

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

**BİLİRUBİNİN ÇEŞİTLİ MİKROORGANİZMALAR
ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN İNVİTRO OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Hakan KARDEŞ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Gonca ÜSTÜNDAĞ

ZONGULDAK

2012

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

**BİLİRUBİNİN ÇEŞİTLİ MİKROORGANİZMALAR
ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN İNVİTRO OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Hakan KARDEŞ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Gonca ÜSTÜNDAĞ

ZONGULDAK

2012

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Bilirubinün Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Antibakteriyel Etkisinin İnvitro Olarak Araştırılması

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Hakan KARDEŞ

Tez Savunma Tarihi: 09/04/2012

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Gonca Handan ÜSTÜNDAĞ

Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÖZÇETİN
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Gonca Handan ÜSTÜNDAĞ
Üye

Yrd. Doç. Dr. İbrahim Etem PİŞKİN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Nazmiye YÜKSEK
Üye

Yrd. Doç. Dr. Berna ŞAYLAN ÇEVİK
Üye

UYGUNDUR

07/05/2012

Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan

ÖNSÖZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım değerli hocam Doç .Dr. Gonca ÜSTÜNDAĞ' a;

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkların Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç Dr. Mustafa ÖZÇETİN' e;

Yetişmemdeki katkılarından dolayı değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. İ. Etem PİŞKİN , Yrd. Doç. Dr. Mutlu YÜKSEK, Yrd. Doç. Dr. Nazmiye YÜKSEK, Yrd. Doç. Dr. Berna Şaylan ÇEVİK, Yrd. Doç Dr. Cumhur AYDEMİR ve

Şu an farklı yerlerde görev yapan Prof.. Dr. Bahri ERMİŞ, Doç. Dr. Fatma DEMİREL , Yrd. Doç. Dr. Ebru KOLSAL' a,

Tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Füsun CÖMERT, Arş. Gör. Dr. H. Agah TERZİ, Laboratuvar teknisyeni Eldan SUBAŞI ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanları ile Ankara Zekai Tahir Burak EAH. Mikrobiyoloji Bölümü Uz. Dr. Sibel SAYGAN' a,

Tez çalışmama sağladığı katkılarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim görevlisi M. Çağatay BÜYÜKUYSAL' a

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nde birlikte çalıştığım Zonguldak yaşantım boyunca hep yanımda var olan başta Uz. Dr. Mehmet Ali ÇİL olmak üzere Arş. Gör. Dr. Hande Nur KARAVAR, Arş. Gör. Dr. Funda Gören KETENCİ ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, hemşire ve personel ekibine,

Hayatımın her evresinde sevgi ve desteğini esirgemeyen anneme, babama ve eşim Dr. Vildan KARDEŞ'e sonsuz teşekkürler...

Dr. Hakan KARDEŞ

Zonguldak, 2012

ÖZET

Hakan KARDEŞ, Bilirubin Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Antibakteriyel Etkisinin İnvitro Olarak Araştırılması Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Tezi. Zonguldak, 2012.

Antioksidan etkinliği gösterilen bilirubin in vitro olarak çeşitli bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliğinin olup olmadığını araştırmak amacıyla 1 Haziran 2009 – 31 Aralık 2011 tarihleri arasında, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan bebeklerden alınan kan kültürlerinde üreme tespit edildikten sonra elde edilen izolatlar, skim milk besiyerinde (Oxoid, İngiltere) muhafaza edilip Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. 20 *Escherichia Coli*, 20 *Klebsiella Pneumoniae*, 20 *Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok*, 20 *Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok* olmak üzere toplam 80 izolat çalışmaya dahil edildi. Bilirubin EDTA ve NaHCO₃ içeren solüsyon içinde çözüldü. 5 mg/dl, 10 mg/dl ve 15 mg/dl'lik konsantrasyonlarda bilirubin içeren Muller Hinton agar besiyerlerine her bir izolattan 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp 5 µl alınarak, agar yüzeyinde 5-8 mm çapında bir alana yayılarak ekimi yapıldı. 35°C'de on sekiz saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra, bakteriyel üreme değerlendirildi. Gruplar çalışmaya alınan bakteriler için ayrı ayrı incelendiğinde, besiyerlerine % 5 mg/dl, % 10 mg/dl, % 15 mg/dl konsantrasyonunda eklenen bilirubin in vitro şartlarda bakteri üremesini inhibe etmediği görüldü. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1,00). Sonuç olarak bilirubin antibakteriyel etkinliğinin saptanması ve antibakteriyel etkinliğin saptandığı minimum bilirubin konsantrasyon düzeyi yenidoğan sarılıklarında tedavi protokollerini değiştirecek öneme sahiptir. Bu nedenle bilirubin antibakteriyel etkinliğinin araştırılması için in vivo ortamda ve daha çok çeşitlilikte mikroorganizmaları kapsayan geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Hiperbilirubinemi, yenidoğan, sarılık, antioksidan, antibakteriyel etki

ABSTRACT

Hakan KARDEŞ, A Research on Antibacterial Effect of Bilirubin upon Various Microorganisms, Zonguldak Karaelmas University, Faculty of Medicine, Thesis of Child Health and Illness. Zonguldak, 2012.

In this study we aimed to investigate whether bilirubin which is shown as an antioxidant has an antibacterial effect in vitro on several bacteria or not. The isolates obtained from blood cultures of the patients with bacteremia in the newborn intensive care unit between 01/06/2009 and 31/12/2011 were kept in skim milk medium (Oxoid, İngiltere) and then analysed in ZKU Faculty of Medicine Microbiology Laboratory. 20 *Escherichia Coli*, 20 *Klebsiella Pneumoniae*, 20 *Methicillin Sensitive Coagulase Negative Staphylococci*, 20 *Methicilline Resistant Coagulase Negative Staphylococci*, 80 isolates were included in the study. Bilirubin was solved in a solution which contained EDTA and NaHCO₃. We inoculated with 5 µl of bacterial suspension of each isolate at 0.5 McFarland on the agar surface with a diameter of 5-8 mm into Muller Hinton Medium containing bilirubin with a concentration of 5 mg/dl, 10 mg/dl and 15 mg/dl. Bacterial growth was observed in each sample after incubation for 18 hours at 35°C. We noticed that adding bilirubin solutions of 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl to the mediums doesn't repress bacterial growth in in vitro conditions. There was no statistically significant difference between the research and control groups (p=1,00).

As a result, detection of antibacterial effect of bilirubin and the minimum concentration of bilirubin to show antibacterial effect is essential to rearrangement the treatment protocols in newborn jaundice and more researches are needed in in vivo conditions with more kinds microorganisms.

