

T1184

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

**YENİDOĞANDA G-CSF, GM-CSF,
IL-1 α , IL-1 β , IL-3, TNF α DÜZEYLERİ
VE NÖTROFİL-LENFOSİT
ÇARPRAZLAŞMASINA ETKİLERİ**

T1184 /1-1

UZMANLIK TEZİ

Dr. Fırat KARDELEN

Tez Yönetmeni: Prof. Dr. Olcay YEĞİN

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

ANTALYA, 1996

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	1
Giriş ve Amaç	2
Genel Bilgiler	3-26
Olgular ve Yöntem	27-28
Bulgular	29-36
Tartışma	37-41
Sonuçlar	42
Özet	43
Kaynaklar	44-53

KISALTMALAR

G-CSF	: Granülosit koloni uyarıcı faktör
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör
IL	: Interlökin
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TGF	: Transforming growth factor
M-CSF	: Makrofaj koloni uyarıcı faktör
SCF	: Stem cell factor
IFN	: Interferon
CFU	: Koloni oluşturuvcu ünite
LT	: Lökotrien
BFU	: Kan oluşturuvcu ünite
PG	: Prostaglandin
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
MHC	: Major doku uygunluk kompleksi
MA	: Molekül ağırlığı

GİRİŞ VE AMAÇ :

Yenidoğarda infeksiyonlara artmış bir eğilim vardır ve infeksiyonlar kolaylıkla sistemik hale geçebilmektedir. Yenidoğan immun sisteminin ve nötrofil üretiminin yeterince olgunlaşmadığı ve infeksiyon ajanlarına yanıtının yetersiz olduğunu belirten birçok araştırma vardır (1,2,3).

Yenidoğan döneminde özellikle ilk hafta içinde infeksiyon ajanları ile savaşmada önemli rolü olan lökositlerin kan tablosunun değişkenlik gösterdiği bilinmektedir. Yenidoğan infantın periferik kan tablosunda görülen nötrofil hakimiyeti ilk hafta içinde azalarak ortalama 4. günden sonra yerini lenfosit hakimiyetine bırakır (4,5,6,7).

Hemapoезде rolü olan sitokinler hemapoietik öncül hücrelerin farklılaşması ve çoğalmasını, olgun kan hücrelerinin işlevlerini düzenleyen glikoprotein veya peptid yapısında olan bileşiklerdir. Yenidoğan döneminde G-CSF, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-3, TNF α düzeyleri ile ilgili değişik çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir (8-18).

Yenidoğanda G-CSF, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-3, TNF α düzeyleri, ilk hafta içinde olan mutlak nötrofil sayısında düşme ve nötrofil-lenfosit çarpazlaşması ile bu faktörlerin ilişkilerini incelemek amacıyla bir çalışma planladık.

GENEL BİLGİLER :

Sitokinler yalnız lokal ve sistemik inflamatuvar cevabı değil aynı zamanda yara iyileşmesi, hematopoez ve diğer birçok biyolojik işlevi düzenleyen hücre içi sinyal proteinleridir. Şimdiye kadar yapısal olarak benzer olmayan, genetik olarak ilişkisi bulunmayan 100 kadar sitokin tanımlanmıştır. Çoğu peptid veya glikoprotein olup molekül ağırlığı 6000-60000 kd arasındadır. Hedef hücrelerinde özgün yüzey reseptörlerine bağlanarak pikomolar konsantrasyonlarda etki gösteren çok güçlü bileşiklerdir. Endokrin hormonların aksine özelleşmiş bir bez tarafından salgılanmazlar. Bunun yerine birçok değişik doku ve hücre tarafından üretilirler. Lenfositler tarafından salınan sitokinler lenfokin , monosit ve makrofajlar tarafından salınan sitokinler monokin olarak adlandırılır. Normal şartlarda yalnız birkaç sitokin M-CSF , SCF , TGF- β ve eritropoetin kanda saptanabilen düzeylerde bulunurlar ve uzak hedef hücreleri etkileyebilirler. Diğer sitokinler ancak bölgesel olarak , çok kısa zamanlarda parakrin veya otokrin şekilde etkili olurlar (21).

Her bir sitokin özgün bir uyarı ile belirli hücre tipleri tarafından üretilir ve hedef hücrelerde çoğalma , farklılaşma , büyüme veya hücre işlevleri üzerine karakteristik etkilerini gösterirler. Tek başlarına veya diğer sitokinlerle birlikte koordine bir cevap üretebilirler. Aktiviteleri genellikle üstüste eklenir; bir sitokin diğer bir sitokin veya mediatörün salınımını uyarır veya engeller (22).

Sağlıklı term infantlarda birçok nötrofil fonksiyon defekti tanımlanmıştır (2,3). Bunlar arasında defektif yapışma, aggregasyon, kemotaksis, fagositoz ve hücre içi öldürme fonksiyonları vardır.

Mikrofilamentöz hücre iskeleti anormallikleri ve yapışmayı sağlayan glikoproteinlerin yüzey gösteriminde yetersizlik yenidoğan granülositlerinin defektif kemotaktik yanıtından sorumlu tutulmaktadır (23,24). Nötrofillerin myeloperoksidaz içeriği , doğumda normal olmasına rağmen ilk gün içinde hızla düşer ve birkaç gün bu şekilde kalır (25). Bu geçici foksiyonel defisitlerin yenidoğanların , özellikle prematür doğanların ağır bakteriyel infeksiyonlara artmış duyarlılığına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Yenidoğanlar , diğer yaş gruplarındaki çocuklara ve yetişkinlere göre daha yüksek bakteriyel infeksiyon insidansına sahiptir ve infekte olduklarında iyileşme antibiotik tedavisiyle göreceli olarak daha uzun sürede olur. Yenidoğan infantların özellikle prematürelerin bakterilere karşı dirençlerinde fibronektin, kompleman komponentleri, IgG antikor düzeyinde düşüklük ve lenfokin üretiminde yetersizlik gibi birçok matürasyonel eksikliklerin olmasının buna neden olduğu düşünülmektedir (26).

Kan hücrelerine artmış talep olduğunda ,örneğin bakteriyel sepsis sırasında, yenidoğan azalmış olgun işlev gören nötrofil depo kaynağı, azalmış myeloid öncül hücre kaynağı (CFU-GM) ve hızlandırılmış sabit durumdaki myeloid öncül hücre çoğalma oranı nedeniyle nötropeni gelişmesine eğilimlidir (3,15,16). Artmış talep durumlarında , örneğin bakteriyel sepsiste , koloni uyarıcı faktörler IL-1 ve IL-3 artmış myeloid ve megakaryosit çoğalmasının ve olgunlaşmasının en önemli düzenleyicileridir (27).

Ek olarak, neonatal olgun işlev gören nötrofiller, yetişkin nötrofilleri ile karşılaştırıldığında kemotaksis, fagositoz, C3 bi reseptör gösterimi ve bakteriyel öldürme bakımından niceliksel eksikliklere sahiptir (2,3).

Granülosit-monosit koloni oluşturan ünite (CFU-GM) 5-6. gestasyon haftalarında düşükle sonlandırılan gebeliklerde fetus karaciğerinde gösterilmiştir. Barak ve ark. (28) erken fetal CFU-GM ' den in vitro matür nötrofil kolonilerine dönüşüm olduğunu , fakat 5-6. gestasyon haftasındaki fetuste karaciğer , kemik iliği ve kanda matür nötrofil olmadığını göstermiştir. Aynı çalışmada , matür nötrofillerin fetuste 15-16. gestasyon haftalarına kadar saptanmadığı belirtilmektedir. Bu yüzden bazı araştırmacılar CFU-GM ' in erken gestasyon haftalarında yalnız makrofajlar yönünde farklılaştığı ve fetal hayatın daha ileri evrelerinde nötrofillere farklılaştığı şeklinde spekülasyonlar yapmaktadır (26).

Fetal hematopoez gestasyon süresince dramatik eritropoietik ve granülomonositik gelişime uğrar (29). Yetişkinin aksine fetal kan yüksek oranda çok yönlü koloni oluşturan ünite (CFU-Mix) içerir (29,30). Bu öncül hücrelerin çoğu aktif olarak döngüye sahiptir ve havuz boyutu hızla büyür. Kordon kanı hemapoietik hücreler için uyarıcı aktiviteye sahiptir. İn vivo, bir grup özgün glikoprotein olan hematopoietik büyüme faktörleri, büyümenin değişik kademelerinde çoğalma ve farklılaşmayı artırır. IL-3 ve IL-6 olgunlaşmamış çok yönde farklılaşma özelliği olan kök hücrelerin eritroid ve myeloid öncül hücrelere farklılaşmasını sağlar (31).

Hematopoezin kontrolü kısmen koloni uyarıcı faktörlerin etkisi altındadır. G-CSF myeloid öncül hücre çoğalmasını uyarır; kemik iliğinden periferik

kana olgun nötrofil depo kaynağı hücrelerinin geçişini artırır ve olgun işlev gören nötrofillerin fonksiyonlarını artırır (32).

Granülomonopoez IL-3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF ile etkileşim aracılığıyla kontrol edilir. CFU-Mix ve CFU-GM koloni oluşumu IL-3, GM-CSF ve IL-6'nın sinerjistik etkisiyle desteklenir (31,32).

Fetus nötrofil sistemi gelişmediğinden ve matürasyon aşamasında olduğundan , nötrofil depo büyüklüğü ve nötrofil kinetiklerinin farklı olması beklenir. Dahası , fetus ve yenidoğan olağanüstü hızlı bir büyüme potansiyeline sahiptir. Örneğin , hamileliğin ikinci trimestrinde 2 aydan kısa bir sürede vücut ağırlığı ikiye katlanır. Yine doğumdan sonraki 4 ay içinde vücut ağırlığı iki katına çıkar. Bu hızlı somatik büyüme nötrofil üretiminde talebin artmasına yol açar. Bu yüzden hücrelere yalnız bakteriyel savunma için değil , aynı zamanda vücut kitlesinin hızlı artışı nedeniyle gereksinim vardır (26). Ancak, fetal ve neonatal yaşamda nötrofil kinetiklerinin araştırılması yetişkinlere uygulanan tekniklerle yapılamaz.

Yetişkinlerde olduğu gibi yenidoğanda da matür nötrofiller iskelet kemiklerinde depolanmasına rağmen , karaciğer ve dalakta da bulunur (33). Nötrofil depo havuzunu ölçen teknikler örneğin , radioizotop demirle işaretleme, karaciğer, dalak ve kemik iliği biopsileri normal yenidoğanlara uygulanamaz.

G-CSF :

G-CSF nötrofil yapımını ve fonksiyonlarını düzenleyen bir polipeptid büyüme faktörüdür. Orta boyutta bir yetişkin yalnız normal kayıpları karşılamak için günde yaklaşık 120 milyon granülosit üretir. Bu şaşırtıcı üretim kapasitesi infeksiyon gibi stress koşulları altında 10 kat artırılabilir. G-CSF olasılıkla inflamatuvar uyarana nötrofil cevabını kontrol eden birincil düzenleyici faktör olduğu kadar nötrofil üretiminin bazal düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Dahası, G-CSF proliferatif etkileri yanında diğer biyolojik etkilerini de sergiler. Myeloid öncül hücrelerin çoğalmasını uyarıcı , kemik iliği nötrofil depolarını artırıcı , periferik kanda nötrofil sayısını ve olgun nötrofil işlevlerini artırıcı etkileri vardır (34). Southern blot analizi ile genomik insan DNA sının incelenmesi G-CSF' in tek genle kodlandığı ve ileri çalışmalar bu tek genin 17. kromozom üzerinde (q 11-22) olduğunu göstermiştir (35). İnsan G-CSF geni IL-6 ile ilişkilidir. Sayı , yerleşim , intron ve eksonların boyutları iki gende de benzerdir. Ayrıca, G-CSF ve IL-6' nın aminoasit diziliminde bazı bölgesel homoloji ortaklığı vardır (36).

