germain, ANA Tina C-S Foster. Physiology of uterine activity in pregnancy. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 1993; 5: 640-646.
100. Rinehart BK, Terrone DA, Lagoo-Deenadayalan S, Barber WH, Hale EA, Martin JN Jr, Bennett WA. Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999 Oct;181(4): 915-920.
101. Tietz NW. Cytokines. In: Burtis CA, Aswood ER, eds. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Co, 1998; 1521-1590.
102. Saito S, Kato Y, Maruyama M, Ichijo M. A study of interferon γ and IL γ -2 production in premature neonates and neonates with intrauterine growth retardation. *Am J Reprod Immunol* 1992 Jan-Mar; 27(1-2): 63-71.

103. Yin C, Tian Y, Zheng Y. Study on relationship between detection of interleukin-6 and its mRNA ana pregnancy induced hypertension. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1998; 33: 711-714.
104. Karakurum M, Shreenivas R, Chen J, Pinsky D, Yan SD, Anderson M, Sunouchi K, Major J, Hamilton T, Kuwabara K, Rot A, Nowygrod R, Stern D. Hypoxic induction of interleukin-8 gene expression in human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 95: 1564-1568.
105. Nawas SI, Doherty JC, Vigneswaran WT, Fogelson FG, McMillen MA, Ferguson JL, Sharma AC, Law WR. Cardiopulmonary bypass increases coronary IL-8 in diabetic patients without evidence of reperfusion injury. *J Surg Res* 1999; 84: 46-50.
106. Vaddi K, Nicolini FA, Mehta P, Mehta JL. Increased secretion of tumor necrosis factor- α and inteferon- γ by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. *Circulation* 1994; 90: 694-699.
107. Geng Y, Hansson GK, Holme E. Interferon- γ and tumor necrosis factor synergize to induce nitric oxide production and inhibit mitochondrial respiration in vasculer smooth muscle cell. *Circ Res* 1992; 71: 1268-1276.
108. Moormann AM, Sullivan AD, Rochford RA et al. Malaria and pregnancy: placental cytokine expression and relationship to intrauterine growth retardation. *J. Infect. Dis.* 1999; 180: 1987-1993.
109. Carbo N, Lopez-Soriano FJ, Agiles JM. Administration of tumor necrosis factor - α results in a decreased placental transfer of amino acids in the rat. *Endocrinology* 1995; 136: 3579-3584.
110. Ben -Rafael Z, Orvieto R; Cytokines-involvement in Reproduction. *Fertil Steril* 1992, 58: 1093-1099.
111. Hata T, Kawamura T, Inada K, Fujiwaki R, Ariyuki Y, Hata K, Kitao M: İnterleukin-6, interleukin-8 and Granulocyte Elastase in Newborns with Fetal Distress. *Gynecol Obstet Invest* 1996; 42: 174-177.