Keywords: Hyperbilirubinemia, newborn, jaundice, antioxidant, antibacterial effect

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Hiperbilirubinemi.....	2
2.1.1. Hiperbilirubineminin tanımı ve sıklığı	2
2.1.2. Bilirubin metabolizması	2
2.1.2.1. Bilirubin sentezi	2
2.1.2.2. Bilirubinün plazmada transportu.....	4
2.1.2.3. Bilirubinün karaciğere alınımı ve konjugasyonu	4
2.1.2.4. Bilirubinün safraya atılımı ve intestinal geri emilimi.....	4
2.1.3. Yenidoğan sarılıkları	5
2.1.3.1. Fizyolojik sarılık.....	5
2.1.3.2. Anne sütü sarılığı.....	6
2.1.3.3. Patolojik sarılık.....	7
2.1.4. Bilirubinün toksisitesi	9
2.1.5. Hiperbilirubinemi tedavisi.....	10
2.1.5.1. Hiperbilirubinemi riskinin belirlenmesi.....	10
2.1.5.2. Yakın izlem	12
2.1.5.3. Tedavi	12
2.1.5.3.1. Fototerapi	13
2.1.5.3.1.1. Fototerapinin yan etkileri	15
2.1.5.3.2. Kan değişimi.....	16
2.1.5.3.3. Farmakolojik tedavi	18

2.1.6. Bilirubin ve oksidatif stres.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. İzolatların Toplanması.....	20
3.2. Kültür ve Bakteri Tanımlaması	20
3.3. Besiyeri Hazırlaması ve Ekim	20
3.4. İstatiksel Analiz	21
3.5. Etik Kurul İzni	21
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA.....	25
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	27
7. KAYNAKLAR.....	28
8. EKLER.....	35
Ek 1: Etik Kurul Onayı	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

APA	: Amerikan Pediatri Akademisi
Ark	: Arkadaşları
ATP	: Adenozin Trifosfat
C°	: Santigrat
Ca	: Kalsiyum
Cl	: Klor
CO	: Karbon Monoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
E. Coli	: Escherichia Coli
FT	: Fototerapi
G6PD	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
Gr	: Gram
Hb	: Hemoglobin
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HO	: Hem Oksijenaz
IVIG	: Intravenöz immunglobulin
LED	: Light Emitting Diode
LDL	: Low-density Lipoprotein
mcg	: Mikrogram
mg	: Miligram
mg/dl	: Miligram /Desilitre
ml	: Mililitre
mmol/L	: Mikromol/Litre
µM	: Mikromolar
Na	: Sodyum
NaHCO ₃	: Sodyum Hidroksit
nm	: Nanometre
P	: Persantil
RDS	: Respiratuar Distres Sendromu

RES	: Retikuloendotelial Sistem
SPSS	: Statistical Package for Social Science
SSS	: Santral Sinir Sistemi
STB	: Serum Total Bilirubin
TNF	: Tümör Nekrotizan Faktör
TSB	: Total Serum Bilirubin
>	: Büyüktür
<	: Küçüktür



TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Yenidoğanda hiperbilirubinemi nedenleri sınıflanması.....	8
Tablo 2. Klinik olarak bilirubin ensefalopatisi evreleri.....	9
Tablo 3. Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok Üzerine Bilirubin Antibakteriyel etkisi.....	22
Tablo 4. Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok Üzerine Bilirubin Antibakteriyel Etkisi	23
Tablo 5. Escherichia Coli Üzerine Bilirubin Antibakteriyel Etkisi.....	23
Tablo 6. Klebsiella Pneumoniae Üzerine Bilirubin Antibakteriyel Etkisi.....	24

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Bilirubin metabolizması	3
Şekil 2: ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda zaman ve bilirubin seviyelerine göre risk Normogramı	12
Şekil 3. ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda fototerapi önerileri	14
Şekil 4. ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda kan değişimi önerileri	17



1. GİRİŞ

Sarılık yenidoğan döneminin en sık karşılaşılan sorunlarından birisidir (1). Sarılık, hemoglobinin, hem parçasının yıkım ürünü olarak yapılan ve dolaşımdan karaciğer tarafından atılan bilirubinin plazma düzeyinin, cilt ve sklerayı sarıya boyayacak kadar yükselmesi olarak tanımlanır. (2)

Yenidoğan bebeklerin yarısından fazlasında düşük düzeylerde fizyolojik sarılık gözlenirken anlamlı hiperbilirubinemi gelişen bir kısım bebekte bilirubin toksitesi oluşur (1, 3). Yüksek düzeyde hiperbilirubinemi; hayatın ilk haftasında letarji ve emme bozukluğundan opistotonus ve ölüme kadar değişen akut bilirubin ensefalopatisi bulgularına yol açarken, sağ kalan bebeklerde koreoatetoid serebral palsi, nöbet ve işitme bozukluğu gibi klinik bulgularla karakterize kernikterus gelişir (3, 4).

Bilirubin toksisite mekanizmaları hala tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte eksitotoksisite (5, 6), enerji eksikliği (5, 7), hücre zarında bozulma (5, 6) ve sitokin salınımı (8) gibi faktörler sorumlu tutulmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla bilirubinin hücresel düzeyde çift yönlü etkisi olduğu gösterilmiştir. Buna göre fizyolojik düzeylerde antioksidan etki gösterirken patolojik seviyelerde oksidatif zedelenmeye yol açtığı düşünülmektedir (5, 9, 10).

Bu çalışmanın amacı, son zamanlarda in vitro olarak antioksidan etkinliği gösterilen bilirubinin, çeşitli bakteriler üzerinde in vitro olarak antibakteriyel etkinliğinin olup olmadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hiperbilirubinemi

2.1.1. Hiperbilirubineminin tanımı ve sıklığı

Serumda bilirubin düzeyinin artmasıyla deri ve skleralarda gözle görünür hale gelmesine sarılık denir. Bilirubin, erişkin serumunda 2 mg/dl, yenidoğanda 5-7 mg/dl' nin üzerine çıkıp, cilt ve skleranın sarıya boyaması ile oluşur (11). Term yenidoğanların % 60' ında, pretermilerin % 80' inde yaşamın ilk haftasında klinik olarak sarılık gözlenir (1, 3, 4). Genellikle geçici bir durum olmakla birlikte, yenidoğan sarılığı, doğum sonrası ilk hafta içinde hastaneye yatışların en sık nedenidir (4, 12).

