



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PRETERM, TERM VE ÜÇ AYDAN KÜÇÜK BEBEKLERDE
SERUM NÖRON SPESİFİK ENOLAZ DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aslıhan ABBASOĞLU

ANKARA, Mart 2011



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PRETERM, TERM VE ÜÇ AYDAN KÜÇÜK BEBEKLERDE
SERUM NÖRON SPESİFİK ENOLAZ DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aslıhan ABBASOĞLU

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Faik SARIALIOĞLU

ANKARA, Mart 2011

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: KA10/23

Teşekkür

Ülkemize kazandırmış olduğu Başkent Üniversitesi ve diğer eğitim kurumları, yurdumuzun çeşitli bölgelerindeki kurmuş olduğu uygulama ve araştırma merkezleri ile uzmanlık eğitimime katkıları nedeni ile;

Kurucu Rektörümüz Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal'a;

uzmanlık eğitimim süresince katkılarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Namık Özbeğ ve şahsında tüm hocalarıma;

çalışmanın istatistiksel değerlendirmesindeki katkıları nedeni ile

Sayın Yrd. Doç. Dr. Canan Yazıcı'ya;

Başkent Üniversitesi Ankara, Adana ve Konya Uygulama ve Araştırma Merkezleri yenidoğan yoğun bakım üniteleri hemşirelerine;

ve

eğitimim boyunca bana destek veren, tezimi hazırlarken benimle sabahlayan canım anneme teşekkür ederim.

ÖZET

İlk tanımlandığında başta nöroblastoma olmak üzere nöronal tümörlere özgül olduğu sanılan nöron-spesifik enolaz (NSE)'nin çeşitli tümörlerde yüksekliğinin gösterilmesi, takiben tümör dışı durumlarda da yükselmesi tümör-özgül özelliğini kaybettirmiş, dolayısı ile normal bireylerde standardizasyon çalışmalarını zorunlu kılmıştır. Nöroblastomanın yenidoğan döneminde en sık rastlanılan tümör olması dışında prenatal tıpta ve yenidoğanda ultrasonografinin sık kullanılması asemptomatik kitlelerin tanımlanması olasılığını arttırmıştır. Bu çalışmada; -yaş grubuna göre sağlıklı- preterm, term ve üç ayın altındaki erken bebeklik döneminde serum NSE değerleri tayin edilmiştir. Bebeklerde prematürel ve fizyolojik sarılık dışında sorunlarının olmamasına dikkat edilmiştir. Doğum hipoksisi ve stresinin ekarte edilmesi amacı ile serum NSE örnekleri en erken doğumdan 72 saat sonra alınmıştır. NSE tayini Roche Elecysys 2010 cihazı kullanılarak ECLIA yöntemi ile yapılmıştır. NSE düzeyi 30 ng/mL üzerinde bulunan bebekler kontrole çağrılarak serum örneklerinin alınmasından sonraki sağlık durumları kontrol edilmiş, gerekli vakalarda yeniden NSE tayini yapılmıştır. Ek problemi tespit edilen vakalar çalışma grubundan çıkarılmış, vaka sayısı eksilen gruplara yeni vakalar katılarak planlanan denek sayısına ulaşılmaya çalışılmıştır. Preterm ve term dönemleri için sırası ile 39 ve 40; bir aylık, iki aylık ve üç aylık bebeklik dönemleri için 20'şer olmak üzere toplam 139 bebekte NSE tayini yapılmıştır. Bu gruplarda serum NSE ortalama değerleri sırası ile $21,83 \pm 15,06$; $18,06 \pm 12,90$; $8,92 \pm 4,13$; $7,63 \pm 3,91$; $10,73 \pm 4,70$; en yüksek serum değerleri; 59,06; 59,80; 16,80; 14,05; 21,40 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Preterm ve term bebeklerin NSE değerleri bir aylık ve daha büyük bebeklere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Gruplarda tespit edilen en yüksek değerler daha da dikkat çekicidir. Literatürde örneğini bulamadığımız bu çalışma ile; preterm ve term bebeklerde serum NSE değerlerinin bir aylıktan büyük bebeklere göre belirgin derecede yüksek olduğu, dolayısı ile ticari “kit” referans değerlerinin bu yaş grupları için kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır.

ABSTRACT

Neuron-specific enolase (NSE), assumed specific to neural tumors particularly to neuroblastoma in its first definition, was determined to increase in non-tumoral conditions subsequent to the observations of its increase in various tumors, which necessitates the standardization studies in normal individuals. Diagnosis chance of asymptomatic masses is increased, for the neuroblastoma is the most common tumor encountered in neonatal period and ultrasonography is frequently used in prenatal and newborn medicine. In this study, serum NSE levels were determined in healthy preterm, term and early infancy less than 3 months periods by age group. Necessary attention was paid for babies not to have any problem other than prematurity and physiological hyperbilirubinaemia. Serum NSE samples were taken in no earlier than 72 hours after the birth in order to eliminate hypoxia and stress at delivery. The determination of NSE levels was carried out by ECLIA method using Roche Elecsys 2010 device. Babies with over 30 ng/mL of NSE level were called for control to collect serum samples and examine their health conditions; consequently, NSE determination was repeated in necessary cases. Subjects diagnosed with additional problems were excluded from the study group, and the groups where the number of subjects was decreased were supplemented with new cases to reach the predetermined subject number. NSE levels were studied in 139 babies; in preterm and term periods each containing 39 and 40 babies, as well as in one-month, two-month and three-month infancy periods each containing 20 babies. The mean NSE level was determined in these groups as $21,83 \pm 15,06$; $18,06 \pm 12,90$; $8,92 \pm 4,13$; $7,63 \pm 3,91$; and $10,73 \pm 4,70$ respectively, and the maximum serum levels were 59,36; 59,80; 16,80; 14,05; 21,40 ng/mL respectively. NSE levels of preterm and term babies were found significantly higher than babies aged one month or older ($p < 0,001$). The maximum levels determined in groups were even more striking. As a result of this study, of which no equivalent was encountered in the literature, it was concluded that serum NSE levels were evidently higher in preterm and term babies compared to babies aged one month or older, and therefore, commercial kit reference values cannot be used for babies in these age groups.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Teşekkür	iii
Özet	iv
İngilizce Özet (“Abstract”)	v
İçindekiler	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Tablolar Dizini	viii
Şekiller Dizini	ix
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	2
2.1. Tümör Belirleyicileri	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Sık Kullanılan Tümör Belirleyiciler	3
2.2. Enolaz Enzimleri	6
2.3. Nöron Spesifik Enolaz	9
2.3.1. Nöron-Spesifik Enolazın Dokulardaki Dağılımı	10
2.3.2. Serum Nöron-Spesifik Enolaz Değerinin Yüksek Olduğu Durumlar	11
2.3.3. Nöron-Spesifik Enolaz Tayin Yöntemleri	12
2.4. Nöron-Spesifik Enolaz ve Nöroblastom	13
2.4.1. Nöroblastomda Kullanılan Tümör Belirleyiciler	14
2.4.2. Nöroblastomada tarama ve erken tanı çalışmaları	14
2.5. Referans Değerlerin Belirlenmesi	15
2.5.1. Referans Aralıkların Saptanma Yöntemleri	16
2.5.2. Referans Aralığı Tayininde Veri Sayısının Önemi	17
3. Materyal ve Yöntem	18
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi	18
3.2. Serum Nöron-Spesifik Enolazın Tayini	20
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	21
4. Bulgular	22
5. Tartışma	30
6. Sonuç ve Öneriler	36
7. Kaynaklar	38
8. Ekler	43

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

α : alfa

β : beta

γ : gamma

Terimler

APUD : (“*Amine Precursor Uptake and Decarboxylation*”) Amin-Purin Alım Dekarboksilasyon

AFP : α -fetoprotein

CEA : (“*Carcinoembryonic Antigen*”) Karsinoembriyonik Antijen

ECLIA : (“*Electrochemiluminescence immunassay*”) Elektrokemilüminesan İmmünyöntem

ELISA : (“*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*”) Enzim Bağlı İmmünosorbent Yöntem

HİE : Hipoksik İskemik Ensefalopati

IRMA : (“*Immunoradiometric Assay*”) İmmünoradyometrik Yöntem

IVF : İn vitro Fertilizasyon

LDH : Laktik Dehidrogenaz **NSE**: Nöron Spesifik Enolaz

NNE : Non-Nöronal Enolaz

PSA : Prostat Spesifik Antijen

RIA : (“*Radiometric Immune Assay*”) Radyometrik İmmün Yöntem

SPSS : (“*Statistical Package for the Social Sciences*”) Sosyal Bilimler İstatistik Programı

TGF- α : (“*Transforming Growth Factor alfa*”) Transformasyon Yapan Büyüme Faktörü-Alfa

VIP : (“*Vasoactive Intestinal Peptid*”) Vazoaktif İntestinal Peptit

VMA : Vanil Mandeli Asit

Uluslar arası kuruluşlar / sistemler

ASCO : (“*American Society of Clinical Oncology*”) Amerikan Klinik Onkoloji Derneği

IFCC : (“*International Federation of Clinical Chemistry*”) Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu

NCCLS : (“*National Committee for Clinical Laboratory Standards*”) Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi

SPSS : (“*Statistical Package for the Social Sciences*”) Sosyal Bilimler İstatistik Programı

TMUGS : (“*Tumor Marker Utility Grading System*”) Tümör Belirleyici Derecelendirme Sistemi

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Enolaz izoenzimlerinin sembolleri ve kromozomal yerleşimleri	8
Tablo 2.2. Beyin dokusundaki enolazların yapısal özellikleri	8
Tablo 2.3. Non-nöronal enolaz ve nöron-spesifik enolazın fonksiyonel özelliklerinin karşılaştırılması	9
Tablo 2.4. Nöron-spesifik enolazın dokulardaki dağılımı	10
Tablo 2.5. Çeşitli tümörlerde serum nöron-spesifik enolaz değerleri	11
Tablo 2.6. Nöron spesifik enolazın ölçüm yöntemleri, “kit”ler ve referans aralıkları	13
Tablo 4.1. Yaş gruplarına göre serum nöron-spesifik enolaz değerleri	23
Tablo 4.2. Gestasyonel yaş, serum total bilirubin, doğum ağırlığı ve APGAR skorları ile preterm ve term bebeklerde serum NSE değerleri arası ilişki	25
Tablo 4.3. Gestasyonel yaş, serum total bilirubin, doğum ağırlığı, APGAR skorları ile sadece term bebeklerde serum NSE değerleri arası ilişki	25
Tablo 4.4. Nöron spesifik enolaz değeri 30 ng/dL ve üzerinde olan hastaların klinik özellikleri	29

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Glikoliz	7
Şekil 4.1. Yaş gruplarına göre serum nöron-spesifik enolaz değerleri	24
Şekil 4.2. Total bilirubin ile serum nöron-spesifik enolaz değerleri arası ilişki	26
Şekil 4.3. Doğum ağırlığı ile serum nöron-spesifik enolaz değerleri arası ilişki	26
Şekil 4.4. Serum NSE düzeyleri ile 1. dakika ve 5. dakika APGAR skorları arası ilişki	27
Şekil 4.5. Preterm bebeklerin gestasyonel yaşa göre vücut ağırlıklarının persantil değerleri	28

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tümörlerin tanı, tedavi ve izlemlerinde çok sayıda laboratuvar testi yapılır. Bunların önemli bir grubu kan, idrar ve vücut sıvılarında çeşitli kimyasal maddelerle belirlenen biyokimya testleridir. Tümörlü hastaların kanında bulunan, değerleri tümörün hücre yükü ile paralellik gösteren, asemptomatik bireylerde tümör taramalarında kullanılabilen tümör belirleyiciler ideal moleküllerdir. Ne var ki; tümörlerin büyük çoğunluğu için böyle bir belirleyici yoktur. Olanların çoğu da erişkin tümörleri içindir.

İlk tanımlandığında başta nöroblastoma olmak üzere nöronal tümörlere özgül olduğu sanılan nöron-spesifik enolaz (NSE)'nin çeşitli tümörlerde yüksekliğinin gösterilmesi, takibe tümör dışı durumlarda da yükselmesi tümör-özgül özelliğini kaybettirmiş, dolayısı ile normal bireylerde standardizasyon çalışmalarını zorunlu kılmıştır. Nöroblastomanın yenidoğan döneminde en sık rastlanılan tümör olması dışında prenatal tıpta ve yenidoğanda ultrasonografinin sık kullanılması asemptomatik kitlelerin tanımlanması olasılığını arttırmıştır. Ne var ki; preterm ve term bebeklerde NSE'nin standart serum değerleri konusunda hiçbir çalışma yoktur. Gözlemlerimiz ticari "kit"lerin standart değerlerinin bu yaş grubu için kullanılamayacağı yönündedir.

Bu çalışmanın amacı; preterm, term ve üç ayın altındaki bebeklerde serum standart değerlerini saptamaktır. Miadında doğan ve bir aydan büyük bebekler için "sağlıklı bebek" tanımı kolaydır. Prematürite ise tek başına hastalık durumudur. Bu dönemde prematürelilik dışında sorunu olmayan bebek kavramı daha uygundur. Serum NSE'nin başta neonatal hipoksi olmak üzere intra-kranial kanama ve infeksiyonlardan etkilenmesi bu tip araştırmaların ana zorluklarıdır. Prematür bebeklerde bu klinik durumlarının tanımlanma güçlüğü, çalışma için serum örneği alınmasından sonra da hastaların izlemini zorunlu kılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tümör belirleyicileri

2.1.1. Tanım

Tümör hücrelerinin membranlarında çok sayıda antijenik yapı mevcuttur. Bu antijenler sayesinde immün sistem kanserli hücreleri tanımaya çalışır ve yanıt geliştirir. Tümör hücreleri tarafından kana salınarak serumda, idrarda ya da vücut sıvılarında tespit edilebilen veya tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunarak immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenebilen maddelere tümör belirleyicileri adı verilir (1,2).

İlk tümör belirleyici, 1846 yılında Henry Bence-Jones tarafından tanımlanan ve kendi adı ile anılan Bence-Jones proteinidir (3).

Tümör belirleyicilerin çoğu kan ve diğer sıvılar ile tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunur. Bu belirleyicilerin düzeyi tümörün hacmi ve aktivitesindeki değişiklikleri yansıtır. Tümör belirleyiciler kanser hastalıklarının tanısı ve prognozunun belirlenmesinde olduğu kadar, tedavi ve tedavisiz dönemlerinde hastalığın seyrini takip etmede de önemlidirler (1).

1996 Amerikan Klinik Onkoloji Derneği toplantısında tümör belirleyici çalışmaları için Tümör Belirleyicilerinin Kullanılmasında Derecelendirme Sistemi adlı bir sistem geliştirilmiştir. Bu sistemde tümör belirleyicileri kullanım amaçlarına göre alt kategorilere ayırmışlardır (4):

1. Tarama amaçlı kullanımları: Toplum taramalarında kanserli bireylerin belirlenmesinde kullanılırlar. Bu tip belirleyicilerin özgüllük ve duyarlılıklarının yüksek olması gerek-mektedir. Prostat spesifik antijen (PSA) bu tip belirleyicilerin en iyi örneğidir.

2. Prognostik belirleyiciler: Hastalığın şiddeti ve prognozu açısından bilgi veren belirleyicilerdir. Prognostik belirleyiciler hasta sistemik tedavi almadan önce test edilmeli ve tedavi boyunca yinelenmelidirler.

3. Prediktif tümör belirleyiciler: Tedaviye cevabı gösteren belirleyicilerdir. Prognostik belirleyiciler ise hastalığın ilerlemesini veya tekrarlamasını belirleyebilirler. Bu sebeple birçok belirleyici hem prognostik, hem de prediktif belirleyici olarak kullanılabilir.

4. İzlemede kullanılan belirleyiciler: Remisyon döneminde veya yinelemenin belirlenebilmesi için tedavi boyunca ve tedaviden sonra hastanın izleminde kullanılan belirleyicilerdir. Tümör belirleyicilerin serum seviyesi cerrahi ve kemoterapinin başarısının belirlenmesinde önemlidir. Postoperatif dönemde belirleyicinin beklenen hızda düşmemesi rezidüel tümöre işaret ederken, düşmüş bir belirleyicinin yükselmesi erken lokal yinelemeye veya metastaza işaret eder.

Tümör belirleyicilerin çoğunun özgül olmamasından dolayı tek bir testle karar vermek zordur. Kanserde tümör belirleyici yüksekliği devamlı iken, kanser dışı hastalıklarda yüksekliği geçicidir. Tekrarlanan seri testlerle yanlış pozitif değerleri ayırt etmek mümkündür. Test tekrarlandığında aynı laboratuvar ve aynı “kit” kullanılmalıdır (2).

2.1.2. Sık kullanılan tümör belirleyiciler:

1. Onkofetal proteinler : AFP, CEA
2. Enzimler : NSE, LDH, PSA
3. Hormonlar : Tirokalsitonin, Paratiroid hormon ilişkili protein, β -HCG
4. Kanser antijenleri : CA 15-3, CA 19-9, CA 125
5. Diğer : β -2 mikroglobulin, Kromogranin A, Vanil Mandelik Asit, Homovalinik Asit

α – Fetoprotein (AFP): Fetal gelişim esnasında fetusun ana serum proteinidir. En iyi bilinen karsinoembriyonik proteindir. Fetusta önce amnion kesesinde, sonra fetal hepatositlerde, daha az oranda gastrointestinal sistem ve böbrekte sentez edilir. AFP, germ hücreli tümörlerde ve hepatoblastoma, hepatosellüler karsinoma gibi karaciğerin epitelyumiyal tümörlerinde yükselir. Serum yarılanma ömrü 5,1 gündür. Epitelyumiyal karaciğer tümörlerinin tanı ve takibinde en önemli serum belirleyicidir. Gebelik, başta tirozinomi olmak üzere bazı beniyin karaciğer hastalıklarında, karaciğerin rejenerasyonunda geçici olarak yükselebilir.

Karsinoembriyonik Antijen (CEA): CEA, moleköl ağırlığı yaklaşık 200 kDa olan bir glikoproteindir. Kimyasal yapısı immunglobulinlere yakındır. Yarılanma ömrü 5 gün kadardır. Gastrointestinal karsinomlarda özellikle kolorektal kanserde spesifik bir belirleyicidir. CEA fetal gastrointestinal kanal, pankreas ve karaciğerde bulunur. Erişkinlerde kan ve hücrelerde çok az miktarda bulunmaktadır. CEA karaciğerde metabolize edilir, karaciğer hasarında klerensi bozulur ve kanda seviyesi artar. Karaciğeri etkileyen radyoterapi ve hepatotoksik kemoterapilerde serum seviyesi hafif derecede yükselebilir.

Laktik dehidrogenaz (LDH): LDH, laktatın pirüvata oksidasyonunu katalize eder. Memeli hücrelerinin özellikle miyokard, böbrek, karaciğer, kas ve eritrositler olmak üzere çoğunda bulunur. Lösemi ve melanoma da yükselir. Bununla birlikte seminoma dışı germ hücreli tümörler ve lenfomalarda hastalık aktivitesi ve tedaviye cevabı izlemede kullanılır. Karsinomatozis durumlarında normalin 2- 40 misli yükselebilir. Lokalize karsinomalarda LDH düzeyi yükselmezken, özellikle karaciğer metastazı olan yaygın karsinomalarda yüksek seviyelere ulaşır.