İn vivo G-CSF üretiminin fizyolojik kontrolü halen tam olarak anlaşılmış değildir. Özellikle G-CSF in normal sabit durumda hematopoez düzenlenmesinde rolü olup olmadığı açık değildir. Dolaşan G-CSF düzeyleri normal kişilerde ve birçok değişik hastalıkta spesifik bioassay yöntemle veya ELISA ile ölçülmüştür. Normal kişilerde dolaşan kanda G-CSF düzeyi genellikle en duyarlı metodlarla bile saptama limitinin

(30 pg/ml) altındadır ve saptandığında da çoğunlukla 100 pg/ml 'nin altındadır (37,38). Ancak infeksiyon gibi stress koşulları altında veya kemik iliği transplantasyonu gibi yüksek doz sitotoksik tedaviyi izleyen dönemde dramatik olarak yükselerek 2000 pg/ml düzeyine ulaşabilir (37). Ayrıca, sitotoksik kemoterapiyle yapılan myelosupresyonun geriye dönüşünde , endojen G-CSF serum düzeyi ile dolaşan kandaki nötrofil sayısı arasında ters oran vardır. Fetal nötrofil sayısı da gestasyon sırasında giderek artar ve bu artışa G-CSF nin etkisi tartışmalıdır (39).

G-CSF üretimi belirli uyarıları takiben birçok hücre tipi tarafından gerçekleştirilebilir. Monosit ve makrofajlar G-CSF nin önemli kaynaklarıdır. Fakat, G-CSF aynı zamanda vasküler endotel hücreler, fibroblastlar ve mezotelial hücreler gibi mezodermal orjinli hücreler tarafından da üretilir. G-CSF in vitro değişik uyarılarla bu hücreler tarafından üretilebilir: Lipopolisakkarit , TNF , IL-1 , tetradekoroil forbol asetat , GM-CSF , IL-3 , IL-4 ve IFN γ (34).

Normal hematopoetik hücreler üzerine G-CSF 'nin primer etkileri nötrofil seri hücreleriyle sınırlıdır. İn vitro, G-CSF nötrofil koloni oluşturan hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarır ve matür nötrofillerin fonksiyonlarını artırır. G-CSF nötrofile farklılaşacak göreceli olarak daha matür öncül hücre popülasyonu üzerine etkilidir.

Öncül hücrelerin çoğalmasında uyarıcı etkisinde G-CSF' in diğer hematopoetik büyüme faktörleri ile etkileşimi son derece karmaşıktır. Özellikle diğer büyüme faktörleri ile birlikte olduğunda, in vitro daha geniş oranda öncül hücrelerin çoğalmasını erken dönemlerinden başlayarak uyarır ve hücrelerin yaşam sürelerini artırır. GM-CSF ve IL-3

ile birlikte olduğunda tek başına yapacağı etkiden daha fazlasını gerçekleştirir (39).

Hamsterlere rh G-CSF 'in tek subkutan injeksiyonunun 2 saat içinde dolaşan nötrofil sayısında artışa yol açtığı ; granülosit konsantrasyonunun 12. saatte pik yaptığı ve yavaşca azalarak bazal değere inmeden önce 36 saat yüksek kaldığı gösterilmiştir (34). Periferel nötrofil sayısındaki ani değişiklikle birlikte 12 saat içinde kemik iliği selllaritesi, koloni oluşturan öncül hücrelerin ve kemik iliğinde S fazındaki hücrelerin sayısında artış meydana gelir.

G-CSF 'nin matür effektör hücrelere etkileri ; Nötrofillerin ncl hücreleri üzerindeki çoğaltıcı etkilerine ek olarak, G-CSF matür nötrofillerin effektör fonksiyonlarını da artırır. In vitro, G-CSF insan nötrofillerinde süperoksit salınımı için yeterli uyarı sağlayamaz. Bununla birlikte, G-CSF ile kısa bir enkbasyondan sonra nötrofillerin f-met-leu-phe ile uyarımı sonucu süperoksit üretimi artar (40).

Aynı zamanda, in vitro G-CSF nötrofillerde CD 11b antijeni (C3bi reseptör) yüzey gösterimini artırdığı bildirilmiştir (41). G-CSF 'in tek başına matür insan nötrofillerinde degranülasyon etkisi yoktur. In vivo, farmakolojik dozda G-CSF uygulaması lökosit alkalen fosfataz düzeylerinde artışa yol açar. Bu göreceli olarak daha matür granülosit öncül hücrelerinde sekonder granül oluşumunda değişiklik olduğunu düşündürmektedir (42).

In vivo, G-CSF uygulaması ile dolaşan nötrofillerin morfolojisinde değişiklik sonucu mutlak nötrofil sayısında artış ile periferik yaymada sola kayma ve belirgin Dohle cisimciği ve toksik granülasyon gösteren matür nötrofiller ortaya çıkar (34). Pelger-Huet anomalisi olan nötrofillerin, in vitro G-CSF ile enkübasyonu sonrası anormal nükleus

morfolojilerinde değişiklikle 24 saat içinde nükleer segmentasyonda artış gösterilmiştir. Bu gözlem, olgunlaşan nötrofillerin nükleer segmentasyonunun gelişim sürecinde G-CSF 'in bir rolü olduğunu düşündürmektedir (43).

G-CSF 'in antikor bağımlı hücrel sitotoksisite dahil diğer efektör hücre fonksiyonlarını da artırdığı bildirilmiştir (44). İn vitro, insan nötrofillerinin G-CSF ile enkübasyonu sonucu interferon- α gen gösterimi ve protein üretiminde artış olduğu gösterilmiştir (45). İnterferon- α 'nın nötrofillerde koloni oluşumunda inhibitör etkisi olduğu bildirildiğinden, bu araştırmacılar G-CSF 'nin uyardığı interferon- α üretiminin yüksek G-CSF düzeylerinde nötrofil üretimini baskılayarak granülopoezin kontrolünü sağlayan mekanizmanın bir parçası olarak görev yaptığını öne sürmektedirler (45).

G-CSF uygulamasının insanlarda dolaşımdaki hematopoetik öncül hücrelerin sayısında 10 kat artışa yol açtığı bildirilmiştir (46,47). İn vivo G-CSF uygulanması ile periferik kanda öncül hücrelerin sayısında gözlenen bu artış, GM-CSF uygulanması ile oluşandan belirgin olarak farklılık göstermektedir (48).

G-CSF yüksek doz kemoterapi ve kemik iliği transplantasyonunda kullanılmaktadır. Otolog kemik iliği transplantasyonunda G-CSF uygulamasının hematopoetik düzelmeyi hızlandırdığı bildirilmiştir (47). G-CSF 'in klinik kullanımı myelodisplastik sendrom, konjenital nötropenik hastalıklar, saçlı hücreli lösemi ile birlikte olan nötropeni ve siklik nötropeni gibi bazı diğer hastalıklarda da araştırılmaktadır (34). Bu durumların tümünde G-CSF dolaşan nötrofil sayısını belirgin olarak artırmaktadır. Klinik olarak geniş kullanım alanı olmasına rağmen, bu güçlü ajanın optimal klinik uygulaması hakkında halen birçok cevaplanamayan sorular vardır.

GM-CSF :

GM-CSF 22.000 d. MA glikoproteindir. T lenfosit, B lenfosit , makrofaj, mast hücresi , fibroblast , endotelyal hücre, mezotelyal hücre, osteoblastlar GM-CSF mRNA ve GM-CSF üretmesi için uyarılabilir. T lenfositleri ve makrofajlar doğrudan immun veya inflamatuvar uyarılarla aktive edilebilir. Endotelyal hücre ve fibroblastlar tarafından GM-CSF üretimi IL-1 ve TNF gibi monokinler tarafından artırılabilir. Yetişkinlerde GM-CSF dolaşımında saptanabilecek düzeyde değildir. Bu yüzden parakrin modele göre davranır; üretildiği yerde lokal olarak etki eder (49). İnsan GM-CSF geni 5. kromozomun uzun kolunda bulunmaktadır (5 q 21-32). Lokalizasyonunun IL-3 genine 9 kbp uzaklıkta olması ilginçtir. IL-4, IL-5, M-CSF, M-CSF reseptörü ve erken büyüme yanıt geni de 5. kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir (50). Bu bölgede interstisyel delesyonlar tedaviye bağlı myelodisplastik sendromlarda , akut lösemilerde ve 5 q- sendromunda görülmüştür (51).

Biolojik aktiviteleri ;

Hemapoietik büyüme faktörlerinin saflaştırılması , moleküler klonlanması ve biosentetik olarak büyük miktarlarda üretimi , bu faktörlerin in vitro ve in vivo çalışmalarda kullanılmasına olanak sağlamıştır.

GM-CSF hem in vitro, hemde in vivo güçlü bir büyüme faktörüdür; nötrofiller, eosinofiller ve monositlere farklılaşan myeloid öncül hücrelerin çoğalma ve olgunlaşmasını sağlar. Erken in vitro deneyler , bazı kültür koşullarında GM-CSF' nin aynı zamanda BFU-E' nin

proliferasyonunu uyardığını göstermiştir (52). Ek olarak , halen tartışmalı olsada T hücre serileri ve plazmositomaların çoğalmasını ve işlevlerini artırdığını bildiren raporlar vardır (53,54). GM-CSF nin olgun nötrofiller, monositler ve eosinofiller üzerine uzun bir biyolojik aktivite listesi vardır (Tablo 1). Weisbart ve ark. ilk olarak saflaştırılmış rh GM-CSF nin insan nötrofillerine hem doğrudan, hemde indirekt etkisini göstermişlerdir (55). Doğrudan etkileri nötrofil migrasyon inhibisyonu, degranülasyon, reseptör gösterimi değişikliği , hücre iskeleti ve hücre şekli üzerine etkileridir. İndirekt etkileri nötrofillerin tetik çeken ikincil uyarılara yanıt yeteneğini arttırdığından başlatıcı etkiler olarak tanımlanmıştır. Bu etkiler arasında artmış süperoksit üretimi, Ca geçişi, LT B4 sentezi vardır. Nötrofillerin etkilerinin başlamasında kesin moleküler ve biokimyasal olaylar henüz tanımlanmamıştır (49). Bazı araştırmacılar tarafından GM-CSF nin nötrofiller üzerindeki f -Met-Leu-Phe (f-MLP) reseptör sayı ve affinitesini değiştirdiği belirtilmiştir (56); f MLP reseptöründe değişiklikler biyolojik yanıtlarla korelasyon gösterir. Reseptör affinitesinde yavaş değişiklikler artmış oksidatif metabolizma ile uyumludur. Azalmış nötrofil migrasyonu ile korele olarak reseptör sayısında hızlı bir yükselme olur. GM-CSF nin bakteriyel oligopeptidlere sonraki duyarlılığı hücrelerin daha az duyarlı subpopülasyonunun temizlenmesi veya normal nötrofil matürasyon prosesini artırması ve böylece f-MLP ye duyarlı hale gelmesi olarak tanımlanmıştır (57).GM-CSF nin diğer önemli başlatıcı veya indirekt etkileri nötrofil ve eosinofillerin lökotrien üretimini artırabilmesidir (58). Kemotaktik ajanlara yanıt olarak bu inflamatuvar mediatörlerin üretimi olasılıkla inflamatu var yanıtı artırmaktadır. Aynı zamanda GM-CSF düşük miktarlarda LT B4 üretimini artırır. Nötrofiller LT B4 reseptörleri

içerdiğinden ve GM-CSF ile tedavi sonrası bu reseptörler azaldığından, GM-CSF nin gözlenen bazı başlatıcı etkilerinin LT B4 ile nötrofillerin otokrin uyarılması sonucu olması mümkündür (49).