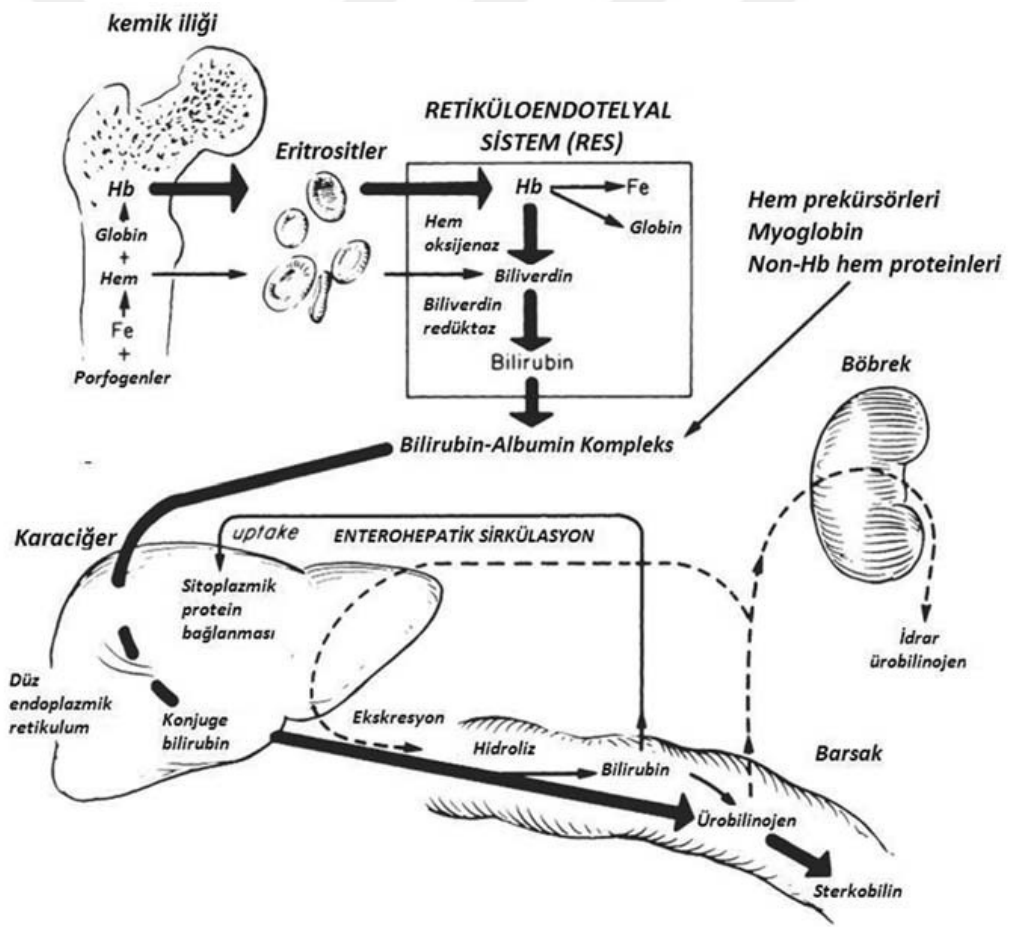
Yenidoğan sarılıkları, bilirubin cinsine göre indirekt hiperbilirubinemi (konjuge olmamış bilirubin) ve direkt hiperbilirubinemi (konjuge olmuş bilirubin) olarak ikiye ayrılır. İndirekt hiperbilirubinemi yenidoğanda daha sık görülür (13).

2.1.2. Bilirubin metabolizması

2.1.2.1. Bilirubin sentezi

Eritrositlerin dalak, karaciğer ve kemik iliğindeki retikuloendotelial hücreler tarafından parçalanmaları sonucunda ortaya çıkan hemoglobin, hem ve globin şeklinde katalizlenir. Globin yıkılarak aminoasit havuzuna katılır (2, 15). Hem'in katabolizması sonucu ile bilirubin ortaya çıkar (14). Bilirubin %75'i yaşlanmış eritrositlerin retikuloendotelial sistemde (RES) lizisi sonucu oluşur (1, 4). Bilirubin geri kalan %25'lik bölümü ise myoglobin, sitokrom, katalaz, siklooksijenaz, guanil siklaz, nitrik oksit sentetaz ve peroksidaz gibi hemoproteinlerin yıkımı ile oluşur (1, 4, 14). Yenidoğanda günlük bilirubin yapımı (8-10 mg/kg/gün) erişkindekinin 2,5 katıdır (1).

Hem önce ATP tarafından katalizlenen ve mikrozomal bir enzim olan hem oksijenaz enzimi ile biliverdine dönüşür. Bu reaksiyon ile demir, karbonmonoksit ve biliverdin ortaya çıkar. Karbonmonoksit akciğerlerden atılır, demir ise vücutta tekrar kullanıma girer. Biliverdin de sitozolik bir enzim olan biliverdin redüktaz enzimi aracılığıyla bilirubine dönüşür (1, 4). Karboksihemoglobin veya ekspire CO ölçümü bilirubin üretimini gösterebilir (4, 16). Hem'den biliverdin ve bilirubin oluşumu Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Bilirubin metabolizması

2.1.2.2. Bilirubinün plazmada transportu

Hem yıkımının ilk basamağının tamamlanması ile retikuloendotelyal sistem veya hepatik parankim hücrelerinde oluşan bilirubin dolaşıma salınır. Bilirubin konjuge olmadığında pH 7.4' te suda çözünmediği için plazmada taşınması ancak albumin veya alfa-feto protein gibi proteinlere bağlandığında mümkün olabilir. Albumin üzerinde biri yüksek, diğeri düşük afiniteli iki bağlanma bölgesi vardır ve her bir albumin molekülüne 2 bilirubin molekülü bağlanabilir. 1 gr albumin yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri ile 8,5 mg bilirubini bağlar (1, 18, 19).

2.1.2.3. Bilirubinün karaciğere alınımı ve konjugasyonu

Albumine bağlı olarak karaciğere gelen unkonjuge bilirubin, öncelikle Y-proteinine (ligandin), daha düşük afinite ile de Z-proteinine bağlanarak hepatosit zarından hücre içine taşınır. Ligandin miktarı yaşamın ilk günlerinde az olup, zamanla artmaktadır. Fenobarbital gibi bazı ilaçlar hücre içindeki ligandin miktarını artırarak etkisini gösterir (1, 20, 21). Daha sonra düz endoplazmik retikuluma taşınan bilirubin, üridin difosfat glukuronil transferaz (UDPGT) enziminin katalizör etkisi ile konjuge edilerek suda eriyen mono ve diglukronid şekline dönüşür (13). Konjuge bilirubin diazo yöntemi ile direkt reaksiyon verdiği için direkt bilirubin olarak da adlandırılır (1).

2.1.2.4. Bilirubinün safraya atılımı ve intestinal geri emilimi

Hepatositlerde oluşan konjuge bilirubin (direkt bilirubin) hücrelerden safra kanaliküllerine ve safra kanaliküllerinden safra içinde bağırsağa atılır. Konjuge bilirubinün safraya atılması geniş bir konsantrasyon gradientine karşı olur; bir aktif transport mekanizması tarafından yürütülür (14).

Terminal ileum ve kalın bağırsakta bakterilerce oluşturulan beta glukuronidaz enzimi etkisiyle konjuge bilirubin, glukuronattan ayrılarak kolayca geri emilebilen indirekt bilirubin haline çevrilir. Glukuronattan ayrılan bilirubinün bir kısmı bağırsaktan emilerek tekrar karaciğere gelir. Bağırsaktan emilerek karaciğere gelen bilirubinün bir kısmı safra ile tekrar bağırsağa atılır, bir kısmı ise karaciğerde

doymamış yağ asitleri peroksitlerin oluşumunu önleyici, yani antioksidan olarak görev yaptıktan sonra bilinmeyen bir yoldan yıkılır. Bağırsakta glukuronattan ayrılan bilirubinin bir kısmının emilerek karaciğere dönmesi ve karaciğerden safra ile tekrar bağırsağa atılmasına bilirubinin enterohepatik sirkülasyonu denir (4). Sindirim kanalında glukuronattan ayrılan bilirubinin büyük çoğunluğu çekumda ve özellikle sağ kolonda bulunan anaerobik bakterilerin enzimleriyle sterkobilin, sterkobilinojen, ürobilin ve ürobilinojene redükte olur. Ürobilinojenin büyük kısmı bağırsaktan emilerek portal dolaşım yoluyla karaciğere gelir ve safra ile atılır. Az bir kısmı ise dolaşıma geçerek idrarla dışarı atılır. Ürobilinojen renksizdir. Ürobiline dönüşmesi halinde idrar ya da dışkının normal rengini verir (22).