Plasental Alkalen Fosfataz (PLAP): Total serum alkalen fosfatazı karaciğer, kemik, barsak ve plasenta kökenli izo-enzimlerden oluşmaktadır. PLAP gebelerde özellikle 1. ve 2. trimestırda yükselmeye başlar, 3. trimestırda en yüksek düzeyine ulaşır. Bu dönemde total ALP'nin % 40-65'ini oluşturur. Doğumdan sonraki bir ay içinde erişkinlerdeki düzeylerine iner. PLAP, germ hücreli tümörlerde belirgin oranda yüksek bulunur. PLAP, LDH ile kombine edildiğinde duyarlılığı artar.

Prostat Spesifik Antijen (PSA): PSA, prostatın alveolar ve duktal epitel hücrelerinde sentezlenen bir serin proteaz olup, bilinen en iyi tümör belirleyicidir. PSA'nın doku spesifitesinin yüksek olması, onu prostat kanserlerinin tanı ve tedavisinde önemli belirleyici haline getirir. Bazı beniyın prostat hastalıklarında da PSA düzeyi artabilir. Total prostatektomi sonucu PSA ölçülemez düzeylere iner. Eğer ölçülebiliyorsa rezidüel prostat dokusu kalmıştır veya tümöral rezidü vardır.

Tirokalsitonin: Tiroidin C hücreleri ve medüller tiroid kanserlerinde sentezlenir. Peptid hormonlardan olan tirokalsitonin ayrıca meme, akciğer, gastro-intestinal, karsinoid tümör

ve gastrinoma gibi maliyn durumlar ile gebelik, hipertiroidizm, kemiğin Paget hastalığı ve pernisiyöz anemi gibi beniyn durumlarda da artış gösterebilir.

Paratiroid hormon ilişkili protein (PTH-RP): PTH-RP'nin plazma konsantrasyonu kansere bağlı hiperkalsemisi olanlarda genellikle yüksektir. Tümörlerce salgılanması hiperkalsemiye neden olur. Bu hastalarda PTH-RP'nin dolaşan formu olan N-terminal ve C-terminal peptid seviyesi yüksektir. PTH-RP, PTH bağlayan reseptörlere bağlanarak hiperkalsemiye neden olur. PTH-RP'nin ölçümleri hiperkalseminin ayırıcı tanısı ile primer hiperparatiroidi, sarkoidoz, vitamin D toksisitesi ya da değişik maliyn tabloların ayırımında önemlidir.

CA 15-3: CA 15-3 glikoprotein yapısındadır. Duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür. Meme kanserinin metastazlarında, akciğer kanserlerinde, karaciğer kanserlerinde ve over kanserlerinde yüksek bulunur. Bunun yanında kronik hepatit, karaciğer sirozu, sarkoidoz, tüberküloz ve lupusta da yükselebilir.

CA 125: Kistadenokarsinoma hücre dizisine karşı elde edilmiş müsinöz glikoprotein yapısında bir tümör belirleyicidir. Over kanserli hastaların izleminde önemlidir. Ayrıca meme, akciğer, karaciğer, pankreas kanserlerinde ve siroz, pankreatit, inflamatuvar barsak hastalıkları, gebelik, endometriozis ve pelvik inflamatuvar hastalık gibi durumlarda da seviyesi yükselebilir.

β - 2 mikroglobulin: β - 2 mikroglobulin çekirdekli hücrelerin büyük çoğunluğunun yüzeyinde bulunan HLA klas I molekülünün sabit hafif zincirini oluşturur. Lenfoproliferatif hastalıklarda yüksek düzeyde bulunur. Multipl miyelomada tümör yükü, prognoz ve tedaviye yanıtla ilişkilidir. Lenfomalarda da hastalığın aktivitesi ve prognozla ilişki gösterir.

Kromogranin A: Kromogranin A, katekolaminlerle birlikte adrenal medulladan salınır. Fakat kromogranin A sadece sempatik nöronlar ve adrenal medullanın kromaffin hücrelerinde sınırlanmamış olup çeşitli nöro-endokrin dokularda da bulunur. Feokromositoma, küçük hücreli akciğer kanseri ve multipl endokrin neoplazilerde artış gösterir (1,2).

Vanil mandelinik asit (VMA) ve Homovanilik asit (HVA): VMA epinefrin ve norepinefrin; HVA ise dopamin metabolizmasındaki son üründür. İdrar düzeylerinin

ölçülmesi hastalık tanısında, tedavinin izlenmesinde yardımcı olur ancak rekürrensin tanısında duyarlılığı düşüktür. Feokromasitoma, nöroblastoma, ganglionöroblastoma gibi adrenal tümörlerin değerlendirilmesinde kullanılırlar.

Human Koriyonik Gonadotropin (HCG): HCG, plasentanin sinsityotrofoblast hücrelerinde sentez edilen glikoprotein yapıda bir hormondur. HCG, α ve β alt-ünitleriyle nonkovalen bağlanmış heterodimerik bir hormondur. Total HCG, akciğer, trofoblastik tümörler, over ve testis germ hücreli tümörlerinde artmış bulunabilir. Ayrıca siroz, peptik ülser ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarında artış gösterebilir. α -HCG alt-üniti ise bilinen hipofiz hormonlarının komponenti olup pankreatik endokrin tümörlerde belirleyici olarak kullanılabilir. β -HCG normal erkeklerde bulunmaz. Bulunması daima maliyn olay lehine olup, tedavinin takibinde önemli bir tümör belirleyicidir. Örneğin testis kanserlerinde orşiektomi sonrası β -HCG varlığı rezidüel tümör varlığı lehinedir. Koryokarsinoma ve maliyn germ hücreli tümörlerde beyin omirilik sıvısında seviyesi yükselir.

Nöron-spesifik enolaz (NSE): Araştırmamızın konusu olan bu tümör belirleyici aşağıda ayrıntıları ile anlatılacaktır.

2.2. Enolaz enzimleri

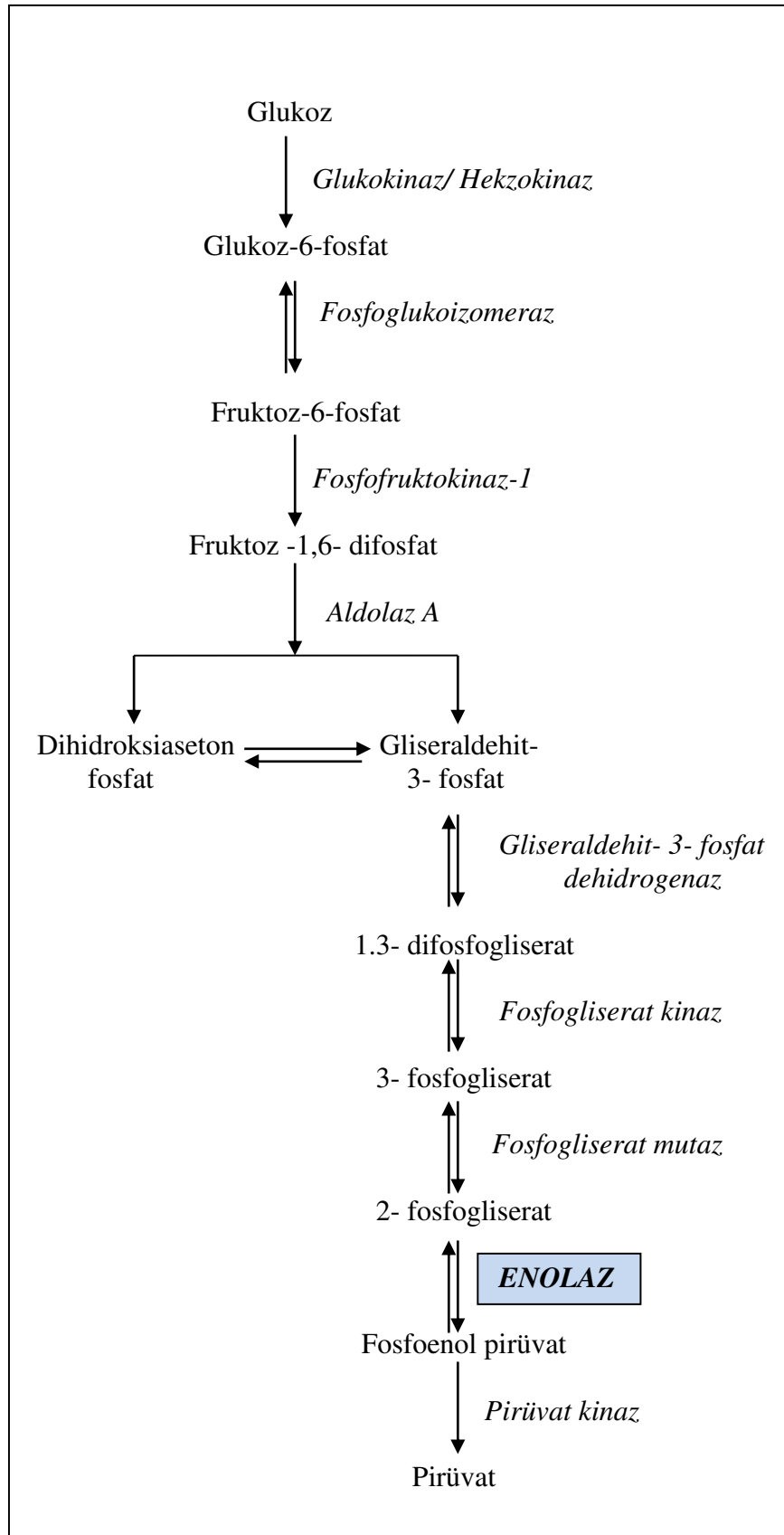
Enolaz glikoliz reaksiyonlarından 2-fosfogliseratın fosfo-enolpirüvata dönüşümünü katalize eden metallo-enzim olup, fosfopirüvat dehidrataz olarak da adlandırılmaktadır (5), (Şekil 2.1).

Enolaz üç dimerik izoenzim ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$) halinde bulunur (Tablo 2.1).

Enolaz 1: Non-nöronal enolaz, $\alpha\alpha$ formunda

Enolaz 2: Nöron-spesifik enolaz, $\gamma\gamma$ formunda

Enolaz 3: Kas-spesifik enolaz, $\beta\beta$ formunda



Şekil 2.1. Glikoliz

Enolaz izoenzimlerinin kromozom lokalizasyonları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Enolaz izoenzimlerinin sembolleri ve kromozomal yerleşimleri

Enolaz izoenzimleri	Enolaz 1 (alfa)	Enolaz 2 (gama, nöronal)	Enolaz 3 (beta, kas)
Sembol	ENO1	ENO2	ENO3
Lokus	Chr.1	Chr.12	Chr.17

Kasta $\beta\beta$ izoenzimi, karaciğerde $\alpha\alpha$ izoenzimi bulunurken beyinde $\alpha\alpha$, $\gamma\gamma$, $\alpha\gamma$ olmak üzere her üç izoenzim bulunmaktadır.

1965 yılında Moore ve Mac Gregor (6) beyin dokusunda yüksek asidik özellikte çözünebilen proteinler tanımlamışlardır. Bu araştırmacılar iki proteini izole ederek, 14-3-2 ve S-100 proteini olarak adlandırmışlardır. İmmunolojik çalışmalar 14-3-2 proteininin nöronlara özgü; S-100 proteininin ise glial dokuya özgü bir protein olduğunu göstermiştir (6,7). Sonraki araştırmalarda, 14-3-2 proteininin enolaz aktivitesi taşıdığını göstermiştir.

Beyin dokusunda bulunan enolazlar asidik yapılarına göre yüksek, orta ve düşük asiditeli formlar olarak sınıflandırılmıştır (5). En asidik form NSE olup, $\gamma\gamma$ alt ünitelerinden oluşmaktadır. İki alfa alt ünitenden oluşan form ise non-nöronal enolaz (NNE) olarak tanımlanmıştır (5,8). Beyin dokusundaki enolazların yapısal özellikleri Tablo 2.2’de görülmektedir.

Tablo 2.2. Beyin dokusundaki enolazların yapısal özellikleri (6)

Yapısal Özellik	Non-nöronal Enolaz	Hibrid Enolaz	Nöron-spesifik Enolaz
Molekül ağırlığı	87,000	82,500	78,000
İzoenzim formu	$\alpha\alpha$	$\alpha\gamma$	$\gamma\gamma$
İzoelektrik nokta	7.2	Bilinmiyor	4.7
Elektroforetik mobilite	0.2	Bilinmiyor	0.8
Anti-NNE* serumla reaksiyon	+++	+-	+++
Anti-NSE serumla reaksiyon	-	+-	+++

* NNE: non-nöronal enolaz

2.3. Nöron-spesifik Enolaz

Nöron-spesifik enolaz glikolitik bir enzim olan 2-fosfo-D-gliserat-hidrolaz enziminin izoenzimi olarak tanımlanmıştır. Bu enzim merkezi ve periferik sinir sisteminin nöronal ve nöroendokrin hücrelerinde bulunur. NSE'nin moleküler ağırlığı 78 kDa olup, yarılanma ömrü 48 saattir (8).

Başlangıçta baskın izofom olan $\alpha\alpha$ dimerlerinin hücre bölünmesi ve göçü sonrası $\gamma\gamma$ dimere dönüştüğü ve $\gamma\gamma$ dimerin nörogenез sırasında oluşup, erken nöronal farklılaşma sırasında arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle NSE nöronal farklılaşma ve olgunlaşma için iyi bir belirteç olarak belirlenmiştir (9).

Nöronlarda tekrarlayan depolarizasyonlar nedeniyle hücre içinde klorür birikmesi olur. NSE klorüre bağlı inaktivasyona dirençlidir. Hücrenin metabolik enerjiye en çok ihtiyacı olduğu dönemde glikolitik yolun inhibe edilmemesi, nöronların içinde NNE yerine NSE olmasıyla mümkün olur. Bu dönüşüm nöron olgunlaşması sonucu gerçekleşir. NSE enzim kinetiği açısından NNE'den pek farklı değildir (5). Tablo 2.4'te NSE ve NNE'nin fonksiyonel özelliklerinin karşılaştırılması görülmektedir.

Tablo 2.3. NNE ve NSE'nin fonksiyonel özelliklerinin karşılaştırılması (5)

	Non-nöronal enolaz	Nöron-spesifik enolaz
Bulunduğu hücreler	Glial hücreler ve nöron olmayan hücreler	Nöronlar ve nöro-endokrin hücreler
Gelişimsel süreç	Glial hücre olgunlaşmasından bağımsız	Nöron farklılaşmasına bağlı
pH	7,2	4,7
Klorür stabilitesi	yok	var
Üre stabilitesi	yok	var
Isı stabilitesi (50° C)	yok	var

2.3.1. Nöron spesifik enolazın dokulardaki dağılımı

NSE en fazla beyinde, daha sonra periferik sinirlerde ve çeşitli nöro-endokrin salgı bezlerinde bulunur. Tablo 2.5'te NSE'nin çeşitli dokulardaki dağılımı görülmektedir (5).

Tablo 2.4. Nöron-spesifik enolazın dokulardaki dağılımı (5)

Doku	ng NSE/ mg protein
Beyin	4000-21000
Periferik sinirler	200-1200
Adrenal medulla	900
Pineal Bez	8500
Hipofiz -anterior	1300
Hipofiz-posterior	3400
Karaciğer	< 10
Kas	< 10
Serum	4-12
BOS	1-3

NSE beyindeki en önemli proteinlerden biri olup, beyindeki total proteinin % 0,4-2,2'sini oluşturur. NSE nöron sitoplazmasında bulunan ancak hücre çekirdeğinde bulunmayan bir proteindir. Önceleri NSE'yi kodlayan genin sadece santral sinir sistemi hücrelerinde bulunduğu düşünülmüştür (7). Ancak daha sonraki çalışmalarda aynı gen nöro-endokrin hücrelerde de gösterilmiştir. Dolayısı ile önceleri sadece sinir sistemi hastalıkları ile ilgili olduğu düşünülen NSE, sonraları “*islet*” hücreli tümörler, medüller tiroid karsinoma, “*oat*” küçük hücreli akciğer karsinomu, amin-purin “*uptake*” ve dekarboksilasyonu yapan tümörlerde (APUDOMA) da tespit edilmiştir (10). Çeşitli tümörlerde tespit edilebilen serum NSE düzeyleri Tablo 2.5'de gösterilmiştir.

NSE'nin nöro-endokrin dokularda tespit edilmesi nörona olan özgüllüğünü kaybettirirken, nöral veya nöro-endokrin sisteminin tümör dışı hastalıklarında da serumda yüksek bulunması tümöre özgüllüğünü de kaybettirmiştir. Bu özelliğini vurgulamak isteyen klinik onkologlar enzimi “non-spesifik enolaz” diye ifade eder olmuşlardır.

Tablo 2.5. Çeşitli tümörlerde serum NSE düzeyleri (10)

Kontrol / Tümör	Hasta sayısı	Serum NSE (ng/mL)			
		<25	25-50	51-100	>100
Kontrol A	27	27			
Kontrol B	11	11			
Nöroblastom					
Evre I & II	9	6	1	1	1
Evre III&IV	63	9	7	16	31
Evre IVS	3	2	1		
Ganglionörom	4	4			
Retinoblastom	4	4			
Wilms tümörü					
Evre I&II	15	13	2		
Evre III&IV	14	5	3	4	2
Lenfoma	15	9	5	1	
Ewing Sarkom	11	10	1		
Yumuşak Doku Sarkomu	23	19	3	1	
Diğer tümörler*	30	28	1		1

*Diğer tümörler: Teratom, hepatoblastom, maliyn histiositoz, feokromasitoma, hamartoma, granüloza hücreli tümör, medulloblastoma, osteosarkoma, hepatik hemanjiyo-endotelyoma
 Kontrol (A): Londra Çocuk Hastanesi (B): Brussels St. Lc Üniversiteleri Pediatrik Hematoloji Servisi

2.3.2. Nöron spesifik enolazın yüksek olduğu tümör dışı durumlar

Serum NSE düzeyini yükselten tümör dışı pek çok durum belirlenmiştir (5). Lenfosit, trombosit ve eritrosit gibi kan hücrelerinde NSE'nin düşük oranlarda bulunduğu gösterilmiş ve hemoliz durumunda eritrositlerden NSE açığa çıktığı gösterilmiştir (11).

Özellikle nöron ve nöro-endokrin hücrelerde NSE yüksek düzeyde bulunduğundan, bu hücrelerin hasar gördüğü hastalıklarda serum ve BOS düzeyinde artış gözlenmektedir. Travmatik beyin hasarı ve inme gibi nöronlarda hasar olması durumunda serum NSE düzeyi yükselir. İmmunohistokimyasal çalışmalarla NSE'nin infarkta uğramış nöronlardan ekstrasellüler sıvıya ve kana, ilk 1-2 gün içinde geçmeye başladığı ve iskemiden 7-8 gün sonra bile serumda yüksek değerlerde kaldığı bildirilmiştir (12,13).

Kalp krizi sonrasında beyin hipoksisinde, santral ve periferik sinir sistemini ilgilendiren hücre hasarlarında (iskemik felç, subaraknoid kanama, travmatik beyin hasarı, Guillain-Barre sendromu, bakteriyel menenjit, ensefalit v.s) BOS ve/veya kanda bu enzim düzeyinde yükseklik saptanmıştır (14-18). NSE sepsis ve septik şokta nörolojik hasar göstergesi olarak da kullanılmıştır (19-21).