GM-CSF yapışmamış nötrofillerden direkt olarak süperoksit salınımını uyarmamasına rağmen, nötrofillerin f MLP , C5a , LT B4 , phorbol miritat asetat ve opsonize zimosan gibi ikincil uyarılara yanıt olarak oksidatif aktivitesini başlatır (59). GM-CSF ve diğer hemapoietik büyüme faktörlerinin terapötik önemleri kanser kemoterapisi ve kemik iliği trasplantasyonu için kullanılan ilaçların yan etkilerini azaltabilmelerinden kaynaklanmaktadır. Vücut savunma hücrelerinin sayılarının artmasına ek olarak, GM-CSF nötrofil, makrofaj ve eosinofillerin değişik mikroorganizmaları fagosite etme ve yok etme yeteneklerini de geliştirir (60). Ayrıca GM-CSF tümör hücrelerine karşı antikor bağımlı hücre aracılığıyla olan sitotoksiteyi (ADCC) artırır (49). Böylece, GM-CSF tedavisi hastayı yalnız radyasyon ve kemoterapinin myelosupressif etkilerine karşı korumakla kalmayıp, tümör hücrelerinin lokalize edilmesi ve yok edilmesinde vücut savunma sistemlerinin yeteneklerini artırmaktadır.

Tablo1- GM-CSF nin biyolojik aktiviteleri ;

İn vitro

Proliferasyonun uyarılması :

Kemik iliği , AML hücreleri , lösemik hücre dizileri , BFU-E ,
endotelyal hücreler , monosit/makrofajlar , lenfositler ?

İşlevlerin artırılması :

- Nötrofiller** Yaşam s resinin ve protein sentezinin artırılması
Migrasyon inhibisyonu, oksidatif metabolizma
Degranülasyon, sitokin sekresyonu
Temizleme (recruitment)
Ig A aracılıklı fagositoz
Bakteri ve parazitlerin hücre içine alınması ve tahrip edilmesi, sitotoksisite (ADCC)
Hücre yüzey reseptörü değişikliği
Araşidonik asit salınması , lökotrien ve PAF sentezi
- Eosinofiller** Yaşam s resinin artırılması
Sitotoksisite, lökotrien sentezi
- Bazofiller** Histamin salınımı
- Makrofajlar** Sitokin gösterimi
Parazitlerin  ld r lmesi
Yüzey reseptör antijen gösterimi
Tümör hücresinin yok edilmesi
Yapışma, oksidatif metabolizma
- Lenfositler** ?

İn vivo

Hematopoezin artırılması , eosinofili
Serum kolesterolünde düşme

IL-1 :

IL-1 nükleuslu tüm hücrelerde üretilebilir. IL-1 in hücre kaynakları monositler ,T lenfositleri , transforme ve normal B lenfositleri , lenf nodu hücreleri , NK hücreleri , SSS mikrogliya , astrositler , endotel hücreleri, düz kas hücreleri , fibroblastlar , sinoviyal hücreler , deri dendritik hücreleri , keratinositler ; intestinal , gingival , servikal epitel hücreleridir. Lösemik hücrelerde IL-1 üretebilir. Trombositler IL-1 içerir. Fakat, IL-1 sentezleyip sentezleyemediği açık değildir (61).

İnsanlarda IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki ayrı moleküler formu vardır. Her ikisi de dolaşımında 3.9 pg/ml nin altında bulunur. 159 ve 153 aminoasit uzunluğunda peptidlerdir. Aynı genler tarafından kodlanırlar ve %26 aminoasit dizisi ortaktır. Yinede IL-1 α ve IL-1 β nın biyolojik aktiviteleri ve etkileri benzerdir ; aynı yüzey reseptörüne yaklaşık benzer affinite ile bağlanır. Birçok hücre tipi her iki IL-1 genini de taşır; fakat, gösterimleri göreceli olarak geniş ölçüde değişir. Örneğin, insan monositleri IL-1 β ' yı , keratinositler ise IL-1 α ' yı ağırlıklı olarak üretir. Az sayıda hücre tipi ise üçüncü bir geni içerir ve IL-1 reseptör antagonisti olarak adlandırılan IL-1 reseptörüne bağlanmak için yarışarak IL-1 α ve IL-1 β ' yı inhıbe eden bir proteini kodlar (21).

IL-1 α ve IL-1 β önce propeptid olarak sentezlenir (MA 31000); daha sonra enzimatik olarak parçalanarak hücre dışı membranında veya ilerisinde matür sitokinlere dönüşür (MA 17000). IL-1 α propeptidi biyolojik olarak aktiftir ; fakat, IL-1 β propeptidi değildir. IL-1 genel olarak hücre dışı eriyebilir bir protein olarak hareket ederken ,

biyolojik aktif IL-1 α (IL-1 β değil) aynı zamanda hücre yüzeylerinde de tespit edilmiştir ve hücreler arası temas gerektiren ilişkileri artırır.

Bazı dokular da yapısal olarak IL-1 üretebilir. Örneğin deride , amniotik sıvıda , terde ve idrarda belirgin miktarda IL-1 bulunur. Tersine makrofajlar ve diğer hücre tipleri yalnız dış uyaranlara , bakteriyel lipopolisakkarit , urat veya silikat partiküller veya aliminyum hidroksit, müramil dipeptid gibi adjuvanlara yanıt olarak yanıt olarak IL-1 üretir. Uyarının niteliği IL-1 in önemli oranda hücre içinde mi , yoksa hücre dışı aralığında mı toplanacağını belirler. Lateks partikülleri , lipopolisakkaritler ve zimosan IL-1 in hem hücre içinde , hem de hücre dışında toplanmasını sağlarken ; silika partikülleri ve forbol miristat asetat IL-1' in önemli oranda hücre dışında toplanmasına yol açar. IL-1 salınımını düzenleyen hücre içi faktörler henüz aydınlatılmamış olmasına rağmen, hücre hasarının bu faktörlerden birisi olması muhtemeldir.

IL-1 α ve IL-1 β tüm hedef hücrelerde bulunan reseptörlerine yüksek affinite ile bağlanır. Reseptörlerin sayısı T lenfositleri üzerinde 50 veya daha az ve fibroblastlar üzerinde birkaç bin olmak üzere büyük değişiklik gösterir. İki farklı reseptör klonlanmıştır. Her ikisi de IL-1 α ve IL-1 β ' ya eşit bağlanan transmembran glikoproteinlerdir. Bu reseptörlerin yalnız %28 aminoasit dizisi benzerlik gösterir. Üç hücre dışı immunglobulin benzeri zincir içeren 3 boyutlu yapısı itibariyle ayrılabilirler. Tip I reseptör 517 aminoasit uzunluğundadır. Sitoplazmik kısım 217 aminoasit içerir ve sinyal iletimini sağlar. Tip II reseptör tersine yalnız 29 aminoasitlik intrasitoplazmik parçaya sahiptir ve sinyal iletiminde rol oynamaz.

IL-1 R II hücre dışı uzantısı solubl form olarak lokal inflamasyon yerinde ve sistemik inflamasyon sırasında seruma salınır. Bu solubl IL-1 R II göreceli olarak büyük miktarda üretilir ; IL-1 β ya daha güçlü bağlanır ve inflamasyon olan alanlarda IL-1 β ' nin endojen inhibitörü olarak hareket ettiği ileri sürülmektedir (21).

Birçok değişik hücrede sitokin üretimini uyaran faktörler arasıdonik asitten lipooksijenasyon ürünleri sentezini de artırır ve bu ürünlerden bazıları IL-1 gen gösterimi için pozitif sinyal oluşturur. Kortikosteroidler transkripsiyon başlamadan önce verildiğinde IL-1 transkripsiyonu ve sentezini önler. IL-1 reseptörlerinin , IL-1' e yanıt veren hücrelerde gösterimi olur. Fakat, gösterim düzeyi bazı ajanlar tarafından değiştirilebilir. IL-1' in kendisi dahil GM-CSF, G-CSF ve kortikosteroidler IL-1 in reseptör gösterimini ve kemik iliği hücrelerinin IL-1' e yanıt verme oranını artırır. Transkripsiyon sonrası verildiğinde daha az etkilidir. TGF- β IL-1 reseptör gösterimini azaltır.

IL-1 olgun nötrofillerin ve öncül formlarının kemik iliğinden dolaşıma salınmasını doğrudan artırır gibi görünmektedir. IL-1' e yanıt olarak gelişen nötrofili , stress ve epinefrin veya kortikosteroid salınımına göre daha uzun sürelidir ve daha yüksek sayıdadır.

IL-1 β , en önemli pirojenik sitokindir. Sistemik IL-1 β verilmesi anterior hipotalamik merkezde ani PG E2 artışına yol açar. Bu hipotalamik PG E2 artışı ısı ayarını artırır ve febril yanıtla sonuçlanır (13). Yetişkinlerin aksine çocuklar ve yenidoğanlar infeksiyon ve sepsiste febril yanıt veremezler veya az verirler. Preterm ve term yenidoğan kordon kanı uyarılmış monositleri ile yetişkinlerin uyarılmış monositleri arasında

IL-1 β üretiminde farklılık yoktur (14). Ancak sepsisli yenidoğanlarda IL-1 β üretimi azalmıştır (15).

Prematür yenidoğan infeksiyon gelişmesinde ve sepsise ilerlemesine artmış eğilime sahiptir (1,2,3). Fakat, genellikle ateş gibi tipik semptomlar ortaya çıkmaz. Dahası, bazen hipotermi ile birlikte olabilir. Bu konuda bilinenler azdır. Gram (-) septisemide, bakteriyel lipopolisakkarite yanıt olarak makrofajlar inflamatuvar olaylardan sorumlu birçok değişik sitokin üretir. Bu sitokinlerden biri olan IL -1 ateş , akut faz proteinleri sentezi ve nötrofil sayısında artma gibi inflamatuvar yanıtın birçok değişik kısmında aracılık yapar.

IL-1 in hematolojik etkileri ;

IL-1 in hematopoezi etkilediği değişik kademeler vardır. IL-1 GM-CSF , G-CSF , IL-3 ve diğer sitokinlerin üretimini artırır. IL-1 koloni uyarıcı faktörler ve diğer sitokinlerle sinerjistik hareket eder. IL-1 hematopoitik öncül hücrelerin döngülerini düzenler ve erken öncül hücreleri sitotoksik ajanlardan korur (62). IL-1 birçok değişik hücrede , özellikle kemik iliği stromal hücrelerinde koloni uyarıcı faktörlerin sentezini uyarır (63) ve artmış üretim ya yeni m RNA transkripsiyonu veya GM-CSF de olduğu gibi m RNA stabilizasyonu ile olur (64). IL-1 GM-CSF , G-CSF , IL-3 , IL-6 ile sinerjistik hareket ederek özelleşmiş ve özelleşmemiş hücrelerin dizilimini sağlar (61). IL-1 in kök hücreler üzerine etkisi Stem cell faktör' ün uyarılmasıyla olabilir. Sitotoksik ilaçlarla kemik iliği tedavisi sonrası koloni oluşumu için gerekli yardımcı faktör Hematopoinetin 1 olarak adlandırılmıştı. Moleküler klonlanma sırasında H-1' in IL-1 α olduğu

bulundu. İn vivo IL-1 in erken öncül kök hücreler üzerine hematopoietik etkisi koloni uyarıcı faktörleri uyarması kadar, koloni uyarıcı faktörlere duyarlılığı artırması yoluyla olur. Hayvanlara tek IL-1 injeksiyonu ($< 1 \text{ micg/kg}$) dolaşan kanda granüositlerde ve öncü formlarında artışa neden olur (65); bu etkinin IL-6 aracılığıyla olmadığı, IL-1 in direkt etkisiyle olduğu öne sürülmektedir. Dolaşan nötrofillerde yükselme hayvanlarda ve IL-1 verilen gönüllü insanlarda aynı kinetiği göstererek 4 saatte pik yaptığı bildirilmiştir (61). IL-1 in daha yüksek dozları endotelial hücreye PNL yapışmasını artırdığından granüosit sayısını düşürür.

