

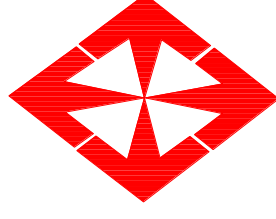
**T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ANNE VE BEBEK İNTERLÖKİN-6 GENİ PROMOTOR
BÖLGESİNDEKİ -174 G/C POLİMORFİZMİNİN YENİDOĞAN
MORBİDİTESİ VE GEBELİK SORUNLARI İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nazmi Mutlu KARAKAŞ

**ANKARA
2010**



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

**ANNE VE BEBEK İNTERLÖKİN-6 GENİ PROMOTOR
BÖLGESİNDEKİ -174 G/C POLİMORFİZMİNİN YENİDOĞAN
MORBİDİTESİ VE GEBELİK SORUNLARI İLE İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nazmi Mutlu KARAKAŞ

Tez danışmanı: Doç. Dr. Aylin TARCAN

**ANKARA
2010**

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje no: KA O8/162

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren ve hiçbir desteğini esirmegeyen tez danışmanım Doç. Dr. Aylin TARCAN'a, asistanlığımın ve çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Namık ÖZBEK'e, eğitimim boyunca katkılarını esirgemeyen tüm değerli hocalarıma, katkılarından dolayı Uzm. Dr. Ayşe ECEVİT, Doç. Dr. Hande GÜLCAN, Uzm. Dr. Zeynel GÖKMEN, Uzm. Dr. Servet ÖZKİRAZ ve Uzm. Dr. Deniz Anuk İNCE'ye, genetik çalışmanın yapılmasında destekleri nedeniyle Doç. Dr. Belgin Ataç'a, istatistiksel planlamayı yönlendiren Yrd. Doç. Canan Yazıcı'ya, kan alımı ve hasta izlemi destekleri nedeniyle Ankara, Adana ve Konya Başkent Üniversitesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi hemşirelerine, asistanlık eğitimim boyunca dostluklarını paylaştığım tüm uzman ve asistan arkadaşlarıma, ayrıca benden desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen anneme, babama, çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan ablam Uzm. Dr. Ezgi KARAKAŞ ERKİLİÇ'a, abime (eniştem), BERKEHAN'ıma ve tüm akrabalarıma sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Karakaş N.M. Anne ve Bebek İnterlökin-6 Geni Promotor Bölgesindeki 174 G/C Polimorfizminin Yenidoğan Morbiditesi ve Gebelik Sorunları ile İlişkisinin Araştırılması. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 2010.

Sitokinler, doğal ve adaptif immünitede rol alan ve hücrelerin immün fonksiyonlarını sağlayan proteinlerdir. Bu moleküller, lenfositlerin büyüme ve farklılaşmasında, antijenlerin yok edilmesinde ve hematopoetik hücrelerin gelişiminde rol oynarlar. Genel anlamda biyolojik yanıtı değiştirirler. Lokal ya da sistemik etkileri hedef hücrelerdeki özgül membran reseptörlerine bağlanmaları ile başlar.

İnterlökin 6 (IL-6), doğal ve adaptif immünitede, hematopoezde, akut faz yanıtında ve inflamasyonda rol alan bir sitokindir. T-helper 2 tarafından salınmaktadır. T ve B lenfositlerin etkileşimleri ile ortaya çıkan antikor ilişkili antijenin yok edilmesinde yer alır. Proinflamatuvar sitokin olması nedeniyle inflamasyona yanıt olarak plazma seviyeleri özgül olarak yükselir. Doğum eylemini tetikleyen inflamatuvar süreçlerde de rol oynar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle preeklampsi, koryoamniyonit, bakteriyel vajinosiz ve idrar yolu enfeksiyonu gibi inflamasyon durumlarında annenin vaginal sekresyonlarında, intraamniotik sıvıda düzeyinin çok yükseldiği saptanmıştır. IL-6 ve benzer etki gösteren sitokinlerin, metalloproteinazları ve prostoglandinleri aktive ederek preterm eylemi ve doğumu tetiklediği gösterilmiştir. Preterm eylemin seyrinin ve oluşumunun farklılıklar göstermesi, bu süreçte rol alan sitokinlerin genetik farklılıklarının sorgulanmasını gerekli kılmıştır.

Bu çalışmada IL-6 -174 G/C gen polimorfizminin gebelik sorunları ve yenidoğan morbiditesi ile ilişkisinin değerlendirilmeksini amaçlanmıştır. Çalışma grubu, yenidoğan yoğun bakımda izlenmiş 83 preterm ile anne yanında izlenmiş 100 term bebek olmak üzere toplam 183 bebek ve 164 anneden oluştu. Tüm annelerin %62,8'i GG genotipine, %29,2 GC genotipine ve %8'i CC genotipine sahipti. Anne genotiplerinin, doğum zamanına göre dağılımları ise; term bebek doğuran annelerin %54'ü GG genotipi, %35'i GC genotipi ve %11'i CC genotipinde, preterm bebek doğuran annelerin % 75'i GG genotipi, %20,3'ü GC genotipi ve %4,7'si CC genotipine sahipti. Term doğan bebeklerin %65'i GG, %33'ü GC ve %2'si CC genotipine, preterm doğan bebeklerin %81,9'u GG genotipi, %15,7 GC

genotipi ve %2,4'ü CC genotipini taşımaktaydı. Sonuç olarak bu çalışma grubunda antenatal ve yenidoğan dönemi sorunlarında IL-6 -174 G/C gen polimorfizminin rolü gösterilemedi ancak preterm doğum yapan annelerde ve preterm doğan bebeklerde C allel taşıyıcılığı anlamlı düşük bulundu.

Anahtar kelimeler: Neonatal morbidite, IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi



ABSTRACT

Karakaş N.M. The relationship of IL-6 (174 G/C) gene polymorphism of mothers and their infants with neonatal and perinatal morbidity Başkent University School of Medicine, specialization thesis, Department of Pediatrics, 2010

Cytokines are intracellular proteins that play a role in cellular immune functions in respect of innate and adaptive immunity. Cytokines act on lymphocyte development and differentiation, destruction of antigens and development of hemopoietic cells. Interleukin 6 (IL-6), is a proinflammatory cytokine that is released by T- helper 2 cells and takes place on antibody-related destruction of antigen. The diversities among evolution and progression of preterm births necessitate questioning the genetic differences of cytokines playing role on this process. In this study, the relation of IL-6 –174 G/C gene polymorphism with neonatal and perinatal morbidity was searched. The study group involved 183 babies and 164 mother totally, 83 of which are preterm babies followed in newborn intensive care unit and 100 healthy term infants. In mother genotyping, the ratios of GG and C allele carrying were found as %62.8 (n=103) and %37.2 (n=61) respectively, while the ratios were %76.5 (n=49) and %23.5 (n=15) in genotyping of mothers giving preterm birth, %81.9 (n=68) and %18.1 (n=15) in genotyping of babies who were born as preterm, and finally %54 (n=54) and %46 (n=46) in genotyping of babies who were born as term, respectively. As a result among this study group, the role of IL-6 –174 G/C gene polymorphism on neonatal and perinatal problems could not be found however, C allele carrying was found significantly low in mothers giving preterm birth and in babies who were born as preterm.

Key words: neonatal morbidity, IL-6- 174 G/C gene polymorphism

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İNTERLÖKİN 6 (IL-6).....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. İlişkili Durumlar	5
2.1.3. IL-6 ve Gebelik Sorunları.....	6
2.1.4. İnfertilite, Sitokin ve Gen Polimorfizmi İlişkisi	7
2.2. PREMATÜRİTE	8
2.2.1. Tanım.....	8
2.2.2. Nedenleri	9
2.2.3. Genetik Faktörler.....	12
2.2.4. Prematüritelik Sorunları	12
2.2.5. IL-6 Gen Polimorfizmi ve Prematüritelik	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇLAR.....	42
7. ÖNERİLER	43
8. KAYNAKLAR.....	44

SİMGELER ve KISALTMALAR

α ,	: alfa
β ,	: beta
kD,	: kilodalton
ABD,	: Amerika Birleşik Devletleri
ACTH,	: Adrenokortikotropik hormon
CRP,	: c-reaktif protein
BPD,	: Bronkopulmoner Displazi
DM,	: Diabetes Mellitus
IL,	: İnterlökin
İVK,	: İntraventriküler Kanama
IVF,	: İn vitro Fertilizasyon
HHA,	: Hipotalamo-hipofizer-adrenal aks
NEK,	: Nekrotizan Enterokolit
O ₂ ,	: Oksijen
PDA,	: Patent Duktus Arteriozus
PVK,	: Periventriküler Lökomalazi
RDS,	: Respiratuar Distres Sendromu
ROP,	: Prematürel Retinopatisi
TNF,	: Tümör Nekrozis Faktör

ŞEKİLLER

Sayfa no

Şekil 2.1. IL-6 reseptör mekanizması.....	4
Şekil 2.2. Bronkopulmoner displazinin risk faktörleri	15



TABLÖLAR

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. Ortaya çıkış zamanına göre yenidoğan sepsisi sınıflandırması ve özellikleri	14
Tablo 2.2. Nekrotizan enterokolit nedenleri	17
Tablo 3.1. IL-6 geni PZR için kullanılan primer dizisi.....	27
Tablo 3.2. PZR protokolü.....	28
Tablo 3.3. RFLP analizinde kullanılan kesim enzim ve paternleri	28
Tablo 4.1. Bebeklerin demografik verileri	30
Tablo 4.2. Bebek genotip, doğum şekli ve Tekil/Çoğul gebelik oranları	30
Tablo 4.3. Term ve preterm bebek allel dağılımı.....	31
Tablo 4.4. Preterm bebeklerde genotip özelliklere göre yenidoğan dönemi sorunları	31
Tablo 4.5. Preterm bebeklerin spontan/IVF ve tekil/çoğul gebelik ile ilişkisi	32
Tablo 4.6. Spontan ve IVF gebeliklerin, yenidoğan dönemi sorunları ile ilişkisi	32
Tablo 4.7. Tekil ve Çoğul preterm bebeklerde yenidoğan dönemi sorunları ve genotip ilişkisi.....	33
Tablo.4.8. Annelerde allel sıklığı.....	33
Tablo 4.9. Anne genotipinin doğum zamanına göre dağılımı ve yaş, gebelik haftası ve doğum ağırlığının ortalama, standart hata ve ortanca değerleri (Toplam:164 anne).....	34
Tablo 4.10. Anne genotiplerine göre antenatal özellikler	34
Tablo 4.11. Anne Genotip ile Spontan/IVF gebelik ilişkisi	35
Tablo 4.12. Çoğul ve tekil gebe annelerin genotiplere göre dağılımı	35
Tablo 4.13. Anne ve bebek genotiplerinin birbirleriyle olan ilişkisi	36

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnterlökin (IL) 6, ilk tanımlandığı zamanda B hücre değişim faktörü olarak bilinse de günümüzde immün cevapta, hematopoezde, T hücre çoğalmasında, akut faz yanıtında ve inflamasyonda görevli olan multifaktöriyel bir sitokin olarak bilinmektedir (1). Proinflamatuvar bir sitokin olmasından dolayı inflamasyon sürecinde etkin rolü vardır. Evrimsel süreçte tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Tüm genomdaki genlerin ve nükleotid dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki farklılıklarını belirleme çalışmaları hız kazanmıştır. 7. Kromozomdaki IL-6 geninin 5 uç bölgesindeki -174 G/C polimorfizmi, IL-6 transkripsiyon üzerinde etkili olduğu görülmüştür (2).

Tüm doğumların %5-10'nunu içeren preterm doğumlar %70-80 yenidoğan morbiditesi ile sonuçlanmaktadır. Bu sorunların başlıcaları respiratuvar distres sendromu (RDS), intraventriküler kanama (İVK), sepsis, prematürel retinopatisi (ROP), nekrotizan enterokolit (NEK) ve bronkopulmoner displazi (BPD)'dir. Bu sorunların oluşum süreçlerinde inflamasyon ön plandadır. İnflamatuvar ve anti- inflamatuvar sitokinlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Literatürde, serebral palsy, periventriküler lökomalazi (PVK) ve İVK ile IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi ile ilişkilendirilen çalışmalar vardır (3). Yenidoğan sepsisi ile IL-6 -174 G/C gen polimorfimi ise birkaç çalışmada değerlendirilmiş ancak ilişkisi saptanmamıştır (4).

Gebelik sürecinde anne birçok inflamatuvar duruma maruz kalır. Bu inflamatuvar süreçler sonunda gebelik spontan kayıplar, preterm eylem veya doğumla da sonuçlanabilir. İdiyopatik spontan düşükler ve preeklampsiyi inflamatuvar sitokinlerle ilişkilendiren çalışmalar vardır (5). Annenin gebelik süresince, özellikle son trimesterde geçirdiği enfeksiyonlarda IL-6 ve benzeri sitokinlerde artış olduğu gösterilmiştir. Artışların preterm eylem veya doğuma neden olduğu, bu olayların intraamniotik sıvıda ve annedeki sekresyonlarda IL-6'nın yüksek olmasıyla ilişkili bulunmuştur. (6). Bu durum bazı annelerin neden tekrarlayan spontan düşükler ya da preterm doğum yaptığını düşündürmüş ve genetik farklılıkların bu duruma sebep olabileceğini akla getirmiştir. Bu gen bölgesinde

C allel bulunan annelerin preterm eylem ve doğum riskini arttırdığı bildirilmiştir (7). Beraberinde preterm eylemi tetikleyen koryoamniyonit, bakteriyel vajinozis ve erken membran rüptürü ile ilgili çalışmalarda IL-6 seviyelerinin arttığı gösterilmiş fakat bu olayların IL-6 174 G/C gen polimorfizmi ile ilişkisi saptanmamıştır (8).

Bu değerlendirmelerden yola çıkarak, çalışmamızda araştırmaya dahil ettiğimiz anne ve bebeklerde IL-6 -174 promotor G/C gen polimorfizmi değerlendirildi. Çalışmada, IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi sıklığını belirlemek, prematüre doğum riskini artıran sorunların oluşumuna IL-6 -174 G/C gen polimorfizminin etkisini araştırmak, prematüre bebeklerin yoğun bakımda karşılaştıkları RDS, İVK, Sepsis, ROP, NEK ve BPD gibi inflamatuvar durumların IL-6 -174 G/C polimorfizmi ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNTERLÖKİN (İL) 6

2.1.1. Tanım

İmmun sistem hormonları olarak da tanımlanabilecek olan sitokinler uyaran etkisi başta makrofaj ve lenfositler olmak üzere immün ve nonimmün birçok hücreden sentezlenir.. Hedef hücre davranışının düzenlenmesinde rol oynarlar (9). Glukoprotein yapısındaki bu mediyatörler immün hücreler arası stimulator veya inhibitör uyarılar taşıyan interlökinler, lökosit kemotaksisini tetikleyen kemokinler olarak ayrılabilir (10).

Kendi ürettikleri hücrelere (otokrin etki), yakın çevredeki hücrelere (parakrin etki) etkileri olduğu gibi sistemik etkileri de vardır. Etki sitokinin biyolojik konsantrasyonuna bağlıdır. Örneğin TNF- α düşük konsantrasyonlarda lokal olarak immünoenflamasyonun otokrin ve parakrin düzenleyicisidir (11). Yüksek konsantrasyonlarda endokrin hormon gibi etki gösterirler.