Hipoksik iskemik ensefalopatili yenidoğanlarda yapılan birçok çalışmada NSE düzeyleri yüksek bulunmuştur (22-30). Perinatal beyin hasarı göstergesi olarak plasenta, amniyotik sıvı ve kord kanı NSE düzeyleri çalışılmıştır (31-34). NSE santral nöron hasarlarında hasar şiddeti ile uyumlu olarak önce BOS'ta, daha sonra da kan beyin bariyerindeki bozukluğa bağlı olarak serumda artmaktadır. Ancak serumdaki yükselmelerin her zaman BOS'taki yükselmeyi yansıtmadığı ve hemolizli örneklerde sonuçların yanlış çıkabileceği belirtilmektedir.

Ayrıca karaciğer hastalıkları, neonatal hiperbilirubinemi, santral sinir sistemi enfeksiyonları ve pnömoni seyrinde de serum NSE düzeylerinde yükseklik saptanan çalışmalar mevcuttur (35-40).

2.3.3. NSE tayin yöntemleri

Serum NSE düzeylerinin belirlenmesinde üç farklı yöntem kullanılmaktadır. Bunlar spesifik antijen- antikör oluşumu esasına dayanan immünokimyasal prensibin farklı çeşitleridir. (41):

1. Enzim-bağımlı immunosorbent yöntem (ELISA)
2. Radyoimmünolojik yöntem (IRMA veya RIA)
3. Elektrokemiluminesans immünolojik test (ECLIA)

Ülkemizde üç ayrı firma tarafından pazarlanan dört ayrı “kit” kullanılmaktadır. Türkiye’deki NSE “kit”i pazarlayan firmalar ve “kit”lerinin ana özellikleri Tablo 2.6’da verilmektedir.

Tablo 2.6. NSE ölçüm yöntemleri, “kit”ler ve referans aralıkları

Ölçüm Yöntemi	Firma Adı	NSE Kiti*	Referans Aralıklar (ng/mL)
ELISA	ALGEN	<i>DiaMetra</i>	0 – 12,0
IRMA	ALGEN	<i>Diasource</i>	0 - 12,5
RIA	BİOTEK	<i>Drg</i>	4,7 - 14,7
ECLIA	ROCHE	<i>Elecsys-2010</i>	4,7 – 18,0

*Ticari adı

2.4. Nöron spesifik enolaz ve nöroblastom

Nöroblastom; adrenal medulla ve sempatik ganglionlarda görülen ve öncül nöral krest hücrelerinden köken alan bir tümördür. Nöroblastom çocukluk çağının santral sinir sistemi dışı en sık görülen solid tümörü olup, tüm çocukluk çağı kanserleri arasında %8-10’luk bir orana sahiptir. Sıklığı 1/7000’dir. Tüm dünyada benzer sıklıkta görülür. Tanı; %36 olguda bir yaşın altında, %75 olguda dört yaşın altında, %90 olguda on yaşın altında konulur. Erkek/kız oranı 1,2/1.0’dir. İlginç biyolojik davranışı nedeniyle spontan gerileme, ganglionnöroblastom, ganglionöroma gibi beniyin tümörlere farklılaşma gösterebilmektedir (42-44).

Nöroblastom sempatik nöral yol boyunca herhangi bir yerde görülebilir. Tümör sıklıkla (%65) karında görülür. Tanı anında olguların %75 kadarında metastaz mevcuttur. Tüm pediatrik tümör içinde en fazla sayıda belirti ile başvuru yapılan tümördür. Karında şişlik, ağrı, huzursuzluk, kemik ağrısı, eklem ağrısı, vücudun değişik yerlerinde şişlik, Horner belirtisi, kord basısı, rakun gözü belirtisi gibi geliş semptomları sıktır. Ayrıca prenatal US ile de saptanan vakalar vardır (45). Bu hastalarda iyi klinik seyir görülür ve sadece cerrahi rezeksiyon ile sıklıkla kür elde edilir. Bu hastaların çoğunda batında kitle ele gelmez ve yalnız %50’sinde artmış idrar katekolaminleri vardır.

Nöroblastom yenidoğanda farklı klinik tablolarla karşımıza çıkabilir (46). Cilt altı nodüller, yaygın karaciğer metastazı, kemik iliği tutulum bulguları, tümör içine yaygın kanama, hidrops fetalis ve/veya eritroblastosis fetalis bulguları ile beraberlik neonatal nöroblastomun klinik bulgularındandır.

2.4.1. Nöroblastomda kullanılan tümör belirleyiciler

Nöroblastom tümör belirleyicilerin tanı, prognoz ve hastalık izleminde önemli rol aldığı az sayıdaki çocukluk çağı tümörlerinden biridir. Nöroblastom tanı ve izleminde kullanılan tümör belirleyiciler LDH, ferritin, NSE ve katekolamin metabolitleri olan idrarda VMA ve HVA'dır. Tümör belirleyiciler relaps/progresyonların sadece %25-50'sinde yararlı olabilir (46-47).

Genelde, düşük NSE düzeyi iyi prognozu gösterirken, yüksek NSE düzeyi kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Nöroblastomada evre ve tümör yükü arttıkça NSE seviyesinde yükselmeler saptanmaktadır. Serum NSE seviyeleri Evre IV hastalarda vakaların %98'inde yüksek bulunurken, düşük evrelerde bu oran çok daha düşüktür. Serum NSE seviyeleri yüksek vakalarda, NSE düzeyleri remisyonda düşerken, tekrarlamalarda artmaktadır. Ayrıca serum NSE seviyelerinin tüm yaş gruplarında sağkalım süresi ile ilişkili olduğu ve bir yaştan altındaki hastalarda sağkalım ve prognoz tahmininde faydalı olabileceği rapor edilmiştir (47).

2.4.2. Nöroblastomada tarama ve erken tanı çalışmaları

Nöroblastomun en ilginç yönü; tüm onkolojide kendiliğinden en sık gerileme gösteren tümör olmasıdır (48). Bu genellikle küçük bebeklerdeki asemptomatik vakalarda görülür. Nöroblastomda artmış katekolamin ve metabolitlerinin tespiti ile bebeklerde nöroblastom tarama programları ilk olarak Japonya'da başlamış ve başlangıç sonuçları umut verici olmuştur (46). Erken bebeklikte klinik bulgu olmadan tarama programları ile tanı konulan nöroblastomun spontan regresyon gösterdiği bu sayede anlaşılmıştır. Üriner katekolaminler kullanılarak yapılan kitle tarama programlarında tespit edilen olguların %70-90'ı düşük risk nöroblastom (evre I, II, IV-S) evresine sahiptir. Altıncı ayda taraması yanlış negatif sonuçlanan hastalarda bir yaştan sonra agresif nöroblastom gelişebileceği bildirilmiştir. Yanlış negatif sonuçlar ve tarama zamanının uygunluğunun net olmaması nedeniyle tarama programları günümüzde yaygın olarak kullanılmamaktadır (47).

Prenatal tıpta ultrasonografinin yaygın kullanımı sürrenal kitlelerin veya anormalliklerin tanısını doğumdan önceki döneme çekmiştir (49). Bu nedenle neonatal sürrenal kitlelerin izleminde yaşanan tereddütler daha da artmıştır. Son ama çok önemli bir sorun da IVF gebeliklerde, çoğul gebelik ve prematür doğum oranının belirgin derecede artmış olmasıdır (50-51). Bir taraftan prenatal tıpta ultrasonografinin yaygın kullanımı, diğer taraftan IVF gebeliklerde prematüre doğum oranının artmasına bağlı olarak prematürelilik, yenidoğan ve erken bebeklik döneminde sürrenal kitlelerin saptanma sıklığındaki artış, bu hastalarda nöroblastom tanımlanma ve cerrahi girişim riskini arttırmıştır. İntra-uterin dönem, prematürelilik, neonatal ve erken bebeklik döneminde (<3 ay) ultrasonografik yöntemlerle tanımlanan metastaz yapmamış, 5 cm'den küçük sürrenal kitleler hiçbir histolojik tanı girişimi yapılmadan periyodik ultrasonografi ve VMA, NSE, ferritin gibi belirleyicilerle izlenmektedir.

2.5. Referans değerlerin belirlenmesi

Günümüzde klinik biyokimya laboratuvarlarında kullanılan biyokimya testlerinin yorumlanmasında referans aralığına başvurulmaktadır. Bir referans bireyinde belirli bir fenotipin gözlemlenmesi ya da ölçülmesi yolu ile elde edilen değere referans değer denir (52). Dolayısı ile örnek bir popülasyondan seçilen referans bireyleri bir araya getirerek, bir referans kitlesi oluşturulabilir. Bu değerler bir dağılım oluşturur ve bu dağılım istatistiksel analize tabi tutulduğunda, dağılımın belli bir bölümünü sınırlandıran alt ve üst değerler elde edilebilir. Bu durumda alt ve üst değerlerin içine aldığı kesim dağılımın belli bir yüzdesini ifade edecektir. Bu terimlerde normal değer ya da normal aralık sözcükleri kullanılmamaktadır. Çünkü normal terimi oldukça göreceli bir kavramı ifade etmektedir, öyle ki bireyden bireye değişebilen bu değerlerin hangisinin normal olarak tanımlanması gerektiğini belirlemek çok zor, hatta olanaksızdır.

1988 yılında Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu “normal değerler” teriminin karışıklık yarattığını ve kullanılmaması gerektiğini vurgulamıştır. Epidemiyolojik yönden değerlendirildiğinde, %95 aralıktaki değerler “normal” olarak alındığında, %5’lik dış alanlardaki normal bireylerin mutlaka hasta olduğu kabul edilmektedir. Bu yaklaşım, klinik yönden değerlendirildiğinde sağlığın göreceli bir kavram olduğu düşüncesine ters düşmektedir.

Bireyin hangi sağlık durumlarında normal olduğunu belirlemek çok zor bir işlemdir; bunu belirlediğimiz takdirde bile, o kişiden elde edilen değerlerin bir başka kişinin değerleri ile uyuşması oldukça düşük bir olasılıktır. Kaldı ki aynı kişinin bile hayatının farklı dönemlerinde farklı sağlık kondisyonlarında bulunabildiğini gözlemlemekteyiz.

Referans aralıklarının belirlenmesi, Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (*National Committee for Clinical Laboratory Standards: NCCLS*) ve Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu (*International Federation of Clinical Chemistry: IFCC*) önerilerine göre yapılmaktadır.

2.5.1. Referans aralıkların saptanma yöntemleri

1. Parametrik yöntem (Normal dağılım kullanılarak, IFCC'nin önerisi)
2. Parametrik olmayan yöntem (Normal dağılım göstermeyen yüzdelerik yöntemleri kullanılarak, NCCLS'nin önerisi)

Parametrik yöntem: Veriler normal dağılıma uyuyorsa kullanılır. Normal dağılım göstermiyorsa logaritmik dönüşüm uygulandıktan sonra bu yöntem kullanılır. Hesaplamalarda ortalama ve standart sapma değerleri kullanılır. Dağılımın %95'ini içine alarak %2,5 alt sınır ve %97,5 üst sınır değerlerini hesaplayarak referans aralığındaki alt sınır ve üst sınırları belirler. %95 merkezi alanındaki sonuçlar referans değerleri temsil eder. Küçük referans popülasyonlarda yapılan çalışmalarda parametrik yöntem ile elde edilen sonuçlar non-parametrik yöntemle göre daha kesindir.

Non-parametrik yöntem: Veriler normal dağılıma uymuyorsa kullanılır. Geniş referans popülasyon gruplarında uygun olup uç değerlere çok hassastır.

Çalışmamızda yaş gruplarının karşılaştırılmasında parametrik testler, serum NSE düzeyi ile diğer değişkenlerin karşılaştırılmasında non-parametrik testler kullanılmıştır

2.5.2. Referans Aralığı Tayininde Veri Sayısının Önemi

Veri sayısının çokluğu metodun güvenilirliğini artırır. Bu genel istatistiksel bir kuraldır (52). Normal dağılımlarda kullanılan veri sayısı daha düşük olabilmektedir, ancak dağılımın iyi tanımlanması gerekmektedir. Normal olmayan dağılımlar düşük veri sayılarında oldukça anormal sonuçlar verebilmektedir. Sonuçta non-parametrik testler kullanıldığı takdirde en az 120 veri ile çalışılması gerektiği vurgulanmaktadır. Böyle bir analiz ile dağılımın %2,5- %97,5'inci noktaları saptanmış olacaktır. Bu da %95'lik bir dağılım aralığını tanımlamaktadır. Non-parametrik yöntemlerle 120 verinin %90 güven aralığı için yeterli olacağı ileri sürülmektedir (53). Sonuçlara göre 120 veride yöntemler arasında minimal fark varken veri sayısı düştükçe özellikle non-parametrik yöntemler etkilerini yitirmektedir.

120 verinin altındaki denek sayılarında modifiye non-parametrik yöntemler daha iyi sonuçlar vermiştir.

Her test için üretici firma tarafından belirlenmiş bir referans aralığı mevcuttur. Ancak bu aralığın, hitap ettiğimiz toplumun referans değerlerini ne derece doğru yansıttığı söylenemez. Çeşitli biyokimyasal testler için kendi popülasyonumuzun referans değerlerini belirlemek ve kullanmak zorunluluğumuz vardır.

Çocukluk çağında NSE'nin serum referans düzeyleri için erişkinlerdeki standart değerler kullanılmaktadır. Literatürde prematürel, yenidoğan ve erken bebeklik dönemindeki serum NSE düzeylerini konu alan ayrıntılı bir çalışma İngilizce literatürde mevcut değildir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma grubunun seçimi

Tez konusunun belirlenmesinden sonra “Preterm, Term ve Üç Aydan Küçük Bebeklerde Serum Nöron- Spesifik Enolaz Değerlerinin Belirlenmesi” başlıklı proje hazırlandı ve 10.02.2010 tarihinde Başkent Üniversitesi Tıp Sağlık Bilimler Araştırma Kurulu’na sunuldu. Proje Başvuru Formu, Araştırma Projesi ve Gönüllü Denek Bilgilendirme ve Onam Formu Ek-2’de verilmektedir. Proje KA10/23 Numarası ile 13.05.2010 tarihinde kabul edilerek Başkent Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındı. Özellikle bu çalışma için hiçbir bebekten kan örneği alınmamış, diğer gerekçelerle alınan kanlardan çalışma yapılmıştır.

Projenin onaylanması hatta çalışmanın başlamasından sonra da literatür tarama çalışmalarına devam edildi. Elde edilen yeni verilerle projede üç önemli değişiklik yapıldı. Projenin mevcut amacında ve yöntemine ek olarak yapılan bu değişiklikler için Kurul’a yeni başvuru yapılmadı. Bu arada saklanan çok sayıda kan örneği (doğumdan sonraki ilk 72 saat içindeki kan örnekleri, kord kanı örnekleri, 1nci ve 5nci Dakika APGAR Skorlarından herhangi birinin 6’nın altında olan bebeklerden alınan kan örnekleri) iptal edildi. Bu değişiklikler şöyle özetlenebilir:

1. Preterm ve term bebeklerde kan örnekleri en erken doğumdan 72 saat sonra alındı. Bu şekilde perinatal hipoksiye ikincil serum NSE yükselmelerinin etkisi azaltılmaya çalışıldı.
2. Post-natal 72nci saatteki durumuna bakılmaksızın subklinik hipoksinin de ekarte edilmesi amacı ile 1nci ve 5nci Dakika APGAR Skorlarından herhangi birinin 6’nın altında olan bebekler çalışma dışında tutuldu.
3. NSE değeri 30 ng/mL üzerinde bulunan tüm bebeklerin dosyaları incelendi. Başkent Hastanelerinde (Ankara, Adana, Konya) izlenmeyen vakaların aileleri ile görüşüldü. Gelebilenler kontrole çağrılıp yeniden değerlendirildi.

Bu değişikliklerden sonra çalışmaya alınma ve alınmama kriterleri aşağıdaki şekilde belirlendi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri

1. 28- 42 hafta arasında doğan, prematüreliliklerine bakılmaksızın post-natal yaşları 3-15 gün arasında olan bebekler
2. Miadında doğmuş, bir aylık bebekler grubu için 30-45 günlük; iki aylık bebekler grubu için 60-75 günlük, üç aylık bebekler grubu için 90-105 günlük bebekler

Çalışma dışı tutma kriterleri

1. 28 haftadan küçük, 42 haftadan büyük gebelik haftasında doğan bebekler
2. 1nci ve 5nci dakika APGAR skorlarından herhangi birinin 6'nın altında olduğu bebekler (54)
3. Preterm grupta prematürelilik dışında sorunu olan bebekler (konjenital kalp hastalığı intra-ventriküler kanama, nekrotizan enterokolit vs.)
4. Tanımlanmış veya şüpheli enfeksiyonu olan veya rutin antibiyotik profilaksisi dışında antibiyotik başlanılmış bebekler.
5. Patolojik düzeyde hiperbilirubinemisi olan bebekler
6. Kan rneği alınmasını izleyen üç gün içinde enfeksiyon tablosu gelişen bebekler.

Araştırma Kurulu ve Etik Kurul raporları alındıktan sonra Mayıs 2010- Eylül 2010 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Ankara, Adana ve Konya Hastaneleri prematüre-yenidoğan servisleri ve yenidoğan izlem polikliniklerinde görülen bebeklerden 40 preterm bebekten [20 küçük preterm (28-32 haftalık) ve 20 büyük preterm bebek (33-36 haftalık)],40 term bebekten ve birinci, ikinci ve üçüncü aylık bebek grubundan 20'şer adet olmak üzere 60 süt çocuğundan örnek alınması planlandı. Anne ve baba bilgilendirildikten sonra "Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu" kararınca "Gönüllü Denek Bilgilendirme ve Onay Formu"nu imzalayan ebeveynlerin bebeklerinden alınan kanlardan örnekler alındı. Alınan kan örneklerinden 2 ml serum ayrıldıktan sonra -20°C'de saklandı. Adana ve Konya merkezlerinden alınan kan örnekleri uygun koşullarda nakil edildi.

Çalışma grubundaki vakaların aşağıdaki demografik ve klinik-laboratuvar özellikleri not edildi.

1. Dosya numarası
2. Yaş
3. Cinsiyet
4. Doğum ağırlığı
5. Doğum şekli (vajinal veya sezeryan)
6. Gestasyonel yaşı (hafta): Dünya Sağlık Örgütü'nün 1961 yılında tanımlamış olduğu üzere 37 haftadan önce veya 37 hafta+ 6 günden önce doğan (259 günden küçük) bebekler preterm grubu oluşturulmuş, otuzsekiz haftadan 1 gün almış ve 41 haftayı tamamlamış bebekler term kabul edildi.
7. Preterm ve term gruplarda 1nci Dakika APGAR Skoru
8. Preterm ve term gruplarda 5nci Dakika APGAR Skoru
9. Post-natal yaş: Prematürelilik derecelerine bakılmaksızın preterm ve term grupta doğumdan sonra geçen gün olarak not edildi.
10. Serum bilirubin değeri: Serum bilirubin değeri Amerikan Pediatri Akademisi Hiperbilirubinemi Komitesi'nce belirlenen kriterler dikkate alınarak, bilirubin konsantrasyonları postnatal yaş (saat) – bilirubin nomogramında değerlendirildi (Ek 1). Hangi persantilde yer aldığı işaretlenerek, kan değişimi sınırı altında değerler saptanan bebeklerin serumlarının çalışmaya alınmasına dikkat edildi (55,56).