Son çalışmalar insanlarda IL-1 in düşük dozlarda ($1-10 \text{ ng/kg}$) doğrudan trombosit üretimini artırdığını göstermiştir (66). Bu etkinin IL-1 ve IL-3 arasında sinerjistik etkiyle oluştuğu düşünülmese de rağmen IL-1 tedavisi sırasında IL-3 düzeyinde değişiklik saptanmamıştır.

IL-1' in sürekli verilmesi in vivo TNF düzeyini artırarak hematopoezi baskılar (67). IL-1' in direkt eritropoezi baskılayıcı etkisi ise eritropoetin tarafından önlenir (68).

Tablo 2- IL-1 ' in biyolojik etkileri ;

İmmunolojik özellikler

T hücre aktivasyonu (IL-2 sentezi için IL-6 ile birlikte)

Artmış IL-2 reseptör gösterimi

IL-6 indüksiyonuyla B hücre aktivasyonu

NK aktivitesi , IL-2 ve IFN ile sinerji

Lenfokin gen gösterimi

Proinflamatuvar özellikler

Ateş , uyku , iştahsızlık , nöropeptid salınımı

Kompleman gen gösterimi

Sitokrom P 450 sentez baskılanması

Endotelyal hücre aktivasyonu

Nötrofil

Artmış adezyon molekülü gösterimi

Nötrofil etkisinin başlatılması , eosinofil degranülasyonu

Hipotansiyon , miyokardiyal supresyon , şok , ölüm

Nötrofillerin dokulara penetrasyonu (IL-8 ile birlikte)

β ada hücre sitotoksitesi

Aminoasid döngüsü , hiperlipidemi

Siklooksijenaz ve lipoksijenaz gen gösterimi

Kollajenaz ve kollajenlerin sentezi , osteoblast aktivasyonu

Koruyucu etki

Malaria , bakteriyel infeksiyonlar , öldürücü radyasyon , hiperoksi , inflamatuvar barsak hastalıkları , histamin salınımı .

TNF α :

TNF insanda TNF α ve TNF β olarak adlandırılan iki formda bulunur. TNF α ilk kez lipopolisakkarid verilen hayvanların serumunda bazı tümörlerde hemorajik nekroz yapabilme etkisi gösteren bir aktivite olarak tanımlanmıştı. Daha sonra bazı parazitik hastalıklarla birlikte olan wasting (tükenme) sendromunda dolaşan bir mediatör olarak kaşektin adı ile tanımlanmıştır (21). TNF α , başlıca aktive makrofajlar ve daha az olarak diğer hücre tipleri tarafından üretilir. TNF β , başlıca aktive T lenfositlerinin bir ürünüdür ve lenfotoksin olarakta bilinir. TNF α , monosit ve makrofajlar tarafından PMA, LPS, Sendai virus, MDP, tümör hücreleri, mikoplazmalar, veya BCG ye yanıt olarak üretilebilir. Lenfositler antijenlerle veya mitojenlerle uyarılarak TNF β üretebilir; fakat, lenfositler ve NK hücreleri az miktarda TNF α da sentezleyebilir. Birçok endojen mediatörde TNF için aktif uyarı oluşturabilir: Bunlar arasında IL-3 (mast hücreleri için), IL-1, TNF nin kendisi, GM-CSF, M-CSF, LT B4, PAF ve LPS ile birlikte IFN γ (makrofajlar için) vardır. TNF α ve TNF β her ikisi de hedef hücrelerde aynı reseptöre bağlanır ve sonuçta aynı biyolojik etkileri gösterirler. Bu etkileri IL-1 ile büyük benzerliğe sahiptir.

TNF α ve TNF β arasındaki benzerlik derecesi nükleotid düzeyinde % 46 ve aminoasit düzeyinde % 28 dir. 6. kromozom üzerindeki MHC kompleksi içinde bulunan iki ayrı gen tarafından kodlanırlar (21). Bu nedenle bazen sınıf I ve sınıf II MHC proteinlerine yapısal olarak benzerlikleri olmasa da sınıf III MHC proteinleri olarak belirtilirler. Her ikisi de propeptid olarak sentezlenir. TNF- α 157 aminoasit uzunluğunda ve molekül ağırlığı 17400 , TNF β ise 171 aminoasit uzunluğunda ve molekül ağırlığı 20000 olan matür formuna dönüşür. Ayrıca, TNF α ' nın aktif membran bağlı bir formunun var olduğu ve direkt kontakt yoluyla tümör hücrelerinin ölmesinde aracılık ettiği öne sürülmektedir.

TNF α ve TNF β nın yüksek affiniteli iki tip reseptörü tanımlanmıştır. MA 75000 olan tip II reseptörü TNF α ve TNF β ya , MA 55000 olan tip I reseptörden yaklaşık 10 kat daha yüksek affinite ile bağlanır. Her bir TNF reseptörü hidrofobik transmembran bölgesinde büyük bir hücre dışı bağlanma yerine sahiptir ve hücre içi sinyal iletimini sağlayan bir zinciri vardır. TNF bu reseptöre trimer olarak bağlanır. Her bir trimer aynı anda 2 yada 3 tip I veya tip II reseptöre bağlanır. Reseptörlerin bu ligand aracılıklı çarpaz bağlanmasının sinyal iletimini başlattığı ve sonuçta protein fosforilasyon zinciri ile IL-1 e benzer şekilde gen aktivasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. TNF nin tip II reseptörünün uzak yanıtlardan sorumlu olduğu varsayılmaktadır. Tip I reseptörün sitotoksik aktivite ve fibroblast proliferasyonunu uyardığı , tip II reseptörün ise T lenfosit proliferasyonunu artırdığı bildirilmektedir.

TNF nin birincil olarak bölgesel hemorajik Schwartzman reaksiyonu olarak bilinen bir labaratuvar fenomeninden sorumlu olduğu belirtilmektedir. Aynı solid dokuya 24 saat aralıkla verilen 2 ardışık bakteriyel lipopolisakkarid (LPS) injeksiyonu bölgesel koagülasyon, hemoraji ve doku nekrozu ile sonuçlanır. Bunun nedeni lipopolisakkadin indüklediği makrofajlardan salınan TNF' nin endotelyal hücrelerden prostaglandinler , IL-6 ve pıhtılaşma zincirini başlatan prokoagülan faktör olarak adlandırılan bir protein (doku faktörü III) in salınımını uyarmasıdır. Bölgesel koagülasyon ve iltihabi olaylar kan akımını önler ve TNF' nin tümörde infarktlar ve hemorajik nekrozlara neden olmasını sağlar. Aynı zamanda , Scnwartzman reaksiyonununda intravenöz olarak verilen iki doz LPS yaygın damar içi pıhtılaşmasına yol açar. Geniş trombozlar kapillerleri tıkar ve koagülasyon faktörlerinin azalmasına neden olur ve hemoraji , şok ve ölüme götürebilir. Bu sistemik reaksiyonun ağır bakteriyel sepsisteki bazı olayları taklit ettiği ve sepsiste kısmen de olsa TNF' nin bu olaylara yol açabileceği düşünülmektedir.

TNF ve IL-1 hepatositlerin bazı plazma proteinlerini yüksek oranlarda sentezlediği ve infeksiyonlara karşı nonspesifik vücut yanıtında önemli yeri olduğu düşünülen akut faz yanıtını artıran faktörler arasında en önemli indükleyicilerdir. Bu bakımdan etkileri IL-6 ile benzerlik gösterir. TNF ve IL-1 tarafından yapımı artırılan plazma proteinleri haptoglobin , C reaktif protein , kompleman faktör C₃ , α 1 asit glikoprotein , faktör B , serum amiloid protein A ve P dir. Aynı zamanda TNF , sitokrom P 450 , plazma demir ve çinko düzeylerini azaltırken , kompleman komponenti C₃ ve plazma bakır düzeylerini artırır.

Hem TNF ve hem IL-1 endotelyal hücreleri aktive ederek inflamasyon alanına nötrofil migrasyonunu artırabilir. Endotelyal büyüme faktörlerinin üretimini artırır ve anjiojenik aktiviteye sahiptirler. Tek başlarına veya sinerjistik olarak hareket ederek , hipotalamus yoluyla bir çok sayıda etkilere yol açabilirler. Endojen pirojenlerdir ve doğrudan kortikotropin salgılatıcı hormon salınımını uyararak hipofizden adrenokortikotropik hormon salınımını artırır ve adrenallerden glukokortikoidlerin üretiminde artışına neden olurlar. Sonraki etki negatif geri düzenlemedir. Çünkü, glukokortikoidler TNF ve IL-1 üretimini baskırlar. Glukokortikoidler insan B lenfositlerinde IL-1 reseptör gösterimini artırır ; fakat, TNF reseptör gösterimini artırmazlar. İmmunsupressif rol oynayan steroidlerin B lenfositlerinde IL-1 R gösterimini artırarak oluşan bu paradoksik etkilerinin hücre sel bağışıklığı azaltıp humoral immunitiyi devreye sokarak inflamasyonu baskıladığını düşündürmektedir (21).

TNF kemik iliği stromal hücrelerinde ve makrofajlarda koloni uyarıcı faktörlerin üretimini artırır ; fakat , kök hücre çoğalmasını direkt olarak inhibe eder. TNF ve IL-1 kemik iliğinden nötrofillerin üretimini ve salınımını artırır. Eğer radyasyon uygulanmadan 1 gün öncesinde verilirse, IL-1 ve daha az derecede TNF radyasyon hasarına karşı kemik iliğini korur. Epitelyal hücreler üzerine TNF' nin etkisi bilinmemektedir.

TNF ve IL-1 , IFN β indüksiyonu yoluyla indirekt antiviral etkiye sahiptirler. Ayrıca, in vitro bazı tümör hücrelerini öldürebildikleri veya büyümelerini inhibe edebildikleri gösterilmiştir. TNF , IL-1'den daha fazla hücre tipine karşı ve daha hızlı etkili olduğu gözlenmiştir.

TNF nin yol açtığı kaşeksi olasılıkla lipoprotein lipaz aktivitesinde artışa ve böylece yağların yıkılmasına bağlıdır.

TNF , T lenfositlerinde IL-2 reseptör tanımlanmasını artırır. Lenfokin üretimini , B lenfosit çoğalmasını ve antikor üretimini uyarır. Makrofaj, nötrofil ve eosinofil aktivasyonunu artırır. Monosit ve makrofajlarda prostaglandin, IL-1 , IL-6 , IL-8 ve GM-CSF üretimini uyarır. MHC sınıf II antijenlerinin tanımlanmasını artırır.