Sitokinler, lenfositler, monositler, iltihabi hücreler ve endotelial hücreler gibi immün sistem hücreleri arasında etkileşimleri düzenleyerek aktivitelerini yönlendiren kısa etkili çözünür moleküllerdir. Sistemik akut faz reaktanlarını stimule ederler.

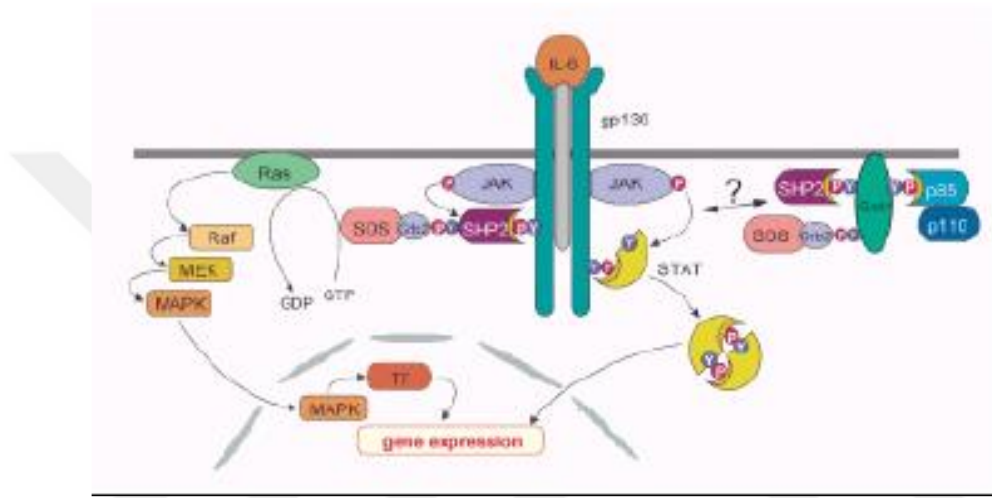
İnterlökinler sitokinler içinde geniş bir grubu oluşturur. Temel olarak T hücreleri tarafından üretilir. Ancak mononükleer fagositler ve doku hücreleri de interlökin üretebilir. Hücrelerin bölünmesi ve farklılaşmasını yönlendirirler.

Pleotropik bir sitokin olan interlökin-6 (IL-6), proinflatuvar bir yanıtın başlatılmasında önemli bir role sahiptir (12).

B hücre stimulator faktör, İnterferon B2, Hepatosit stimule faktör, 26 K faktör bilinen tarihsel isimleridir. IL-6 geni 7. kromozom üzerinde kodlanmıştır. Moleküler ağırlığı 21-28 kD ve 212 aminoasitten oluşan fosfoglikoprotein yapısında inflamasyonda, hematopoezde ve akut faz reaktanı olarak görev alan bir sitokindir (13). 4 alfa heliks uzun

zincir ailesine aittir (14). Etkisini gp130 reseptörüne bağlanarak gerçekleştirir. JAK tirozin kinazı aktive eder. Fibroblastlar, keratinositler, T ve B lenfosit hücreleri, monositler, makrofajlar, amniyon epitelyum hücreleri, koryon desidual hücreler ve plasenta gibi çeşitli hücre tipleri tarafından üretilmektedir (13-14).

IL-6 endotel hücrelerinde IL-1 ve TNF- α sekresyonunu artırır. IL-1 ve TNF- α da IL-6 sekresyonunu arttırmaktadır. IL-10 transkripsiyonel mekanizma ile IL-6'nın sentez ve sekresyonunu baskılamaktadır.



Şekil 2.1. IL-6 reseptör mekanizması

IL-6 multifonksiyonel bir sitokindir. Akut faz cevabının artmasında rol oynar. Bu etkisini CRP, haptoglobulin, fibrinojen ve proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinlerinin üretimini artırarak gerçekleştirir (15). IL-6 hipofize etki ederek ACTH salınımını indükler. Aynı zamanda direk olarak adrenal bezlere etki ederek glikokortikoid üretimine neden olur. Bütün bunlara ilave olarak IL-6 hematopoezi artırır, ateşin yükselmesine neden olur. Böbrek mezengial hücrelerin proliferasyonunu artırır. Doğal ve kazanılmış immünitede rol alır (11).

2.1.2. Gen Polimorfizmi ve İlişkili Durumlar

Evrimsel süreçte tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotid düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili, üçlü nükleotid tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. İnsan genom proje çalışmalarıyla tüm genomdaki genlerin ve nükleotid dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki farklılıklarını belirleme çalışmaları hız kazanmıştır (16).

Birçok sitokin genlerinde polimorfizm tanımlanmıştır (17). Bu polimorfizmler sitokin geninin düzenleyici bölümlerinde normal allel varyantı olarak görülmektedir. Daha özgül polimorfik genler daha çok inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda görülmüştür (18). IL-6 tanımlanmış 4 polimorfizmi mevcuttur. Bunlar -597 G/A, -572 G/C, -373nTn, ve -174 G/C'dir. IL-6 geninin 5' uç bölgesindeki -174 G/C polimorfizmi, IL-6 transkripsiyon üzerinde etkili olduğu görülmüş (2). C allel gelmesi promoter aktivitenin azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Fakat GC heterozigot polimorfizmde normal aktivite gösterebileceği gösterilmiş(19,20). Polimorfizmdeki G ve C allel dağılımı etnik dağılıma göre değişebilir (20). C allel görülme sıklığı Beyaz Amerikalılarda %35 iken siyah Amerikalılarda %9 saptanmış.

IL-6 ve salınımını kontrol eden IL-6 -174 G/C gen polimorfizminin otoimmün hastalıklar, kronik inflamasyon, B hücre malignansileri, sistemik lupus eritematosus, Castleman hastalığı ve multiple myeloma ile ilişki olduğu belirlenmiş. Bu hastalıkların oluşum süreçlerinde etkinliği gösterilmiş olup, IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi olan bu gruplarda IL-6 'nın fazla salındığı, B hücre uyarımı ve B hücre artımı olduğu, antikor-otoantikor yapımıyla birlikte bulguların ortaya çıktığı görülmüş. Antikor uyarımı ile de hastalıkların

Gen polimorfizmin, IL-6 üretimine etkisi tam bilinmemekle birlikte, Kilpinen ve ark CC genotipli bebeklerde lipopolisakkarit ile aktive ettiği mononükleer hücrelerden IL-6 salınımının fazla olduğunu göstermiştir (21). Koroner arter cerrahi sonrasında, CC genotipe sahip hastalar, GG genotipe sahip hastalara göre daha yüksek plazma IL-6 seviyeleri saptanmış (22). Bununla birlikte normal popülasyona göre juvenil kronik artritli hastalarda az sıklıkla CC genotipi saptanmış (23). GC varyasyonu tip I diabetes mellitus ile ilişkili

olabileceği, Alman hastalarda ise sistemik lupus erimatosus ve inflamatuvar barsak hastalığı ile ilişkisi olmadığı gösterilmiş (24). Son yıllarda polikistik over sendrom gelişmesinde anormal sitokin üretimi ve TNF- α , IL-6 gibi proinflamatuvar ve IL-10, IL-18 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin arasındaki bozulmuş dengenin de etken olabileceği söylenmektedir (25). IL-6, inflamasyon ve vücut savunmasının yanı sıra, doku onarımı, glukoz ve yağ metabolizmasında da görev alır. IL-6 -174 G/C gen polimorfizminin, obezite, bozulmuş glukoz intoleransı, metabolik sendrom ve diyabetle ilişkisi olduğu düşünülmektedir. İstanbul Tıp Fakültesi tarafından yapılan erişkin çalışmasında metabolik sendrom ile ilişkili bulunmuş. Trigliserid düzeyleri düşük saptanmış (26).

IL-6 gen polimorfizmin, brusellozun fokal komplikasyon geliştirmesinde risk faktörü olabileceğini gösteren çalışmalar (27) , akut otitis media ve üst solunum yolu enfeksiyon riskinin artması ile ilişkili çalışmalar da bulunmaktadır (28). Idiopatik Nefrotik sendromlu çocuklarda, IL-6 gene polimorfizminin, steroid yanıtı etkisinin olabileceği tartışılmaktadır (29).

2.1.3. Gebelik Sorunları

IL-6 polimorfizmlerinin, IL-6 protein düzeyleri üzerindeki etkisi ve IL-6 polimorfizmi ile erken doğum ve bakteriyel sepsis riski arasındaki ilişki konusunda çelişen bulgular yayınlanmıştır. Tek gen polimorfizmi çalışmalarında, IL-6 ya ait 4 polimorfizim olduğu için bakılan gen değerlendirilmekte, diğer genlerin etkisi bilinmemektedir. Ancak bu bulgu, in vivo doğrulanmamıştır (30). Semptomatik ve asemptomatik bakteriyel enfeksiyonu olan preterm eylemli olgularda, amniotik sıvılarda (31) ve göbek kordonunda (32) yüksek IL-6 seviyeleri saptanmıştır. Laham ve ark (33), preterm ve term gebeliklerde maternal plazma IL-6 seviyelerini incelemişler ve IL-6 sadece preterm grupta arttığını göstermişler. Salafia ve ark. fetal serum IL-6 seviyelerinin korioamnionitli olgularda yüksek olduğunu, fakat annelerde farklı olmadığını bildirmişlerdir(34). Türkiye’den yapılan bir çalışmada ise koryoamniyonitli annelerde IL-6 düzeylerinin anlamlı yüksek olduğu bulunmuş (35). Saarela ve ark. Preeklamsi görülen gebelerde, IL-6 gen polimorfizminin major risk faktörlü olduğunu göstermişler(36). Rekkürren spontan abortus, gebeliğin birinci trimesterinde, 3 veya daha fazla birbirini izleyen gebelik kayıpları olarak

tanımlanır. Daher ve ark, Sajio ve ark. IL-6 gen polimorfizmi ile rekürren spontan abortus ile ilişkisini göstermiştir (36).

Prenatal bakım anne için önem taşır. Preeklampsi, fetusun büyümesinde gerilik, açıklanamayan intrauterin fetal ölüm ve preterm eylem gebelik komplikasyonları içinde sayılabilir. Preeklampsinin IL-6 sekresyonunu arttırdığı ve plazma seviyelerini yükselttiği gösterilmiştir (37). Stonek ve ark 1626 annenin gebelik takibindeki komplikasyonlarla IL-6 -174 G/C promoter polimorfizmi arasında ilişki saptamamış (38).

2.1.4. İnfertilite, Sitokin ve Gen Polimorfizmi İlişkisi

Clamidy trachomatis enfeksiyonun dünyada dişi infertilitesi nedenlerinden biridir. Clamidy trachomatis ilişkili tubal infertil Kenyalı annelerde yapılan çalışmada, IL-6, IL-10 ve TGF- β gen polimorfizmini ile ilişkisi gösterilmiş (39).

Büscher ve ark, invitro fertilizasyon (IVF) yapılan 111 annenin foliküler sıvısını indüksiyon sırasında incelemişler. İndüksiyon sırasında IL-6, IL-8 ve IL-1-ra seviyelerinde değişimler saptanmış. Bu artım ve azalmalar bir dengede olduğu ve periovulatuvar hüceresel ilişkide etkili olduğu düşünülmüş. Sürecin sitokin düzenlenmesinde inflamatuvar ve antiinflamatuvar sürecin birbirlerini izlediği bulmuşlar (40).

Endometriozis ilişki infertilite ise tam açıklanabilinmiş bir konu değildir. Endometriozisli hastaların folikül sıvılarında yüksek IL-6 konsantrasyonu gösterilmiş (41). Granulosa ve luteal hücrelerden IL-6 salınımı olması nedeniyle Yamashita ve ark . IVF yapılmış ciddi endometriozisli hastalarda IL-6 gen ekspresyonunda fark olmadığı gösterilmiş (42). Boomsma ve ark, yardımcı üreme tekniği yardımı alan annelerin embriyonel implantasyonda, sitokinlerin etkisinin olmadığını göstermiş (43).

Erken implantasyonda proinflamatuvar T helper-1 ve sitokinler (IL-6, IL-8 ve TNF- α) yüksek düzeyde bulunmuş (44).

Raghupathy ve ark. normal spontan vaginal yol ile doğum yapan annelerde T helper-2 sitokinleri olan IL-6 ve IL-10 seviyelerini yüksek bulmuş, tekrarlayan gebelik kayıpları olan annelerdede T helper-1 sitokin seviyelerini yüksek saptamış (45). T helper 1

sitokinleri trombotik/inflamatuvar süreçleri tetiklediği ve fetal yıkımı ortaya çıkardığı görülmüş. Doğum için bu dengenin iyi sağlanmış olması gerekiyor.

2.2. PREMATÜRİTE

2.2.1.Tanım

Son yarım yüzyılda tıbbi ve teknolojik alanlardaki gelişmeler yenidoğan yoğun bakım ünitelerinin (YYBÜ) kalitelerini artırmış ve yaşayabilirlik sınırında pek çok preterm bebek yaşatılmaya başlanmıştır. Bu süre içinde tüm gebeliklerin %7-11'i olan preterm doğum oranlarında kayda değer bir azalma görülmemiştir (46). Ülkemizde gerçek sıklık tam olarak bilinmemekle birlikte İstanbul Tıp Fakültesinde %15 kadar yüksek bir oran verilmektedir. ABD' de canlı doğan 1500 gr'ın altı bebeklerin oranı %1,1, Türkiye'de üniversite hastanelerinde %4 gibi yüksek bir oran verilmektedir (47). Hatta yardımcı üreme tekniklerindeki gelişmeler nedeniyle çoğul gebeliklerin ve bununla ilişkili preterm doğumların oranı da artmıştır. Neonatoloji'deki hızlı gelişmelere rağmen preterm bebeklerin morbidite ve mortalitesi yüksektir. Tüm perinatal komplikasyon ve ölümlerin %85'i preterm yenidoğanlarda gelişir (48). Türk Neonatoloji Derneği'nin 1999 yılında yapmış olduğu araştırmada ülkemizde perinatal ölüm hızı %39 bulunmuş ve bunun nedenleri arasında 2. sıklıkta (%26) pretermlik yer almıştır (49).

1948 yılında Dünya Sağlık Teşkilatının belirli gebelik süresini tamamlamadan veya tamamlayarak doğan, 2500 gr ve bunun altındaki bebeklere prematüre denmesine karar vermişti. Bu sınır boy için 46 cm., baş çevresi için 33 cm. kabul edildi. Buna göre normal gebelik süresi, son menstrasyonun ilk günden itibaren 280 gün veya 40 hafta olarak belirlendi (50).

1961 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından prematürite tanımı değiştirildi. Yıllar içinde 2500 gr altındaki fetüslerin tümünün prematürite içinde değerlendirilmesinin yanlış olacağı ve bu gruba 'düşük doğum ağırlıklı fetus' tanımlamasının daha doğru olacağı bildirildi (51). Tamamlanmış 37 haftadan önce veya 37 hafta + 6 günden önce doğan (259 günden küçük) bebekler için prematüre bebek terimi kullanılmaya başlandı. 38 haftadan 1 gün almış ve 42. haftayı tamamlamış (260 – 294 gün) bebekler term kabul edildi.