2.1.3. Yenidoğan sarılıkları

Term bebeklerin % 20-50'si, prematürelerin % 60-80'i yaşamın ilk günlerinde hiperbilirubinemi sorunu ile karşı karşıya kalırlar. Yenidoğanlarda ortaya çıkan hiperbilirubineminin şiddeti ve süresi; gestasyon yaşı, doğum ağırlığı, ırk, coğrafi bölge, genetik yapı, beslenme durumu ve beslenme tipine göre değişmektedir (7, 12, 13-16). Erişkinlerden farklı olarak bilirubin düzeyi 5 mg/dl üzerine çıkmadan yenidoğanlarda sarılık belirginleşmez (23, 24, 25). Yenidoğan sarılıkları biriken bilirubinin cinsine göre indirekt ve direkt hiperbilirubinemi olmak üzere ikiye ayrılır.

En sık görülen tip olan indirekt hiperbilirubinemi, fizyolojik sarılıkta ve bunun dışında bilirubin yapımının arttığı, bilirubinin karaciğere alınmasının ya da konjugasyonunun azaldığı patolojik durumlarda görülür. Direkt hiperbilirubinemi yenidoğan döneminde daha nadirdir. Bu tür sarılık her zaman patolojiktir ve safra yollarında tıkanıklığa veya karaciğer işlevlerinde ciddi bozukluğa işaret eder. Sepsiste, intrauterin enfeksiyonlara bağlı hepatitte direkt bilirubin, tek başına veya indirekt bilirubin ile birlikte artar. Ağır hemolitik hastalıkta da indirekt hiperbilirubinemiye direkt bilirubin artışı eşlik edebilir (1).

2.1.3.1. Fizyolojik sarılık

Fizyolojik sarılık, bilirubinin karaciğere alınımı, taşınması ve konjugasyonundaki olgunlaşma eksikliğinden kaynaklanır. Bu durum yaşamın ilk haftasında serum

indirekt bilirubin düzeylerinde artışa yol açar. Ortaya çıkan bu geçici hiperbilirubinemi fizyolojik sarılık olarak adlandırılır (14, 32, 33). Fetal hayatta, plasenta bilirubini temizlediğinden, kord kanındaki bilirubin 2 mg/dl'nin altındadır.

Fizyolojik sarılık tanı kriterleri (3, 11, 20):

- Sarılık ilk 24-36. saatten sonra başlar.
- Serum total bilirubin seviyesi term bebeklerde 12 mg/dl, pretermelerde 15 mg/dl'yi geçmez.
- Serum total bilirubin seviyesinin günlük artışı en fazla 5 mg/dl'dir.
- Sarılık term bebeklerde 1 haftadan, prematür bebeklerde 10-14 günden kısa sürer.

Karaciğer hücresinde artmış bilirubin yükü (kısa eritrosit ömrü, fazla eritrosit kitlesi, inefektif eritropoez, eritrosit dışı hem fazlalığı), artmış enterohepatik sirkülasyon (steril barsak, artmış beta glukuronidaz aktivitesi), karaciğer hücresine alım kusuru (Ligandin =Y proteini eksikliği), konjugasyon kusuru (glukuronil transferaz olgunlaşması ilk haftada tamamlanır), göbek kordonunun kesilmesiyle bilirubinun detoksifikasyonunu ve atılmasını sağlayan plental mekanizmaların devre dışı kalması, duktus venosusun açık kalması sonucu portal akımın karaciğere uğramadan geçmesi fizyolojik sarılığın temel nedenlerini oluşturur (23, 24, 34, 35).

2.1.3.2. Anne sütü sarılığı

Anne sütü sarılığı iki farklı grupta değerlendirilebilir:

1- Erken Tip: Anne sütü ile beslenememe sarılığı

Nedenleri :İlk 2-4 gün sütün yetersiz gelişi

Yetersiz kalori alımı

Dehidratasyon

Mekonyum çıkışındaki yetersizlik

Formula mamalarla beslenen yenidoğanlarla karşılaştırıldığında anne sütü alan yenidoğanlarda orta şiddetli ya da şiddetli sarılık görülmesi 3-6 kat daha sıktır (37, 38). Erken tip anne sütü sarılığı olan yenidoğanlarda besleme sıklığı günde 10'un üzerine çıkılabilir. Eğer bebekte kilo alımında azalma, gecikmiş dışkılama, düşük kalori alımı devam ederse mama takviyesi gerekli olabilir, ancak süt üretiminin

devamı için anne sütünün de devamı önerilir. Yenidoğanda iyatrojenik hiponatremi riskini arttırabileceği ve süt üretimini azaltabileceği için, su ve şekerli su takviyesinden kaçınılmalıdır. (39, 40, 41)

2- Geç tip: Anne sütü sarılığı sendromu:

Bu bebeklerde bilirubin düzeyleri 4. günden başlayarak giderek artar ve 10-15. günlerde 15-20 mg/dl'ye ulaşır. Anne sütü verilmeye devam edilirse bu yüksek düzeyler 4-10 gün daha devam ettikten sonra yavaş olarak azalır ve 3-12. haftalarda normale iner. Beta-glukuronidaz ve esterleşmemiş yağ asitleri gibi anne sütündeki bazı maddelerin bilirubin metabolizmasını inhibe ettiği düşünülmektedir (40, 42, 43, 44).

Geç tip anne sütü sarılığı tanısı, laboratuvar incelemelerle patolojik sarılık nedenlerinin dışlandığı, 3. hafta ve sonrasında sarılığın sürdüğü, yalnızca anne sütü ile beslenen, sağlıklı, zamanında doğmuş, yeterli büyüme gösteren bebeklerde konulabilir (45).

2.1.3.3. Patolojik sarılık

Fizyolojik sarılık ve anne sütü sarılığı dışındaki tüm nedenler patolojik sarılık olarak tanımlanmaktadır (36).

Tanı kriterleri: (3, 11, 20)

- İlk 24 saat içinde sarılığın ortaya çıkması,
- Maksimum total bilirubin düzeyinin term bebeklerde 12 mg/dl, preterm bebeklerde 15 mg/dl üzerinde olması,
- Kord kanında bilirubin 5 mg/dl veya daha fazla olması
- Serum total bilirubin artış hızının saatte 0,5 mg/dl veya günde 5 mg/dl'den fazla olması
- Direkt bilirubin düzeyinin 1,5-2 mg/dl'nin üzerinde veya serum total bilirubin konsantrasyonunun %20'sinden fazla olması
- Klinik olarak sarılığın term bebekte 14 günden, preterm bebekte ise 21 günden uzun sürmesi

Yenidoğan bebeklerdeki patolojik sarılıkların büyük çoğunluğundan bilirubin metabolizma basamaklarında normal fizyolojinin dışında gelişen patolojik süreçler (artmış bilirubin üretimi, hepatik alım eksikliği, yetersiz bilirubin

konjugasyonu ve artmış bilirubin enterohepatik dolaşımı) sorumludur (26). Tablo 1’ de yenidoğanda hiperbilirubinemi nedenlerinin etyolojik sınıflandırılması verilmiştir (36).