Rekombinan TNF infüzyonu memelilerde şok ve doku hasarına yol açmaktadır. Bu değişiklikler akciğer ödemi, solunum yetmezliği, akut renal tubuler nekroz, endotelyal yüzeyde pıhtılaşma ve yaygın hemorajik nekroz şeklinde gözlenir. TNF infüzyonu ile oluşan hipotansiyon doza bağımlıdır.

IL-3 :

IL-3 hematopoetik ve immün fonksiyonları düzenleyen glikoprotein hormon ailesinin bir üyesidir. IL-3 multipotansiyel hematopoetik kök hücreler ve granülosit / makrofaj, eritroid, eosinofil, megakaryosit, mast hücresi ve bazofilik seri öncül hücrelerinin yaşam süresini, çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarır (69,70). Ayrıca, monosit sitotoksitesi ile birlikte eosinofillerin metabolizmasını, fagositoz ve antikor bağımlı sitotoksite gibi myeloid son hücre fonksiyonlarını artırır (71). Diğer koloni uyarıcı faktörlere göre daha az diziye özgüdür ve hematopoezi daha erken öncül hücreler düzeyinde uyararak çok yönde farklılaşan dizi oluşumunu (CFU-G, eritroid, monosit, megakaryosit, CFU-GM , CFU-Meg ve BFU-E) sağlar. IL-3 CFU-Mix , CFU-GM ve BFU-E koloni oluşumunu GM-CSF, IL-6 ve Epo ile sinerjistik olarak uyarır (72). GM-CSF ile karşılaştırıldığında IL-3 belirgin olarak yüksek oranda CFU-Mix' i uyarır ve BFU-E gelişiminde daha etkilidir. IL-3 ile oluşan çoğalma yanıtı GM-CSF e göre daha hızlı ve daha güçlüdür. Rh IL-3'in primatlara verildiğinde dolaşan kanda beyaz küre, trombosit ve retikülosit sayısını belirgin artırdığı gösterilmiştir (73). Son zamanlarda, IL-3 tedavisi ile ilerlemiş malignite veya aplastik anemili hastalarda dolaşan kanda nötrofil , eosinofil ve trombositlerde artış bildirilmiştir (74).

OLGULAR VE YÖNTEM :

Araştırma kapsamına Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Antalya Devlet Hastanesi Kadın Doğum bölümlerinde normal spontan vaginal yol ile doğan, gestasyon yaşları 38-42 hafta olan 25 sağlıklı yenidoğan alındı. Çalışmaya alınan yenidoğanların annelerinde prenatal, natal ve postnatal dönemde komplikasyon olmaması (ateş, korioamnionit, eklampsi, hipertansiyon, vd.) ve yenidoğanların takibinde infeksiyon bulgusu olmaması koşulu arandı.

Bebeklerin ailelerine çalışma ile ilgili bilgi verildi ve onayları alındı.

Yenidoğan bebeklerin kan örnekleri doğumda , 2. ve 5. günlerde steril EDTA' lı tüplere alındı. 15-20 dakika + 4 °C derecede bekletildikten sonra 1500 devirde 10 dakika santrifüje edilerek plazmaları ayrıştırıldı. Eş zamanlı tam kan sayımı ve periferik yayma yapılarak mutlak nötrofil sayıları hesaplandı. Örnekler çalışma gününe kadar - 60 °C derecede saklandı.

Olguların plazma G-CSF , GM-CSF , IL-1 α , IL-1 β , IL-3 , TNF α düzeylerinin saptanmasında ticari kullanımda olan spesifik ELISA (R&D sistem INC Minneapolis MN USA) kitleri kullanıldı. Test edilecek sitokin düzeyi için monoklonal antikorla kaplı olan plastik plakalara standartlar ve serum örnekleri konularak inkübatöre alındı. Bağlanmayan antikor- enzim substratını ortamdaki uzaklaştırmak için plakalar yıkandı. Araştırılacak substrat eklendi ve yeniden inkübatöre alındı. Reaksiyon sülfirik asitle durdurularak plakalar uygun dalga boylarında okundu.

Her sitokin için ölçülen standart düzeyler alınarak eğriler elde edildi. Tüm örnekler çift olarak test edildi.

Standart eğriler ile elde edilen sitokin düzeylerinin normal değerleri G-CSF için < 30 pg/ml , GM-CSF ve IL-3 için saptanamayacak düzey, IL-1 α ve IL-1 β için $< 3,9$ pg/ml ve TNF α için $< 15,6$ pg/ml olarak verilmiştir.

Olguların plazma G-CSF , GM-CSF , IL-1 α , IL-1 β , IL-3 , TNF α düzeylerinin saptanmasında kullanılan spesifik ELISA kitlerinin duyarlılığı- saptanabilen en düşük değerler G-CSF için 7.2 pg/ml, GM-CSF için 1.5 pg/ml, IL-1 α ve IL-1 β için 0.3 pg/ml, IL-3 için 7.4 pg/ml, TNF α için 4.4 pg/ml' dir.

Tüm veriler BMDP 3S - Nonparametrik Friedman Test İstatistiği ile değerlendirildi. Anlamlılık açısından sitokin düzeylerinin \pm standart sapması alındı. P değerlerinin < 0.05 olması anlamlı kabul edildi.

BULGULAR:

Çalışmaya alınan olguların plazma G-CSF, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-3, TNF α düzeylerine bakıldı. Tam kan sayımı ve periferik yayma ile MNS değerleri hesaplandı. Aşağıdaki tablolarda olguların 1., 2. ve 5. günlerdeki MNS' ları ve bakılan sitokin düzeyleri görülmektedir.

TABLO 3- OLGULARIN MUTLAK NÖTROFİL SAYILARI

OLGU	MNS		
	1. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	13312	11424	3888
2	7378	2862	2200
3	18900	8768	5808
4	11764	6912	5880
5	11088	5518	2408
6	13580	5208	6800
7	10010	7182	3750
8	16864	6664	3424
9	21672	7808	4760
10	12744	5670	4968
11	12816	8228	5350
12	16340	11776	3990
13	20944	11718	5500
14	12804	5616	4522
15	13596	7920	7622
16	14472	10200	5850
17	10752	7540	2808
18	7104	6720	2584
19	14060	6656	5120
20	20480	9048	4726
21	9588	5974	3640
22	18772	9234	7080
23	13992	11200	4944
24	14904	6048	4294
25	13248	5400	1134

MNS değerlerinde 1. -2. gün, 2.-5. gün, 1.-5. günlerdeki azalma istatistiksel olarak belirgin anlamlı idi ($p < 0.01$)

TABLO 4- OLGULARIN G-CSF DEĞERLERİ (pg/ml)

OLGU	G-CSF		
	1. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	180	115	113
2	320	145	94
3	122	100	110
4	112	110	82
5	220	113	104
6	340	135	130
7	120	136	130
8	94	108	112
9	270	155	120
10	125	120	92
11	204	162	120
12	290	155	130
13	400	160	100
14	155	140	135
15	125	115	112
16	145	131	93
17	133	110	93
18	134	125	94
19	120	118	102
20	360	102	134
21	122	101	155
22	126	160	95
23	264	134	130
24	140	142	120
25	158	111	120

G-CSF düzeylerinin doğumdan sonra ilk günde yüksek olduğu ve 2. ve 5. günlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü saptandı. Ayrıca, G-CSF düzeylerindeki yüzde azalma MNS 'daki yüzde azalma ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu ($p < 0.01$).

TABLO 5- OLGULARIN GM-CSF DEĞERLERİ (pg/ml)

OLGU	GM-CSF		
	1. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	8.2	7.5	8.9
2	9.0	11.5	8.2
3	9.0	8.2	7.7
4	10.5	12.0	7.7
5	12.5	9.0	6.2
6	10.3	11.7	11.6
7	7.7	10.3	9.5
8	8.8	9.5	8.5
9	9.5	13.7	9.4
10	10.5	10.1	8.4
11	14.6	13.1	16.0
12	12.5	8.3	7.9
13	10.1	8.3	7.9
14	8.9	8.2	10.0
15	9.2	7.8	7.8
16	7.7	10.9	7.6
17	7.7	8.3	7.7
18	13.1	11.8	7.3
19	8.3	10.3	9.1
20	7.4	7.3	10.4
21	10.6	8.8	11.0
22	7.3	7.2	6.5
23	7.7	16.5	9.8
24	8.9	10.3	8.0
25	7.7	9.9	9.2

İlk günde GM-CSF düzeyleri de yüksek bulunmasına rağmen diğerleri kadar belirgin bir yükseklik saptanmadı. 2. günde de yüksek kalıp daha sonra 5. günde düzeyi azaldı. İstatistiksel anlamlılık saptanmadı.

TABLO 6- OLGULARIN IL-1 α DEĞERLERİ (pg/ml)

OLGU	IL-1 α		
	1. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	5.3	5.0	4.2
2	6.6	6.4	11.5
3	4.9	5.0	4.3
4	6.9	4.9	5.4
5	5.2	5.3	5.6
6	4.4	5.2	9.2
7	5.4	5.4	5.4
8	5.4	6.2	5.9
9	4.9	5.6	5.0
10	4.8	5.6	6.0
11	5.3	5.6	6.0
12	6.9	5.6	5.0
13	5.5	4.8	4.9
14	4.8	5.6	6.8
15	5.6	5.0	7.2
16	4.4	5.2	4.3
17	5.2	5.3	6.1
18	7.2	4.3	4.1
19	4.85	4.8	4.35
20	4.9	4.9	5.3
21	4.3	4.1	4.2
22	4.1	4.1	4.2
23	4.4	5.5	4.0
24	4.3	4.2	4.25
25	4.0	4.8	5.2

IL-1 α düzeyleri normal sınırların üstünde olmasına karşın, değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmadı.

TABLO7- OLGULARIN IL-1 β DEĞERLERİ (pg/ml)

OLGU	IL-1 β		
	0. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	6.5	17.5	3.9
2	7.0	8.4	6.9
3	7.5	5.5	5.4
4	6.2	6.1	4.8
5	7.0	6.5	4.9
6	6.3	9.2	6.3
7	8.3	6.6	7.3
8	9.3	5.7	5.5
9	9.0	9.2	5.4
10	6.2	8.8	5.4
11	7.3	6.7	8.1
12	9.2	8.5	7.5
13	10.6	8.6	7.4
14	7.3	7.5	10.3
15	8.1	7.3	8.2
16	6.3	7.3	5.6
17	7.1	5.7	6.5
18	9.1	7.5	6.4
19	7.4	6.0	7.2
20	7.2	6.8	9.0
21	7.0	7.06	7.2
22	8.8	6.2	6.5
23	9.0	13.0	10.0
24	6.2	6.5	5.6
25	5.5	6.2	4.4

IL-1 β düzeyleri ilk 2 gün yüksek olup, 5. günde azalma gösterdi. Fakat, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi.