24 haftalık doğan bir bebeğin yaşam şansı yaklaşık % 10 ‘dur. Son 20 yılda ve özellikle son 10 yılda neonatolojideki hızlı gelişme, teknik olanakların çok gelişmesi, bilgi ve deneyim birikimi ile önceleri 28 hafta olan viabilite (dış ortamda yaşayabilme) sınırı 24 haftaya, hatta son yıllarda 21 haftaya kadar düşürülmüştür. Bugün 450 g olarak bilinen viabilite için en düşük ağırlık sınırının da daha aşağı çekilmesi olasıdır. Bebeğin yaşama şansı 25. haftada anlamlı olarak artış göstererek % 55’e, 28. haftada da % 77’e çıkmaktadır. 32. haftadan sonra yaşama şansı % 96’dan fazla olmakta ve iyi bir bakımla ciddi sağlık problemleri de anlamlı oranda azalmaktadır (52). Preterm doğanların çoğunluğu (% 65-70’i) 36 haftalıktan büyük ve doğum ağırlığı 1500 g’dan fazla, sınırda vakalardır (53).

2.2.2. Nedenleri

Bir gebe kadının preterm doğum eylemi açısından riskini belirleyecek en etkili anamnez ve fiziksel faktörleri saptamak için büyük çabalar gösterilmektedir. Değişik obstetrik popülasyonlara uygulandığında, en iyi tarama yöntemleri bile toplam popülasyonun %10-15 gibi yüksek riskli bir grubu ortaya çıkarabilirler ki, bu oran sonunda preterm doğum yapacakların ancak yarısıdır.

Son 20 yılda prematüriteye yol açan nedenlerin belirlenmesinde ve tedavi edilmesine yönelik çalışmalar giderek artmıştır. Bunun sonucunda son 10 yılda preterm doğumun altındaki yatan faktörlerin anlaşılması konusunda önemli ilerlemeler sağlanmıştır (54).

Genel olarak preterm doğumlar spontan veya endikasyonlu olarak sınıflandırılır (55). Preterm doğumların %75’i preterm eylem ya da preterm premature membran rüptürü (PPROM) sonrası spontan olarak ortaya çıkarken, %25’i tıbbi ve obstetrik problemlere ikincil oluşan ve anne-fetus için ortaya çıkan risk sonucunda endikasyonlu preterm doğum yapılmaktadır (56).

Bazı kadınlar preterm doğum açısından ‘riskli’ gruba konulurken bazıları ise ‘yüksek risk’ grubuna alınmaktadırlar. Bu gruplama kadının taşıdığı risk faktörlerinin sayısı kadar, bu risk faktörlerinin ciddiyetine de bağlıdır. Preterm doğum için aşağıda sıralanan risk faktörlerini taşıyan kadınlar, taşıdıkları risk faktörü sayısı ve ciddiyetine göre, riskli veya yüksek riskli olarak tanımlanabilirler (57).

Anneye Ait Risk faktörleri:

- Preeklampsi
- Plasental ayrılma
- Placenta previa
- Daha önce preterm doğum
- Üriner veya vajinal enfeksiyon
- Çoğul gebelik
- Uterus şekil bozukluğu
- Uterusla ilgili önceden geçirilmiş cerrahi müdahale
- Serviksle ilgili geçirilmiş müdahale ya da lazer uygulamaları
- Servikal inkompetans (serviks kısılığı ve kontraksiyon olmadan açılma)
- Dietilstilbestrole maruz kalma
- 18 yaşından küçük ya da 35 yaşından büyük olma
- 45 kg'dan az vücut ağırlığı
- Amniyon sıvısının çok az veya fazla olması
- Bebeğe doğumsal anomalilerin olması
- Placenta problemleri (yüksek tansiyon, yüksek MSAFP, kronik hastalıkvs.)
- Gebelik esnasında kanama
- Kronik hastalık
- Gebelik esnasında abdominal cerrahi
- Sigara kullanımı ve ilaç alışkanlığı

Tüm bu nedenlerin yanı sıra, preterm doğumla ilişkili anneye ve çevreye ait olan ve önemle üzerinde durulması gereken diğer faktörler arasında, prenatal bakım ve takip eksikliği, düşük sosyoekonomik düzey, zayıf beslenme, bilgi eksikliği, tedavi edilmemiş hastalık veya enfeksiyon mevcudiyeti sayılabilir. Gebeliğin ikinci trimestrinde ortaya çıkan ve yüksek tansiyon, sıvı retansiyonu ve idrarda protein kaybı ile seyreden preeklampsi, preterm doğumla sonuçlanabilir. Annede böbrek hastalığı, diabetes mellitus, enfeksiyon ya da kalp hastalıkları varlığı da preterm doğum olayına katkıda bulunabilir. Uterusta birden fazla fetusun bulunduğu çoğul gebelikler tüm preterm doğumların % 15'de bulunmaktadır (58).

Çoğul gebelik, spontan ve indüklenen preterm doğum için en ciddi risk faktörlerinden biridir. İnfertilite tedavisinde kullanılan ovulasyon indüksiyon ve in vitro fertilizasyon yöntemleri ile çoğul doğum oranları gittikçe artmaktadır. Polihidroamniyos tablosunda olduğu gibi aşırı uterin gerilme sonucunda preterm eylem ve PPRM riski artmaktadır (59). Etnik köken de preterm eylem için risk faktörüdür. Özellikle Afro-Amerikan ırkta, beyazlara göre preterm eylem oranları nerdeyse 2 kat artmıştır (55).

Genetik yatkınlık, preterm eylemle ilişkisi ile ilgili tartışmalar ve araştırmalar devam etmektedir. Birçok bulgu bu yatkınlık konusunu desteklemektedir (58). Preterm doğum hikâyesi sonradan preterm doğum için güçlü bir risk faktörüdür (56).

Preterm doğum için genel olarak klinikte kullanılan belirtiler servikal değişiklikler, kontraksiyon sıklığında artış ve vajinal kanamadır. Yapılan son klinik ve deneysel çalışmalar, preterm doğumların çoğunda aşağıda sıralanan 4 patojenik olaydan birinin oluştuğunu göstermektedir (60).

Bu olaylar:

1. Maternal ya da fetal hipotalamo-hipofizer-adrenal aksın (HHA) aktivasyonu;
2. Desidual-koryoamniyonik ya da sistemik inflamasyon;
3. Desidual hemoraji;
4. Uterusun patolojik gerilmesidir.

Bu farklı olayların her biri aynı sonucu doğurmaktadır. Servikal ve fetal membran ekstrasellüler matriks degradasyonu ile miyometriyal aktivasyon oluşmaktadır. Bu olaylarda sonuçta servikal dilatasyon, membran rüptürü ve uterus kontraksiyonlarına sebep olmaktadır (61).

2.2.3. Genetik Faktörler

Bu çalışmalara ek olarak, preterm doğumun genetik predispozisyonu olduğu ve homojen olmayıp multifaktöriyel kalıtım sonucu olabileceği, yeni tekniklerle gösterilmeye çalışılmış. Çalışmalarda, preterm eylemi ve doğumu tetikleyen inflamatuvar durumlarda tüm sitokinlerin arttığı gösterilmiş. Umbilikal kord kanında, annede, intraamniyotik sıvıda ve annedeki sekresyonlarda IL-6 ile birlikte birçok sitokin arttığı gösterilmiş. Bu artış sonucunda prostoglandin ve metalloproteinazlar aktive olarak uterus gevşemesine ve membran rüptürüne sebep olmaktadır. Sitokin yanıtı farklılık göstereceği için de genetik çalışmalara yön verilmiştir.

Preeklampsi-eklampsiye eğilim kalıtsaldır. Preeklampsi ve eklampsinin, yüksek oranda kalıtsal olduğu yönünde çalışmalar vardır. Bazı genetik çalışmalar resesif bir gen defekti olduğunu göstermiştir.

Gebelikteki idrar yolu enfeksiyonu, bakteriyel vajinozis ve koryoamniyonit gibi enfeksiyon tablolarında inflamatuvar sitokinlerin arttığı ve özellikle preterm eylem ile doğum yapan annelerde anlamlı yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcut. Bu bilgi doğrultusunda da genetik çalışmalara yön verilmiştir.

Gebelik ve lohusalık, kadınlarda maternal ölümün başlıca nedenlerinden biri olan venöz tromboza eğilime neden olmaktadır (62). Artan riskin nedenleri belirsiz olmakla beraber gebelik, hemostazı indükleyici sebepler ile bağlantılı olabilir. Yapılan bir çalışmada kontrol grubunda %4.3 ilk trimester düşüğü olanlarda % 5.7 bulunurken ikinci trimester kaybı olanlarda faktör V Leiden mutasyonu insidansı % 20 olarak anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (63). Sitokin gen polimorfizmi preterm eylemi tetiklediği çok tartışılarda net bir sonuca ulaşılabilmemiş değildir.

2.2.4. Prematüritelik Sorunları

Preterm bebeğin sorunları, gelişmemişliği oranında daha sık olarak görülen ve tüm sistemleri içeren sorunlardır. Doğum odasında ve yenidoğan yoğun bakım ünitesinde ilk saatlerde deneyimli bir ekip tarafından bakılması erken dönemde ve daha sonra ortaya çıkabilecek komplikasyonların önlenmesi bakımından önemlidir (48).

En sık rastlanan sorunlar:

- Solunum Sistemi
 - Respiratuvar Distres Sendromu
 - Solunum Yetmezliği
 - Apne
 - Hava Kaçağı (pnömotoraks ve diğerleri)
 - Kronik Akciğer Hastalığı
- Kardiyovasküler Sistem
 - Patent Duktus Arteriyozus
- Merkezi Sinir Sistemi
 - İntraventriküler Kanama
 - Periventriküler Kanama
- Konvülsiyonlar
- Renal Sorunlar
 - Elektrolit Dengesizliği
 - Asit-Baz Dengesizliği
 - Böbrek Yetersizliği
- Oftalmolojik Sorunlar
 - Prematürel Retinopatisi
 - Strabismus
 - Miyopi
- Gastrointestinal Sistem
 - Beslenme İntoleransı
 - Nekrotizan Enterokolit
 - İnguinal Herni
- İmmunolojik
 - Enfeksiyona eğilim (Neonatal enfeksiyonlar)

SEPSİS

Tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen sepsis yenidoğan bebeklerde önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir (64).

Yenidoğan sepsisi, yaşamın ilk ayında sistemik enfeksiyon bulgularının olduğu ve kandan bir patojenin izole edildiği klinik bir sendromdur (65). Yenidoğan sepsisine neden olan patojen doğum kanalından veya hematogen (transplasental) yolla kazanılmaktadır (64). Klasik olarak bulguların ortaya çıkış zamanına göre sepsis ikiye ayrılmaktadır (Tablo 2.1). Erken başlangıçlı sepsis yaşamın 7. gününden önce, geç başlangıçlı sepsis yaşamın 7-30. günlerinde gelişmektedir (65). Günümüzde neonatal sepsisin üçüncü kategorisi olarak çok geç başlangıçlı sepsis terimi de kullanılmaktadır. Çok geç sepsis ise 30. günden taburculuğa kadar geçen sürede gelişmektedir (66).

Tablo 2.1 Ortaya çıkış zamanına göre yenidoğan sepsisi sınıflandırması ve özellikleri

Özellik	Erken sepsis	Geç Sepsis	Çok Geç Sepsis
Başlangıç	7 günden önce (genellikle ilk 48 saat içerisinde)	7-30. günlerde	30. günden sonra
Gebelik Süresi	%25'i <37 hafta	Sıklıkla matür	Sıklıkla <30 hafta
Risk Faktörleri	Maternal intrapartum komplikasyonlar sık	Sıklıkla yok	Prematürelilik
Etkenin kaynağı	Doğum kanalı	Doğum kanalı, nazokomiyal veya toplum	Nazokomiyal, toplum
Sık Görülen Bulgular	Multisistemik (Nonspesifik bulgular)	Multisistemik veya fokal	Multisistemik veya fokal

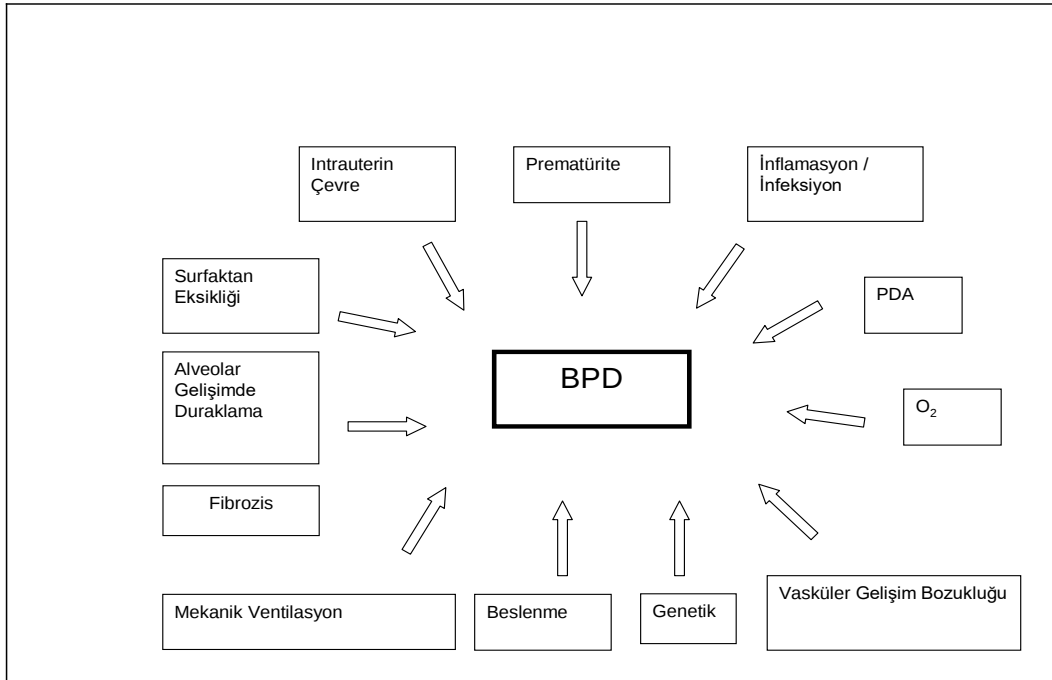
Sepsisli bebeklerin kanında çok sayıda sitokin saptanmıştır. Bunlar arasında interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), solubl IL-2 reseptör, solubl intersellüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1), solubl TNF-a reseptör, E-selektin, IL-1 reseptör antagonisti, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) ve granülosit CSF (G-CSF) de bulunmaktadır. Bakteri toksinlerine maruz kalındıktan sonra IL-6 hızla artmakta CRP'den önce yükselmektedir (67). Ancak IL-6'nın doğum sonrası düzeylerinde fizyolojik dalgalanmalar olduğu, doğum sonrası ilk 48 saat içerisindeki düzeyinin gebelik yaşından etkilendiği, doğum sonrası sensitivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir (65). Çok düşük doğum ağırlıklı sepsis gelişen ve mekanik ventilatörde izlenen bebeklerde yapılan iki çalışmada IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi çalışılmış ancak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

BRONKOPULMONER DİSPLAZİ

Bronkopulmoner displazi tanımı ilk kez 1967 yılında Northway ve arkadaşları (68) tarafından kullanılmış olup, mekanik ventilasyon ile tedavi ve basınçlı oksijene maruziyet

sonrası geliştiği bildirilmiştir. Ancak doğum öncesi steroid uygulamaları, surfaktan tedavisinin kullanılması, yeni ventilatör uygulamaları, patent duktus arteriozus (PDA)'un etkin tedavisi, iyi beslenme ve diğer tedaviler sayesinde prematüre yenidoğanların kliniği ve BPD'nin ortaya çıkış şekli zaman içinde değişiklik göstermiştir (69-70). Bronkopulmoner displazi görülme riski doğum ağırlığının azalmasına paralel artış göstermekte, insidansı 500-750 gr yenidoğanlarda % 52 iken, 1200-1500 gr olanlarda % 7 civarına inmektedir (71). Bronkopulmoner displazi patofizyolojisinde birçok mekanizma rol almasına rağmen, akciğer gelişiminin bozulması halen en önemli faktör olarak görülmektedir (72). Bu bozulma dönemine genellikle bakteriyel bir infeksiyon veya PDA eşlik etmektedir (73). Bronkopulmoner displazi tanımı bazı çalışmalarda oksijen bağımlılığının doğumdan sonra 28. gün devam etmesi olarak kabul edilirken, bazı çalışmalarda ilk 28 gün ve postmenstrüel 36. haftaya kadar sürmesi olarak kabul edilmektedir.