Tablo 1. Yenidoğanda hiperbilirubinemi nedenleri sınıflanması (36).

1. Artmış Bilirubin Yüğü

a) Hemolitik Sebepler

Coombs Testi pozitif olanlar: Rh uygunsuzluğu, ABO uygunsuzluğu, minor antijenler

Coombs Testi negatif olanlar: Eritrosit membran defektleri (herediter sferositoz, eliptositoz), eritrosit enzim defektleri (G6PD enzim eksikliği, piruvat kinaz eksikliği), ilaçlar (örn: sülfanomid, K vitamini...), hemoglobinopatiler, sepsis

b) Nonhemolitik Sebepler

Damar dışı kan: Sefal hematoma, santral sinir sistemi hemorajileri, yutulmuş anne kanı, ekimoz, diğer kanamalar

Polisitemi: Feto-maternal transfüzyon, feto-fetal transfüzyon, göbek bağının geç klemplenmesi,

Artmış enterohepatik dolaşım: Kistik fibroz, pilor stenozu, ileal atrezi, Hirschprung hastalığı, anne sütü sarılığı

2. Azalmış Bilirubin Konjugasyonu

a) Fizyolojik sarılık

b) Crigler-Najjar Sendromu tip 1-2

c) Gilbert Sendromu

d) Hipotiroidizm

e) Anne sütü sarılığı

3. Bilirubin Atılımında Bozulma

a) Biliyer Obstrüksiyon: Biliyer atrezi, koledok kisti, primer sklerozan kolanjit, safra taşı, Dubin-Johnson Sendromu, Rotor Sendromu

b) Enfeksiyonlar: Sepsis, üriner sistem enfeksiyonu, sfiliz, toksoplazmozis, tüberkuloz, hepatit, kızamıkçık,

c) Metabolik Bozukluklar: Alfa 1 antitripsin eksikliği, kistik fibrozis, galaktozemi, glikojen depo hastalığı, Gaucher Sendromu, hipotiroidizm, Wilson Hastalığı, Niemann-Pick hastalığı,

d) Kromozomal Anormallikler: Turner Sendromu, trizomi 18 ve 21,

e) İlaçlar: aspirin, asetaminofen, alkol, rifampin, eritromisin, kortikostreoid, tetrasiklin

2.1.4. Bilirubin toksisitesi

Hiperbilirubinemiye eşlik eden en önemli komplikasyon serumdaki yüksek indirekt bilirubin seviyelerine bağlı olarak görülen bilirubin ensefalopatisi ve kernikterustur. Bilirubin ensefalopatisi doğumu takip eden ilk hafta içerisinde bilirubin toksisitesine bağlı meydana gelen akut merkezi sinir sistemi bulgularıdır. Kernikterus ise bazal ganglionlar ve çeşitli beyin sapı nukleuslarının bilirubinle boyanmasına bağlı oluşan kronik ve kalıcı sekeldir (46). Beyin hücrelerinde bilirubin toksik düzeylere ulaştığında, yenidoğanda irritabilite görülür, letarjik olur, emmesi bozulur. Geriye dönüşümsüz ensefalopatiye doğru ilerledikçe nörolojik bulgu olarak opistotonus, hipertoni, tiz sesle ağlama, ateş, apne ortaya çıkar. Semptomlar bir miktar geriledikten sonra ekstrapiramidal serebral palsi, sinirsel sağırlık, yukarı bakış paralizisi (batan güneş görüntüsü), mental retardasyon ile karşımıza çıkar. Koreoatetoz ve işitme kaybı bilirubin ensefalopatisinin tek sekeli olarak da ortaya çıkabilir. Bu nörolojik bulgular, globus pallidus, subtalamik nükleus, işitsel ve okulomotor beyin sapı çekirdeklerinin tutulumuyla ilişkilidir (4, 47, 48). Tablo 2’de bilirubin ensefalopatisinin klinik evreleri gösterilmiştir (14).

Tablo 2. Klinik olarak bilirubin ensefalopatisi evreleri (14).

Evre 1: Hipotoni, letarji, reflekslerde azalma, tiz sesli ağlama

Evre 2: Ateş, irritabilite, tiz sesli ağlama, hipertoni, opistotonus, yukarı bakış paralizisi, konvülsiyon

Evre 3: Yalancı iyilik hali (klinik bulgular ve hipertoni geriler), hipotermi, ekstrapiramidal bulgular

Evre 4: Nörolojik ve entellektüel bozukluklar; yukarı bakış paralizisi, koreoatetoz, nörosensorial sağırlık, mental retardasyon, dental displazi

2.1.5. Hiperbilirubinemi tedavisi

Neonatal hiperbilirubinemide etkin tedavinin primer hedefi akut bilirubin ensefalopatisini önlemektir. Bunun ana prensipleri şunlardır:

1. Ciddi hiperbilirubinemi riskinin belirlenmesi
2. Yakın izlem yapılmalı
3. Gerekğinde acil tedavi uygulanmasıdır.

2.1.5.1. Hiperbilirubinemi riskinin belirlenmesi

Amerikan Pediatri Akademisi (APA) indirekt hiperbilirubinemiye bağlı yatışları ve kernikterus riskini azaltmak için her sağlık kuruluşunun taburculuk öncesi risk faktörlerini belirlemesini, bilirubin artış hızının saptanmasını ve izlemde belirli bir protokol oluşturulmasını önermektedir (49, 50). Major, minör ve azalmış risk grubu olarak tanımlanan faktörler şunlardır (46):

Major Risk Faktörleri:

- 1- Hastaneden taburcu edilmeden önceki total serum bilirubini veya transkutanöz bilirubin düzeyinin yüksek riskli zonda olması,
- 2- Sarılığın ilk 24 saatte görülmesi,
- 3- Kan grubu uygunsuzluğu bulunması,
- 4- Gestasyonel yaşın 35-36 hafta arası olması,
- 5- Daha öncesinde başka kardeşin fototerapi almış olması,
- 6- Sefal hematoma veya belirgin ezilmeler,
- 7- Sadece anne sütü ile beslenme (özellikle emzirme iyi gitmiyor ve aşırı tartı kaybı varsa)
- 8- Doğu Asya ırkı

Minör Risk Faktörleri:

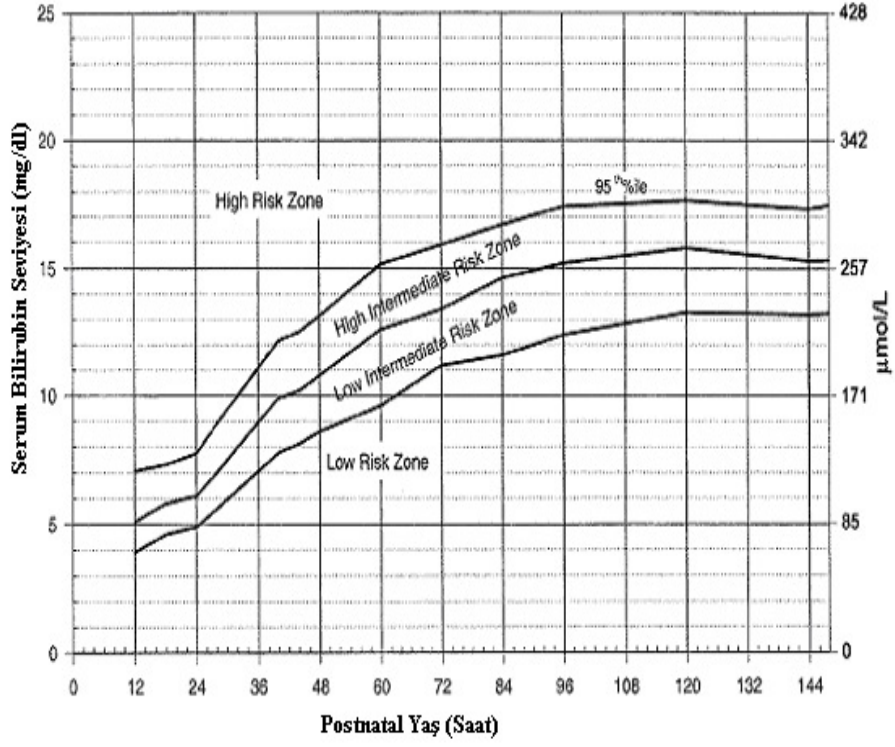
- 1- Hastaneden taburcu edilmeden önceki total serum bilirubini veya transkutanöz bilirubin düzeyinin yüksek-orta riskli zonda olması,
- 2- Gestasyonel yaşın 37-38 hafta arası olması,
- 3- Hastaneden taburcu edilmeden önce sarılık gözlemlenmesi,

- 4- Daha önceki kardeşte sarılık öyküsü olması,
- 5- Diyabetik annenin makrozomik çocuğu,
- 6- Anne yaşının ≥ 25 yaş olması,
- 7- Erkek cinsiyet,

Azalmış Risk Faktörleri:

- 1- Total serum bilirubini veya transkutanöz bilirubin düzeyinin düşük riskli zonda olması,
- 2- Gestasyonel yaşın ≥ 41 hafta olması,
- 3- Sadece formül süt ile beslenme,
- 4- Siyah ırk,
- 5- Hastaneden taburculuğun doğum sonrası 72. saatten sonra yapılmasıdır.

Hastaların risk faktörlerinin belirlenmesinin ardından, hastaneden taburcu edilirken bakılan total serum bilirubin değerleri sonucunda, o bebeğin ilerleyen saatler içerisinde olası bilirubin düzeyi tahmin edilerek risk zonu saptanıp, ona göre izlem şemasının uygulanması önerilmektedir (45, 46). Şekil 2’de 35 hafta ve üzeri yenidoğanlarda saat spesifik bilirubin normogramı verilmiştir (46).



Şekil 2: ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda zaman ve bilirubin seviyelerine göre risk Normogramı (46).

2.1.5.2. Yakın izlem

Tüm yenidoğanlar taburcu olduktan sonraki 48-72 saat sonra kontrol edilmelidir. Eğer uygun izlem yapılamayacaksa ve ciddi hiperbilirubinemi gelişme riski yüksekse taburculuk 72-96 saat sonra yapılmalıdır. (51)

2.1.5.3. Tedavi

Yenidoğan sarılıklarında tedavinin ana amacı bilirubin ensefalopatisini önlemektir. Bugün için bilirubin ensefalopati riskini kesin olarak gösteren bir laboratuvar yöntemi yoktur. Bu nedenle tedavi, serum total bilirubin konsantrasyonu, bebeğin maturasyon düzeyi, bebeğin postnatal yaşı ve klinik durumu birlikte değerlendirilerek oluşturulan

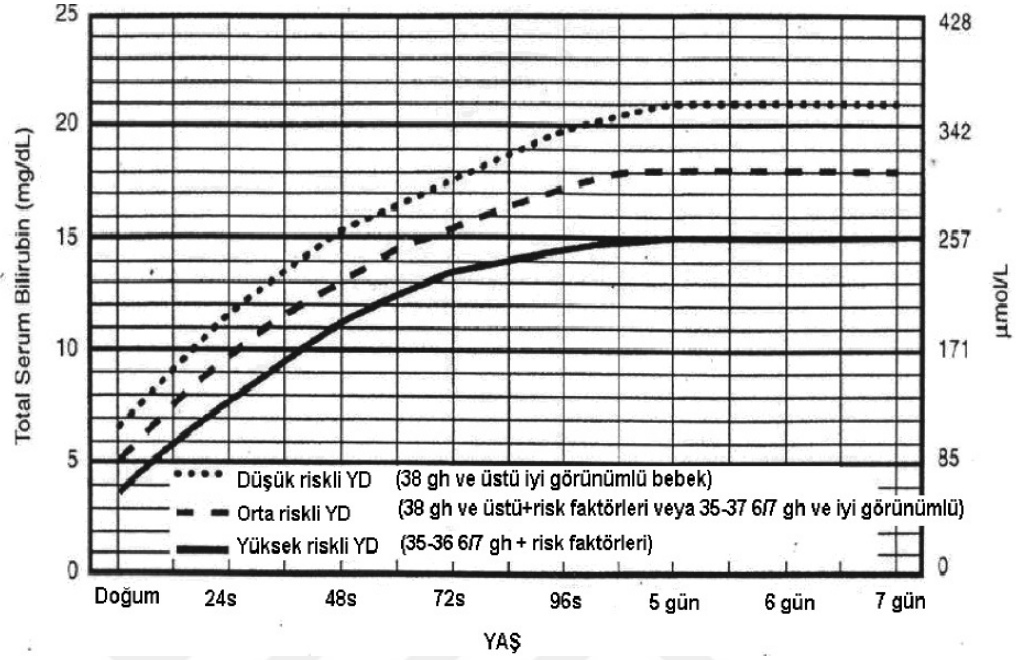
ölçütlere göre yönlendirilir (1). Yenidoğanda hiperbilirubinemi durumunda tedavi seçenekleri;

- 1) Kan Değişimi
- 2) Fototerapi
- 3) Medikal tedavidir (52).

2.1.5.3.1. Fototerapi

Cremer ve arkadaşları kan değişimi yapmadan önce aldıkları kan örneğini güneş ışığı alan bir pencerenin yanında bıraktıklarında bilirubin düzeyinin önemli derecede azaldığını görünce, ışığın bilirubin üzerine etkisi olabileceğini düşünerek hiperbilirubinemi tedavisinde ilk defa fototerapiyi kullanmaya başladılar. Ancak fototerapinin yaygın olarak kullanılması, 1968 yılında Lucey ve arkadaşları fototerapinin yenidoğan sarılığı tedavisindeki etkinliği ve güvenilirliği konusunda yayın yaptıktan sonra başlamıştır (53, 54, 55).