TABLO 8- OLGULARIN IL-3 DEĞERLERİ (pg/ml)

OLGU	IL- 3		
	1. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	80	81	82
2	67	100	148
3	140	97	118
4	101	123	115
5	103	130	97
6	99	136	159
7	85	88	113
8	96	210	290
9	90	141	101
10	106	140	95
11	108	156	284
12	142	138	99
13	99	122	120
14	142	216	160
15	119	115	121
16	114	116	114
17	94	330	116
18	114	85	93
19	114	148	93
20	81	111	352
21	93	99	107
22	90	80	85
23	88	146	130
24	248	248	252
25	141	99	116

IL-3 düzeyleri ilk gün yüksekti ve 2. ve 5. günlerde de yüksek kaldı. Değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

TABLO 9- OLGULARIN TNF α DEĞERLERİ (pg/ml)

OLGU	TNF α		
	1. GÜN	2. GÜN	5. GÜN
1	40	47	45
2	75	58	26
3	31	28	67
4	31	28	26
5	32	15	15.5
6	26	33	29
7	28	33	32
8	29	28.5	29.5
9	30	41	28.5
10	29	29	24
11	34	31.5	38
12	32.5	31	32
13	38.5	28.5	28.5
14	30.5	30	31
15	30	34	33.5
16	26	32.5	28
17	27	30	28
18	32	12	29
19	33	30.5	36
20	32	29.5	33
21	32	12.5	33
22	29.5	30	28.5
23	32.5	31	29
24	30.5	12.5	26
25	29	32	33.5

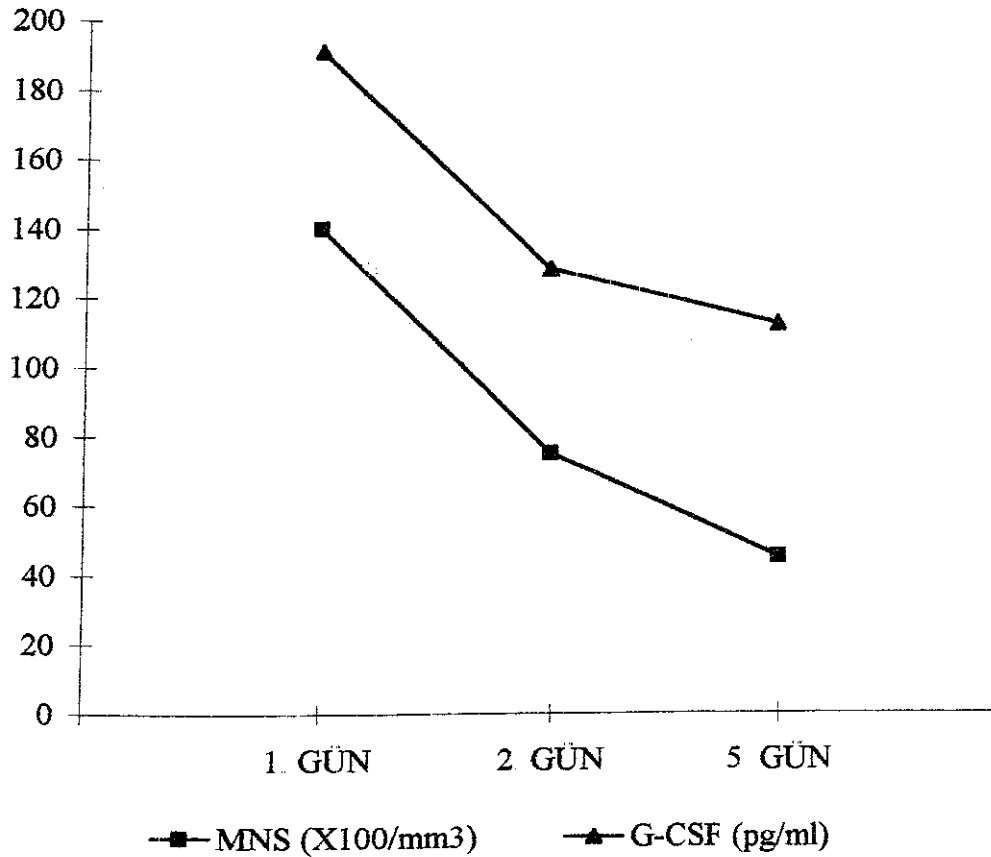
TNF α düzeyleri yüksek olarak bulundu. Ancak, değerlerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadı.

TABLO 10- G-CSF, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-3, TNF α
Düzeyleri ve Mutlak Nötrofil Sayıları (MNS)

	1.GÜN *	2. GÜN *	5. GÜN *
MNS (1000 /ml)	14 \pm 3.9	7.5 \pm 2.2	4.5 \pm 1.6
G-CSF (pg/ml)	191 \pm 90	128 \pm 20	112 \pm 17
GM-CSF (pg/ml)	9.5 \pm 1.9	10 \pm 2.2	8.8 \pm 1.8
IL-1 α (pg/ml)	5.2 \pm 0.9	5.1 \pm 0.6	5.5 \pm 1.7
IL-1 β (pg/ml)	7.6 \pm 1.3	7.8 \pm 2.6	6.6 \pm 1.6
IL-3 (pg/ml)	110 \pm 35.5	138 \pm 58	138 \pm 74
TNF α (pg/ml)	33 \pm 9.5	30 \pm 10	31 \pm 9

- Ortalama \pm standart sapma

Şekil 1- Olguların MNS ve G-CSF değerlerinin karşılaştırılması



TARTIŞMA :

Fetus steril bir ortamda olduğundan yetişkinlerin aksine, bakterilere karşı kendisini savunma gereksinimi yoktur. Bununla birlikte, eğer doğumda nötrofil üretimi , depolanması , dokulara geçişi , fagositoz ve bakteriyel öldürme işlevleri yetersizse ekstrauterin yaşamı sürdürmesi çok zordur. Nötrofil sisteminin matürasyonu fetal hayatta henüz tamamlanmamıştır ve miadında doğan yenidoğanda bile nötrofil sistemi bazı niteliksel ve niceliksel eksikliklere sahiptir. Doğumda nötrofil sayısı yüksektir ve yaşamın ilk saatlerinde giderek artar. Bu fizyolojik nötrofil kısmen immatür formlarda artışa bağlıdır. Matür ve immatür nötrofil sayıları yenidoğanın gestasyon süresi veya doğum ağırlığından etkilenmez. Total nötrofil sayısında düşme intraventriküler kanama, maternal hipertansiyon ve sepsiste görülebilir. Total nötrofil sayısında artış ise hemolitik hastalık , aternal infeksiyon ve yine sepsisi akla getirmelidir (26).

Hematopoietik büyüme faktörlerinin fetal hematopoietik öncül hücreler üzerine etkileri ve hücrel üretimleri konusunda in vitro çalışmalardan elde edilen bilgilerin çok fazla olmasına rağmen , in vivo gerçek rolleri ve düzenlenmeleri tam olarak açıklanamamıştır. Halen granülomonositik ve eritropoietik farklılaşmada rol alan endojen büyüme faktörlerinin tümünün etkileşimini gösteren bir tablo yoktur (12).

Laver ve ark. (8) ve Christensen ve ark. (16) kordon kanında dolaşan hematopoetik öncül hücrelerin sayısında artış olduğunu göstermişlerdir. GM-CSF , G-CSF düzeylerinde yüksekliğin gösterilmesi ve hemapoetik öncül hücrelerin artmış çoğalma hızları yenidoğanlarda nötrofil üretim hızının sabit durumda bile yüksek olduğunu belirtmektedir (1,2,15,16). Bu ekstrauterin yaşama fizyolojik bir adaptasyon mekanizması olabilir. Laver ve ark.'nın belirttiği gibi maksimal kapasitede çalışan sınırlı sayıda öncül hücrenin artmış talebe cevap veremeyebilir ve yüksek büyüme faktörlerinin varlığında bu öncül hücre havuzunda aşırı bir şekilde çoğalma gözlenebilir.

Yenidoğan döneminde özellikle ilk hafta içinde nötrofillerin kan tablosunun değişkenlik gösterdiği bilinmektedir. Yenidoğan infantın periferik kan tablosunda görülen nötrofil hakimiyeti ilk hafta içinde azalarak ortalama 4. günden sonra yerini lenfosit hakimiyetine bırakır (4,5,6,7). Sağlıklı bebeklerden elde edilen nötrofil sayım sonuçlarına göre kullanılabilir tablolar geliştirmeye çalışan Gregory ve ark. (5) o güne değin yapılan çalışmaların sonuçlarını bir araya getirerek, MNS değerlerinde yaşla ilgili olarak ortaya çıkan değişiklikleri göstermişlerdir.

Manroe ve ark. (6)'nın 108 sağlıklı yenidoğandan elde ettiği 298 sayım sonuçlarına göre oluşturduğu referans kaynakta MNS' nin doğumdan sonra 12-14. saatte pik yaptığını ve daha sonra azalarak 5. günde sabit bir değere ulaştığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda da MNS 'nin doğumdan sonraki ilk günde pik yaptığını ve sonra önceki çalışmalarda belirtildiği gibi hızlı bir düşme olduğunu saptadık.

Bulgularımız G-CSF düzeylerinin doğumda yüksek olduğunu gösterdi. 2. ve 5. günlerde hızlı bir düşme görülmesine rağmen, serum G-CSF düzeyleri halen yetişkin düzeylerinden yüksekti (Tablo 10). G-CSF düzeylerinde saptanan düşmenin MNS' deki düşme ile belirgin korelasyon gösterdiği bulundu. Aynı zamanda, G-CSF düzeylerindeki yüzde azalma ile MNS' daki yüzde azalma arasında da belirgin korelasyon vardı.

Gessler ve ark. (9) da doğum sonrası 7. saatte pik yapan yüksek G-CSF düzeylerinin 4-7. günlerde düştüğünü göstermişlerdir. Bu çalışmada G-CSF düzeyleri ve total nötrofil sayıları ile gestasyon yaşları arasında korelasyon saptanmıştır.

Ishiguro ve ark. G-CSF' te yaşa bağlı değişiklikleri belirlemek için yaptıkları bir çalışmada ilk gün içinde en yüksek buldukları değerlerin erken neonatal dönemde giderek azalarak tetişkin düzeyine indiğini göstermişlerdir (10). Bizim çalışmamızın sonuçları bu çalışmalarla aynı doğrultudadır.

Russel ve arkadaşları da yaşamın ilk gününde yüksek saptanan G-CSF düzeylerinin 4-9. günler arasında hızla azaldığını bildirmişlerdir (11). Fakat, G-CSF düzeyleri ile nötrofil sayıları arasında korelasyon saptamamışlardır. Hamilelikte ortaya çıkan hipertansiyonu veya doğumda infeksiyon bulguları olan annelerden doğan yenidoğanlarda nötrofil sayılarını düşük ve G-CSF düzeylerini belirgin yüksek bulmuşlardır. Bu durum plasentadan kaynaklanan nötrofil üretimini baskılayan bir faktör olduğu teorisiyle birleştirildiğinde yüksek G-CSF düzeylerinin normal nötrofil üretimini sürdürmede görevli bir homeostatik geri düzenleme mekanizmasına bağlı olduğu öne sürülmüştür (11).

Maternal dolaşan G-CSF hamilelikte artar ve doğumda pik yaparak doğum sonu 5. günde < 30 pg/ml değerine iner. G-CSF doğumda kısmen maternal orjinli olabilir. Bu neonatal ratlarda rh G-CSF 'in maternal transplasenter geçişiyle gösterilmiştir (74).

Ancak, çalışmamızda G-CSF düzeylerini 5. günde de 100 pg/ml 'nin üzerinde saptadık. Bu nedenle 5. günde halen yüksek olan G-CSF düzeylerinin yenidoğana ait olduğunu söyleyebiliriz.

Koenig ve ark. (75) hipertansif annelerden doğan yenidoğanlarda bir G-CSF inhibitörünün olduğunu ve düzeyini etkilemeden biyolojik aktivitesini azalttığını öne sürmektedir. Diğer koşullarda da bu inhibitörün olup olmadığı henüz bilinmemektedir.