Bronkopulmoner displazi gelişimi için birden fazla risk faktörü vardır. Bu risk faktörleri Şekil 2.2'de belirtilmiştir.



Şekil 2.2. Bronkopulmoner displazinin risk faktörleri

Preterm yenidoğanlarda, proinflamatuvar sitokinlerde artışa rağmen antiinflamatuvar yanıt yetersizdir. İnterlökin-10, akut akciğer hasarından koruyan antiinflamatuvar bir sitokindir, IL-10-1082 G/A polimorfizminin mekanik solunum desteği verilen prematüre bebeklerde BPD gelişimi veya mortalite üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (74). Enfeksiyon ve inflamasyonun BPD gelişimine etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Antenatal inflamasyon ve enfeksiyon etkilerine yönelik bir çalışmada, annelerinde koryoamniyonit olan bebeklerin BPD riskinin 3 kat arttığı gösterilmiştir (75). Kord kanındaki IL-1 ve IL-6 düzeylerinin artışı, BPD gelişimi için risk faktörleri arasındadır (76). Choi ve arkadaşlarının (77) bir çalışmasında doğumda trakeal aspiratta IL-6 düzeyindeki artış saptanması pulmoner inflamasyon göstergesi olarak kabul edilip, BPD gelişiminin önceden belirleyicisi olarak kabul edilmiştir.

NEKROTİZAN ENTEROKOLİT

Nekrotizan enterokolit (NEK), bağırsakların kısmi veya tam iskemisi ile karakterize önemli bir gastrointestinal hastalıktır. Tutulum bölgesi sıklıkla terminal ileumdur. İntestinal iskeminin başlamasında tetiği çeken faktörlerin neler olduğu henüz tam açıklık kazanmamıştır; ancak faktörlerin ulaştığı ortak yol intestinal iskemidir (78). Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerin yaklaşık %1-10'unda gelişmektedir. Esas olarak prematüre bebeklerde görülmekle birlikte, NEK gelişen bebeklerin %10'unu zamanında doğan bebekler oluşturmaktadır (79). İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör gibi inflamatuvar mediatörlerin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da arttırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdıkları düşünülmektedir. Deneysel çalışmalarla da TNF- α ve trombosit aktive edici faktörün (PAF) NEK patogenezindeki rolü gösterilmiştir (80). Ayrıca yapılan çalışmalarda NEK'li hastalarda IL-1, IL-3, IL-6 ve TNF-alfa düzeyleri yüksek bulunmuştur (78). NEK için risk faktörleri tablodadır.

Tablo 2.2. Nekrotizan enterokolit nedenleri

Prematürite	Anemi
Perinatal asfiksi	Kan değişimi
Respiratuvar Distres Sendromu	Konjenital GIS anomalileri
Umblikal kateterizasyon	Formula ile beslenme
Hipotermi	Nazo-jejunal beslenme
Şok	Kronik ishal
Hipoksi	Hipertonik mamalar
Patent Duktus Arteriyozus	Fazla miktarda mamanın kısa sürede verilmesi
Polistemi	Nekrojenik bakterilerle kolonizasyon
Trombositoz	

PREMATÜRE RETİNOPATİSİ (ROP)

Prematüre retinopatisi (ROP) düşük doğum ağırlıklı ve erken doğan bebeklerde görülen retinal damarların anormal proliferasyonuna bağlı oluşan ve patogenezi tam olarak bilinmeyen bir hastalıktır. Prematüre retinopatisi çocukluk döneminde körlüğe en çok yol açan nedenlerden birisidir (78). İlk kez 1942 yılında tanımlanmış olsada neovaskülarizasyon ve buna ikincil komplikasyonlarla kendini gösteren bir vasküler retinopati olduğu ortaya konmuştur (81). Zamanında doğmuş bebeklerde retina damarlanması tam olarak oluşmuşken, prematüre doğan bebeklerde gestasyon haftası ne kadar küçükse o kadar eksiktir (82).

POLİSTEMİ

Neonatal polistemi ya artmış intrauterin eritropoez ya da fetal hipertransfüzyon sonucu gelişmektedir. Sağlıklı matür yenidoğanlarda polisteminin en sık nedeni göbek kordonunun geç klemplenmesidir. Deneysel çalışmalarda doğum sırasındaki akut hipokside, artan plasental transfüzyon sonucu, fetal eritrosit kitlesinde artış gösterilmiştir.

Semptomatik yenidoğanda, polistemi sınırı, venöz hemotokritin %65 ve üstü olması şeklinde tanımlanır. Tanı konduktan sonra polistemi nedeni belirlenmelidir. Özellikle diabetik anne çocukları ve down sendromunda polistemi sık görülmektedir. (78).

TROMBOSİTOPENİ

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde en sık karşılaşılan hemostatik sorun trombositopenidir. Hasta yenidoğanların %25'in de sınırda bir trombositopeni gelişir (100-150 bin/mm³) %50 vakada 100 binin altına düşer ve %20'sinde 50.000/mm³ altındadır. Dissemine intravasküler koagülasyon, kan değişimi en sık nedenler arasındadır. Asfiksi, NEK, tromboz, maternal immun kaynaklı nedenlere bağlı olarak gelişebilir.

LÖKOPENİ

Total lökosit, immatür lökosit ve mutlak nötrofil sayıları (MNS) ile immatür lökosit sayısının (İLS) total lökosit sayısına oranı (TLS) enfeksiyon tanısı için en sık kullanılan göstergeler olmasına rağmen bunların sensitivite ve spesifiteleri düşüktür. Bu yüzden yenidoğandaki kullanımları sınırlıdır. Özellikle doğumdan sonraki ilk birkaç gün içinde, lökosit sayılarının normal değerlerinin değişiklik göstermesi ve sepsisli yenidoğanlarda lökositoz olabileceği gibi lökopeninin de bulunabilmesi, enfeksiyonların tanısında lökosit sayılarının önemini azalmaktadır. Otomatik aletlerde çekirdekli eritrositler de bazen lökosit gibi sayılabilir. Santral kateterlerden alınan kandaki total lökosit sayısı, kapiller kandakine göre % 30-40 daha az bulunabilir (83). Total lökosit sayısının <5000-7500 mm³ olması yenidoğan sepsisi ile korele olabilmesine rağmen, bu parametrenin % 29 gibi düşük bir sensitivitesi buna karşılık % 91 gibi yüksek bir spesifitesi bulunmaktadır (84). Pekçok çalışma yenidoğan sepsisinde total lökosit sayısının üst sınırı olarak 30000-40000 mm³ kabul etmektedir. Buna rağmen literatürde, hayatın ilk 3 günündeki total lökosit sayısı yüksekliğinin sepsis tanısı koymaya yardımcı olduğuna dair çok az kanıt bulunmaktadır (85). Mutlak nötrofil sayısı, total lökosit sayısına kıyasla daha değerlidir. Manroe ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada MNS için alt sınır, doğumda 1800/mm³, 12. Saatte 7200/mm³ ve 72. saatte tekrar 1800/mm³ bulunmuştur (86). Shelonka ve arkadaşlarının postnatal 4.saatindekibebeklerde yaptıkları çalışmada ise MNS'nın alt sınırı % 10 (9500/mm³), üst sınırı % 90 (21500/mm³) bulunmuştur (87). Bu nedenle ilk 48 saat içinde nötropeni, enfeksiyon tanısı için nötrofiliden daha değerli bir parametredir.

2.2.5. IL-6 Gen Polimorfizmi ve Prematürite

Preterm doğum, son 10 yıldır oranları artmakta ve genetik ve çevresel faktörlerin bir arada olduğu multifaktöriyel bir süreç içerisinde değerlendirilmektedir (88). Ailesel, ikizler ve kuşaklar arasında geçiş gösteren çalışmalarda, preterm doğumun bazı vakalarda kalıtsal olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur(89). İmmun sistem ve inflamatuvar süreçleri içeren genler, preterm doğum etyolojisinde incelenmesi gereken noktalardan biri olabilir (90).

Anne ve fetus arasındaki biyolojik ve moleküler ilişki kompleks olup çok az kısmı bilinmektedir (91).

Antiinflamatuvar sitokinler gebeliğin sonuçlanmasında kritik rol oynarlar (92). İkinci trimestere doğru plasentada maternal-fetal arayüzde T-helper hücrelerinin Tip 2 formasyonu sitokin üretimine başlar. Yarıca inflamatuvar ve sitotoksik T hepler 1 aktivasyonunu azaltarak blastokist gelişimini koruyucu etkiside vardır (93). Bu denge göz önüne alındığında anormal sitokin üretimi ya da bozulmuş denge preterm doğumu tetiklemektedir (94).

Goldenberg ve ark (56) inflamatuvar yanıtın preterm eylem etyolojisine katkıda bulunduğu, proinflamatuvar sitokin polimorfizmi araştırılmış, Romero ve ark (95) ile Hillier ve ark (96), IL-1'in Grieg ve ark (97) IL-6'nın preterm doğumda sorumlu olduğunu göstermiştir.

Engel ve ark, antiinflamatuvar sitokinlerde 12 sık polimorfizmin spontan preterm doğumla ilişkisini saptamış (98).

Matsuzaki ve ark. (99) ile Steinborn ve ark. (100) infekte olmayan preterm eylemlerde IL-1, IL-6 ve TNF- α 'nın artmış oranlarda olduğunu bulmuş. Preeklampsi ve bunun sonuçlarından biri olan IUBG'de, amniyotik sıvıdaki IL-6 düzeyleriyle ilişkili olduğu, diğer proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerinde bir parçası olduğu gösterilmiştir (101).

IL-6 GEN POLİMORFİZMİ ve YENİDOĞAN SORUNLARI

Beyaz cevher hasarı olan preterm infanların amniyotik sıvılarında IL-1 ve IL-6 seviyeleri yüksek saptanmış (102) ve intraserebral hemoraji gelişen pretermelerin umbilikal ve periferik kan IL-1, IL,6 v IL-8 seviyeleri yüksek ve ilişkili olduğu gösterilmiş (103).

Term bebek periferik kanında yüksek seviyelerde IL-6 saptanması ile 30 aylıkken anormal nörogelişimsel bulgularla ilişkili bulunmuş (104).

Klinik ve deneysel çalışmalarda ise intrauterin enfeksiyon, preterm doğum sonucunda periventriküler lökomalazi geliştiği ve sonrasında spastik serebral palsy gelişiminde kritik rol oynadığı gösterilmiştir (105). Biyokimyasal incelemelerinde perinatal süreçte IL-6 seviyeleri yüksek saptanmış (106). Grather ve Nelson ve ark., koryoamniyonit ile IL-6 gen polimorfizmi ilişkisi gösterilmiş olup, koryoamniyonit sonucun preterm doğan bebeklerde serebral palsy ve periventriküler lökomalazi geliştirme riski 11 kat arttığı gösterilmiş. Term bebekler üzerinde gösterilmiştir (107). Murphy ve ark. 32 hafta altında, maternal enfeksiyon, koryoamniyonit ve PPRM nedeniyle preterm doğan bebeklerde serebral palsy gelişimi arasında ilişki bulmuştur (108). Yoon ve ark., umbilikal kord kanında artmış IL-6 konsantrasyonu ile infantlardaki beyaz cevher hasarını ilişkili bulmuş ve bunun sistemik inflamatuvar yanıtın bir parçası olduğunu düşünmüştür (109).

İnflamasyon sürecinde plasentada kronik non-asidemik hipoksi oluşarak ve beyaz cevher hasarına yok açabileceği (110) ya da denek farelerinde kan-beyin bariyerini geçtiği gösteren ve az miktarda beyinde sentez edilen sitokinlerin, beyin dokusunda periventriküler lökomalaziye yol açtıkları düşünülmektedir (109). Bronkopulmoner Displazi, prematüriteliğin sık karşılaşılan bir komplikasyonu olup, bir çok çalışmada inflamatuvar bir sürecin parçası olduğu gösterilmiştir (111). Erken postnatal dönemde akciğer sıvısında artmış oranlarda IL-6 IL-1 β , TGF- β arttığı (112) ve Watterberg ve ark (113) bu durumun antenatal enfeksiyona maruziyetin sonucun olabileceğini düşünmüşlerdir. Yapılan çalışmalarda, yenidoğanlarda koryoamniyonit ve amniyon sıvısındaki yüksek IL-6 konsantrasyonu ile BPD geliştirme riskinin arttığı gösterilmiş. Yoon ve ark. BPD geliştiren bebeklerin umbilikal kord kanlarında IL-6 seviyesinin anlamlı yüksek olduğunu saptamışlar (109).

Harding ve ark. (114) ile Ahrens ve ark.(115) pretature bebeklerde kan kültürü pozitif sepsislerde gen ilişkisi saptamasına rağmen, Göpel ve ark. (3) çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde yaptıkları çalışmada sepsis, serebral hasar ile gen polimorfizmi arasında ilişki saptamamışlar.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN SEÇİMİ

Çalışmamıza hastane etik kurul izni ve aile onayı alınan 100 term, 83 preterm bebek ve 164 anne katıldı. Çalışma örnekleri Eylül 2008- Aralık 2009 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Ankara, Adana, Konya Uygulama ve Araştırma Merkezleri ile Sağlık Bakanlığı Etlik Zübeyde Hanım Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesinde toplandı. Annelerin doğumdan önceki klinik ve obstetrik takipleri (kaçıncı gebelik olduğu, yaşayan bebek sayısı, bu ve önceki gebeliklerindeki sorunlar, gebelik şekli), risk faktörleri (Erken Membran Ruptürü, Koryoamniyonit, Preeklampsi, Diabetes Mellitus, Gestasyonel Diabetes Mellitus, Plesental Yetmezlik) ve gestasyonel yaşları dosya bilgileri incelenerek kaydedildi. Bebeğin doğum ağırlığı ve cinsiyeti not edildi. Doğumdan sonra yenidoğan yoğun bakım ihtiyacı olan term ve preterm bebeklerin yoğun bakımda kaldıkları süre içinde gelişen sorunları (RDS, Sepsis, NEK, BPD ve ROP v.b.) gene hastane dosyaları incelenerek not edildi. Bebeklerin seçiminde normal vajinal doğum ve sezeryan ile doğum ayırımı yapılmadı. Ancak konjenital ya da kromozomal hastalığı olan bebekler ve antenatal takipleri olmayan anneler çalışmaya alınmadı. Anne ve baba bilgilendirildikten sonra 2008/AP-687 sayılı etik kurul kararınca, “Gönüllü Denek Bilgilendirme ve Onay Formu” nu imzalayan anne ve bebeklerinden uygun şartlar sağlandıktan sonra DNA eldesi amacıyla kan örneklemeleri için anneden 5 ml kan alınarak 0,072 ml %7,5 K3-etilendiamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonu içeren standart tüplere konuldu.