3.2. Serum nöron-spesifik enolazın tayini

Nöron-spesifik enolaz serum değerlerinin tayininde elektrokemiluminesans immünolojik test (ECLIA) yöntemi kullanıldı. Bu yöntem için Roche firmasının Elecysys 2010 cihazı ve aynı firmanın hazır kitleri kullanıldı.

Hastaya ait 20 µL serum örneğinden, NSE'ye özgül monoklonal antikorlar polisteren ölçüm tüplerinin iç duvarına adsorbe edilerek bir sandviç kompleksi oluşturuldu. Streptavidin kaplı mikropartiküller eklendikten sonra reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyine manyetik olarak yakalandıkları ölçüm hücresi içine aspire edildikten sonra bağlanmamış maddeler uzaklaştırıldı. Elektrod üzerine voltaj uygulanması kemiluminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı ile ölçüldü

sonuçlar özel olarak oluşturulmuş bir kalibrasyon eğrisi ve reaktif barkodu aracılığıyla edinilen bir ana eğri ile tayin edildi.

3.3. İstatistiksel değerlendirme

Değişkenlerin normal dağılıma uyumu “Shapiro- Wilk” testi ile kontrol edildi. Bazı sürekli değişkenlerin (NSE, total bilirubin) normal dağılıma uymadığı ve sağa çarpık bir dağılım gösterdiği belirlendi. NSE değişkenine logaritmik transformasyon uygulanarak yaş grubu ortalamaları Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden “Tukey HSD” testi ile değerlendirildi. Preterm ve term grupların karşılaştırılmasında “Student’s- t” testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma, % 95 güven aralığı, ortanca değer, çeyrekler arası değişim (“*inter quartil range*”) en küçük ve en büyük değerler olarak ifade edildi. Değişkenler arası doğrusal ilişkiler “Spearman- rho” korelasyon katsayısı ile incelendi. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyi anlamlı kabul edildi. Veriler SPSS 17.0 (SPSS Inc. , Chicago IL, USA) istatistik yazılımı ile analiz edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza ilgili hastanelerde doğan ve izlenen 139 bebek alındı. Çalışmaya katılan tüm bebeklerin rutin kontrollerinde herhangi bir nedenle alınan serum örneklerinden NSE düzeyi çalışıldı. Çalışma grubu 39 preterm ve 40 term bebek ile 60 süt çocuğundan oluşturuldu. Çalışmaya katılan 139 hastanın 79'u (%56,4) erkekti. Bebeklerin 93'ü (%66,9) sezeryan ile, 46'sı (%33,1) vajinal yol ile doğdu. Ortalama doğum haftası 37,04 hafta, ortalama doğum ağırlığı 2877,48 g idi. Bebeklerin klinik özellikleri Ek.3'te verilmiştir. Yaş gruplarına göre serum NSE düzeyleri Tablo 4.1 ile Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Veriler parametrik testlerin şartlarını karşılamadığı için verilere logaritmik transformasyon uygulanarak, grup ortalamalarının karşılaştırmaları tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır.

Preterm ve term bebeklerin serum NSE düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken; preterm bebeklerle üç aydan küçük bebekler arasında $p<0,001$; term bebeklerle üç aydan küçük bebekler arasında $p<0,001$ bulunmuştur.

Çalışmaya katılan bebeklerin serum NSE değerleri cinsiyetlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.2).

Serum NSE düzeyi ile doğum şekli arasındaki ilişki incelenirken sadece preterm ve term grupta istatistiksel çalışma yapıldı ve anlamlı fark bulunmadı (Tablo 4.2).

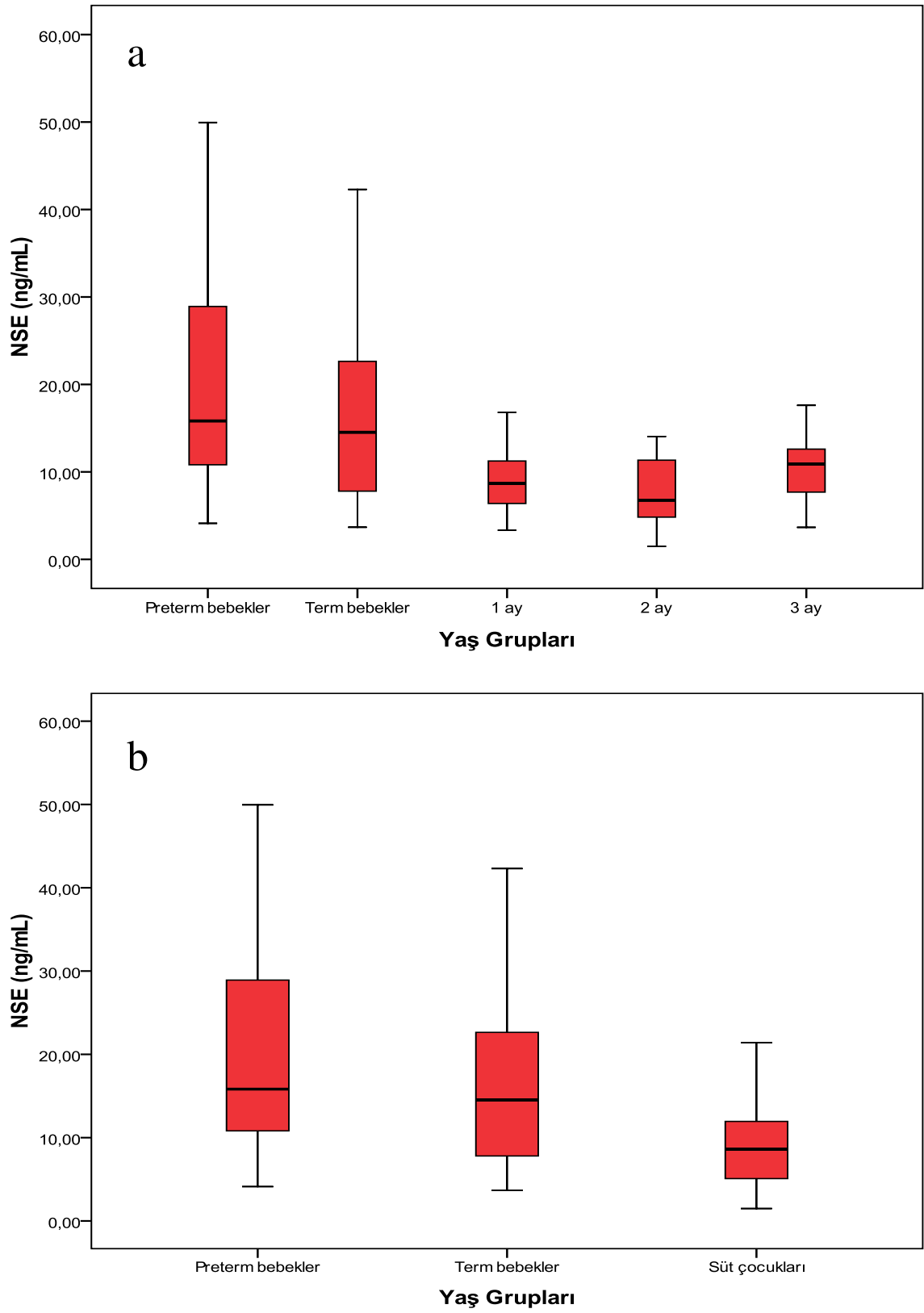
Serum NSE düzeyinin ilk 5 günde bakılanlarda farklı olabileceği düşünülerek; preterm ve term grupta, postnatal ilk 5 gün ile 6-15 gün arasında NSE değişkeni logaritmasına 2 faktörlü varyans analizi uygulandı. Gerek term ve preterm grup arası, gerek ilk 5 gün ve 6-15 gün arasında bakılan serum NSE ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.1. Yaş gruplarına göre serum NSE değerleri (ng/mL)

Yaş Grubu	Vaka Sayısı	Serum NSE (ng/mL)					
		Ortalama± 1SD	Güven aralığı sınırları	Minimum	Maksimum	Ortanca değer	Çeyrekler arası genişlik
Preterm *	39	21,83±15,06	16,95 – 26,71	4,12	59,36	15,83	18,83
Term *	40	18,06±12,90	13,94 – 22,19	3,67	59,80	14,53	14,87
Süt çocuğu **	60	9,09±4,38	7,96 – 10,23	1,49	21,40	8,60	6,89
1 ay	20	8,92±4,13	6,95 – 10,85	3,33	16,80	8,70	5,33
2 ay	20	7,63±3,91	5,80 – 9,46	1,49	14,05	6,77	6,63
3 ay	20	10,73±4,70	8,53 – 12,93	3,66	21,40	10,90	4,98
Toplam	139	15,25±12,19	13,21 - 17,30	1,49	59,80	11,43	11,82

*Serum örnekleri 3-15 günler arası alınmıştır.

**Serum örnekleri ilgili ayın ilk 15 günü içinde alınmıştır.



Şekil 4.1. Yaş gruplarına göre serum NSE değerleri, (a) Tüm çalışma grupları; (b) Süt çocuğu dönemi birleştirilerek alınmıştır.

Preterm ve term dönemde serum NSE düzeyi ile gestasyonel yaş, serum total bilirubin, doğum ağırlığı ve APGAR skorları ile ilişkisi incelendiğinde sadece 1. ve 5. dakika APGAR skorları ile ilişki istatistiksel olarak anlamlı ($\rho = -0,228$, $p < 0,05$; $\rho = -0,246$, $p < 0,05$) bulunmuştur ancak söz konusu ilişki oldukça zayıftır (Tablo 4.3).

Tablo 4.2. Gestasyonel yaş, serum total bilirubin, doğum ağırlığı, APGAR skorları ile preterm ve term bebeklerde serum NSE değerleri arası ilişki

	Vaka sayısı	Korelasyon katsayısı	p değeri
Gestasyonel yaş	79	-0,212	0,061
Serum T. Bil.*	72	0,150	0,207
Doğum Ağırlığı	79	-0,143	0,208
APGAR 1. dakika	79	-0,228	0,043
APGAR 5. dakika	79	-0,246	0,029

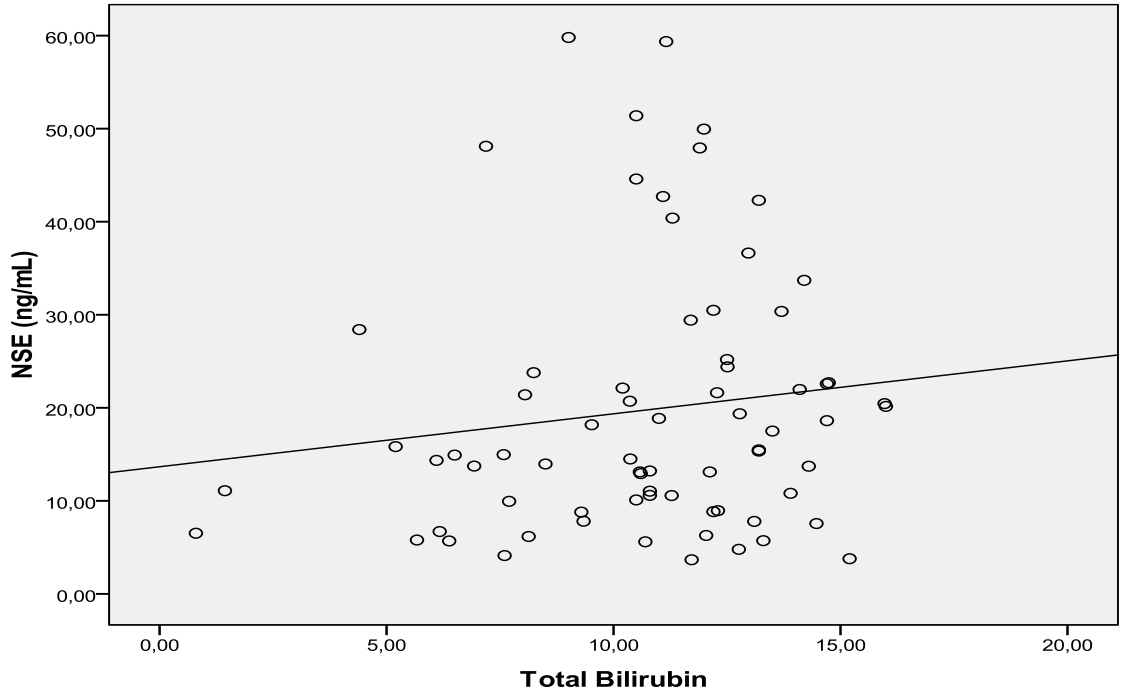
*Total Bilirubin

Gestasyonel yaş değişkenini ekarte etmek amacı ile sadece term bebeklerde doğum ağırlığı, serum bilirubin değerleri, 1nci ve 5nci dakika APGAR skorları ile NSE değerlerinin ilişkisine bakıldı. NSE ile bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 4.4).

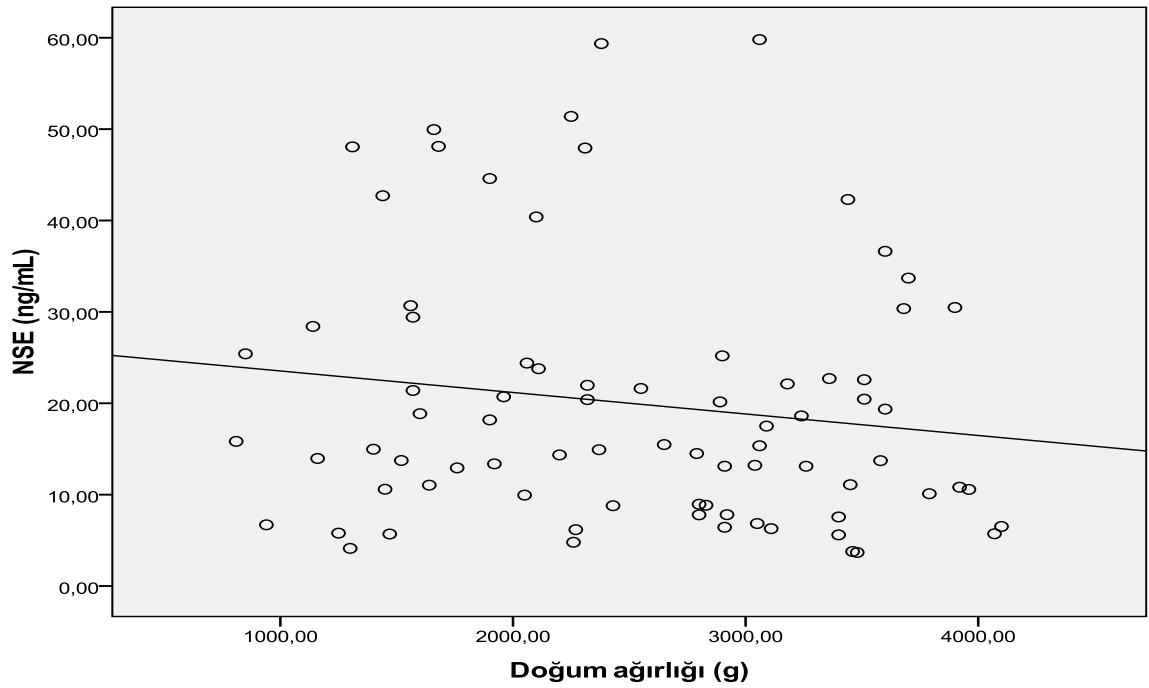
Tablo 4.3. Gestasyonel yaş, serum total bilirubin, doğum ağırlığı, APGAR skorları ile sadece term bebeklerde serum NSE değerleri arası ilişki

	Vaka sayısı	Korelasyon katsayısı	p değeri
Gestasyonel yaş	40	-0,272	0,089
Serum T. Bil.*	38	0,149	0,372
Doğum Ağırlığı	40	-0,102	0,530
APGAR 1. dakika	40	-0,112	0,492
APGAR 5. dakika	40	-0,118	0,469

*Total Bilirubin



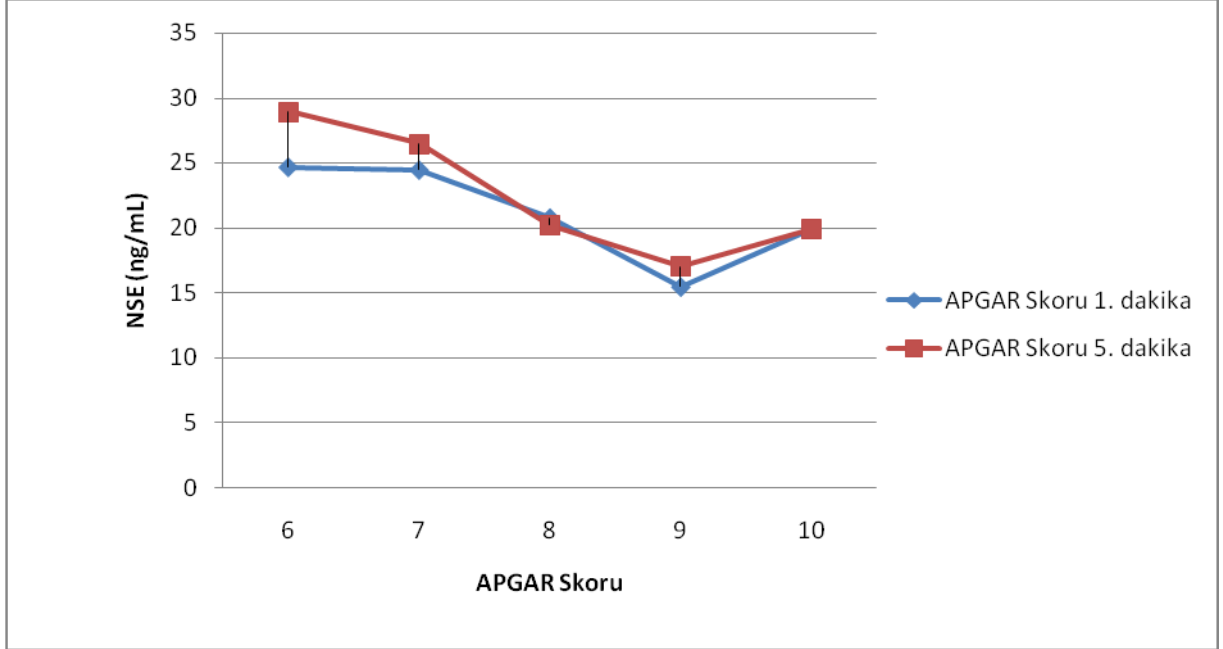
Şekil 4.2. Total bilirubin ile serum NSE değerleri arası ilişki



Şekil 4.3. Doğum ağırlığı ile serum NSE değerleri arası ilişki

Serum total bilirubin ve doğum ağırlığı ile serum NSE düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p = 0,207$, $\rho = 0,150$; $p = 0,208$, $\rho = -0,143$) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

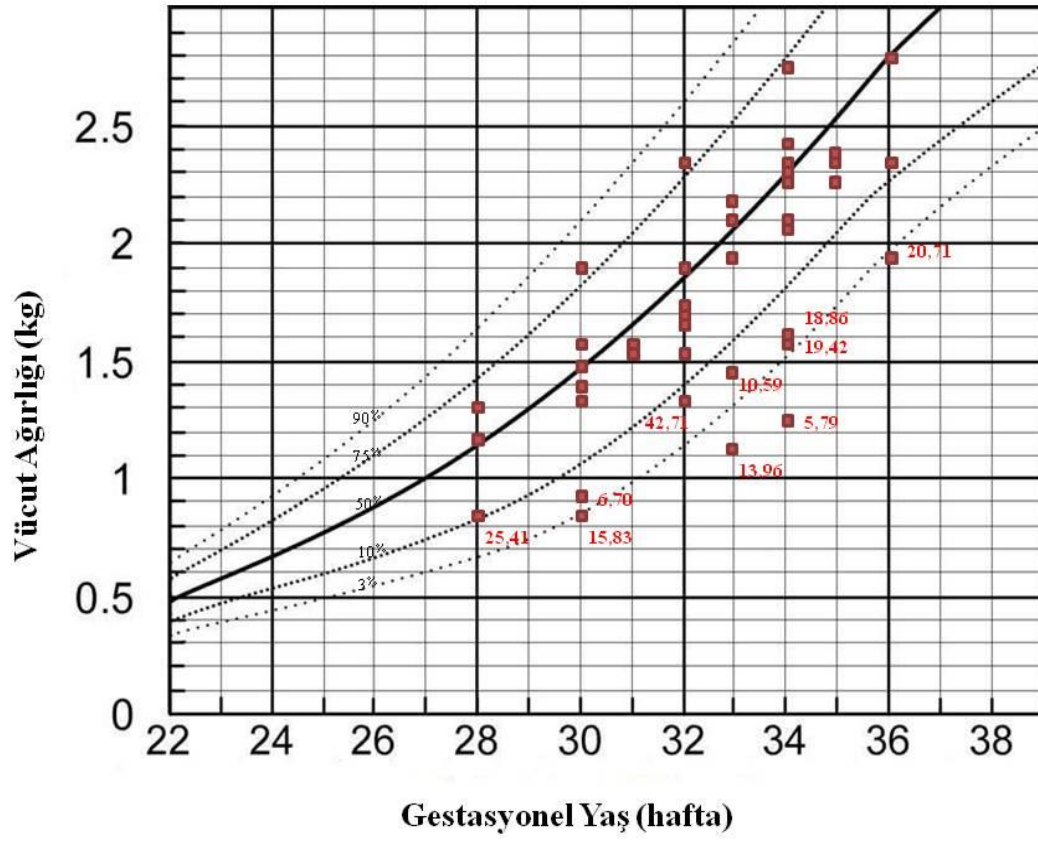
APGAR skoru doğumdan sonra ilk 5 gün içinde serum ayrılan bebeklerde değerlendirildi. 1.dakika ve 5. dakika APGAR skoru ile NSE düzeyi karşılaştırıldığında %22,8'lik ve %24,6'lık negatif bir ilişki bulundu. APGAR skoru arttıkça NSE düzeyinin düştüğü gözlemlendi ($\rho = -0,228$, $p < 0,05$; $\rho = -0,246$, $p < 0,05$).