Fototerapi ile kan değişim sıklığının, dolayısıyla morbiditenin belirgin azalması, kolay ulaşılabilir olması ve komplikasyonlarının az olması nedeni ile fototerapi bütün dünyada yenidoğan hiperbilirubinemisinin tedavisinde ilk seçenek olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (56, 57). Şekil 3'te 35 hafta ve üzeri yenidoğanlarda fototerapi endikasyonları için ölçütler verilmiştir (46).



Şekil 3. ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda fototerapi önerileri (46).

Fototerapi, hızlı oksidatif reaksiyonlara neden olarak ve bilirubinin moleküller arası yeniden düzenlenmesini sağlayarak mutant bilirubin izomerlerinin oluşumunu sağlar. Bu izomerler daha polar yapıdadırlar ve konjugasyona ihtiyaç duymadan safra ve idrar ile atılabilirler.

İndirekt bilirubinin fototerapi ile vücuttan uzaklaştırılması birbirleriyle ilişkili 3 mekanizma ile meydana gelir. Bu mekanizmalar:

- 1) Bilirubinin ışık etkisiyle fotodeğişimi,
- 2) Ciltte oluşan fotoürünlerin kan dolaşımına geçmesi,
- 3) Kan dolaşımındaki fotoürünlerin karaciğer ve böbrekler aracılığıyla vücuttan uzaklaştırılmasıdır (52, 58).

Fototerapi için kullanılan ışıkların yeterli fotoizomerizasyon yapabilecek dalga boyuna sahip olması gerekir. Bilirubin en fazla 440-460 nm dalga boyundaki mavi ışığı absorbe eder. Gün ışığının dalga boyu 550-600 nm arasında olduğundan etkisi daha azdır. Mavi ışık kaynağı olarak 420-480 nm arasında ışık yayan “özel mavi” lambalar kullanılır (52).

Uygulama sırasında:

- Standart fototerapi lambaları bebeğin 15-20 cm üzerine yerleştirilmelidir.
- Bebek küvöz içerisinde tamamen çıplak olmalı, gözleri ışık geçirmeyecek şekilde örtülmelidir.
- Fototerapinin etkinliği cilt düzeyinde oluşturduğu ışınlamaya bağlıdır.
- Işıkla karşılaşan vücut yüzeyi ne kadar genişse fototerapinin o kadar etkili olacağı bilinmelidir.

Anne sütü alan ve fototerapi gereksinimi olan bebeklerde 2-3 saat aralarla emzirmeye devam edilmelidir. Oral alım yeterli değilse, ağırlık kaybı doğum ağırlığına göre %12'den fazla ise veya bebek dehidrate görünüyorsa sağılmış anne sütü veya formül süt verilmesi gerekebilir (1).

Fototerapiye ne zaman son verileceği konusunda bir standart bulunmamaktadır. Hastaneden taburcu edildikten sonra sarılık nedeniyle tekrar yatırılan (genellikle TSB => 18 mg/dl) bebeklerde TSB değeri 13-14 mg/dl'nin altına düşünce fototerapiye son verilebilir. Reboundu gözlemek için taburculuk geciktirilmemelidir. Ancak hemolitik hastalık için (direkt coombs pozitif) veya erken fototerapi uygulanmışsa ve bebek 3-4 günlük olmadan fototerapiye son verilmişse taburcu olduktan sonra 24 saat içinde bilirubin takibi yapılmalıdır (52).

2.1.5.3.1.1. Fototerapinin yan etkileri

Fototerapi uygulanan preterm ve term bebeklerde morbidite ve mortalitede artış saptanmamıştır. Ancak uygulama sırasında bazı geçici yan etkiler görülebilir.

- İnsensibl sıvı kaybının artması: Bebeğin aldığı sıvı miktarının 15-25 ml/kg/gün artırılması ile bu durum engellenebilir.
- Sulu dışkılama: Villöz epitel hasarına bağlı geçici laktoz intoleransı oluşması veya bağırsakta yüksek konsantrasyonda bilirubin bulunması sorumlu tutulmuştur.
- Retina hasarı: Gözler kapatılmadan yapılan fototerapi retinal dejenerasyona yol açabilir.

- Deri değişiklikleri: Geçici döküntüler şeklinde olabilir, kolestazi olan hastalarda lumirubin ve yıkım ürünlerinin birikimi sonucu deride gri-kahverengi renk değişikliği (bronz bebek sendromu) gelişebilir.

- Fototerapi ile trombosit yıkımı artarak trombositopeni gelişebilir (1, 59).

- Oksidatif stres: Fototerapi oksidatif hasar oluşturabilir. Oksidasyon ve serbest radikallerin fototerapi alan çok düşük doğum ağırlıklı yenidoğan bebeklerde bronkopulmoner displazi, prematüre retinopatisi, nekrotizan enterokolit ve PDA gelişimine zemin hazırladığı öne sürülmektedir. Fototerapi yenidoğan döneminde gerekli olabilecek antioksidanların kan dolaşımı ve dokulardan uzaklaştırılmasına neden olabilir. İn vitro olarak klinikte kullanılan fototerapi dozlarına eş seviyede kullanılan ışınlarla hücrelerde DNA hasarı oluşturulabilmiştir (60). Ancak yenidoğan döneminde fototerapi alan ve uzun süre takip edilen vakalarda büyüme, gelişme veya davranışsal açıdan herhangi bir komplikasyon gelişimi izlenmemiştir (58). Yeni LED teknolojili fototerapi cihazlarının fotooksidasyon etkisini minimuma indirdiği düşünülmektedir. Kan ürünleri ve total parenteral beslenme sıvıları fototerapi alan yenidoğanlara dikkatle verilmelidirler. Bu ürünler fototerapi ışınlarından etkilendikleri ve yapıları bozulduğu için verildikleri setler alüminyum folyo ile sarılarak veya ışığa dirençli setler kullanılarak bu sorun önlenabilir.

Fototerapinin tek kontrendike olduğu hastalık konjenital eritropoetik porfiridir. Hemoliz, splenomegali ve kırmızı renkli idrarın bulunduğu bu hastalıkta ışık, ağır büllöz lezyonlara ve hemolize yol açarak ölüme neden olabilir (52).