Anneden kan alma işlemi hastadan tıbbi nedenlerle kan alınacağı bir zamana denk getirildi. Bebek çıkımı tamamlandıktan hemen sonra steril şartlarda cerraha verilmiş olan enjektörle umbilikal kord'dan 5 ml kan örneği alınması istendi. Kan 0,072 ml %7,5 K3-etilendiamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonu içeren standart tüplere konuldu. Kan örnekleri soğuk zincir şartlarına uyularak DNA değerlendirilmeleri yapılmak üzere Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı laboratuvarlarına götürüldü.

37. gebelik haftasından önce doğum ağrılarının başlamasına “erken doğum eylemi”, doğumun gerçekleşmesine ise “erken doğum” ya da “preterm doğum” olarak tanımlandı. Erken doğum eylemi teşhisinde, 20 ile 37.gebelik haftaları arasında, on dakikada iki kez veya otuz dakikada üç ile dört kez gelen ve en az otuz saniye süren uterus kontraksiyonları ile birlikte servikal efasman veya dilatasyonun olması kriterdir

EMR (preterm premature rupture of membranes: PPRM), fetal membranların 37. gebelik haftasından önce, kontraksiyonların başlamasından en az 1 saat önce yırtılması, preeklampsi ise gebeliğin 20.haftasından sonra proteinüri ile beraber hipertansiyonun görülmesi durumudur. Trofoblastik hastalık ve çoğul gebelik durumunda 20. haftadan önce ortaya çıkabilir.

Gestasyonel Diabet gebeliğin 24-28.haftada yapılan oral glukoz testi (50gr glikoz ve 200ml su ile) yapıldıktan 1.saat sonra k.ş>140 ise tarama (+) kabul edilir ve OGTT yapılır. AKŞ ≥ 126 mg/dl olması ya da 75 g OGTT yapıldıktan 2 saat sonra kan şekeri ≥ 200 mg/dl yada random bakılan kan şekerinde ≥ 200 mg/dl saptanmasıyla tanı kondu.

Koryoamnionit, 5 klinik bulgulardan bir yada daha fazlası ile birlikte bulunan intrauterin enfeksiyondur (a)38°C üzerinde ateş, Pis kokulu vajinal akıntı (b)Maternal (100 atım/dk) ve/veya fetal taşikardi (160 atım/dk’dan fazla)+BTBV azalması (c) Uterin hassasiyet, Lökositoz ($>18\ 000/\text{mm}^3$) (d) Biofizik profil <6 , Oligohidramnios (e) Amnion sıvısında CRP ve glukoz artışı ile kültür ve katalaz (+) liği ile tanı kondu.

Yenidoğan sorunları ise, RDS, NEK, ROP ve BPD uluslararası tanı kriterlerine göre tanı kondu. Evrelendirme yapılmadı. Polistemi, venöz hemotokritin %65 üzerinde olması, trombositopeni mm^3 ‘de 150.000 trombosit sayısı olarak tanımlandı. Lökopeni ise lökosit sayısı, bebeğin haftasına göre olan standart değerlerin altında olan değerlerde lökopeni kabul edildi.

3.2. DNA İZOLASYONU

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Trizma Baz (*Sigma T6066*), Borik Asit (*Sigma B6768*), EDTA (*Sigma E5134*), NaCl (*Sigma S3014*), SDS (*Sigma S3014*), Proteinaz K (*Sigma P2308*), Fenol (*Sigma P4557*), Kloroform (*Sigma C2432*), İzooamilalkol (*Sigma I-9392*), Agaroz (*Sigma A5093*), Agaroz Wide Range/Standard 3:1 (*Sigma A7431*), Tris-Asetat-EDTA Tamponu (*Sigma T8280*), %100 EtOH (*Riedel-de Haën*), Primer (*Alpha DNA*), dNTP (*Roche 11814362001*), Taq DNA polimeraz (*Roche 11596594001*), Nla III(MBI Fermentas FD1834), MgCl₂ (*Sigma M1028*), DMSO (*Sigma D8418*), Amonyum persülfat (APS) (*Sigma A9164*), Akrilamid (*Sigma A9099*), Bisakrilamid (*Sigma M2022*), Orange G (*Sigma Q3756*), Etidium Bromür (10 mg/ml) (*Sigma E1510*), TEMED (*Sigma T9281*), 50 bç. DNA ağırlık belirleyici (*Fermentas SM0371*), pUC8 DNA ağırlık belirleyici (*Fermentas SM0301*), 6X yükleme boyası (*Fermentas R0611*)

3.2.1. Tampon ve Çözeltiler

Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler:

- **10mM Tris-1mM EDTA:**

Tris 25 ml 0,2 M Tris (242 g Trizma Baz + 1 L dH₂O;
(pH:8.0)

EDTA 1 ml 0,5 M EDTA (163,6 g EDTA + 1 L dH₂O;
(pH:8.0)

dH₂O 474 ml

- **1 M NaCl**

NaCl 1,45 g

dH₂O 25 ml

- **%10 SDS**

SDS 2,5 g

dH₂O 25 ml

- **Fenol-Kloroform-İzoamilalkol (25:24:1)**

Fenol 100 ml

Kloroform 96 ml

İzoamilalkol 4 ml

- **%100 EtOH**

- **Proteinaz K (10 mg/ml)**

Proteinaz K 100 mg

dH₂O 10 ml

Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan çözeltiler:

- **%10 DMSO**

DMSO 10 ml

dH₂O 90 ml

- **25 mM MgCl₂**

- **10X Taq Buffer**

Agaroz Jel Elektroforezi:

- **0,5X TAE**

Tris-Asetat-EDTA Tamponu 100 ml

dH₂O 2 lt

- **Etidium Bromür**

Etidium Bromür 500 µlt

dH₂O 750 µlt

- **50 bç. DNA ağırlık belirleyici**

DNA marker 1 µlt

6X Yükleme boyası 1 µlt

dH₂O 5 µlt

- **Yükleme Tamponu**

Gliserol 55 ml

1X TAE 45 ml

Orange G 0,1 g

Poliakrilamid Jel Elektroforezi:

- **Akrilamid/Bisakrilamid (29:1)**

- **%10 APS**

APS 0,5g

dH₂O 5ml

- **5X TBE**

Trizma Baz 54 g

Borik Asit 27,5 g

0,5M EDTA 20 ml

dH₂O 1 lt

- **1X TBE**

5X TBE 200 ml

dH₂O 800 ml

3.2.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Kodak EDAS 290 görüntü analiz sistemi

Biorad yatay elektroforez tankı

Cleaver yatay elektroforez tankı

Biorad dikey elektroforez tankı

Biofuge stratos santifüj

Biofuge pico santrifüj

Nüve FN500 etüv

Nüve EN400 etüv

Thermolyne Maxi MixII vorteks

Bioer XP Thermal Cyclers

3.3. YÖNTEMLER

Genomik DNA izolasyonu

Fenol-Kloroform Ekstraksiyonu

1. 500 µlt'lik kan örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplere konulur.
2. Üzerlerine 750 µlt Tris-EDTA solüsyonu eklenerek çok iyi karışması sağlanır. 12.000 rpm'de 3 dk santrifüjlenir.
3. Üst faz atıldıktan sonra 2. tur lizis tamponu ile bir kez daha aynı yukarıda bahsedilen işlem tekrarlanır.
4. 3. ve 4. turlar için ise 500 µlt Tris-EDTA solüsyonu eklenir ve 12.000 rpm'de 2 dk santrifüjlenir.
5. 4. tur sonunda üst faz atılır ve her bir tüpe;
 - 300 µlt Tris-EDTA,
 - 150 µlt 1M NaCl
 - 150 µlt %10'luk SDS
 - 100 µlt Proteinaz Keklenir.
6. 37°C'de 1 gece bekletilir.
7. Her bir tüpe 450 µlt Fenol-Kloroform-İzoamilalkol eklenir ve vorteks yapılır.
8. 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj sonrasında üst faz yeni tüplere aktarılır.
9. 800 µlt %100'lik EtOH eklenir.
10. 3 saat -20°C'de bekletildikten sonra 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenir ve alkol fazı dökülür.

11. Alkolü tamamen uçurmak için tüpler kapakları açık bırakılarak 37°C'lik kuru blokta bekletilir.
12. DNA'lar 150 µlt dH₂O çözülerek kullanılacakları güne kadar -86°C'de bekletilir.

IL 6 genotiplemesi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

IL-6 geninin 174G/C polimorfizmi belirlenmesinde kullanılan primer dizisi tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. IL-6 geni PZR için kullanılan primer dizisi

Polimorfizm	Primer Dizisi
IL-6 (-174 G/C)	5'ATGCCAAGTGCTGAGTCACTA 3' 5'CTCGAGGGCAGAATGAGCCTC 3'

PZR'lar son hacim 30 µlt olacak şekilde 25 mM MgCl₂, 10 mM deoksiribonükleotid trifosfat (dNTP) ve 5 U/µlt Tag DNA polimeraz kullanılarak hazırlanmıştır.

PZR koşulları:

94°C'de 5 dakika

94°C'de 30 saniye

54°C'de 45 saniye

72°C'de 45 saniye

72°C'de 5 dakika

} 35 döngü

PCR ürünleri IL-6 için Nla III kesim enzimleri kullanılarak kesilmiştir. PCR ürünlerinin amplifikasyonu etidyum bromid (EtBr) ile boyanmış % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edilmiştir.

Tablo 3.2. PZR protokolü

PZR Master Mix		Son Konsantrasyon
dH ₂ O	15 µlt	
10X Taq Buffer	5 µlt	1X
dNTP (10 mM)	1 µlt	200 µM/her bir dNTP
MgCl ₂ (25 mM)	3 µlt	2,5mM
Primer "Forward"	0,75 µlt	10 pmol/µlt
Primer "Revers"	0,75 µlt	10 pmol/µlt
Taq Polimeraz (5u/µlt)	0,25 µlt	1,25 u
%10 DMSO	2,5 µlt	%8
Genomik DNA	2,5 µlt	100-200 ng

Restriksiyon Fragman Analizi (RFLP)

%12'lik poliakrilamid jel elektroforezinde yürütülen restriksiyon enzim kesim ürünleri EtBr ile boyanarak, görüntülemesi **Kodak EDAS 290** ile gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.3'de kesim paternleri ile ilgili bilgi verilmektedir.

Tablo 3.3. RFLP analizinde kullanılan kesim enzim ve paternleri

Kesim Enzimi	Kesim Paterni
NlaIII	G alleli: 230 +75bç C alleli: 121+ 109+75bç

3.4. İSTATİSTİK

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Varyansların homojenliği ise Levene testi ile analiz edildi. Parametrik testlerin ön şartlarının yerine gelmediği ve bazı değişkenlerin sağa çarpık bir dağılım gösterdiği belirlendiğinden, analiz öncesi söz konusu değişkenlere logaritmik transformasyon uygulanarak faktöriyel düzende çok değişkenli varyans analizinin ön şartları sağlandı ve değerlendirmeler yapıldı. Parametrik testlerin ön şartlarının yerine gelmediği görülen bazı değişkenlere ilişkin iki grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma ve ortanca değer olarak ifade edildi.

İki yönlü tabloların analizinde tabloların frekans durumuna ve tablodaki hücre sayısına göre Pearson ki-kare testi, G testi ve Fisher Exact test kullanıldı. Sonuçlar n ve % olarak ifade edildi. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veri seti SPSS programı (SPSS version 16.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza ilgili hastanelerde doğan, anne yanında ve Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde izlenmiş olan 183 bebek ve 164 anne alındı. Çalışmaya katılan tüm bebeklerin ve annelerinin DNA incelemesi yapıldı. Çalışma grubu, 83 prematüre yenidoğan ve 100 term yenidoğan bebektir. Çalışmaya katılan bebeklerin doğum ağırlığı, cinsiyeti, doğum haftası, genotip dağılımı, gebelik şekli ve tekil/çoğul gebelik oranları tablo 4.1.'de verilmiştir. G ve C allel dağılımı Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Bebeklerin demografik verileri

	Term Bebek (n:100)	Preterm Bebek (n:83)
Doğum Ağırlığı (gr)*	3306±423	1471±659
Cinsiyet (kız/erkek)	57/43	45/38
Doğum Haftası*	38,8±0,8	30,2±1,2

*Ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir.

Tablo4.2: Bebek genotip, doğum şekli ve Tekil/Çoğul gebelik oranları

Bebek IL-6 genotipi*	Term Bebek (n:100)	Preterm Bebek (n:83)
GG	65 (%65)	68 (%81,9)
GC	33 (%33)	13 (%15,7)
CC	2 (%2)	2 (%2,4)
Tekil/çoğul gebelik	100/0	47/36
IVF Gebelik	0	46
Spontan Gebelik	100	37

*preterm/term bebeklerde genotip oranları anlamlı farklı idi (p=0,024).

Bu çalışmada bebeklerin genotip dağılımları incelendiğinde, term bebeklerin %65'i GG, %33'ü GC ve %2'si CC genotipine sahipti. Preterm bebeklerin %81,9'u GG genotipi, %15,7 GC genotipi ve %2,4'ü CC genotipini taşımaktaydı. Genotiplerin preterm ve term bebeklerde dağılımı farklı idi ($p=0,024$).

G ve C allel taşıyıcılığı değerlendirildiğinde, C allele taşıyıcılığı grupta istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0,027$). Tüm bebekler toplandığında G allel sıklığı %84, C allel sıklığı %16 idi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Term ve preterm bebek allel dağılımı

	Term	Preterm	Toplam	%
G	163	149	312	84
C	37	17	54	16
p değeri				0,027

Yenidoğan dönemi sorunları, IL6 -174 G/C gen polimorfizmi ilişkisinin değerlendirilmesi için olgu sayısının da azlığı göz önüne alınarak GC/CC havuzu oluşturularak incelendi. Preterm bebeklerde genotip özelliklere göre yenidoğan dönemi sorunları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Preterm bebeklerde genotip özelliklere göre yenidoğan dönemi sorunları

	GG (n=68)	GC/CC (n=15)	P değeri
RDS	42	12	0,16
Polistemi	0	1*	0,18
Lökopeni	15	3	0,17
Trombositopeni	18	5	0,40
Erken Neonatal Sepsis	25	9	0,14
Geç Neonatal Sepsis	22	4	0,46
BPD	11	1	0,65
NEK	11	2	0,57
ROP	7	0	0,23

*n=14

Preterm doğan bebeklerin annelerinin gebelik şekil ile tekil/çoğul gebeliğin genotip dağılışı Tablo 4.5. verilmiştir.