Şekil 4.4. Serum NSE düzeyleri ile 1. dakika ve 5. dakika APGAR skorları arası ilişki

Bebeklerin doğum haftası azaldıkça, serum NSE düzeylerinin yüksek bulunması üzerine, doğum ağırlığı değişkenini ekarte etmek amacı ile preterm bebeklerin vücut ağırlıkları, gebelik haftalarına göre persantil çizelgesinde (57) değerlendirildi. Vücut ağırlıkları, gebelik haftasına göre 3 ve 10 persantil altında bulunan bebeklerden sadece bir tanesinin serum NSE düzeyi yüksek bulundu (Şekil 4.5).

NSE düzeyi 30 ng/mL üzerinde bulunan bebekler kontrole çağrılarak serum örneklerinin alınmasından sonraki sağlık durumları kontrol edilmiş, gerekli vakalarda yeniden NSE tayini yapılmıştır (Tablo 4.5). Bu bebeklerden serum NSE düzeyi 96,21 ng/mL bulunan bebeğin izleminde enfeksiyon nedeni ile antibiyotik değişikliği yapıldığı öğrenilerek çalışmadan çıkarıldı.



Şekil 4.5. Preterm bebeklerin gestasyonel yaşa göre vücut ağırlıklarının persantil değerleri

Tablo 4.4. Nöron spesifik enolaz değeri 30 ng/dL ve üzerinde olan hastaların klinik özellikleri

Vaka No*	Adı Soyadı	NSE düzeyi (ng/mL)	Gestasyonel Yaş (hf)	Kranial US	Abdomen US	Klinik Sorun	Son Görüldüğü Tarih	İzlem	Kontrol NSE düzeyi (ng/mL)
#4	Bb. D.	48,11	32	Normal	-	PFO	15.09.2010	Sağlıklı	
#5	Bb. Ç.	42,71	32	Normal	-	TPN	21.09.2010	Sağlıklı	
#8	Bb. İ.	49,95	32	-	-	İnguinal herni	14.09.2010	Sağlıklı	
#9	Bb. D.	59,36	32	-	-	Uzamış sarılık	15.09.2010	Sağlıklı	
#10	Bb. Ö.	48,06	30	Normal	-	Özellik yok	Ulaşılamadı	Bilinmiyor	
#11	Bb. D.	44,59	30	Normal	-	Özellik yok	Ulaşılamadı	Bilinmiyor	
#18	Bb. A.	30,68	31	Normal	-	Özellik yok	Ulaşılamadı	Bilinmiyor	
#26	Bb. A.	40,39	33	-	-	Uzamış sarılık	29.07.2010	Sağlıklı	
#33	Bb. B.	47,93	34	Normal	Normal	Uzamış sarılık	16.09.2010	Sağlıklı	25,1
#45	Bb. K.	51,39	37	-	-	Özellik yok	Ulaşılamadı	Bilinmiyor	
#59	Bb. Y.	30,48	39	-	-	Özellik yok	20.08.2010	Sağlıklı	
#65	Bb. M.	36,63	41	-	Normal	Özellik yok	04.09.2010	Sağlıklı	26,64
#77	Bb. A.	42,30	38	-	-	Özellik yok	25.08.2010	Sağlıklı	
#78	Bb. K.	33,70	38	-	-	Özellik yok	07.09.2010	Sağlıklı	

Kısaltmalar: PFO: Patent Foramen Ovale; TPN: Total Parenteral Nutrisyon.

*Ek 3' te verilen tablodaki vaka numaraları gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Bugüne kadar prematüreler dahil tüm yaş gruplarında serum NSE düzeyi değerlendirilirken erişkinler için belirlenmiş referans aralıkları kullanılmıştır. Ancak serum NSE düzeyi perinatal hipoksi, intrakranial kanama, enfeksiyon gibi klinik tablolardan etkilenebilen bir tümör belirleyicidir. Bu nedenle çocukluk yaş grubunda özellikle de prematüre bebeklerde yanlış değerlendirmelere yol açabilir. Bu çalışmada preterm ve term yenidoğanlar ile üç ayın altındaki sağlıklı bebeklerde serum NSE düzeyinin referans aralıklarını belirlemeyi amaçladık. Referans aralıklarını belirlemek için sağlıklı bebekler seçtik. Ancak prematürelilik kavramı kendi içinde yüksek morbidite barındırdığından, bu grupta NSE'yi yükselttiğini bildiğimiz faktörleri dışladığımız vakalarda serum NSE düzeylerini değerlendirdik. 139 bebeğin serum NSE düzeyinin değerlendirildiği bu çalışmada ortalama NSE düzeyi $15,25 \pm 12,19$ ng/mL bulundu. Üç ayın altındaki süt çocuklarında $9,09 \pm 4,38$ ng/mL olarak Roche “kit”lerinin erişkinler için belirlenmiş olduğu değerler içinde bulundu. Preterm ve term yenidoğanlarda ise sırasıyla $21,83 \pm 15,06$ ve $18,06 \pm 12,90$ ng/mL bulunarak serum NSE düzeyinin erişkin değerlerinden yüksek olduğu gösterildi.

Doğum öncesi ve doğum sırasında meydana gelen hipoksi NSE düzeyini en fazla etkileyen klinik tablolardan biridir. Asfiktik yenidoğanlarda yapılan birçok çalışmada (22-33) serum NSE düzeylerinin erken dönem beyin hasarının belirlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir. Asfiktik bebekler tanımlanırken 5. dakika APGAR skorunun 6'dan düşük olması ve kord arter kan gazında $pH < 7,20$ olması kriterleri kullanılmıştır (22). Biz term ve preterm bebeklerin doğum hipoksisini değerlendirirken 5. dakika APGAR skoru 6'dan düşük olan bebekleri çalışmamıza almadık. APGAR skoru uzun dönem prognoz tayininde etkili olmadığı için, bu değerlendirme postnatal ilk 5 gün içinde serum ayrılan bebeklerde yapıldı. Serum NSE düzeyi APGAR skoru düşük hastalarda yüksek bulundu. Bu da serum NSE düzeyinin subklinik hipoksiye bağlı nöronal hasarın göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Nagdyman ve arkadaşları yenidoğanlarda 24. saatte bakılan serum NSE düzeylerinin orta ve ciddi derecede hipoksik iskemik ensefalopatili (HİE) bebeklerde ($50,7$ ng/mL), hafif HİE'li olan ($34,8$ ng/mL) veya HİE'li olmayan bebeklere ($24,3$ ng/mL) göre daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (30). Aslan ve arkadaşlarının çalışmasında ise HİE'li olmayan term bebeklerde serum NSE düzeyi $10,5 \pm 5,8$ iken; evre 3 HİE'li bebeklerde $47,5 \pm 19,5$

ng/mL bulunmuştur (22). Betta ve arkadaşları (29) perinatal asfiksi tanısıyla izledikleri gebelik haftası $33,6 \pm 2,3$ ve doğum ağırlıkları 2150 ± 652 g olan 30 preterm bebeğin ilk 3 saat içinde, 24. saat, 40. saat ve 7. günde serum NSE düzeylerini çalışmışlardır. Ciddi HİE olarak tanımlanan grupta NSE düzeyleri belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuş ($37,9 \pm 22,3$ ng/mL) ve NSE düzeyinin 7. güne kadar progresif düştüğü ($11,7 \pm 9,1$ ng/mL) görülmüştür. Bu nedenle erken nöroprotektif tedavi uygulamaları için NSE'nin yol gösterici olabileceği öne sürülmüştür. Ancak bu çalışmada kontrol grubu sunulmamıştır.

Perinatal hipoksinin serum NSE düzeyini yükselten bir faktör olarak açıklanması üzerine Kintzel ve arkadaşları (34), 192 sağlıklı term yenidoğan bebekte kord kanındaki serum NSE referans aralıklarını araştırmışlardır. Antenatal komplikasyon, enfeksiyon, bozulmuş postnatal adaptasyon, hipoksi ve asidoz faktörleri dışlanmıştır. Enzim immünassay yöntemiyle, kord kanlarından bakılan ortalama NSE düzeyi 8 ng/mL; üst sınır 19,4 ng/mL bulunmuştur. Doğum ağırlığı ve cinsiyet ile serum NSE düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Doğum sırasındaki fetal strese bağlı olarak sağlıklı bebeklerde dahi, belirlenen üst sınır değerinin yüksek olabileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda doğum sırasında meydana gelen subklinik hipoksi ve doğum stresinin ekarte edilmesi amacıyla serum örnekleri en erken doğumdan 72 saat sonra alındı. Kord kanı örnekleri ve doğumdan sonraki ilk 72 saat içinde alınan kan örnekleri çalışma dışında tutuldu.

Sağlıklı yenidoğanlar ve annelerinde yapılan bir çalışmada postnatal 3. günde venöz kan alınarak immünoimetrik yöntemle serum NSE düzeyleri bakılmıştır (35). Annelerin venöz kan NSE düzeyi 3-14 ng/mL aralığında ve yenidoğan düzeylerinden (11-200 ng/mL) düşük bulunmuştur. Normal vajinal doğum ve sezaryan doğum arasında fark bulunmamıştır. Çalışmanın sağlıklı bebeklerle yapılmış olması yüksekliğin prenatal ya da perinatal travma veya hipoksi sonucu olmadığını göstermiştir. Çalışmamızda yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde, preterm bebeklerde belirgin olmak üzere serum NSE düzeylerinin erişkinlere göre daha geniş bir aralıkta olduğunu gözlemledik. Perinatal adaptasyon sırasındaki değişiklikler daha yüksek değerlerin bulunmasında etkili olabilir. Kan-beyin bariyerinin henüz olgunlaşmamış olması, beyin spesifik proteinlerin herhangi bir hasar olmaksızın kana geçişine izin verdiğini düşündürmüştür. Olası başka bir açıklama ise bu dönemde ölçülen proteinlerin fetal dönem boyunca timus ve yağ doku gibi farklı kaynakları olabileceğidir. Bu sonuçlar NSE'nin bağımsız fetal üretimi olduğunu düşündürmüştür.

Alfa-fetoprotein karaciğer hücresi tarafından hücre çoğalması sırasında sentezlenen bir glikoproteindir. Wu ve arkadaşları (59) 1981 yılında yaptıkları çalışmada, AFP'nin yenidoğan döneminde yüksek bulunduğunu ve 8. ayda erişkin değerlerine ulaştığını göstermişlerdir. Fetal kanda yüksek bulunan AFP düzeyinde doğumla birlikte hızlı bir düşüş görülmektedir. Neonatal hepatit hasarı, biliyer atrezi gibi hastalıkların ayırıcı tanısında önemli yer tutan AFP normal aralıklarının saptanması bir çok yanlış negatif sonucu engellemiştir. Benzer şekilde serum NSE düzeyi prematüre ve yenidoğanlarda hızla devam eden nöronal gelişim ya da bağımsız fetal üretim nedeniyle yüksek bulunabilir. Bu yaş grubunda referans aralıkların belirlenmesinin yanlış sonuç ve yönlendirmeleri engelleyeceğini düşünmekteyiz.

Tablo 5.1. Farklı yaş grubu çocuklarda ortalama serum AFP düzeyleri*

Yaş	Sayı	Ortalama±SD (ng/ml)
Prematüre	11	134734±41444
Yenidoğan	55	48406±34718
Yenidoğan- 2 hafta	16	33113±32503
2 hafta- 1 ay	43	9452±12610
1 ay	12	2654±3080
2 ay	40	323±278
3 ay	5	88±87
4 ay	31	74±56
5 ay	6	46,5±19
6 ay	9	12,5±9,8
7 ay	5	9,7±7,1
8 ay	3	8,5±5,5

*Kaynak 59'dan değiştirilerek alınmıştır.

Çok küçük prematüre bebeklerde NSE düzeyini etkileyebilecek bir başka faktör postpartum intraventriküler kanamalardır. İntraventriküler kanamaların %80-90'ı doğumla postnatal 3. gün arasında, %50'si ise ilk gün görülmektedir (58). Elimian ve arkadaşları (32,33) 24-32 gebelik haftasında preterm eylem nedeniyle incelenen 39 amniyon sıvı örneğinde hayatın ilk 7 günü içinde neonatal periventriküler lökomalazi ve intraventriküler kanama saptanan hastalarda NSE düzeylerini yüksek bulmuştur. Pellicer ve arkadaşları (28) intrakranial kanama saptanan, ortalama gebelik haftası $29,4 \pm 2,2$ olan 39 hastadan 72. saatte BOS örnekleri alarak; evre 3 parankimal kanaması olan hastalarda NSE düzeyini

yüksek ($144,8 \pm 21,5$ ng/mL) bulmuşlardır. Sonuç olarak NSE neonatal nöronal hasarın antepartum belirleyicisi olarak da değerlendirilebilir. Çalışmamızda term ve hipoksi öyküsü olmayan bebeklerde kranial US yapılmazken, preterm grupta özellikle 32 haftanın altında doğan bebeklere kranial US yapılarak değerlendirildi. Kan alınma anında hastalarda klinik olarak intrakranial kanama olmamasına dikkat edildi. Gelişmekte olan kanamalar fark edilmemiş olabileceği için hastaların serum ayrıldıktan sonraki dönemdeki klinik izlemleri dosyalarından takip edildi. Dosya değerlendirmesinde bebeklerde kanama saptanmadı. Ancak intrakranial kanamanın değerlendirilmesi için prematüre bebeklerin hepsine postnatal 3. gün ve gerekirse 7. günde kranial US yapılması daha doğru bir yaklaşım olacaktır.

Septik şok gelişen çocuk hastalarda nörolojik hasar göstergelerinin araştırıldığı birçok çalışmada serum NSE düzeyleri yüksek bulunmuştur (19-21). Çocuk beyнинin gelişimi normal nörolojik fonksiyon, yapısal gelişim ve büyüme için oksijen ve glukozu ihtiyacı duymaktadır. Bu nedenle oksijen ve glukoz alımındaki bozulmalar beyin gelişimini olumsuz etkilemektedir. Septik şok sırasında bu maddelerin yetersizliği sonucu reaktif oksijen ürünleri ve sitokinlerin salınımı, gelişmekte olan beyin yapısına zarar vermektedir. Eş zamanlı beyin hücre ölümü ve kan-beyin bariyerinin hasarı serum NSE düzeyinin yükselmesine yol açmaktadır (20). Sunulan bu çalışmada, seçilen bebeklerde ciddi enfeksiyon ve sepsis olmamasına dikkat edildi. Ancak profilaktik antibiyotik başlanan küçük prematüre bebekler çalışmaya dahil edildi.

Akman ve arkadaşları (39) hiperbilirubinemi nedeniyle takip edilen yenidoğanlarda serum NSE düzeylerini araştırmıştır. Serum NSE ve total bilirubin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak bilirubin düzeyi 25 mg/dL olan hastalarda daha yüksek serum NSE düzeyleri bulunmuştur. Bu çalışmayı gözönüne aldığımızda, kan değişimi gerektirecek düzeyde bilirubin yüksekliği saptanan bebekleri çalışmamıza dahil etmedik. Hiperbilirubinemi kan-beyin bariyerini geçecek yükseklikte olursa, nöronal hasar oluşturarak serum NSE düzeyini yükseltebilir. Çalışmamızda fizyolojik sınırlardaki bilirubin yüksekliği ile serum NSE düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin kullanımı giderek artmakta ve beraberinde birçok komplikasyonu da getirmektedir. Spontan gebeliklerle karşılaştırıldığında, kazanılması güç ve uzun zahmetler gerektiren ve sonrasında pek çok riskle karşı karşıya

kalınan bu gebelikler çok kıymetli olup, gebelik süresince dikkatle takip edilmelidir (50,51). Nöroblastom yenidoğan döneminde en sık görülen maliyn tümör olup, bu yaş grubundaki tümörlerin %30'unu oluşturmaktadır. Günümüzde obstetrik US'nin yaygın kullanımı, bu konudaki teknoloji ve tecrübenin giderek artması nedeni ile prenatal tanı konulan nöroblastom sayısı giderek artmaktadır. Nöroblastomun US ile prenatal tanısı ilk kez 1983 yılında Fenart ve arkadaşları (45) tarafından gösterilmiştir. Prenatal US'de solid ya da kistik adrenal kitle saptanması nöroblastom tanısı düşündürürken, ayırıcı tanıda adrenal abse, kist ya da renal anomaliler de düşünülmelidir.

Yenidoğan döneminde nöroblastomu taklit eden hatta histopatolojik olarak nöroblastomdan ayrılamayan sürrenal hiperplaziler sık görülmektedir. Bu durumlarda serum NSE düzeyleri muhtemelen yüksek bulunacaktır. Serum NSE düzeyi yüksek bulunan her hasta abdominal US ile değerlendirilmeli ve sürrenal kitle (bilateral olsa bile) belirlendiğinde hasta nöroblastom riski yönünden izlenmelidir. Ultrasonografik yöntemlerle tanımlanan, metastaz yapmamış, 5 cm'den küçük sürrenal kitleler hiçbir histolojik tanı girişimi yapılmadan; periyodik US ve VMA, NSE, ferritin gibi belirleyicilerle izlenmekte olup, bu belirleyicilerin normal serum düzeylerinin bilinmesi aşırı önem kazanmaktadır.