Meisster ve ark. (12) ELISA yöntemi ile % 38 prematür ve % 53 matür yenidoğanda düşük GM-CSF konsantrasyonu olduğunu göstermiştir. Cairo ve ark. (76) da kordon kanında ve yetişkinlerin serumunda GM-CSF 'nin saptanamayacak düzeyde olduğunu ve term yenidoğanlarda azalmış mononükleer hücre GM-CSF üretimi ve gen gösterimi olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda GM-CSF düzeylerini yüksek bulduk. İzlemde GM-CSF düzeylerinde belirgin değişiklik bulunamadı.

Bu değişiklikler farklı saptama metodlarının kullanılması ve yenidoğan döneminde mononükleer hücrelerin GM-CSF 'nin ana üretiminden sorumlu olmaması ile açıklanabilir. Bu konuda daha duyarlı ve farklı metodların aynı anda çalışıldığı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Literatürde IL-1 ve TNF α ile ilgili çalışmalarda sağlıklı yenidoğanlarda hücrelerin sitokin üretimleri için farklı sonuçlar verilmektedir. IL-1' i azalmış, normal veya artmış; TNF α ' yı azalmış veya normal bildiren çalışmalar vardır (15-18). Prematürelerin periferik kan monositleri

IL-1 üretme yeteneğine sahiptir ve üretilen miktar term yenidoğanların kordon kanı monositleri ile aynıdır. Gestasyonel yaşın bu üretim yeteneğine etkisi yok gibi görünmektedir. Bununla birlikte Miller ve ark. , sezaryen ile doğurtulan bebeklerde normal spontan vajinal yolla doğanlara göre belirgin olarak düşük IL-1 olduğunu göstermiştir (13). Miller ve ark. term neonatal kordon kanı monositlerinin yetişkin periferik kan monositleriyle aynı düzeyde IL-1 ürettiğini göstermiştir. Bunlar in vitro çalışmalardır.

De Bont ve ark. (14) sepsisli yenidoğanlarda IL-1 β ve TNF α düzeylerini çalışmışlardır. Bu çalışmada kontrol grubu olarak alınan sağlıklı yenidoğanların serum IL-1 β ve TNF α düzeyleri bizim bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Meister ve ark. (12) IL-3 düzeylerinin hem prematür , hem de matür yenidoğanlarda yüksek olduğunu saptamıştır. IL-3 daha sonra 5 olguda 1 hafta arayla çalışılmış ve değerlerde bir farklılık saptanmamış. Bu nedenle preterm ve term yenidoğanlarda yüksek kordon kanı IL-3 düzeylerinin hematopoietik öncül hücrelerin granülosit ve monositlere dönüşümü ve çoğalmasında olası uyarıcı rollerini doğruladığı belirtilmiştir. Sonuçlarımız bu çalışmayı doğrulamaktadır.

Yenidoğan döneminde hematopoezde rolü olan sitokinlerin metabolizmaları ile ilgili yeterli bilgi yoktur. Bu yüzden üretim oranlarının mı yüksek olduğu yoksa katabolizmalarının mı düşük olup olmadığını bilmiyoruz. Bu faktörler kısa ömürlü olmaları , birbirlerinin düzeylerini etkileyebilmeleri ve hücre yüzeyinde reseptör ve antagonistlerinin varlığı nedeniyle bunların tümünün birlikte değerlendirilebildiği daha geniş araştırmalara gereksinim vardır.

SONUÇLAR:

1. Sitokinler birçok değişik doku ve hücre tarafından üretilen yalnız lokal ve sistemik inflamatuvar cevabı değil, aynı zamanda yara iyileşmesi, hematopoez ve diğer birçok biyolojik işlevi düzenleyen, hedef hücrelerinde özgün yüzey reseptörlerine bağlanarak pikomolar konsantrasyonlarda etki gösteren hücre içi sinyal proteinleridir.
2. Yenidoğan infantın periferik kan tablosunda görülen nötrofil hakimiyeti ilk hafta içinde azalarak ortalama 4. günden sonra yerini lenfosit hakimiyetine bırakmaktadır. Bizim çalışmamızın sonunda da mutlak nötrofil sayılarında ilk günde saptanan yüksek değerler 2. ve 5. günde istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır.
3. Çalışmamızda, yenidoğanlarda 1., 2. ve 5. günlerde plazma G-CSF , GM-CSF , IL-1 α , IL-1 β , IL-3 , TNF α düzeylerini yüksek olarak saptadık. Ayrıca, G-CSF düzeylerinde 2. ve 5. günlerde saptanan düşmenin mutlak nötrofil sayılarındaki düşme ile belirgin korelasyon gösterdiği bulundu. Ancak, diğer sitokinlerle MNS arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.
4. Çalışmamızdaki sonuçlar genelde literatürle uyumlu olmasına karşın, farklı sonuçlarda bildirilmiştir. Bu kısmen sitokinlerin saptanmasında kullanılan yöntemlerin farklılığından kaynaklanabilir.
5. Hematopoezin düzenlenmesinde görevli olan sitokinlerin kanda hangi düzeylerde biyolojik olarak etkin olduğu, birbirleri, reseptörleri ve antagonistleri ile etkileşimleri konusundaki bilgilerimiz artıkça yenidoğan immunolojisi daha iyi anlaşılacaktır.

ÖZET:

Yenidoğan döneminde nötrofil üretimi henüz yeterince olgunlaşmamıştır ve yenidoğanlarda ağır infeksiyonlar sırasında nötrofopeni gelişmesine artmış bir eğilim vardır. Yine bu dönemde, yenidoğanların periferik kan tablosunda görülen nötrofil hakimiyeti ilk hafta içinde azalarak yerini lenfosit hakimiyetine bırakır. Hemapoietik öncül hücrelerin farklılaşması ve çoğalması, olgun kan hücrelerinin işlevlerinin değiştirilmesi glikoprotein yapısında bir grup sitokin tarafından düzenlenmektedir. Bu nedenle, yenidoğanlarda G-CSF, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-3, TNF α düzeylerini ve bu faktörlerin ilk hafta içinde olan mutlak nötrofil sayısında düşme ve nötrofil-lenfosit çarpazlaşması ile ilişkilerini araştırdık.

Araştırma kapsamına annelerinde perinatal dönemde komplikasyon bulunmayan, normal spontan vaginal yol ile doğan, gestasyon yaşları 38-42 hafta olan ve izlemlerinde infeksiyon bulgusu gelişmeyen 25 sağlıklı yenidoğan alındı. Çalışılan sitokinlerin düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Tam kan sayımı ve periferik yayma ile mutlak nötrofil sayıları (MNS) hesaplandı.

G-CSF düzeylerinin doğumdan sonra ilk günde yüksek olduğu ve 2. ve 5. günlerde istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü saptandı ($p < 0.05$). MNS değerlerindeki azalmada istatistiksel olarak belirgin anlamlı idi ($p < 0.05$). G-CSF düzeylerindeki yüzde azalma MNS'deki yüzde azalma ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulundu ($p < 0.01$). Diğer sitokin düzeyleride yetişkinler için verilen normal değerlere göre yüksek olarak saptanmasına karşın, düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadı.

Hematopoezde rolü olan bu sitokinlerin kısa ömürlü olmaları, birbirleri, reseptör ve anatagonistleri ile etkileşimleri nedeniyle bunların tümünün birlikte değerlendirilebileceği daha geniş araştırmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR:

1. Christensen RD. Neutrophil kinetics in the fetus and neonate. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 215-223.
2. Hill HR. Biochemical, structural and functional abnormalities of polymorphonuclear leukocytes in the neonate. *Pediatr Res* 1987; 22: 375-82.
3. Cairo MS. Neonatal neutrophil host defence. Prospects of immunologic enhancement during neonatal sepsis. *Am J Dis Child* 1989; 143: 40-46.
4. Xantou M. Leukocyte blood picture in healthy full-term and premature babies during neonatal period. *Arch Dis Child* 1970; 45: 242-249.
5. Gregory J, Hey E. Blood neutrophil response to bacterial infection in the first month of life. *Arch Dis Child* 1972; 47: 747.
6. Manroe BL; Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. *J Pediatr* 1979; 95: 89-98.
7. Gür Güven A, Göl B, Oygür N, Yegin O. Leukocyte blood picture in early neonatal period in Antalya region of Turkey. *The Turkish J Pediatr* 1994; 36: 123-132.
8. Laver J, Duncan E, Abboud M, Gasparetto C, Sandev I, Warren D, Bussel J, Auld P, O'Reilly RJ, Moore MAS. High levels of granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors in cord blood of full-term neonates. *J Pediatr* 1990 ; 16 : 627-32.
9. Gessler P, Kirchmann N, Kientsch-Engel R, Haas N, Lasch P, Kochel W. Serum concentrations of granulocyte colony-stimulating factors in healthy term and preterm neonates and in those with various diseases including bacterial infections. *Blood* 1993 ; 82 : 3177-82.

10. Ishiguro A, Inoue K, Nakahata T, Nishihira H, Kojima S, Ueda K, Suzuki Y, Shimbo T. Reference intervals for serum granulocyte colony-stimulating factor levels in children. *J Pediatr* 1996; 128: 208-212.
11. Russell ARB, Davies EG, Mc Guigon S, Seopis GJD, Daly S, Gordon-Smith EC. Plasma granulocyte colony-stimulating factor concentrations (G-CSF) in the early neonatal period. *Brit J Haematol* 1994;86:642-644.
12. Meister B, Herold M, Mayr A, Widschwendter M, Maurer H, Heim K, Sperl W. Interleukin-3, interleukin-6, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and erythropoietin cord blood levels of preterm and term neonates. *Eur J Pediatr* 1993 ; 152 : 569-73.
13. Miller LC, Sana Isa, Gail Lo Proste, Schaller JG, Dinarello CA. Neonatal interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor : Cord blood levels and cellular production. *J Pediatr* 1990 ;117 ; 961-5.
14. De Bont ESJM, Martens A, Van Raan J, Samson G, Fetter WPF, Okken A. Tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-6 plasma levels in neonatal sepsis. *Pediatr Res* 1993; 33: 380-383.
15. Dinarello CA, Shparber M, Kent EFJ, Wolff SM. Production of leukocytic pyrogen from phagocytes of neonates. *J Infect Dis* 1981; 144: 337-343.
16. Glover DM, Brownstein D, Burchett S, Larsen A, Kronheim S, Wilson CB. Expression of HLA class II antigens and secretion of interleukin-1 by monocytes and macrophages from adults and neonates. *Immunology* 1987; 61: 195-201.
17. Burchett SK, Weaver WM, Westall JA, Larsen A, Kronheim S, Wilson CB. Regulation of tumor necrosis factor/ cachectin and IL-1

- secretion human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1988; 140: 3473-81.
18. English BK, Burchett SK, English JD, Ammann AJ, Wara DW, Wilson CB. Production of lymphotoxin and tumor necrosis factor by human neonatal mononuclear cells. *Pediatr Res* 1988; 24: 717-722.
19. Cairo MS. Neutropil storage pool depletion in neonates with sepsis. *J Pediatr* 1989 ; 116 ; 1064.
20. Christensen RD, Rothstein G. Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. *J Pediatr* 1980 ; 96 ; 1047-1051.
21. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. In: *Basic and Clinical Immunology*, Stites DP, Terr AI (Eds), Philadelphia, Appleton&Lange, 1994, pp 105-121.
22. Bellanti JA, Kadlec JV, Escobar-Gutiérrez A. Cytokines and the immun response. *Ped Clin North Am* 1994; 41: 597-621.
23. Hilmo A, Howard TH. F- actin content of neonate and adult neutrophils. *Blood* 1987; 69: 945-949.
24. Jones DH, Schmalstieg FC, Dempsey K, Krater SS, Nannen DD, Smith CW, Anderson DC. Subcellular distribution and mobilization of MAC-1 (CD 11b/ CD 18) in neonatal neutrophils. *Blood* 1990; 75: 488-497.
25. Rider ED. Myeloperoxidase deficiency in neutrophils of neonates. *J Pediatr* 1988; 112: 648-
26. Athens JW. The Normal Hematopoietic System-Granulocytes-Neutrophils. In: Lee GR, Bitchell TC, Foerster J (Eds), *Wintrobe's Clinical Hematology*, Philadelphia: Lea and Febiger, 1993, pp 223-266.