Tablo 4.5. Preterm bebeklerin spontan/IVF ve tekil/çoğul gebelik ile ilişkisi

		GG	GC	CC	Toplam
Spotan	Tekil	29 (%78,3)	7 (%9)	1 (%2,7)	37
	Çoğul	8 (%80)	1 (%10)	1 (%10)	10
IVF	Tekil	31 (%86,1)	5 (%8,3))	0 (%0)	36
	Toplam	68 (%78,3)	13 (%9,3)	2 (%2,4)	83

Tablo 4.6. Spontan ve IVF gebeliklerin, yenidoğan dönemi sorunları ile ilişkisi

		GG	GC/CC	Toplam	p değeri
Spontan (n=37)	RDS	17	6	23	0,34
	Lökopeni	6	1	7	0,52
	Trombositopeni	7	2	9	0,64
	Erken Neonatal Sepsis	12	5	17	0,25
	Geç Neonatal Sepsis	8	1	9	0,35
	BPD	5	0	5	0,27
	NEK	4	0	4	0,36
	ROP	3	0	3	0,47
IVF (n=46)	RDS	25	6	31	0,25
	Lökopeni	9	2	11	0,12
	Trombositopeni	11	3	14	0,35
	Erken Neonatal Sepsis	13	4	17	0,21
	Geç Neonatal Sepsis	14	3	17	0,58
	BPD	6	1	7	0,71
	NEK	7	2	9	0,41
	ROP	4	0	4	0,50

Spontan ya da IVF gebelik sonucunda doğan prematüre bebekler, genotip açısından değerlendirildiğinde, her iki grupta yenidoğan dönemi sorunları açısından anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Tablo 4.7. Tekil ve Çoğul preterm bebeklerde yenidoğan dönemi sorunları ve genotip ilişkisi.

		GG	GC/CC	Toplam	p değeri
Tekil (n=47)	RDS	23	8	31	0,25
	Lökopeni	7	1	8	0,17
	Trombositopeni	8	3	11	0,43
	Erken Neonatal Sepsis	14	7	21	0,73
	Geç Neonatal Sepsis	12	2	14	0,36
	BPD	7	0	7	0,16
	NEK	4	0	4	0,37
	ROP	3	0	3	0,47
Çoğul (n=36)	RDS	19	4	23	0,64
	Lökopeni	8	2	10	0,49
	Trombositopeni	10	2	14	0,54
	Erken Neonatal Sepsis	11	2	13	0,60
	Geç Neonatal Sepsis	10	2	12	0,54
	BPD	4	1	5	0,54
	NEK	7	2	9	0,36
	ROP	4/	0	4	0,53

Premature bebeklerin yoğun bakım izleminde %3,6 akut böbrek yetmezliği, %1,2 hemolitik anemi, %1,2 grade 4 intrakranial kanama, %1,2 kolestaz saptandı.

Term grubundaki annelerin eski gebeliklerinin %11,8'i abortusla, %3'ü intrauterin exitusla sonuçlanmış, Preterm grubundaki annelerin eski gebeliklerinin %4,8'i intrauterin kayıp ve %21 abortusla sonuçlanmıştı.

Tablo.4.8. Annelerde allel sıklığı

	GG	GC	CC	Toplam
Anne Genotip (n:164)	102	48	14	164
%	%62,8	%29,2	%8	%100

Tablo 4.9. Anne genotipinin doğum zamanına göre dağılımı ve yaş, gebelik haftası ve doğum ağırlığının ortalama, standart hata ve ortanca değerleri (Toplam:164 anne)

	Term (n:100)	Preterm (n:64)	Yaş (yıl)	Gebelik Haftası	Doğum Ağırlığı(gr)
GG	54	48	27.7 ± 5.5 (27)	34,9 ±4,6 (38)	2483 ± 1040 (2800)
GC	35	13	26,8 ±5,7 (26)	36,3 ± 4,6 (39)	2819 ± 993 (3125)
CC	11	3	26,5 ± 6,4 (23)	37 ± 3,5 (38)	2855 ± 861 (3075)

Tüm annelerin %62,8 'i GG genotipine, %29,2 GC genotipine ve %8'i CC genotipine sahipti. Anne genotiplerinin, doğum zamanına göre dağılımları ise; term bebek doğuran annelerin %54'ü GG genotipi, %35'i GC genotipi ve %11'i CC genotipinde, preterm bebek doğuran annelerin % 75'i GG genotipi, %20,3'ü GC genotipi ve %4,7'si CC genotipine sahipti. G allel sıklığı %76, C allel sıklığı ise %24 idi. GG, GC ve CC genotipine sahip annelerin median yaşları, gebelik haftası ve doğum ağırlıkları aynı sıra ile 27, 26 ve 23 yıl, 38,39 ve 38 hafta, 2800, 3125 ve 3075 gramdı. Anne yaşı, gebelik haftası ve doğum ağırlığı ile genotip arasında ilişki saptanmadı. GG genotipine sahip bir annenin özgeçmişinde anal atrezili bir bebeği olduğu, her iki genotip grupta da annelerde önceki gebelikleri abortuslar arasında fark olmadığı görüldü. GG genotipli 2 anne ve C allel taşıyan 1 anne de rh izoimmunizasyon saptandı.

Tablo 4.10. Anne genotiplerine göre antenatal özellikler

Anne Genotip	GG (n:103)	GC/CC (n:61)	P değeri
EMR	20	9	0,44
Koryoamniyonit	5	1	0,26
Preeklamsi	17	4	0,54
DM*	7	3	0,62
Plasental Yetmezlik	12	2	0,48

*Diabetes Mellitus ve Gestasyonel Diabetes Mellitus

Annelerin gebelik izlemi sırasında karşılaştıkları EMR, koryoamniyonit, preeklampsi, diabetes mellitus ve plasental yetmezlik gibi sorunların genotip gruplarına göre değerlendirmesinde anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4.10).

Tablo 4.11. Anne Genotipi ile Spontan/IVF gebelik ilişkisi

	GG (n:102)	GC (n:48)	CC (n:14)	Toplam
Preterm Spontan	24 (%64,8)	10 (%27)	3 (%8,2)	37 (%100)
Preterm IVF	24 (%88,8)	3 (%11,2)	0	27 (%100)
Term Spontan	54 (%54)	35 (%35)	11 (%11)	100 (%100)

Preterm doğum yapan annelerin %57,8'i spontan gebelik, %%42,8'i ise IVF gebelik idi. Term doğan bebekler tümü spontan gebelik sonucu doğmuştu. Preterm doğum yapan ve IVF sonucu gebe kalan annelerin %88,8'i GG genotipi ve % 11,2'si GC genotipi idi. Bu grupta CC genotipine sahip olan anne yoktu.

Tekil preterm bebeklerin 37'si spontan gebelik, 10'u ise IVF gebelik idi. Çoğul gebelik grubunun hepsi IVF gebelik idi.

Tablo 4.12. Çoğul ve tekil gebe annelerin genotiplere göre dağılımı

	GG	GC	CC	Toplam
Tekil	88 (%59,8)	45 (%30,6)	14 (%9,6)	147 (%100)
Çoğul	14 (%82,3)	3 (%17,7)	0	17 (%100)
Toplam	102	48	14	164

Tekil doğum yapan annelerin %59,8'i GG genotipi, %30,6'sı GC genotipi ve %9,6'sı CC genotipine sahipti. Çoğul doğum yapan annelerin hepsi preterm grupta idi ve %82,3'ü GG genotipi ve %17,7'si GC genotipine sahipti.

Tablo 4.13. Anne ve bebek genotiplerinin birbirleriyle olan ilişkisi

		BEBEK								
ANNE	IL-6 -174	Genotypes	Term (n=100) n (%)				Pre-term (n=83) n (%)			
			GG	GC	CC	TOPLAM	GG	GC	CC	TOPLAM
		GG	45 (83.3)	9 (16,7)	0 (0)	54 (54)	57 (89,1)	6 (9,4)	1 (1)	64 (77,1)
		GC	18 (51.4)	17 (48.6)	0 (0)	35 (35)	11 (68,8)	5 (31,3)	0 (0)	16 (19,3)
		CC	2 (18,2)	7 (63.6)	2 (18.2)	11 (11)	0 (0)	2 (66,7)	1 (33.3)	3 (29.7)

Her iki grupta da GG anne GG bebek fazla idi. Grup içi değişim anlamlı idi. Term bebekler için P=0,000, preterm bebekler için p=0,002 idi.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada 100 term, 83 preterm bebekte ve 164 annede IL-6 -174 G/C gen polimorfizmine bakıldı. Tüm annelerin %62,8 'i GG genotipine, %29,2 GC genotipine ve %8'i CC genotipine sahipti. Anne genotiplerinin, doğum zamanına göre dağılımları ise; term bebek doğuran annelerin %54'ü GG genotipi, %35'i GC genotipi ve %11'i CC genotipinde, preterm bebek doğuran annelerin %75'i GG genotipi, %20,3'ü GC genotipi ve %4,7'si CC genotipine sahipti. Term doğan bebeklerin %65'i GG genotipini, %33'ü GC genotipini ve %2'si CC genotipine, preterm doğan bebeklerin %81,9'u GG genotipini, %15,7 GC genotipini ve %2,4'ü CC genotipini taşımaktaydı. Preterm doğum yapmış annelerde term annelerine göre C allel taşıyıcılığı anlamlı düşük bulundu. Preterm doğan bebeklerde de term yenidoğanlarla karşılaştırıldığında C allel taşıyıcılığı istatistiksel olarak düşüktü. Bu çalışmada, hem yenidoğan dönemi sorunları hem de gebelik sorunları ile IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi arasında ilişkisi bulunmadı.

Preterm bebeklerde C allel taşıyıcılığı istatistiksel olarak düşüktü. Baier ve ark.(4) siyah ırk preterm yenidoğanlar üzerinde yaptığı çalışmada %87,6 GG genotipi, %11,6 GC genotipi ve %0,8 CC genotipi, beyaz ırk infantlarda ise %33,3 GG genotipi, %56,1 GC genotipi ve %10,6 CC genotipi saptamış. C allel sıklığının her iki grupta da G allel sıklığına göre az olduğunu saptamış. Osiri ve ark (117) siyah ırkta çocuk ve yetişkinleri dahil ettiği çalışmasında IL-6'nın 5 gen polimorfizmini araştırmış ve 5 genden biri olan IL-6 -174 G/C gen polimorfizmini değerlendirdiğinde C allel sıklığını düşük bulmuş. Göpel ve ark, 1202 çok düşük ağırlık bebeklerde yaptığı çalışmada ise C allel sıklığı 0,392 ve G allel sıklığını 0,608 bulmuşlardır. (116). Farklı olarak, Reiman ve ark. 107 prematüre yenidoğan üzerinde yaptıkları çalışmada, IL-6 -174 G/C gen polimorfizmini araştırmış ve %27 GG genotipi, %50 GC genotipi ve %23 CC genotipi saptamış ve kendi gruplarında C allel sıklığını yüksek saptamışlar(118). C allel sıklığının azlığını değerlendirirken, çoğu araştırmacı öncelikle etnik köken farklılıklarının rol oynayabileceği düşünmüş. IL-6 G/C gen polimorfizminin, IL-6 salınımına etkisi ise netleşmemiştir. C allel gelmesi promoter aktivitenin azalmasıyla sonuçlandığı düşünülse de, GC heterozigot polimorfizminde normal aktivite gösterebileceği gösterilmiş(20). IL-6 -174 G/C gen polimorfizmi her inflamatuvar durum için farklı mekanizmaları tetiklediği ya da baskıladığı düşünülebilir. Term bebeklerde, GG genotipinin fazla olması bu bebeklerde ki inflamatuvar yanıtın

uygun olduğunu gösterebilir. Normal çalışan GG genotipi, gebelik ve yenidoğan evresindeki sorunlarda sitokin yanıtını dengede tutarak sorunların ortaya çıkmasını engelliyor olabilir. C allele sahip olmak, hatta CC olarak iki allele sahip olmak koruyucu özellikte taşıyabilir. Çünkü inflamasyonda IL-6 cevabı az olacağından inflamasyon şiddeti azalabilir ya da bu dengesizlik inflamatuvar yanıtın daha şiddetli olmasına da neden olabilir. Bu yanıt her bebekte farklı da olabilir. En azından bu çalışma grubunda preterm grupta C allel taşıyıcılığının azlığı, bu grupta inflamatuvar antiinflamatuvar dengenin inflamatuvar lehine bozulduğu şeklinde yorumlanabilir.

Yenidoğan dönemi sorunları ile IL6 -174 G/C gen polimorfizmi ilişkisini incelemek için GC/CC havuzu oluşturuldu. Preterm bebeklerde genotip özelliklere göre doğum sonrası sorunları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark bulunmadı. Preterm bebekleri, tekil-çoğul bebekler ve spontan-IVF sonucu doğmuş bebekler gruplarına ayırdığımızda da yenidoğan dönemi sorunları ile ilişki gösterilemedi. IL-6, bakteriyel enfeksiyonda konak cevabı için önemli aracıdır. Bundan dolayı, IL-6'nın polimorfik varyasyonları sepsis ve sepsis ile ilişkili durumlarda konak cevabının derecesini etkileyebilir. Endler ve ark. erişkinlerde yaptığı çalışmada, 2 ng/kg lipopolisakkarit intravenöz verilmesinden sonra IL-6 düzeylerinde belirgin artış olduğu fakat bu artışın IL-6 gen polimorfizmi ile ilişki olmadığını göstermiş (119). Bennermo ve ark. Salmonella Typhi aşılması sonrası G alleli içeren erişkinlerde yüksek IL-6 seviyeleri saptamış (120). Sadece bir çalışmada, Kilpinen ve ark. sağlıklı term yenidoğan bebekler ile yetişkinleri karşılaştırdığı çalışmasına göre lipopolisakkarit verilmesinden sonra IL-6-174-GC ve CC genotip sahip olan bebeklerde IL-6 seviyelerini belirgin arttırdığını göstermiş (121).