Bu çalışmada preterm ve term bebeklerin serum NSE düzeyleri, süt çocuklarına göre yüksek bulundu. Fetal dönemde sinir sisteminde meydana gelen hücresel hasarlar en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Biyokimyasal ölçümlerin avantajı henüz klinik ve radyolojik bulgular ortaya çıkmadan önce beyin lezyonları hakkında bilgi verebilmesidir. Merkezi sinir sisteminin büyüme ve gelişme temposunun en fazla hız kazandığı zamanlar fetal dönem ve doğumdan sonraki ilk aylardır. Ön beyin, orta beyin ve arka beyin oluşumu 5. haftada gerçekleşirken miyelinizasyon ise gebeliğin ikinci trimestirinde başlar ve erişkin yaşlara kadar devam eder. Bu nedenle maternal toksemi, plasental yetmezlik gibi dış faktörler ve takiben preterm eylem söz konusu olduğunda miyelinizasyona zarar vererek beyin fonksiyonları bozulmaktadır. Buna bağlı olarak NSE düzeyleri yüksek saptanabilir (60).

Çalışmamızda serum NSE değerleri tüm bebeklerin serumları ayrıldıktan sonra, toplu halde çalışıldı. Bu bebeklerin çoğu Adana ve Konya Başkent Hastaneleri'nde takip edildiği için serumların toplanması uzun bir zaman aralığına yayıldı. Sonuç olarak kan alınma zamanı ile NSE çalışması arasında ortalama 45-60 günlük zaman geçti.

Başlangıçta izlem planlamamıştık ancak sonuçlar değerlendirildiğinde yüksek düzeyler bulunması üzerine bebeklerin dosyaları incelenerek, aileleri ile telefonla görüşüldü. Gerekli durumlarda tetkik tekrarlanarak, abdominal US yapıldı. Ancak serum örnekleri tamamlandıktan sonra serum NSE düzeyi çalışıldığı ve bu arada uzun süre geçtiği için, çoğu aileye ulaşamadı. Sunulan bu çalışmada 39 preterm, 40 term ve 60 süt çocuğu olacak şekilde, referans aralık saptanması için sınırlı hasta sayısı ve tek serum örneği ile çalışılmıştır. Bundan sonraki çalışmalar için önerimiz daha fazla hasta sayısı ile, izlemde belli aralıklarla serum ayrılması ve NSE'nin en fazla 2 hafta içinde çalışılarak, yüksek değer çıkan bebeklerin ayrıntılı değerlendirilmesidir.

Türkiye'de büyük merkezlerde serum NSE düzeyinin değerlendirilmesinde farklı yöntem ve "kit"ler kullanılmaktadır. Serum NSE düzeyi değerlendirilirken hangi yöntemin kullanıldığı ve o yöntem için kabul edilen referans aralıklar göz önünde bulundurulmalıdır. Hastanemiz biyokimya laboratuvarında serum NSE düzeyi için referans aralıklar elektrokemiluminesans immünolojik test ile 4,7-18 ng/mL olarak değerlendirilmekte ve tüm yaş grupları için kullanılmaktadır. Çalışmamızda ise preterm, term ve üç aydan küçük bebeklerin ortalama serum NSE değerleri sırası ile $21,83 \pm 15,06$; $18,06 \pm 12,90$; $9,09 \pm 4,38$ ng/mL olarak bulunmuştur. Aynı sıralama ile gruplarda güvenlik aralığı sınırları 16,95-26,71; 13,94-22,19; 7,96-10,23 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle çocukluk çağında erişkin referans aralıklarının kullanılması uygun olmamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

A. SONUÇLAR:

Preterm, term yenidoğan ve üç ayın altındaki sağlıklı bebeklerde serum NSE referans aralıklarını belirlemek amacıyla yapılan ve toplam 139 bebeğin serum NSE düzeyinin çalışıldığı bu çalışmada ortalama NSE düzeyi $15,25 \pm 12,19$ ng/mL, güven aralığı (CI) 13,21-17,30 ng/mL olarak hesaplandı. En yüksek serum NSE değeri 40 haftalık bir bebekte 59,80 ng/mL olarak tespit edildi.

1. Preterm, term ve üç aydan küçük bebeklerin ortalama serum NSE değerleri sırası ile $21,83 \pm 15,06$; $18,06 \pm 12,90$; $9,09 \pm 4,38$ ng/mL olarak bulunmuştur. Aynı sıralama ile gruplarda güvenlik aralıkları 16,95-26,71; 13,94-22,19; 7,96-10,23 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Aynı gruplarda en yüksek (maksimum) serum NSE değerleri sırası ile 59,36; 59,80; 21,40 ng/mL idi. İstatistiksel değerlendirmede ortalama serum NSE değerleri yönünden preterm ve term yenidoğan grupları arasında fark bulunmazken; preterm bebeklerle üç aydan küçük bebekler arasında $p < 0,001$; term bebeklerle üç aydan küçük bebekler arasında $p < 0,001$ bulunmuştur.
2. Bir, iki ve üç aylık bebeklerde serum NSE değerleri güven aralığı kullanılan Roche “kit”lerinin erişkinler için belirlemiş olduğu değerler içinde bulundu.
3. Preterm ve term yenidoğanlarda güven aralığı kullanılan Roche “kit”leri güven aralıklarının dışında idi. Bu güven sınırı Roche “kit”leri yanında ülkemizde kullanılan diğer “kit” güven aralıklarının da dışında bulundu. Bu sonuçlarla preterm ve term yenidoğanlarda serum NSE değerlerinin erişkin değerlerinden farklı olduğu kanıtlandı.
4. Preterm ve term yenidoğanlarda yüksek NSE değerleri; tek değişken olarak kullanıldığında gestasyonel yaş, doğum ağırlığı, serum bilirubin ile 1. ve 5. dakika APGAR skorları ile ilişkisine bakıldı. Verilen sıralama ile korelasyon katsayıları $\rho = -0,212$; $\rho = -0,143$; $\rho = 0,150$; $\rho = -0,228$ ve $\rho = -0,246$ olarak hesaplandı. Serum NSE düzeyi ile 1. ve 5. dakika APGAR skorları arası ilişki istatistiksel olarak anlamlı ($\rho = -0,228$, $p < 0,05$; $\rho = -0,246$, $p < 0,05$) bulunmuştur ancak söz konusu ilişki oldukça zayıftır.

5. Gestasyonel yaş değişkenini ekarte etmek amacı ile sadece term bebeklerde doğum ağırlığı, serum bilirubin değerleri, 1nci ve 5nci dakika APGAR skorları ile NSE değerlerinin ilişkisine bakıldı. Yukarıda sıralanan parametrelerle serum NSE değerleri arasında korelasyon katsayıları sırası ile $\rho = -0,102$; $\rho = 0,149$; $\rho = -0,112$ ve $\rho = -0,118$ olarak hesaplandı. NSE ile bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı
6. Mevcut verilerle preterm ve term yenidoğan bebeklerdeki serum NSE değerlerinin yüksekliğinin subklinik hipoksiye ikincil santral sinir sisteminin etkilenmesine bağlı olma olasılığı en güçlü kuram olarak kaldı.
7. Bu çalışmada serum NSE değerleri için alınan örnekler biriktirilerek aynı anda çalışılmıştır. Bu nedenle ilk kan örneğinin alınması ile NSE değerinin belirlenmesi arasındaki süre; ortalama 60 gündür. En uzun süre 120 günün olarak bulunmuştur.

Serum NSE değeri belirgin derecede yüksek (30 ng/mL üzerinde) olan vakalar retrospektif olarak değerlendirilmiştir. NSE değeri en yüksek çıkan vaka (96,21 ng/mL) retrospektif değerlendirme ile sepsis kabul edilerek çalışma grubundan çıkarılmıştır. Yüksek bulunan diğer vakalarda yüksek NSE değerlerinin nörojenik bir tümör gelişimine ikincil olmadığı klinik-laboratuvar değerlendirmelerle gösterilmiştir.

B. ÖNERİLER:

1. Preterm ve term yenidoğanlarda serum NSE değerleri konusunda yapılacak çalışmalarda hipoksinin objektif olarak değerlendirildiği yöntemlere ihtiyaç vardır. Kord kanı değerlerinden başlanarak aynı vakanın değerleri ilk 15 gün içinde düzenli aralıklarla “progressiv” olarak izlenmelidir.
2. Bu tip bir çalışmada gerek etik, gerekse çalışmanın güvenilirliği açısından vakaların örnekleri alındıktan en fazla 7 gün içinde çalışılmalıdır.
3. NSE değerleri preterm ve term bebekler için bu çalışmanın üst güven sınırı olan 26,71 ve 22,19 ng/mL’nin üzerinde bulunan vakalar beniyin ve maliyn nörojenik tümörler ile NSE’yi yükselten tümör dışı hastalıklar yönünden yoğun bir şekilde taranmalıdır.

4. Nörojenik tümör düşünülüp serum NSE tayini yapılması düşünülen hastalarda ilk tayinin doğumdan sonraki 72nci saatten sonra yapılması özellikle vurgulanmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Oğuz H, Yasasever V. Moleküler tıpta tümör belirleyiciler. Türk Onkoloji Dergisi 2004;1:28-35.
2. Ayyıldız M.O, Kızılay E, Müftüoğlu E. Tümör markırları ve klinik kullanım alanları. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri 1999;19:114-122.
3. Hajdu SI. A note from history: The first biochemical test for detection of cancer. Ann Clin Lab Sci 2006;36:222-223.
4. Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche H, Kemeny NE, Jessup JM, Locker GY, Macdonald JS, Mennel RG, Norton L, Ravdin P, Taube S, Winn RJ. Tumor marker utility grading system (TMUGS): A framework to evaluate clinical utility of tumor markers. J Natl Cancer Inst 1996;88:1456-1466.
5. Marangos PJ, Schmechel DE. Neuron specific enolase, a clinically useful marker for neurons and neuroendocrine cells. Annu Rev Neurosci 1987;10:269-295.
6. Moore BW, McGregor D. Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver. J Biol Chem 1965;240:1647-1653.
7. Marangos PJ, Zomzely-Neurath C, Luk DJ, York C. Isolation and characterization of the nervous system-specific protein 14-3-2 from rat brain. J Biol Chem 1975;250:1884-1891.
8. Kaiser E, Kuzmits R, Pregant P, Burghuber O, Worofka W. Clinical biochemistry of neuron specific enolase. Clin Chim Acta 1989 ;183:13-31.
9. Kirino T, Brightman MW, Oertel WH, Schmechel DE, Marangos PJ. Neuron-specific enolase as an index of neuronal regeneration and re-innervation. J Neurosci 1983;3:915-923.
10. Cooper E.H, Pritchard J, Bailey C.C, Ninane J. Serum neuron-specific enolase in children's cancer. Br J Cancer 1987;56:65-67.

11. Day IN, Thompson RJ. Levels of immunoreactive aldolase C, creatine kinase-BB, neuronal and non-neuronal enolase, and 14-3-3 protein in circulating human blood cells. *Clin Chim Acta* 1984;136:219-228 (abstract).
12. Pelinka LE. Serum markers of severe traumatic brain injury: Are they useful? *Indian J Crit Care Med* 2004;8:190-193.
13. Leviton A, Dammann O. Brain damage markers in children. Neurobiological and clinical aspects. *Acta Paediatr* 2002;91:9-13.
14. Bulut S, Berilgen MS, Dolu Y, Müngen B. Akut iskemik strokta serum nöron-spesifik enolaz'ın prognostik değeri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2003;34:81-85.
15. Berilgen MS, Polat N, Bulut S, Müngen B. İntraserebral kanamanın klinik seyrinde serum nöron spesifik enolaz'ın değeri. *Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi* 2005;25:41-45.
16. Ekmektzoglul KA, Xanthos T, Papadimitriou L. Biochemical markers (NSE, S-100, IL-8) as predictors of neurological outcome in patients after cardiac arrest and return of spontaneous circulation. *Resuscitation* 2007;75:219-228.
17. Rech TH, Vieira SR, Nagel F, Brauner JS, Scalco R. Serum neuron-specific enolase as early predictor of outcome after in-hospital cardiac arrest: a cohort study. *Crit Care* 2006;10: R133.
18. Rodríguez-Núñez A, Cid E, Rodríguez-García J, Rodríguez-García J, Camiña F, Rodríguez-Segade S, Castro-Gago M. Neuron-specific enolase, nucleotides, nucleosides, purine bases, oxypurines and uric acid concentrations in cerebrospinal fluid of children with meningitis. *Brain Dev* 2003;25:102-106.
19. Nguyen DN, Spapen H, Su F, Schiettecatte J, Shi L, Hachimi-Idrissi S, Huyghens L. Elevated serum levels of S-100 beta protein and neuron-specific enolase are associated with brain injury in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2006 ;34:1967-1974.
20. Hsu AA, Fenton K, Weinstein S, Carpenter J, Dalton H, Bell MJ. Neurological injury markers in children with septic shock. *Pediatr Crit Care Med* 2008;9:245-251.
21. Weigand MA, Volkmann M, Schmidt H, Martin E, Böhrer H, Bardenheuer HJ. Neuron-specific enolase as a marker of fatal outcome in patients with severe sepsis or septic shock. *Anesthesiology* 2000;92:905-907.
22. Aslan Y, Karahan SC, Şen Y, Ödemiş E, Orhan F, Alver A, Hacısalıhoğlu Ş, Barlak Y. Hipoksik iskemik ensefalopatili yenidoğanlarda erken dönem beyin hasarının

belirlenmesinde nöron spesifik enolaz, protein S-100 ve kreatin kinazın rolü. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi 2003;12:180-187.

23. Çeltik C, Acunaş B, Öner N, Pala Ö. Neuron-specific enolase as a marker of the severity and outcome of hypoxic ischemic encephalopathy. *Brain Dev* 2004 26:398-402.
24. Ezgü FS, Atalay Y, Gücüyener K, Tunç S, Koç E, Ergenekon E, Tıraş U. Neuron-specific enolase levels and neuroimaging in asphyxiated term newborns. *J Child Neurol* 2002;17:824-829.
25. Thomberg E, Thiringer K, Hagberg H, Kjellmer I. Neuron specific enolase in asphyxiated newborns: Association with encephalopathy and cerebral function monitor trace. *Arch Dis Child* 1995;72:39-42.
26. Garcia-Alix A, Cabanas F, Pellicer A, Hernanz A, Stiris TA, Quero J. Neuron-specific enolase and myelin basic protein: relationship of cerebrospinal fluid concentrations to the neurologic condition of asphyxiated full-term infants. *Pediatrics* 1994;93:234-240.
27. Giuseppe D, Sergio C, Pasqua B, Giovanni LV, Salvatore C, Frigiola A, Petra H, Maurizio A. Perinatal asphyxia in preterm neonates leads to serum changes in protein S-100 and neuron specific enolase. *Curr Neurovasc Res* 2009;6:110-116 (Abstract).
28. Pellicer A, Cabanas F, Garcia-Alix A, Hernanz A, Stiris TA, Perez J, Quero J. Neuron specific enolase in preterm babies with brain damage. *Pediatr Res* 1992;32:630 (Abstract).
29. Betta P, Curreri R, Romeo MG, Amato M, Distefano G. Biochemical markers of regional brain injury in preterm babies with perinatal asphyxia. *Pediatr Res* 2005;58:360 (Abstract).
30. Nagdyman N, Kömen W, Ko H, Müller C, Obladen M. Early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy after birth asphyxia. *Pediatr Res* 2001;49:502-506.
31. Wijnberger LD, Nikkels PG, Van Dongen AJ, Noorlander CW, Mulder EJ, Schrama LH, Visser GH. Expression in the placenta of neuronal markers for perinatal brain damage. *Pediatr Res* 2002;51:492-496.
32. Elimian A, Figueroa R, Patel K, Visintainer P, Sehgal PB, Tejani N. Reference values of amniotic fluid neuron-specific enolase. *J Matern Fetal Med* 2001;10:155-158.