27. Cairo MS, Suen Y, Knoppel E, Dana R, Park L, Clark S, Ven C, Sender L. Decreased G-CSF and IL-3 production and gene expression from mononuclear cells of newborn infants. *Pediatr Res* 1992; 31: 574-578.
28. Barak Y. Granulocytes-macrophage colonies in cultured human fetal liver cells: Morphologic and ultrastructural analysis of proliferation and differentiation. *Exp Hematol* 1980; 8: 832
29. Forestier FC. Developmental hematopoiesis in normal human fetal blood. *Blood* 1991; 77: 2360-2363.
30. Christensen RD. Circulating pluripotent stem cells. *J Pediatr* 1987; 110: 622-625.
31. Nathan DG. Regulation of hematopoiesis. *Pediatr Res* 1990; 27: 423-431.
32. Meister B, Herold H, Mayr A, Widschwendter M, Maurer H, Heim K, Sperl W. Interleukin-3, interleukin-6, granulocyte macrophage colony stimulating factor and erythropoietin cord blood levels of preterm and term neonates. *Eur J Pediatr* 1993; 152: 569-573.
33. Christensen RD. Blood and bone marrow neutrophils during experimental group B streptococcal infection: Quantification of the stem cell, proliferative, storage and circulating pools. *Pediatr Res* 1982; 16: 549.
34. Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* 1991; 78: 2791-2808.
35. Simmers RN, Webber LM, Shannon MF, Garson OM, Wong G, Vadas MA, Sutherland GR. Localization of the G-CSF gene on chromosome 17 proximal to the breakpoint in the t(15;17) in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1987; 70: 330-332.

36. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989; 74: 1-10.
37. Watari K, Asano S, Shirafuji N, Kodo H, Ozawa K, Takaku F, Kamachi S. Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in healthy volunteers and patients with various disorders as estimated by enzyme immunoassay. *Blood* 1989; 73: 117-122.
38. Kawakami M, Tsutsumi H, Kumakawa T, Abe H, Hirai M, Kurosawa S, Mori M, Fukushima M. Levels of granulocyte colony-stimulating factor in patients with infections. *Blood* 1990; 76: 1962-1964.
39. Mc Niece I, Andrews R, Stewart M, Clark S, Boone T, Quesenberry P. Action of interleukin-3, G-CSF and GM-CSF on highly enriched human hematopoietic progenitor cells: Synergistic interaction of GM-CSF plus G-CSF. *Blood* 1989; 74: 110-114.
40. Cohen AM, Zsebo KM, Inoune H, Hines D, Boone TC, Chazin VR, Tsai L, Ritch T, Souza LM. In vivo stimulation of granulopoiesis by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 2484-2488.
41. Yuo A, Kitagawa S, Ohsaka A, Ohta M, Miyazono K, Okabe T, Urabe A, Saito M, Takaku F. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor as an activator of human granulocytes: Potentiation of responses triggered by receptor-mediated agonists and stimulation of C3Bi receptor expression and adherence. *Blood* 1989; 74: 2144-2149.
42. Gabilove JL, Jakubowski A, Scher H, Sternberg C, Wong G, Grous J, Yagoda A, Fain K, Moore MA, Clarkson B. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the uroepithelium. *N Eng J Med* 1988; 318: 1414-1422.

43. Teshima T, Shibuya T, Harada M, Taniguchi S, Nozaki M, Mori T, Mori Y, Tamai H, Niho Y. Effects of G-CSF, GM-CSF and IL-5 on nuclear segmentation of neutrophils and eosinophils in congenital or acquired Pelger-Huet anomaly. *Exp Hematol* 1991; 19: 322-325.
44. Lopez A, Nicola N, Burgess A, Metcalf D, Battye F, Sewell W, Vadas M. Activation of granulocyte cytotoxic function by purified mouse colony-stimulating factors. *J Immunol* 1983; 131: 2983.
45. Shirafuji N, Matsuda S, Ogura H, Tani K, Kodo H, Ozawa K, Nagata S, Asano S, Takaku F. Granulocyte colony-stimulating factor stimulates human mature neutrophilic granulocytes to produce interferon-alpha. *Blood* 1990; 75: 17-19.
46. Duhrsen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988; 72:2074-2081.
47. Sheridan WP, Morstyn G, Wolf M, Dodds A, Lusk J, Maher D, Layton JE, Green MD, Souza L, Fox RM. Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophil recovery after high dose chemotherapy and allogeneic bone marrow transplantation. *Lancet* 1989; 2: 891-895.
48. Socinski M, Cannistra S, Elias A, Antman K, Schnipper L, Griffin J. Granulocyte colony-stimulating factor expands the circulating haematopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988; 1: 1194-1198.
49. Gasson JC. Molecular physiology of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1991; 77: 1131-1145.
50. Van Leeuwen BH, Martinson ME, Webb GC, Young IG. Molecular organization of the cytokine gene cluster, involving the human IL-3,

- IL-4, IL-5, and GM-CSF genes, on human chromosome 5. *Blood* 1989; 73: 1142-1148.
51. Nimer SD, Golde DW. The 5q- abnormality. *Blood* 1987; 70: 1705-1712.
52. Emerson SG, Thomas S, Ferrara JL, Greenstein JL. Developmental regulation of erithropoiesis by hematopoietic growth factors: Analysis on populations of BFU-E from bone marrow, peripheral blood, and fetal liver. *Blood* 1989; 74: 49-55.
53. Santoli D, Clark SC, Kreider BL, Maslin PA, Rovera G. Amplification of IL-2 driven T cell proliferation by recombinant human IL-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 1988; 141: 519-526.
54. Vink A, Vandenabeele P, Uyttenhove C, Cayphas S, Van Snick J. Plasmocytoma growth factor activity of murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 1988; 141: 1996-1999.
55. Weisbart RH, Golde DW, Gasson JC. Biosynthetic Human GM-CSF modulates the number and affinity of neutrophil f-Met-Leu-Phe receptors. *J Immunol* 1986; 137: 3584-3587.
56. English D, Broxmeyer HE, Gabig TG, Akard LP, Williams DE, Hoffman D. Temporal adaptation of neutrophil oxidative responsiveness to n-formyl- methionyl- leucyl- phenilalanine. Acceleration by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 1988; 141: 2400-2406.
57. Fletcher MP, Gasson JC. Enhancement of neutrophil function granulocyte-macrophage colony-stimulating factor involves

- recruitment of a less responsive subpopulation. *Blood* 1988; 71: 652-658.
58. Silberstein DS, Owen WF, Gasson JC, Di Persio JF, Golde DW, Bina JC, Soberman R, Austen KF, David JR. Enhancement of eosinophil cytotoxicity and leukotrien synthesis by biosynthetic (recombinant) granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Immunol* 1986; 137: 3290-3294.
59. Weisbart RH, Kwan L, Golde DW, Gasson JC. Human GM-CSF primes neutrophils for enhanced oxidative metabolism in response to the major physiological chemoattractants. *Blood* 1987; 69: 18-21.
60. Fleischmann J, Golde DW, Weisbart RH, Gasson JC. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor enhances phagocytosis of bacteria by human neutrophils. *Blood* 1986; 68: 708.
61. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonistism. *Blood* 1991; 8: 1627-1652.
62. Neta R, Sztein MB, Oppenheim JJ, Gillis S, Douches SD. The in vivo effects of interleukin-1: Bone marrow cells are induced to cycle after administration of interleukin-1. *J Immunol* 1987; 139: 1861-1866.
63. Zsebo KM, Yuschenkoff VN, Schiffer S, Chang L, Mc Call E, Dinarello CA, Brown MA, Alcock B, Bagby GCJ. Vascular endothelial cells and granulopoiesis: Interleukin-1 stimulates release of G-CSF and GM-CSF. *Blood* 1988; 71: 99-103.
64. Bagby GCJ. Interleukin-1 and hematopoiesis. *Blood Rev* 1989; 3: 152.
65. Ulich TR, del Castillo J, Keys M, Granger GA, Ni R-X. Kinetics and mechanisms of recombinant human interleukin-1 and tumor necrosis factor induced changes in circulating numbers of neutrophils and lymphocytes. *J Immunol* 1987, 139: 3406-3415.

66. Tewari A, Buhles WCJ, Starnes HFJ. Preliminary report: Effects of interleukin-1 on platelet counts. *Lancet* 1990; 336: 712-714.
67. Gasparetto C, Laver J, Abboud M, Gillio A, Smith C, O'Reilly RJ, Moore MAS. Effect of stimulatory and inhibitory activities in a primate model. *Blood* 1989; 74: 547.
68. Johnson CS, Keckler DJ, Topper MI, Braunschweiger PG, Furmanski P. In vivo hemopoietic effect of recombinant interleukin-1 alpha in mice: Stimulation of granulocytic, monocytic, megacaryocytic, and early erythroid progenitors, suppression of late stage erythropoiesis, and reversal of erythroid suppression with erythropoietin. *Blood* 1989; 73: 678-683.
69. Bot F, Dorssers L, Wagemaker G, Lowenberg B. Stimulating spectrum of human recombinant multi-CSF (IL-3) on human marrow precursor: Importance of accessory cells. *Blood* 1988; 71: 1609-1614.
70. Rothenberg ME, Owen WFJ, Silberstein DS, Woods J, Sobermann RJ, Austen KF, Stevens RL. Human eosinophils have prolonged survival, enhanced functional properties, and become hypodense when exposed to human interleukin-3. *J Clin Invest* 1988; 81: 1986-1992.
71. Kannourakis G, Johnson G. Proliferative properties of unfractionated, purified, and single cell human progenitor populations stimulated by recombinant human interleukin-3. *Blood* 1990; 75: 370-377.
72. Metcalf D, Beglay CG, Johnson GR, Nicola NA, Lopez AF, Williamsen DJ. Effects of purified bacterially synthesized murine multi-CSF (IL-3) on hematopoiesis in normal adult mice. *Blood* 1986; 68: 46-57.
73. Ganser A, Lindemann A, Seipelt G, Ottmann OG, Hermann F, Eder M, Frisch J, Schulz G, Mertelsmann R, Hoelzer D. Effects of

- recombinant human IL-3 in patients with normal hematopoiesis and in patients with bone marrow failure. *Blood* 1990; 76: 666-676.
74. Medlock EL, Kaplan DL, Cecchini M, Ulich TR, Del Castillo J, Andressen J. Granulocyte colony-stimulating factor crosses the placenta and stimulates fetal rat granulopoiesis. *Blood* 1993 ; 81 ; 916-922.
75. Koenig J, Christensen RD. The mechanism responsible for diminished neutrophil production in neonates delivered of women with pregnancy induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 467-473
76. Cairo MS, Suen Y, Knoppel E, Van DE Ven C, Nguyen A, Sender L. Decreased stimulated GM-CSF production and GM-CSF gene expression but normal numbers of GM-CSF receptors in human term newborns compared with adults. *Pediatr Res* 1991 ; 30 : 362-367.