Yenidoğan sepsisi ile IL-6 genotip ilişkisi çalışmalarda; Hardling ve ark. 32 hafta altında doğmuş 157 preterm bebekte yaptığı çalışmada, 51 bebekte septisemi geliştiği ve bu bebeklerde IL-6 -174 GG genotip insidansı sepsis geçirmeyenlere göre anlamlı yüksek olduğunu göstermiş (12). Ahrens ve ark. 356 çok düşük ağırlıklı premature bebek ve bu grup içinde 50 kan kültürü pozitif sepsisli bebeklerde yaptığı çalışmada, sepsis gelişen bebeklerde sağlık prematürelere göre GG genotipinin yüksek olduğunu göstermiş. Ancak gen polimorfizminin sepsise bağlı ölümle ilişkisi olmadığını bulmuştur (115). Baier ve ark. IL-6-174 G/C allelinin beyaz ve siyah ırklar arasında fark olmadığını saptamış, fakat bu polimorfizmin ne prematur doğumu ne de ventilatör ihtiyacını belirlemediğini çalışmalarında ortaya koymuştur. CC allel bulunması GC ve GG allellerine göre, siyah

ırkta kan kültür pozitifliğiyle ilişkili olduğunu, beyaz bebeklerde bu farkı gösteremediğini bildirmiştir. Ayrıca tam sonuçlarını verememekle birlikte bazı etnik gruplarda CC allel taşıyıcılığının fungal enfeksiyon riskini arttırdığını düşünmüş(4). Reiman ve ark 107 preterm yenidoğanı dahil ettiği çalışmasında CC genotipinin sepsis ile doğru ilişkili olduğunu bulmuştur (118). Treszal ve ark. 105 çok düşük ağırlıklı klinik olarak ya da laboratuvar sonuçlarıyla sepsis tanısı konulan preterm bebeklerde IL-6 G/C gen polimorfizmi ilişkisi saptamamıştır (122). Cahauhan ve ark çok düşük doğum ağırlık bebeklerde neonatal sepsisle ilgili önceden 5 çalışmayı bir arada toplamış ve gen polimorfizmi arasında ilişki saptamamıştır(123). Çalışmamızda, erken ve geç neonatal sepsiste genotipler arasında anlamlı fark bulamadık. Zaten, gen polimorfizmi ne olursa olsun, sepsis gelişim patogeneğinde, IL-6 salınımı artmakta ve inflamatuvar yanıt başlamaktadır.

Çalışmamızda gruplar arasında BPD ve NEK ile genotipler arasında ilişki yoktu. Kord kanındaki IL-1 ve IL-6 düzeylerinin artışı, BPD gelişimi için risk faktörleri arasındadır (76). Çalışmamızla benzer sonuç olarak, Reiman ve ark. 107 prematüre üzerinde yaptığı çalışmada, IL-6 G/C -174 gen polimorfizminin BPD ve NEK ile ilişkili olmadığını göstermiştir (118). Literatürde ilişki olduğunu gösteren çalışma bulunmamaktadır.

ROP ile IL-6 gen polimorfizmi arasında ilişki saptayamadık. Çalışma grubumuzunda 2 preterm bebekte grade 4 kanama mevcuttu. Birinde C allel sahibi iken diğer hastada ise GG genotipi mevcut idi. Göpel ve ark 1206 preterm bebeği incelemişler ve İVK, periventriküler lökomalazi (PVL), ventriküloperitoneal şant takılanlar arasında IL-6 -174 G/C gn polimorfizmi açısından fark saptamamışlar(3). Harding ve ark. 1202 preterm değerlendirmişler. Bunların 148'inde İVK ve PVL saptanmış. IL-6 G/C gen polimorfizmi değerlendirildiğinde ise genotipler arasında fark bulamamışlar(12). İVK ve ROP olan hasta sayımızın azlığı gen polimorfizmi ile ilişkinin gösterilmesini engellemiş olabilir.

Genotiplere göre anne yaşı, gebelik haftası ve doğum ağırlığı ile değerlendirildiğinde, gruplar arası fark olmadığı görüldü. Preterm doğum yapmış annelerde term annelerine göre C allel taşıyıcılığı anlamlı düşük bulundu. Vural ve ark.'nın 196 term doğum yapan gebe üzerinde yapılan çalışmasında %50,5'inde GG genotipine,%43,3'ünde GC genotipine ve %6,2'sinde CC genotipinde ve G allel sıklığı %72 ve C allel sıklığı %28 bulmuşlardı(5). Whitney ve ark. 126 preterm doğum yapmış anne üzerindeki çalışmasında, %53,1'inde GG genotipinde, %38,8'i GC genotipinde ve %8,1'i ise CC genotipine sahip olduğunu göstermiştir(6). Farklı olarak Hartel ve ark ise, 1400 anne üzerinde yaptığı çalışmada IL-6

-174 G/C polimorfizmi ile preterm doğumla ilişkisini araştırdığı çalışmada, preterm doğum yapan annelerin G alell frekansı %65,3 olduğunu saptamış ve G alel sahip olmanın preterm doğumla ilişkili olduğunu bulmuşlardır(124). Stonek ve ark. 1626 gebe annede yaptığı çalışmada, sağlıklı gebelik geçiren 1367 annenin G alel sıklığı %61,9, C alel sıklığını %38,1 saptamıştır(39) Simhan ve ark. 34 hafta altı spontan preterm doğumlarda C alel sıklığını, 37 hafta ve üstünde doğan bebeklerle karşılaştırdığında, 37 hafta üzeri doğum CC genotipi %19,2 iken 34 hafta doğum yapan annelerde %5,2 idi Bununla birlikte preterm doğum yapan annelerde, term doğuranlara göre C alel sıklığını düşük bulmuşlar. Bu farklılığın nedeni olarakta annelerin farklı etnik gruplardan gelmesinden kaynaklandığını düşünmüş (8).

Annelerin gebelik izlemi sırasında karşılaştıkları EMR, koryoamniyonit, preeklampsi, diabetes mellitus ve plasental yetmezlik gibi sorunların Anne genotipi ile ilişkisi gösterilemedi. Stonek ve ark. 1626 anne üzerinde yaptığı 259 gebelik komplikasyonu gelişen annede G alel sıklığı %60,2 ve C alel sıklığı %39,8 olarak saptamış ve IL-6 174 G/C gen polimorfizmi ile gebelik risklerinin artmadığını göstermiştir. (8). Vural ve ark yaptığı çalışmada preeklampsi olan ve sağlıklı gebelik geçiren kontrol grubu annelerde yaptığı çalışmada genotipler ve alel sıklıkları açısından her iki grup arasında fark olmadığını saptamışlar(5).

Çalışmamızda 164 anneden toplam 6 annede koryoamnionit görüldü ve bunlardan sadece biri C alel taşıyan anneydi. Belki de hasta grubumuzda koryoamnionit geçiren anne sayımız fazla olsaydı C alel sıklığı artabilirdi. Reiman ve ark 107 preterm doğum yapan ve koryoamnionitli annede yaptığı çalışmada IL-6 gen polimorfizmi ile koryoamnionit arasında ilişki olduğunu göstermiştir(118). Hartel ve ark IL6-174G genotip ile preterm doğum arasında ilişki saptamış fakat intrauterin enfeksiyonla ilişki bulunmamış(124).

Preterm ve term bebek doğuran anneler, gebelik oluş şekli açısından değerlendirildiğinde, preterm grupta spontan ve IVF gebelik sayıları arasında anlamlı fark yoktu. IL-6 gen polimorfizmi olarak C alel taşıyan annelerde inflamatuvar sürecin ve implantasyonun etkilenmediği düşünülebilir. Annelerin IVF nedenleri bilinmese de GG grubunda IVF sıklığının fazla olması, normal çalışan bir aksta da implantasyon sorunu olabileceği, infertil grupta polimorfik gen oranının fazla olmadığı söylenebilir. Çoğul gebelikler toplam annelerin %10,3 'ünü oluştursa da ve antenatal sorunlar ve pematürite riskini artırdığı bilinmektedir.

Çoğul ve tekil doğuran anneler incelendiğinde genotipi değerlendirmesinde fark saptanmadı. Literatürde benzer bilgiye rastlanılmadı fakat çoğul gebelik grubunun çoğunun IVF olmasının bu sonucu etkileyebileceğini düşündük.

Toplam hasta sayısının düşüklüğü dolayısı ile tek tek hasta gruplarında hasta sayılarının azlığı ve toplum gen polimorfizmi oranlarının bilinmemesi bu çalışmadaki sınırlayıcı faktörlerdir. Çoğul preterm bebeklerin hepsi IVF olması da bu grupta infertilitenin etkisini göstermemizi engellemiştir.



6. SONUÇLAR

1. Preterm bebeklerde, term bebeklere göre C allel taşıyıcılığı anlamlı olarak düşüktü.
2. Preterm bebeklerde yenidoğan sorunları ile IL-6 G/C gen polimorfizmi ilişkisi bulunmadı.
3. Spontan ya da IVF/tekil ya da çoğul preterm bebeklerde yenidoğan sorunları ile IL-6 G/C gen polimorfizmi ilişkisi bulunmadı.
4. Preterm doğum yapan annelerde term doğum yapan annelere göre C allel sıklığının az olduğu görüldü.
5. Yardımcı üreme teknikleri kullanmış annelerle, spontan gebe olan anneler arasında ve tekil ya da çoğul gebeliklerde IL-6 G/C gen polimorfizmi farklı bulunmadı.
6. Gebelik sorunları açısından genotip grupları arasında fark görülmedi.

7. ÖNERİLER

- 1) Türkiye populasyonunu yansıtacak bir hasta grubunda IL-6 -174 G/C polimorfizminin sıklığı çalışılmalıdır.
- 2) İnfertil bireylerde IL-6 gen polimorfizmi etkisi ve yardımcı üreme tekniklerinin başarısı araştırılmalıdır
- 3) Anne ve bebeklerde IL-6 ile birlikte IL-10 ve TNF- α gen polimorfizmi taranarak neonatal morbidite ile ilişkisi araştırılmalıdır.



8. KAYNAKLAR

- 1- Hirano T. İnterleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol* 1998; 16: 249-84.
- 2- Güçer F., Yüksel M., Varol F., Yüce MA.,Balkanlı-Kaplan P., Çermik TF., Yardım T. Preterm eylem ve normal doğumda maternal serum IL-6 seviyeleri. *T Klin Jinekolo Obst* 2001,11:68-72
- 3- Göpel W., Hartel C., Ahrens P., König I., Kattner E., Kuhls E., Küster H., Möller J., Müller D., Roth B., Segerer B., Wieg C., Herting E. Interleukin-6-174-genotype, sepsis and cerebral injury in very low birth weight infants. *Genes and Immunity* 2006;7: 65-68.
- 4- Baier J.R., Loggins J., Yanamandra K. IL-10, IL-6 and CD 14 polymorphisms and sepsis outcome in ventilated very low birth weight infants. *BMC Medicine* 2006;4:10.
- 5- Vural P., Değirmencioğlu S., Saral N., Demirkan A., Akgul C., Yıldırım G., İşsever H., Eroğlu H. Tumor Necrosis Factor α , interleukin -10 polymorphism in preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 2010; 36: 64-71.
- 6- Whitney E.J., Edwards R., Ferguson R.J.,Duff P. The interleukin-6 -174 single nucleotide polymorphism: cervical protein production and the risk of preterm delivery. *Am J of Obstetrics and Gynecology* 2005; 192: 1023-7.
- 7- Kliegman RM., Rottman CJ., Behrman RE. Strategies for the prevention of low birth weight. *Am J of Obstetrics and Gynecology* 1990; 162: 1073-1083.
- 8- Simhan H.N., Krohn M.A., Roberts J.M. Zeevi A., Caritis S.N. Interleukin -6 promoter-174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J of Obstetrics and Gynecology* 2003; Oct: 915-918.
- 9- İshihara K., Hirano T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease *Cytokines Growth Factor Reviews* 2002: 357-368
- 10- McPhee SJ., Lingappa VR., Ganong WF Hastalıkların patofizyolojisi Türk Çeviri. 4 baskı Bölüm 3:31-58

- 11- Barrett KE. Cytokines: sources, receptors and signaling. Baillieres Clin Gastroenterol 1996; 10: 1-15.
- 12- Harding D., Dhamrait S., Millar A., et all. Is interleukin -6-174 genotype associated with the development of septicemia in preterm infants? Pediatrics 2003; 112: 800-803.
- 13- Mitchell MD, Dudley DJ, Edwin SS., Schiller SL., Interleukin-6 stimulates prostoglandin production by human amnion and decidual cells. Eur J Pharmacol 1991;192:189-191
- 14- Callard R, Gearing A. The Cytokine Facts Book. Orlando, Academic Press,1994.
- 15- Daftarian PM, Kumar A, Kryworuchko M, Diaz-Mitoma F. IL-10 production is enhanced in human T cells by IL-12 and IL-6 and in monocytes tumor necrosis factor- α . J Immunol 1996;12-20.
- 16- Ekmekçi A., Konaç E., Önen Hİ. Gen polimorfizmi ve genetik yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2008;21(3);282-295
- 17- Hutchinson IV., Pravica V., Perrey C., Sinnou P. Cytokine gene polymorphisms and relevance to forms of rejection. Transplant Proc. 1999;31:734-6
- 18- Wilson AG, di Giovine FS, Duff GW, Genetics of tumour necrosis factor-alpha in autoimmune, infectious, and neoplastic disease. J Inflamm 1995;45:1-12
- 19- Fishman D, Faulds G., Jeffery R., Mohammed Ali V., Yudkin JS., Humphries S et all The effect of novel polymorphism in the IL-6 gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis J Clin Invest 1998;102:1396-76
- 20- Cox ED., Hoffmann SC., DiMercurio BS., Wesley RA., Harlan DM., Kirk AD et all Cytokine polymorphic analyses indicate ethnic differences in the allelic distributions of IL-2 and IL-6. Transplantation 2001;72:720-6
- 21- Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med 2003;348:138-150
- 22- Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, Dhamrait S, Luong L, Rumley A, et al. Interleukin-6 gene -174g > c and -572g > promoter polymorphisms are strong

- predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1458–63.
- 23- Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the
 - 24- interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369–76.
 - 25- Linker-Israeli M, Wallace DJ, Prehn J, Michael D, Honda M, Taylor KD, et al. Association of IL-6 gene alleles with systemic lupus erythematosus (SLE) and with elevated IL-6 expression. *Genes Immun* 1999;1:45–52.
 - 26- Mohling M, Spranger J, Osterhoff M, Ristow M, Pfeiffer AF, Schill T, Schlosser HW, Brabant G, Schfl C. The polycystic ovary syndrome per se is not associated with increased inflammation. *Eur J Endocrinol* 2004;150:525-532
 - 27- Geyik ve ark İst üni araştırma ens.24 Ulusal Kardioloji kongresi
 - 28- Karaoğlu I ve ark.. *New Microbiol* 2009 Apr;32(2):173-8
 - 29- Reiva K et al. *Clin Infect Dis.* 2009 Jul 15;49(2):257-61
 - 30- Tripathi G et al. *Indian J Med Sci.* 2008 Oct;62(10):383-91.
 - 31- Hedberg CL, Adcock K, Martin J, et al. Tumor necrosis factor alpha -308 polymorphism associated with increased sepsis mortality in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23:424-428
 - 32- Coultrip LL, Lien JM, Gomez R, Kapernick P, Khoury A, Grossman JH. The value of amniotic fluid interleukin-6 determination in patients with preterm labor and intact membranes in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 901-11.
 - 33- Smulian JC, Vintzileos AM, Lai YL, Santiago J, Shen-Schwarz S, Campbell WA. Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin- 6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J Matern Fetal Med* 1999; 8: 88-94.
 - 34- Laham N, Rice GE, Bishop GJ, Hansen MB, Bendtzen K, Brennecke SP. Elevated plasma interleukin 6: A biochemical marker of human preterm labor. *Gynecol Obstet Invest* 1993; 36: 145-47.