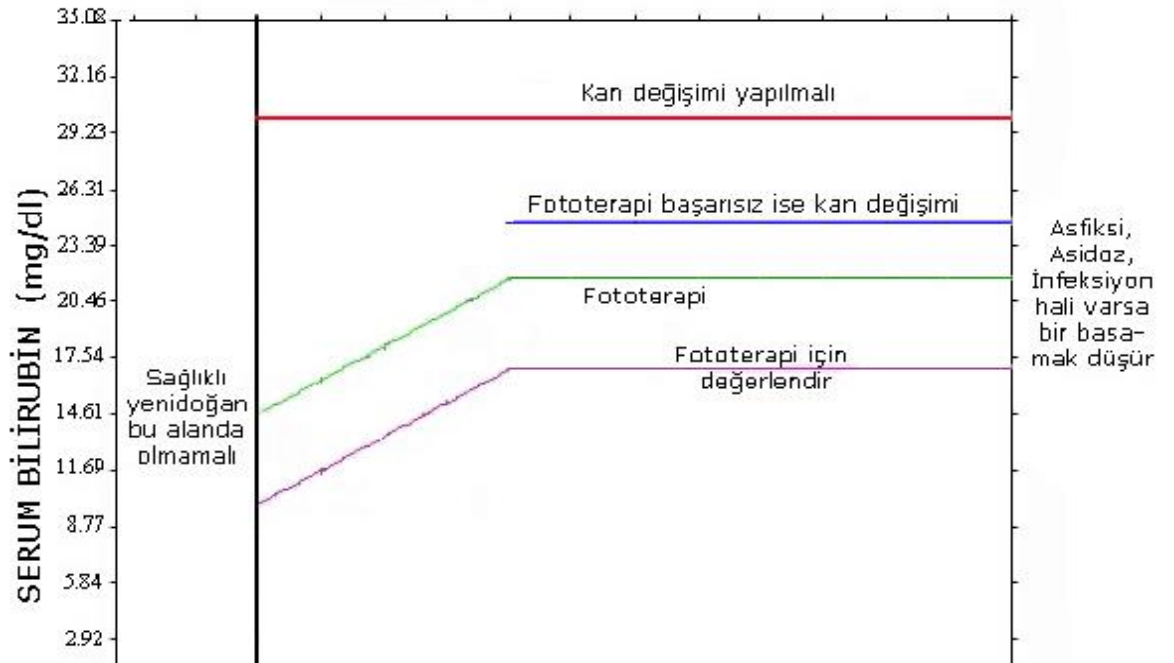
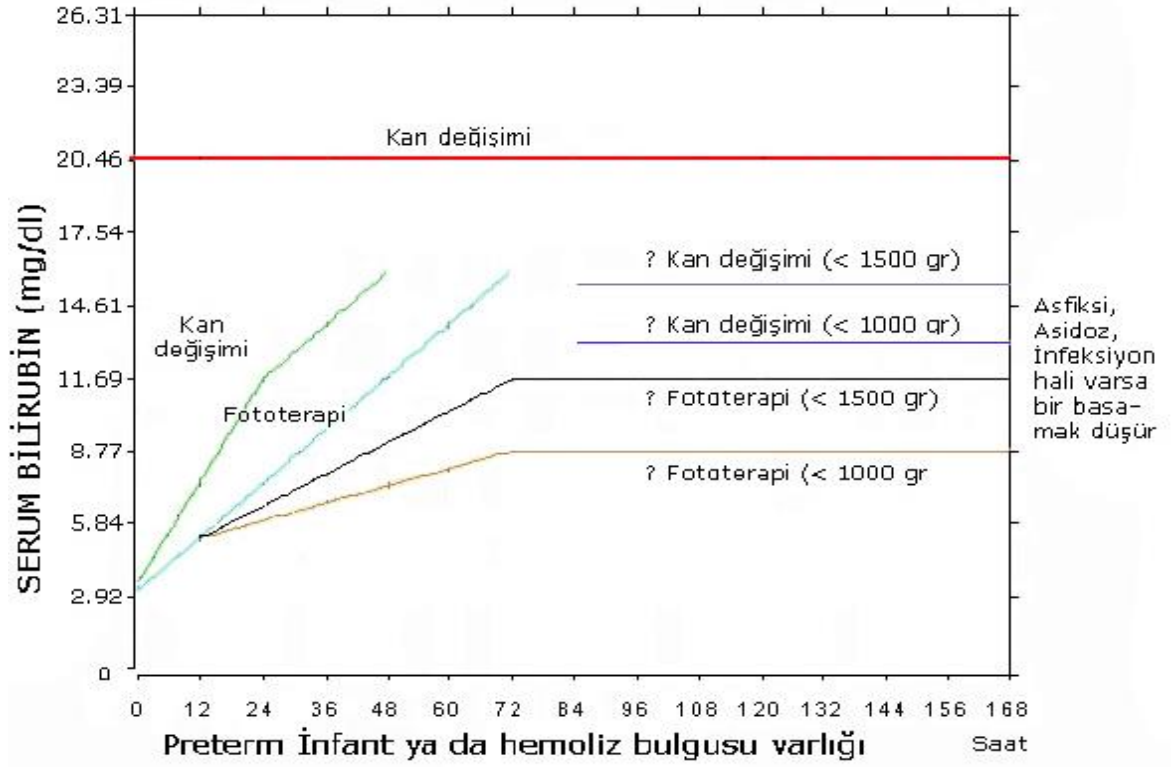
33. Elimian A, Figueroa R, Verma U, Visintainer P, Sehgal PB, Tejani N. Amniotic fluid neuron-specific enolase: a role in predicting neonatal neurologic injury? *Obstet Gynecol.* 1998;92:546-550.
34. Kintzel K, Sonntag J, Strauß E, Obladen M. Neuron-specific enolase: Reference values in cord blood. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:245-247.
35. Amer-Wahlin I, Herbst A, Lindoff C, Thorngren-Jerneck K, Marsal K, Alling C. Brain-specific NSE and S-100 proteins in umbilical blood after normal delivery. *Clinica Chimica Acta* 2001;304:57-63.
36. Collazos J, Estaban C, Fernandez A. Neuron-specific enolase concentrations in serum in nonneoplastic patients with pneumonia. *Clin Chem* 1994;40:266.
37. Collazos J, Genolla J, Ruibal A. Neuron-specific enolase concentrations in serum benign liver diseases. *Clin Chem* 1991;37:579-581.
38. Strauss G, Christiansen M, Moller K, Clemmesen J, Larsen F, Knudsen G. S-100b and neuron-specific enolase in patients with fulminant hepatic failure. *Liver Transplant* 2001;7:964-970.
39. Akman İ, Özek E, Kulekci S, Türkdoğan D, Cebeci D, Akdaş F. Auditory neuropathy in hyperbilirubinemia: is there a correlation between serum bilirubin, neuron-specific enolase levels auditory neuropathy? *Int J Audiol* 2004;43:516-522.
40. Abdullah ST, Albaki AO, Osman KS. Evaluation of auditory brainstem evoked responses and neuron-specific enolase for detection of auditory neuropathy in neonatal hyperbilirubinemia. *J Pediatr* 2005;19:423-428.
41. Neuron Specific Enolase (NSE) ELISA (EIA-4424), NSE RIA (RIA-3665), NSE IRMA (RIA-4411) (<http://www.drginternational.com/int/index.php>).
42. Ishola TA, Chung DH. Neuroblastoma. *Surg Oncol* 2001;16:149-156.
43. Castleberry RP. Neuroblastoma. *Eur J Cancer* 1997;33:1430-1438.
44. Lukens JN. Neuroblastoma in the neonate. *Semin Perinatol* 1999;23:263-273.
45. Acharya S, Jayabose S, Kogan SJ, Tugal O, Beneck D, Leslie D, Slim M. Prenatally diagnosed neuroblastoma. *Cancer* 1997;80:304-310.
46. Woods WG, Gao RN, Shuster JJ, Robison LL, Bernstein M, Weitzman S, Bunin G, Levy I, Brossard J, Dougherty G, Tuchman M, Lemieux B. Screening of infants and mortality due to neuroblastoma. *N Engl J Med* 2002;346:1041-1046.
47. Simon T, B Hero, Hunneman DH, Berthold F. Tumour markers are poor predictors for relapse or progression in neuroblastoma. *Eur J Cancer* 2003;9:1899-1903.

48. Hero B, Simon T, Spitz R, Emestus K, Gnekow AK, Scheel-Walter HG, Schwabe D, Schilling FH, Benz-Bohm G, Berthold F. Localized infant neuroblastomas often show spontaneous regression: results of the prospective trials NB95-S and NB97. *J Clin Oncol* 2008;26:1504-1510.
49. Ho PTC, Estroff JA, Kozakewich H, Shamberger RC, Lillehel CW, Grier HE, Diller L. Prenatal detection of neuroblastoma: a ten-year experience from the Dana-Farber Cancer Institute and Children's Hospital. *Pediatrics* 1993;92:358-641.
50. Olivennes F, Fanchin R, Lédée N, Righini C, Kadoch IJ, Frydman R. Perinatal outcome and developmental studies on children born after IVF. *Hum Reprod Update* 2002;8:279-290.
51. Aboulghar MA. Perinatal complications of assisted reproduction. *Croat Med J* 2005;46:751-758.
52. International Federation of Clinical Chemistry and International Committee for Standardization in Hematology: Approved recommendation on the theory of reference values. Part 5 Statistical treatment of the calculated reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:645-656.
53. Balcı Y. Laboratuvar Hasta Verileri Kullanılarak Biyokimya Testlerinde Referans Aralıkları Belirlenmesi. Uzmanlık tezi, Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul , 2006.
54. Montgomery K.S. Apgar Scores: Examining the long-term significance. *J Perinat Educ* 2000; 9:5-9.
55. American Academy of Pediatrics. Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics* 2004;114:297–316.
56. Macones GA. Prematurity: Causes and Prevention. In: Avery's Disease of the Newborn, 8th edition. Taeusch W, Ballard RA, Gleason CA (Eds). Elsevier, 2004, pp: 139-145.
57. Fenton TR. A new growth chart for preterm babies: Babson and Benda's chart updated with recent data and a new format. *BMC Pediatr* 2003;3:13-22.
58. Adams- Chapman I, Stoll BJ. Nervous System Disorders. In: Nelson Textbook Of Pediatrics, 17th edition, Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds). Saunders, 2004, pp: 561- 568.

59. Wu JT, Book L, Sudar K. Serum alpha-fetoprotein (AFP) levels in normal infants. *Pediatr Res* 1981;15: 50-52.
60. Portakal O, Deren Ö. Beyine özgü proteinler ve tanıda kullanımları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2010;41:135-141.

8. EKLER

EK 1. Preterm ve term yenidoğanların saat spesifik bilirubin değerlerine göre fototerapi ve kan değişimi tespiti (56)



EK 2. Klinik Araştırma Başvuru Formu, Araştırma Projesi ve Gönüllü Denek Bilgilendirme ve Onam Formu

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

DOKÜMAN NO: BÜ-E/Ö-TP-F-FRM-010
SAYFA SAYISI: 1/1
REVİZYON NO: 01
UYGULAMA TARİHİ: 01.04.2006

**KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURU
FORMU**

Protokol no. (boş bırakınız)

ARAŞTIRMACI TARAFINDAN DOLDURULACAK

Projenin adı: **Üç Aydan Küçük Çocuklarda Serum Nöron Spesifik Enolazın Normal Değerleri**

☒ Tez

Biyoistatistik ön değerlendirme:* ☐ Yapıldı ☐ Yapılmadı ☒ Gerekmiyor

	Adı ve Soyadı	Anabilim/Bilim Dalı	Telefon**
Proje yürütücüsü :	Arş. Gör. Aslıhan Abbasoğlu	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	535 664 1394
Diğer araştırmacılar	1. Prof. Dr. Faik Sarıalioğlu	Çocuk Onkolojisi	505 525 2861
	2. Öğr. Gör. Dr. Ayşe Erbay	Çocuk Onkolojisi-Adana	505 479 0559
	3. Uzm. Ecz. Ayşegül Haberal	Klinik Biyokimya Laboratuvarı	543 892 9595

Bilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Faik Sarıalioğlu

İmza
Tarih: 10.02.2010

Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Namık Özbek

İmza
Tarih: 10.02.2010

ARAŞTIRMA KURULUNCA DOLDURULACAK

Projenin teslim tarihi : İlk inceleme tarihi :

Finans kaynağı : ☐ Üniversite ☐ Ek finans gerekmiyor
: ☐ Üniversite dışı (belirtiniz) :

Maliyet analizi :

Etik kurulu onayı : Yerel ☐ Gerekmiyor ☐ Gerekli: ☐ Alındı ☐ Alınmadı
Merkezi ☐ Gerekmiyor ☐ Gerekli: ☐ Alındı ☐ Alınmadı

Değerlendirmeler : ☐ İlk ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ Diğer
.....

Sonuç : ☐ Kabul edildi ☐ Reddedildi

Araştırma Kurulu adına onaylayan		İmza Tarih:
----------------------------------	--	-------------

PRETERM, TERM VE ÜÇ AYDAN KÜÇÜK BEBEKLERDE SERUM NÖRON SPESİFİK ENOLAZ DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Giriş ve Genel Bilgiler

Tümör hücreleri tarafından kana salınarak serumda, idrarda ya da vücut sıvılarında (örneğin beyin omurilik sıvısı) tespit edilebilen veya tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunarak immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenebilen maddelere tümör belirleyicileri adı verilir. Tümör belirleyicilerinden; kanser taramalarında, kanser tanısında, primer tümörlerin veya metastazlarının belirlenmesinde, onkolojik tedavi yönteminin seçiminde, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde, tümör yinelemelerinin erken tanısında ve diğer yöntemlerle kombine edilerek metastatik alanların belirlenmesinde yararlanılmaktadır. Erişkin onkolojide kullanılan çok sayıdaki tümör belirleyicisine karşın pediatrik onkolojide bu moleküllerin sayısı çok sınırlıdır.

Nöron spesifik enolaz (NSE), ilk kez 1965 yılında Moore ve MacGregor¹ tarafından glikolitik bir enzim olan 2-fosfo-D-gliserat-hidrolaz enziminin bir izo enzimi olarak tanımlanmıştır.² Önceleri NSE'yi kodlayan genin sadece santral sinir sistemi hücrelerinde bulunduğu düşünülmüştür.³ Daha sonraki çalışmalarda aynı genin nöroendokrin hücrelerde de bulunduğu düşünülmüştür. Dolayısı ile önceleri sadece sinir sistemi hastalıkları ile ilgili olduğu düşünülen NSE, sonraları “islet”- hücreli tümörler, medüller tiroid karsinoma, “oat” hücreli akciğer karsinomu, amin-purin “uptake” ve dekarboksilasyonu yapan tümörlerde (APUDOMA) de tespit edilmiştir.⁴ Nöro-endokrin dokularda tespit edilmesi nörona olan özgüllüğünü kaybettirirken, nöral veya nöro-endokrin sisteminin tümör dışı hastalıklarında da serumda yüksek bulunması tümöre özgüllüğünü de kaybettirmiştir. Bu özelliğini vurgulamak isteyen onkologlar enzimi “non-spesifik enolaz” diye ifade eder olmuşlardır.

Nöroendokrin dokularda bulunması ile nörona özgüllüğünü ve tümör dışı hastalıklarda da serum değerlerinin yükselmesi ile tümör belirleyicisi olma özelliğini yitiren NSE, tümör taramalarında kullanılmamaktadır. Çocuk onkolojide kullanım alanı; NSE pozitif olduğu

bilinen tümörlerin izlemi, tümör yinelemelerinin erken tanımlanmasına sınırlanan NSE'nin, bu amaçlarla en sık kullanıldığı tümör nöroblastomalardır.

Pediyatrik tümörler içinde %6-8'lik bir oranla lösemi, lenfoma ve santral sinir sistemi tümörlerinden sonra en sık görülen tümörler arasında yer alan nöroblastomun yaş küçüldükçe görülüş sıklığı artmaktadır. Nöroblastoma 0-5 yaş grubunda abdomende en sık yerleşen iki tümörden biridir. Neonatal tümörler içinde %70 oranı ile ilk sırayı almaktadır.

Nöroblastomun en ilginç yönü; tüm onkolojide en sık spontan regresyon gösteren tümör olmasıdır.⁵ 1970'li yıllarda idrarda vanil mandelik asit (VMA) bakılarak yapılan neonatal dönem toplum taramalarında tespit edilen sürrenal kitlelerin büyük çoğunluğunun spontan gerilediği veya ortadan kalktığı gösterilirken son yıllarda ilk bir yaş içinde ultrasonografi ile rastlantısal olarak belirlenen sürrenal kitlelerin de spontan regresyon gösterebilecekleri kanıtlanmıştır. Diğer taraftan prenatal tıpta ultrasonografinin tıpta yaygın kullanımı sürrenal kitlelerin veya anormalliklerin tanısını prenatal döneme çekmiştir.⁶ Neonatal sürrenal kitlelerin izleminde yaşanan tereddütler daha da artmıştır. Son ama çok önemli bir sorun da IVF gebeliklerde çoğul gebelik ve prematür doğum oranının belirgin derecede artmış olmasıdır.⁷

İntra-uterin dönem, prematürelilik, neonatal ve erken bebeklik döneminde (<3 ay) ultrasonografik yöntemlerle tanımlanan metastaz yapmamış, 5 cm'den küçük sürrenal kitleler hiçbir histolojik tanı girişimi yapılmadan periyodik ultrasonografi ve VMA, NSE, ferritin gibi belirleyicilerle izlenmektedir. Bu belirleyicilerin normal serum düzeylerinin bilinmesi aşırı önem kazanmaktadır.

Çocukluk çağında da NSE'nin normal serum düzeyleri için erişkinlerdeki standart değerler kullanılmaktadır. Yarılanma ömrü ~20 saat olan bu enzim-proteinin prematürelilikteki değerleri konusunda ise hiçbir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı; prematürelilik, yenidoğan ve üç ayın altındaki sağlıklı bebeklerde serum NSE normal değerlerini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın konusu; prematürelilik, yenidoğan ve üç ayın altındaki sağlıklı bebeklerdeki serum NSE değerlerinin belirlenmesidir. Prematürelilik dönemi 28-32 haftalar, 33-36

haftalar, 37-40. haftalar olmak üzere üç döneme ayrılacaktır. Buna ek olarak yenidoğan, bir aylık, iki aylık ve üç aylık bebeklik dönemleri olarak 4 ayrı dönem daha olmak üzere toplam 7 dönem belirlenmiştir. Yenidoğan, bir, iki ve üç aylık dönemler için sırası ile 0-15, 30-45, 60-75, 90-105 günlerde her yaş grubu için toplam 20 bebekten herhangi bir nedenle alınan kanlardan serum örneği ayrılacaktır.

Çalışma; Başkent Üniversitesi Ankara ve Adana Hastaneleri prematüre-yenidoğan servisleri ve yenidoğan izlem polikliniklerinde görülen bebeklerde yapılacaktır. Çalışma grubuna alınacak prematüre bebeklerde prematürelilik dışında herhangi bir sorunun bulunmamasına dikkat edilecektir. Yenidoğan döneminde fizyolojik düzey hiperbilirubinemili bebekler çalışmaya alınacaktır. Bir, iki ve üç aylık grupta ise sistemik hastalığı veya akut veya kronik enfeksiyonu olmayan bebeklerden rutin kontrolleri sırasında yapılan tetkiklerden serum örneği ayrılacaktır. Bu gruplardan çalışma nedeni ile ayrıca kan alınmayacaktır.

Çalışma grubundaki kişilerden toplam 2 ml venöz kan alınacak, kanlar santrifüj edilerek serum örnekleri çalışılana değin -80°C derin dondurucuda saklanacaktır. Serum değerlerinin tayininde elektrokemilüminesans immünolojik test (ECLIA) yöntemi kullanılacaktır. Bu yöntem için Roche firmasınca üretilen Elecsys-2010 cihazı ve aynı firmanın hazır kitleri kullanılacaktır.

Değerlendirme ve istatistik: Çalışma, her birinde 20 kişi olmak üzere, 7 yaş grubunda toplam 140 kişide yapılacaktır. Sonuçlar grup ortalamaları $\pm\text{SD}$ olarak ifade edilecektir.

Beklentiler ve Bilimsel Katkıları

Bir taraftan prenatal tıpta ultrasonografinin yaygın kullanımı, diğer taraftan IVF gebeliklerde prematüre doğum oranının artmasına bağlı olarak prematürelilik, yenidoğan ve erken bebeklik döneminde sürrenal kitlelerin saptanma sıklığındaki artış, bu hastalarda nöroblastoma tanımlanma ve cerrahi girişim riskinin arttırmıştır. Bu dönemlerde rastlanılan surrenal kitleler belirli algoritmalar çerçevesinde invaziv girişimler yapılmadan izlenebilmektedir. Bu konuda yol göstericilerden biri de serum NSE düzeyleridir.

Literatür taramamızda derecesine göre prematürelilik, yenidoğan ve erken bebeklik dönemindeki serum NSE düzeylerini konu alan ayrıntılı bir çalışmaya rastalamadık. Bu

Çalışmanın alanındaki boşluğu tamamlayacağına ve serum NSE' nin bu yaş gruplarındaki normal serum değeri için önemli bir referans olacağına inanıyoruz.

Kaynaklar:

1. Moore BW, McGregor D. Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver. J Biol Chem 1965;240:1647-53.
2. Kaiser E, Kuzmits R, Pregant P, Burghuber O, Worofka W. Clinical biochemistry of neuron specific enolase, Clin Chim Acta 1989 ;183:13-31.
3. Marangos PJ, Zomzely-Neurath C, Luk DJ, York C. Isolation and characterization of the nervous system-specific protein 14-3-2 from rat brain. J Biol Chem 1975;250:1884-91.
4. Tapia FJ, Polak JM, Barbosa AJ, Bloom SR, Marangos PJ, Dermody C, Pearse AG. Neuron-specific enolase is produced by neuroendocrine tumours. Lancet 1981;1:808-11.
5. Hero B, Simon T, Spitz R, Ernestus K, Gnekow AK, Scheel- Walter HG, Schwabe D, Schilling FH, Benz- Bohm G, Berthold F. Localized infant neuroblastomas often show spontaneous regression: results of the prospective trials NB95-S and NB97. J Clin Oncol 2008; 26:1504-10.
6. Acharya S, Jayabose S, Kogan SJ, Tugal O, Beneck D, Leslie D, Slim M. Prenatally diagnosed neuroblastoma. Cancer 1997;80:304-10.
7. Olivennes F, Fanchin R, Lédée N, Righini C, Kadoch IJ, Frydman R. Perinatal outcome and developmental studies on children born after IVF. Hum Reprod Update 2002;8:279-90.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

DOKÜMAN NO: BÜ-E/Ö-TP-F-FRM-013
SAYFA SAYISI: 1/1
REVİZYON NO: 00
UYGULAMA TARİHİ: 15.07.2001

GÖNÜLLÜ DENEK BİLGİLENDİRME VE ONAY FORMU

Araştırmanın konusu	:	Üç Aydan Küçük Çocuklarda Serum Nöron Spesifik Enolazın Normal Değerleri
Araştırmanın amacı	:	Çocuklarda Serum Nöron Spesifik Enolazın Normal Değerlerinin araştırılması
Araştırmaya katılma süresi	:	30 dakika
Araştırmaya katılacak yaklaşık gönüllü sayısı	:	140

Hastalıkların tanısında sık yapılan laboratuvar çalışmaları arasında kan alınarak yapılan testler gelir. Bu testlerin çoğunda normalde kanda bulunan maddelerin değerlerindeki değişimler hastalıkların teşhisi amacı ile kullanılır. Araştırılan maddenin kandaki değeri hastanın yaşına ve bazen de cinsiyetine göre değişir. En büyük değişikliklere erken bebeklik dönemi ve prematürelilik döneminde rastlanır.

Son yıllarda kanda ölçülen, tıbbi adı ile “nöron-spesifik enolaz” adı verilen bir enzim çocukluk çağının bir tümörü olan nöroblastoma adı verilen bir tümörün erken teşhisinde artan oranda kullanılmaktadır. Ne var ki; sağlıklı bebeklerdeki normal düzeyleri iyi bilinmediğinden ölçülen değer yorumlanmasında sıkıntı çekilmektedir. Üniversitemizde premature bebeklerde, zamanında doğan bebeklerde ve ilk üç ay içerisindeki bebeklerde bu maddenin referans değerlerini belirlemek amacı ile bir çalışma planlanmıştır.

Bu çalışmada araştırılan maddenin referans değerleri belirlenebileceğinden ölçümün tamamen sağlıklı bebeklerde yapılması gerekmektedir. Sizden bu araştırmaya katılarak serum nöron-spesifik enolazın tespiti ve değerlendirilmesine katkıda bulunmanızı rica ediyoruz. Söz konusu araştırma için rutin kontrolleri sırasında yapılan tetkiklerden serum ayrılacaktır. Bebeğinizden ayrıca kan alınmayacaktır ve bebeğinize hiçbir zarar vermeyecektir.

Herhangi bir sorun ya da sorunuz olursa iletişim kuracağınız kişi ve iletişim bilgileri aşağıdadır.

Yukarıdaki, araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum. Bana, tanık huzurunda, aşağıda konusu belirtilen araştırmayla ilgili yazılı ve sözlü açıklama yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve katılmama hakkımın olduğunu, araştırma başladıktan sonra devam etmeyi istememe hakkına sahip olduğum gibi, kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızam ile katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜ	
Adı Soyadı:	Telefon : (0)
Adresi:	Faks : (0)
Bilgi verebilecek kişi:	<i>İmza</i>
VELİ , VASİ VEYA VEKİL	
Adı Soyadı:	Telefon : (0)
Adresi:	Faks : (0)
Yakınlığı:	<i>İmza</i>
ARAŞTIRMACI	
Adı Soyadı: Arş. Gör. Dr. Aslıhan Abbasoğlu	Telefon : (0312 2126868-1305)
Adresi: Başkent Üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD.	Faks : (0312 2157597)

GEREKTİĞİNDE GÖNÜLLÜ VEYA YAKINININ BİLGİ İÇİN BAŞVURABİLECEĞİ KİŞİ	
Adı Soyadı: Arş. Gör. Dr. Aslıhan Abbasoğlu	Telefon : (03122126868-1305)
Adresi: Başkent Üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD.	Faks : (0312 2157597)

EK 3. NSE çalışılan vakaların genel özellikleri (Not: Açıklamalar için son sayfaya bakınız.)

PRETERM (28-36 HAFTA ARASI) BEBEK GRUBU												
Vaka No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırl. (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1.dk - 5.dk	T. Bil.	D. Bil.	Kranial US	NSE
1	Bb. D.	5****9	28	3	NSVY	1300	E	8 - 9	7,60	0,11	N	4,12
2	Bb. D.	5****6	30	4	NSVY	1470	E	7 - 8	6,38	0,10	N	5,69
3	Bb. G.	5****1	30	3	C/S	1400	E	7 - 8	7,58	0,35	N	14,97
4	Bb. D.	5****9	32	4	C/S	1680	E	8 - 10	7,19	0,37	N	48,11
5	Bb. Ç.	5****1	32	3	C/S	1440	E	8 - 9	11,09	0,22	N	42,71
6	Bb. A.	5****2	32	5	C/S	1760	E	8 - 9	10,60	0,35	N	12,93
7	Bb. K.	5****7	32	5	C/S	1900	E	8 - 9	9,52	0,46	Ø	18,18
8	Bb. İ.	5****8	32	5	C/S	1660	E	7 - 8	11,99	0,10	Ø	49,95
9	Bb. D.	5****7	32	3	C/S	2380	E	8 - 9	11,16	0,34	Ø	59,36
10	Bb. Ö.	3****1	30	5	C/S	1310	E	6 - 7	Ø	Ø	Ø	48,06
11	Bb. D.	3****2	30	5	C/S	1900	E	7 - 8	10,50	0,80	Ø	44,59
12	Bb. Ç.	3****5	28	5	C/S	850	E	7 - 7	Ø	Ø	Ø	25,41
13	Bb. M.	6****7	30	9	C/S	1570	E	6 - 8	8,05	0,64	N	21,40
14	Bb. T.	6****3	30	9	C/S	810	K	6 - 8	5,20	Ø	N	15,83
15	Bb. S.	6****4	30	9	C/S	940	K	7 - 9	6,17	Ø	Ø	6,70
16	Bb. K.	6****6	32	8	C/S	1520	K	8 - 9	6,93	0,76	Ø	13,74
17	Bb. Ö.	6****2	32	8	C/S	1640	E	8 - 9	10,80	0,50	N	11,04
18	Bb. A.	3****0	31	9	C/S	1560	E	7 - 8	Ø	Ø	Ø	30,68
19*	Bb. S.	3****9	31	9	C/S	1550	K	7 - 7	Ø	Ø	Ø	96,21
20	Bb. G.	3****1	28	10	C/S	1140	K	7 - 8	4,40	0,40	Ø	28,41

→devamı var

EK 3. (devam)

PRETERM (28-36 HAFTA ARASI) BEBEK GRUBU												
Vaka No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırl. (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1.dk - 5.dk	T. Bil.	D. Bil.	Kranial US	NSE
21	Bb. K.	5****1	34	3	C/S	2270	K	7 - 9	8,13	0,57	Ø	6,17
22	Bb. D.	5****2	34	3	C/S	2050	E	8 - 9	7,70	0,12	Ø	9,95
23	Bb. G.	6****8	33	3	NSVY	2200	E	7 - 9	6,10	Ø	N	14,35
24	Bb. K.	6****8	34	5	C/S	2110	K	8 - 9	8,24	0,11	N	23,78
25	Bb. B.	5****7	36	3	C/S	1960	K	8 - 9	10,36	0,39	Ø	20,71
26	Bb. K.	5****7	34	3	NSVY	2430	E	8 - 10	9,29	0,53	Ø	8,79
27	Bb. A.	5****6	33	4	NSVY	2100	K	8 - 9	11,30	0,40	Ø	40,39
28	Bb. D.	5****7	35	4	C/S	2320	E	8 - 9	14,10	0,24	Ø	21,97
29	Bb. N.	5****9	35	4	C/S	2370	E	8 - 9	6,50	0,31	Ø	14,92
30	Bb. I.	5****2	36	3	C/S	2800	K	9 - 10	12,30	0,60	Ø	8,95
31	Bb. M.	6****4	34	4	NSVY	2790	E	8 - 9	10,37	0,50	Ø	14,50
32	Bb. K.	3****4	36	5	C/S	2320	K	8 - 9	Ø	Ø	Ø	20,40
33	Bb. Ö.	5****2	35	6	C/S	2260	E	9 - 10	12,76	0,10	Ø	4,79
34	Bb. B.	5****3	34	9	NSVY	2310	E	7 - 9	11,90	1,31	Ø	47,93
35	Bb. Y.	6****6	33	15	C/S	1160	K	8 - 9	8,50	0,60	Ø	13,96
36	Bb. Ç.	6****4	33	7	C/S	1450	E	8 - 9	10,80	0,45	Ø	10,59
37	Bb. C.	6****0	34	7	C/S	1250	E	8 - 9	5,67	1,08	Ø	5,79
38	Bb. S.	3****7	33	6	C/S	1920	E	6 - 7	Ø	Ø	Ø	13,37
39	Bb. İ.	3****6	34	8	NSVY	1570	E	8 - 9	11,70	0,50	Ø	29,42
40	Bb. R.	3****7	34	8	NSVY	1600	E	8 - 9	11	0,40	Ø	18,86

→devamı var

TERM (37-42 HAFTA ARASI) BEBEK GRUBU											
Vaka No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırl. (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1.dk-5.dk	T. Bil.	D. Bil.	NSE
41	Bb. B.	5****7	37	4	C/S	2800	E	8 - 10	13,1	0,36	7,79
42	Bb. A.	5****3	37	4	NSVY	2550	K	8 - 9	12,28	0,45	21,62
43	Bb. M.	5****1	40	3	C/S	3600	E	9 - 10	12,78	0,41	19,36
44	Bb. A.	5****9	38	5	C/S	3260	E	9 - 10	12,12	0,56	13,11
45	Bb. G.	5****6	40	5	C/S	3040	E	9 - 10	10,8	0,42	13,21
46	Bb. K.	5****6	37	3	C/S	2250	K	8 - 10	10,5	0,41	51,39
47	Bb. Ö.	5****1	37	6	C/S	2650	E	9 - 10	13,2	0,1	15,48
48	Bb. Ç.	5****2	38	7	NSVY	2910	K	9 - 10	10,58	0,67	13,11
49	Bb. B.	5****1	38	12	NSVY	3580	E	9 - 10	14,3	0,62	13,72
50	Bb. T.	5****4	39	6	C/S	3450	E	9 - 10	1,44	0,22	11,09
51	Bb. Ç.	5****5	38	6	C/S	3060	K	9 - 10	13,2	0,65	15,35
52	Bb. U.	5****5	38	8	C/S	3680	K	9 - 10	13,7	0,28	30,36
53	Bb. D.	5****8	40	15	NSVY	3050	K	8 - 9	Ø	Ø	6,84
54	Bb. E.	5****1	38	10	C/S	3510	K	8 - 10	15,97	0,59	20,45
55	Bb. G.	5****5	40	6	C/S	2920	K	8 - 9	9,34	0,66	7,81
56	Bb. Ç.	5****9	38	6	C/S	3240	E	7 - 9	14,7	0,53	18,62
57	Bb. K.	5****4	37	9	C/S	3510	E	8 - 9	14,7	1,24	22,58
58	Bb. D.	5****7	39	15	C/S	2830	K	8 - 10	12,2	0,56	8,84
59	Bb. K.	5****2	40	15	NSVY	3180	E	9 - 10	10,2	0,56	22,12
60	Bb. Y.	5****9	39	6	NSVY	3900	E	9 - 10	12,2	0,26	30,48

→devamı var

TERM (37-42 HAFTA ARASI) BEBEK GRUBU											
Hasta No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırl. (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1. dk - 5.dk	T.Bil.	D. Bil.	NSE
61	Bb. Y.	5****9	39	5	C/S	3480	E	9 - 10	11,72	0,65	3,67
62	Bb. Ç.	5****2	40	3	NSVY	3060	E	8 - 9	9,01	0,36	59,80
63	Bb. Ç.	5****2	38	3	NSVY	2910	K	9 - 10	Ø	Ø	6,43
64	Bb. B.	5****6	38	4	C/S	3400	E	8 - 9	14,47	0,55	7,56
65	Bb. Y.	5****3	41	4	NSVY	3790	E	9 - 10	10,50	0,53	10,10
66	Bb. M.	5****7	41	4	C/S	3600	K	8 - 9	12,97	0,55	36,63
67	Bb. K.	5****7	40	5	C/S	3400	E	9 - 10	10,70	0,45	5,60
68	Bb. A.	5****0	39	5	NSVY	4070	K	8 - 9	13,30	0,59	5,72
69	Bb. S.	5****9	38	4	NSVY	2890	E	9 - 10	16	0,49	20,15
70	Bb. Ç.	5****5	41	5	NSVY	3920	E	9 - 10	13,90	0,50	10,81
71	Bb. K.	5****4	39	7	C/S	3110	K	8 - 9	12,04	0,60	6,28
72	Bb. D.	5****6	40	13	C/S	3960	K	8 - 10	11,28	0,81	10,57
73	Bb. Y.	5****4	38	7	NSVY	2900	E	8 - 9	12,50	0,73	25,19
74	Bb. K.	5****7	40	6	NSVY	4100	E	9 - 10	0,80	0,53	6,52
75	Bb. G.	5****2	39	7	C/S	3460	E	9 - 10	15,20	0,89	3,78
76	Bb. E.	5****2	38	10	C/S	2060	E	8 - 9	12,51	1,10	24,40
77	Bb. S.	5****9	38	6	C/S	3360	E	8 - 9	14,74	0,71	22,70
78	Bb. A.	5****4	38	7	C/S	3440	K	9 - 10	13,20	0,52	42,30
79	Bb. K.	5****5	38	6	C/S	3700	E	9 - 10	14,20	0,51	33,70
80	Bb. A.	5****4	40	6	C/S	3090	K	9 - 10	13,50	0,56	17,50

→devamı var

EK 3. (devam)

1. AY (30-45 GÜN) BEBEK GRUBU									
Vaka No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırl. (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1.dk - 5.dk	NSE
81	Bb. Ö.	5****0	-	30	NSVY	3300	E	-	3,33
82	Bb. Y.	5****1	-	31	C/S	3810	E	-	6,11
83	Bb. B.	5****3	-	34	C/S	3620	K	-	9,01
84	Bb. Y.	5****0	-	30	C/S	3390	E	-	8,86
85	Bb. E.	5****9	-	30	NSVY	3570	K	-	6,85
86	Bb. K.	5****1	-	41	C/S	3400	K	-	15,44
87	Bb. A.	5****4	-	30	C/S	3620	K	-	8,78
88	Bb. E.	5****2	-	33	C/S	3200	K	-	13,27
89	Bb. A.	5****0	-	33	C/S	3280	K	-	3,51
90	Bb. G.	5****6	-	30	C/S	2780	K	-	16,25
91	Bb. A.	5****2	-	35	NSVY	3190	K	-	4,31
92	Bb. Ş.	5****1	-	38	C/S	2960	K	-	10,06
93	Bb. E.	4****6	-	37	C/S	2940	E	-	11,91
94	Bb. K.	5****0	-	32	NSVY	2840	K	-	7,37
95	Bb. Ö.	5****5	-	30	C/S	2480	K	-	16,80
96	Bb. A.	5****6	-	30	NSVY	3500	K	-	10,58
97	Bb. Ö.	5****6	-	38	NSVY	3360	K	-	7,24
98	Bb. K.	5****6	-	45	C/S	3730	E	-	6,67
99	Bb. Ç.	5****3	-	45	C/S	3170	E	-	3,43
100	Bb. B.	5****4	-	33	C/S	3260	E	-	8,62

→devamı var

EK 3. (devam)

2. AY (60-75 GÜN) BEBEK GRUBU									
Vaka No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırlığı (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1.dk - 5.dk	NSE
101	Bb. Ü.	5****7	-	60	NSVY	3490	E	-	5,02
102	Bb. Ö.	5****5	-	67	C/S	3220	K	-	1,49
103	Bb. T.	5****5	-	60	NSVY	3830	K	-	3,86
104	Bb. Ö.	5****5	-	60	NSVY	3350	E	-	8,51
105	Bb. D.	5****3	-	61	NSVY	3710	E	-	14,05
106	Bb. İ.	5****1	-	60	NSVY	3120	K	-	11,38
107	Bb. Ö.	5****7	-	60	NSVY	3400	K	-	5,73
108	Bb. B.	5****7	-	60	NSVY	3320	K	-	11,30
109	Bb. G.	5****6	-	60	NSVY	3300	E	-	5,07
110	Bb. A.	5****6	-	60	C/S	3230	K	-	11,51
111	Bb. K.	5****2	-	69	C/S	2550	E	-	13,74
112	Bb. Y.	5****6	-	60	C/S	3020	K	-	5,10
113	Bb. B.	5****0	-	60	NSVY	3300	K	-	10,66
114	Bb. T.	5****6	-	62	NSVY	3270	K	-	8,28
115	Bb. S.	5****6	-	72	C/S	3270	E	-	4,30
116	Bb. S.	5****2	-	62	C/S	3030	E	-	2,24
117	Bb. B.	5****7	-	61	C/S	2520	K	-	7,81
118	Bb. Ü.	5****1	-	62	NSVY	2850	K	-	13
119	Bb. C.	5****4	-	60	C/S	4020	E	-	4,64
120	Bb. İ.	5****8	-	60	NSVY	3450	K	-	5,04

→devamı var

EK 3. (devam)

3. AY (90-105 GÜN) BEBEK GRUBU									
Vaka No	Adı Soyadı	Protokol No	Gestasyonel Yaş (hf)	Yaş (gün)	Doğum Şekli	Doğum Ağırl. (g)	Cinsiyet	APGAR Skoru 1.dk - 5.dk	NSE
121	Bb. B.	5****6	-	105	NSVY	3190	K	-	3,97
122	Bb. K.	5****4	-	90	C/S	3340	E	-	11,43
123	Bb. T.	5****1	-	90	C/S	3180	K	-	7,04
124	Bb. Ö.	5****5	-	90	NSVY	3200	K	-	8,14
125	Bb. D.	5****9	-	90	C/S	3630	E	-	7,73
126	Bb. A.	5****7	-	97	C/S	2800	K	-	17,61
127	Bb. G.	5****6	-	90	C/S	4300	E	-	3,66
128	Bb. A.	5****6	-	93	C/S	3780	K	-	12,25
129	Bb. K.	5****8	-	90	C/S	3000	E	-	21,40
130	Bb. Z.	5****1	-	105	C/S	3100	E	-	12,51
131	Bb. K.	5****2	-	105	NSVY	3010	K	-	11,29
132	Bb. B.	5****5	-	105	C/S	3430	E	-	4,73
133	Bb. U.	5****8	-	103	NSVY	2800	E	-	12,70
134	Bb. B.	5****1	-	90	C/S	3580	E	-	8,61
135	Bb. A.	5****9	-	105	NSVY	3390	E	-	10,52
136	Bb. T.	5****8	-	98	C/S	3710	K	-	8,60
137	Bb. G.	5****4	-	94	C/S	4100	E	-	7,65
138	Bb. Y.	5****3	-	90	C/S	4300	E	-	17,26
139	Bb. A.	5****2	-	90	C/S	3840	K	-	15,70
140	Bb. Ö.	5****7	-	105	C/S	3500	E	-	11,99

Kısaltmalar: NSVY: Normal spontan vajinal yol; C/S: Sezaryan; E: Erkek; K: Kız; US: Ultrasonografi; N: Normal; Ø: Yapılmamıştır.

Not: Yaş grupları için önemsiz parametreler boş geçilmiştir.

*Enfeksiyon nedeniyle çalışma grubundan çıkarıldı.



Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mart 2011