- 35- Jokic M, Guillois B, Cauquelin B, Giroux JD, Bessis JL, Morello R, Levy G, Ballet JJ. Fetal distress increases interleukin-6 and interleukin-8 and decreases tumor necrosis factor- α cord blood levels in noninfected full-term neonates. *Br J Obstet Gynecol* 2000; 107: 420-25.
- 36- Opsjon SL, Wathen NC, Tingulstad S, Wiedswang G, Sundan A, Waage A, Austgulen R. Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1993, 169: 397-404.
- 37- Unfried G., Bocskor S, Endler G., Nagele F., Huber JC., Tempfer CB. A polymorphism of the IL-6 gene promoter and idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2003;18:267-270
- 38- Freeman DJ., McManus F., Brown EA., Cherry L., Norrie J., Ramsay JE., Clark P., Walker Id., Sattar N. Short and long term changes in plasma inflammatory markers associated with preeclampsia. *Hypertension* 2004;44:708-714
- 39- Stonek F., Metzenbauer M., Hafner E., Philipp K., Clemens T. *Am J Reprod Immunol* 2008;59:347-351
- 40- Cohen CR et al. Immunogenetic correlates for chlamydia trachomatis- associated tubal infertility. 2003 March 101;3:438-44
- 41- Büscher U., Chen FCK., Kentenich H., Schimiady H. Cytokines in the follicular of stimulated and non-stimulated human ovaries; is ovulation a suppressed inflammatory reaction? *Eur Soc Human Reprod Embryo* (1999)14;1 pp:162-166
- 42- Garrido N, Navarro J., Renohi J, Simon C., Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Human Reprod Update* 2000;6:67-74
- 43- Yamashita Y. et al. Influence of severe endometriosis on gene expression of vascular endothelial growth factor and IL-6 in granulosa cells from patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization-embryo transfer. 2002 *Fertility and Sterility* vol:78;4:865-71
- 44- Boomsma CM., Kavelaars A., Eijmans MJC., Amarouchi K., Teklenburg G., et al. Cytokine profiling in endometrial secretions: a non-invasive window on endometrial receptivity 2009;18:85-94

- 45- Koga K., Mor G. Expression and function of toll-like receptors at the maternal-fetal interface. *Reprod Sci* 2008;15:231-242
- 46- Raghupathy R. Th1-type immunity is incompatible with succesful pregnancy. *Immunol Today* 1997; 18:478-482
- 47- Goldenberg RL., Hauth JC., Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000;342:1500
- 48- Yurdakök M.ve ark. Türk Neo. Derneği Neonatoloji Kitabı 123-129
- 49- Dağoğlu T., Yurdakök M., Erdem G. et all Neonatoloji'de. Ankara: Güneş Tıp Kitapevi; 2004. s.123-9
- 50- Türk Neonatoloji Derneği Çok Merkezli Çalışma Grubu. Türkiye'de perinatal mortalite-1999. Türk Neonatoloji Derneği Bülteni 2001;3:8-12
- 51- Akbay Ziyaeddin, Kalmaz Nahide: Premature doğum sebepleri ve önleme yolları, s.1-3, 1974
- 52- Wollmann HA: Intrauterine growth restriction: definition and etiology. *Horm Res.* 49 Suppl 2: 1-6; 1998
- 53- Cartlidge PHT, Stewart JH. Survival of very low birthweight and very preterm infants in a geographically defined population. *Acta Pediatr* 1997 86:105-10.
- 54- Yurdakök M, Erdem G, Türk Neonatoloji Dernegi Neonataoloji; İntrauterin büyüme bozuklukları s.132-43, 2004.
- 55- Dağoğlu-Ovalı Neonatoloji Textbook Chapter:13;99-111
- 56- Meis P., Michielutte R., et al. Factors associated with preterm birth in Cardiff,Wales : Indicated and spontaneous preterm births. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173;597-602
- 57- Goldenberg R, Rouse D. Prevention of preterm birth. *N Engl J Med* 1998;339:313-20.
- 58- Saurel-Cubizolles MJ, Renzo GC, Breart G., and the EOROPop Group. Women's work and preterm birth: epidomiological knowledge and description of a European Project. *Prenat Neonat Med* 1997 2: 161-180.
- 59- Avery Textbook: Chapter 3 Prematurity: Causes and Preventions. 139-45

- 60- Macones G., Robinson C. Is there justification for using indomethacin in preterm labor? An analysis of risks and benefits. *Am J Obstet Gynecol* 1997a;177:819-824
- 61- Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap III LC, Hauth JC, Wenstrom KD (eds). Fetal Büyüme Bozuklukları. In: Williams Doğum Bilgisi Cilt 1. Akman AC (Çeviren). 21. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2005; 29:744 -764
- 62- Lockwood CJ., Kuczynski E., Markers of risk for preterm delivery. *J Perinat Med* 1999 27: 5-20.
- 63- Walker MC, Garner PR, Keely EJ, Rock GA, Reis MD. Changes in activated Protein C resistance during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 162-7.
- 64- Price DT, Ridker PM. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic diseases: a clinical perspective. *Ann Intern Med* 1997; 127: 895-903.
- 65- Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taeusch HW. Bacterial sepsis and meningitis. In: Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA (eds). *Avery's Diseases of the Newborn* (8th ed) Philadelphia: Elsevier Inc., 2005: 551-577
- 66- Chiesa C, Panero A, Osborn JF, et al. Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 2004; 50: 279-287
- 67- Edwards MS, Baker CJ. Sepsis in the newborn. In: Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL (eds): *Krugman's Infectious Diseases of Children* (11th ed) Philadelphia: Mosby, 2004: 545-561.
- 68- Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Curr Opin Pediatr* 2006; 18: 125-131.
- 69- Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1967;276:357-368.
- 70- Bhandari A, Bhandari V. Bronchopulmonary dysplasia: an update. *Indian J Pediatr* 2007;74:73-7.
- 71- Bancalari E, Claure N. Definitions and diagnostic criteria for bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30:164-70.

- 72- Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR et al. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2005;116:1353-1360.
- 73- Christou H, Brodsky D. Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med* 2005;20:76-87.
- 74- Gonzalez A, Sosenko IR, Chandar J, Hummler H, Claire N, Bancalari E. Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr* 1996;128:470-8.
- 75- Yanamandra K, Boggs P, Loggins J, Baier RJ. Interleukin-10 -1082 G/A polymorphism and risk of death or bronchopulmonary dysplasia in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Pulmonol* 2005;39:426-32.
- 76- Chess PR, D'Angio CT, Pryhuber GS, Maniscalco WM. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30:171-8.
- 77- Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, Jun JK. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:773-9.
- 78- Choi CW, Kim BI, Kim HS, Park JD, Choi JH, Son DW. Increase of interleukin-6 in tracheal aspirate at birth: a predictor of subsequent bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Acta Paediatr* 2006;95:38-43.
- 79- Oygür N. Nekrotizan Enterokolit. Yurdakök M, Erdem G (eds). *Neonatoloji*. 2.Baskı. Alp Ofset I. 2004.p.552-6
- 80- Jane S Lee, Richard A Polin. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Seminars in Neonatology* 2003;8:449-59
- 81- Ford HR, Sorrells DL, Knisely AS. Inflammatory cytokines, nitric oxide and necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 1996;5:155-9.
- 82- Owens WC, Owens EU. Retrolental fibroplasia in premature infants: 2. Studies on the prophylaxis of the disease. The use of alpha tocopheryl acetate. *Am J Ophthalmol* 1949;32:1631-7.
- 83- Arsan S. Prematüre Retinopatisi. *T Klin Pediatri* 2004;2:382-6.

- 84- Peevy KJ, Grant PH, Hoff CJ. Capillary venous differences in neonatal neutrophil values. *AM Dis Child*, 1982;136:357-58
- 85- Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Clin.Perinatal*, 1991;18(2):361-81
- 86- Jeffrey S. Gerdes, Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate, *Pediatrics Clinics of North America*, common issues and concerns in the newborn nursery, Part I-II, June 2004, volume S1, sayı 3, sayfa:939-59
- 87- Monroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, et al. The neonatal blood count in health and disease. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr* 1979;95:89-98
- 88- Shelanta RL, Brodley LA, desJardin SE, et al. Peripheral leukocyte count and leukocyte indexes in healthy newborn term infants. *J Pediatr*, 1994;125:603-06
- 89- Pennel CE, Jacobsson B., Williams SM., Buss RM., Muglia LJ., Dolan SM., Morken NH., Özçelik H., et al. Genetic epidemiologic studies of preterm birth: Guidelines for research. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:107-118
- 90- Porter TF, Fraser AM., Hunter CY., Ward RH., Varner MW. The risk of preterm birth across generations. *Obstet Gynecol* 1997;90:63-67
- 91- Edwards RK, Ferguson RJ., Duff P. The interleukin-1 beta +3953 SNP: cervical protein concentration and preterm delivery risk. *Am J Immunol Reprod.* 2006;55:259-264
- 92- Crider KS et al. Genetic variation associated with preterm birth: a HuGE review. *Genet Med* 2005;7:593-604
- 93- Weetman A. The immunology of pregnancy. *Thyroid*. 1999;9:643-646
- 94- Dealtry GB., O'Farrell MK., Fernandez N. The Th2 cytokine environment of the placenta. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;123:107-119
- 95- Engel SAM., Olshan AF., Savitz DA, Thorp J., Erichsen HC., Chanock SJ. *Epidemiology* 2005;Vol16;4:478-486
- 96- Sata F, Toya S., Yamada H., Suzuki K., Saijo Y, Yamazaki A., Minakami H., Kishi R. *Mol Hum Reprod*, 2009; vol15, No2 pp. 121-130
- 97- Hillier SL, Witkin SS., Krohn MA., Watts DH., Kivlat NB., Eschenbach DA. The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid

- infections, histologic chorioamnionitis and choriamnion infection. *Obstet Gynecol* 1993;81:941-948
- 98- Greig PC., Murtha AP., Jimmerson CJ., Herbert WN., Roitman-jhonson B., Allen J. Maternal serum interleukin-6 during pregnancy and during term and preterm labor. *Obstet Gynecol* 1997;90:465-469
- 99- Kliegman RM., Rottman CJ., Behrman RE., Strategies for the prevention of low birthweight. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:1073-1083
- 100- Steinborn A, Kuhnert M. Immunomodulating cytokines induce term and preterm parturition *J Perinatal Med* 1996: 24,381-390
- 101- Bowen JM, Chamley L., Keelan JA., Mitchell MD. Placenta 2002,23,257-273
- 102- Yoon BH., Jun JK., Romero R., Park KH., Gomez R., Choi JH., Kim IO. 1997 Amniotic fluid inflammatory cytokine, neonatal brain white matter lesions and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol* 117:19-26
- 103- Heep A, Behrendt D., Nitsch P., Fimmers R., Bartmann P., Dembinski J. Increased serum level of interleukin 6 are associated with severe intraventricular hemorrhage in preterm neonates. 2003 *Biol Neonate* 83:166-170
- 104- Bartha AI., Foster-Barber A., Miller SP., Vigneron DB., Glidden DV., Barkovich AJ., Ferriero DM. Neonatal encephalopathy: association of cytokines with MR spectroscopy and outcome. *Pediatr Res* 2004;56:960-966
- 105- Wu YW., Colford jr JM., Chorioamnionitis as a risk factor for cerebral palsy: a metaanalysis. *JAMA* 2000;284:1417-24
- 106- D'Alquen D., Kramer BW., Seidenspinner S. Et al Activation of umbilical cord endothelial cells and fetal inflammatory response in preterm infants with chorioamnionitis and funisitis. *Pediatr Res* 2005;57:263-9
- 107- Grether JK, Nelson KB. Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal birth weight. *JAMA* 1997;278:247-8
- 108- Murphy DJ., Sellers S., MacKenzie IZ., Yudkin PL. Case-control study of antenatal and intrapartum for cerebral palsy in very preterm singleton babies. *Lancet* 1995;346:1449-1454

- 109- Yoon BH., Romero R., Kim KS., Park JS., Ki SH., Kim BI. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:773-9
- 110- Garnier JK., Coumans AB., Jensen A., Hasaart THM. Endotoxemia severely affects circulation during normoxia and asphyxia in immature fetal sheep. *J Soc Gynecol Investig* 2001;8:134-42
- 111- Pierce MR, Bancalari E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol.* 1995 Jun;19(6):371-8.
- 112- Pettersson K, Bergstrand H. The antiatherogenic effect of DiNAC: experimental findings supporting immunomodulation as a new treatment for atherosclerosis related diseases. *Cardiovasc Drug Rev.* 2003 Summer;21(2):119-32.
- 113- Watterberg KL, Shaffer ML, Mishefske MJ, Leach CL, Mammel MC, Couser RJ, Abbasi S, Cole CH, Aucott SW, Thilo EH, Rozycki HJ, Lacy CB. Growth and neurodevelopmental outcomes after early low-dose hydrocortisone treatment in extremely low birth weight infants *Pediatrics.* 2007 Jul;120(1):40-8
- 114- Harding DR., Dhamrait S et al. Does IL-6 genotype influence cerebral injury or developmental progress after preterm birth? *Pediatrics* 2004;114:941-947
- 115- Ahrens P., Kattner E., Köhler B et al. Mutations of genes involved in the innate immune system as predictors of sepsis in very low birth weight infants. *Pediatr Research* 2004;55:652-6
- 116- Göpel W, Hartel C et al. IL-6 -174 genotype, sepsis and cerebral injury in very low birth weight infants. *Genes and Immunol* (2006) 7,65-68
- 117- Osiri M., McNicholl J., Moreland LW., Bridges SL Jr. A novel SNP and five probable haplotypes in the 5' flanking region of the IL-6 gene in African-Americans. *Genes Immun* 1999;1:166-167
- 118- Reiman M., Kujari H., Ekholm E., Lapinleimu H., Lehtonen L., Haataja L., Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *J Pediatrics* 2008 July 19-24
- 119- Endler G., Marsik C., Joukhadar C., Marculescu R., Mayr F., Mannhalter C et al. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism does not determine plasma

- interleukin-6 concentrations in experimental endotoxemia in humans. Clin Chem 2004;50:195-200
- 120- Bennermo M, Held C, Stemme S, Ericsson CG., Silveria A., Green F et al. Genetic predisposition of the interleukin-6 response to inflammation: implications for a variety of major disease ? Clin Chem 2004;50:2136-40
- 121- Kilpinen S, Hulkkonen J, Wang XY, Hurme M. The promoter polymorphism of the interleukin-6 gene regulates interleukin-6 production in neonates but not in adults. Eur Cytokine Netw 2001 Mar;12(1):62-8.
- 122- Treszl A., Kocsis I., Szathmari M., Schuler A., Heninger E., Tulassay T et al. Genetic variants of TNF alpha, IL-1beta, IL4 receptor-alpha-chain, IL-6, and IL-10 genes are not risk factors for sepsis in low-birth-weight infants. Biol Neonate 2003;83:241-245
- 123- Chauhan M., McGuire W. Interleukin-6 (-174C) polymorphism and the risk of sepsis in very low birth weight infants: meta-analysis. Arch Dis Child Neonatal Ed 2008;93:427-29
- 124- Hartel CH., Finas D., Ahrens P., Kattner E., Schaible TH., Müller D et al. Polymorphisms of genes involved in innate immunity: association with preterm delivery. Mol Human Reprod 2004. Vol.10,N.12 pp.911-915