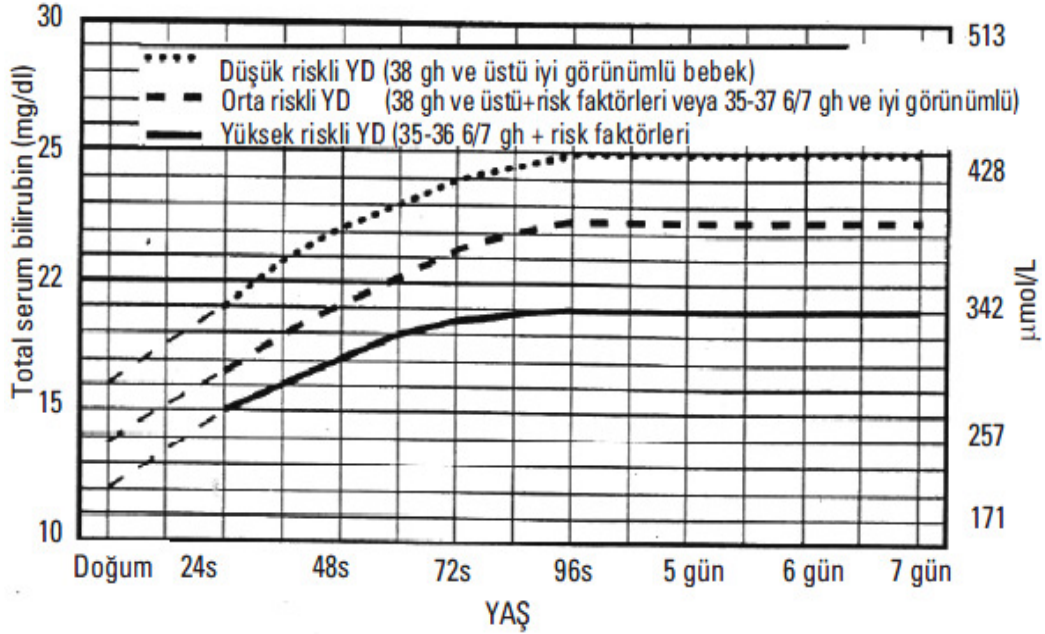
2.1.5.3.2. Kan değişimi

Kan değişimi hiperbilirubinemiye bağlı ensefalopatinin önlenmesi için yapılacak acil girişimdir. Akut bilirubin ensefalopatisinin spesifik bulguları tanımlandıktan sonra, bilirubin düzeyinin hızlı ve güvenli bir şekilde düşürülmesi amaçlanmıştır. Şekil 4'te 35 hafta ve üzeri yenidoğanlarda kan değişimi tedavi endikasyonları için ölçütler verilmiştir. Acil kan değişimi hazırlığı yapılırken, yoğun fototerapi ile tedavi devam etmelidir. Kan değişimi ile bebeğin eritrositlerinin yaklaşık %85'i yenilenmiş, serum bilirubin değerleri yaklaşık %50 düşürülmüş olur (1, 52). Erken kan değişimi ile sensitize eritrositlerin uzaklaştırılması yoluyla bilirubin oluşumunun engellenmesi

var olan bilirubinün uzaklaştırılmasından daha önemlidir. Kan değişimi ile plazmadaki anti-D antikorlar da uzaklaştırılır (1).

Kan değişimi için en uygun yöntem umbilikal venin kateterize edilmesidir. Kateter olarak 5 Fr veya 8 Fr kateterler kullanılabilir. Kateter umbilikal venden geçilerek duktus venozus yoluyla diafragmanın hemen üstünde vena cava inferior içine yerleştirildikten sonra ucuna 4 yollu musluk takılır. Bir yol taze kanın gelişi, bir yol bebekten alınan kanın atılması için kullanılır. Kan değişimi için bebeğin kan volümünün yaklaşık 2 katı (gestasyon yaşına göre 160-200 ml/kg) miktarında kan ile yapılır. Term yenidoğanlarda kanın 10 ml, çok düşük doğum tartılı bebeklerde ise 5 ml alınıp verilmesi yeterli olur. Hemodinamik dengesizlikleri önleyebilmek için bu işlem yavaş yapılmalıdır. Yavaş yapılan kan değişiminde her alıp verme 3-5 dakika sürer.

Kan değişimi için seçilecek kan grubu, hemolitik hastalığın cinsine göre değişiklik gösterir. Rh uyuşmazlığına bağlı hastalarda ABO grubu uygun veya 0 grubu Rh negatif kan kullanılır. ABO uyuşmazlığında ise 0 grubu, bebeğin Rh grubuna uygun kan kullanılır (1, 52).



Şekil 4. ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda kan değişimi önerileri (46).

2.1.5.3.3. Farmakolojik tedavi

Hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanlar, bilirubin atılımını hızlandırıcı (enterohepatik dolaşımı azaltıcı) veya bilirubin oluşumunu engelleyici etki gösterebilir (1).

İntravenöz İmmüoglobulin: Rh izoimmunizasyonu olan yenidoğanlarda doğumdan hemen sonra yüksek doz (0.5-0.8 gr/kg) 3 gün süre ile intravenöz immüoglobulin (IVIG) kullanımının bilirubin yükselme hızını yavaşlattığı ve kan değişimi ihtiyacını azalttığı bildirilmiştir. IVIG tedavisinin yan etkisi gözlenmemiştir (1, 14, 52).

Fenobarbital: Güçlü bir mikrozomal enzim indükleyicisidir. Bilirubinün karaciğer hücre alımını ve ekskresyonunu artırıcı etkisi vardır. 5 gün süreyle 5 mg/kg/gün verilir. Tedaviye başlanmasının 3. gününden itibaren total bilirubin düzeyini azaltır. Maksimum etki tedavinin 5. gününde gözlenir. Prematürelde fenobarbitalin etkisi çok daha azdır. Fototerapiyle birlikte fenobarbital kullanılmasının yalnızca fototerapi kullanılmasına karşı bir üstünlüğü yoktur (14, 52).

Şilofibrat: Glukuronil transferaz aktivitesini artırarak bilirubinün eliminasyonunu hızlandırır. 50 mg/kg tek doz uygulama ile 6 saat içinde bilirubinün klirensini %100 arttırdığı saptanmıştır (52).

Agar: Bağırsak içindeki bilirubin bağlayarak enterohepatik dolaşımı önler. Ancak klinik çalışmalarda anne sütü ile sık beslenmeye (2 saat arayla) üstünlüğü gösterilememiş ve rutin kullanımı önerilmemektedir (1).

2.1.6. Bilirubin ve oksidatif stres

Bilirubinün insan vücudundaki rolünü araştırmaya yönelik çalışmalar özellikle 1987 yılında Stocker ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma sonrası oksidatif stres üzerinde yoğunlaşmış ve bilirubinün doğal antioksidan sistemin bir parçası olduğuna inanılmaya başlanmıştır (61).

Bir başka çalışmada, akut viral hepatitli hastalarda serum bilirubin düzeyinin total serum antioksidan düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (62).

Birçok çalışma bilirubinün kardiyoprotektif ve antiaterojenik olaylarda güçlü bir rol oynadığını öne sürmektedir. İndirekt bilirubin düşük dansiteli lipoprotein

(LDL)'nin oksidasyonunu inhibe ederek aterogenezi azaltmaktadır (63). Hem oksijenaz'ın formlarından biri olan HO-1, normalde vasküler endotelial ve düz kas hücrelerinde düşük yoğunlukta bulunmakta ve oksidatif stres, inflamasyon mediatörleri, hipoksi, okside LDL, hem ve metaller tarafından uyarılmaktadır. HO-1 bir çeşit stres yanıt proteini olarak rol oynar ve HO-1'in oksidatif hasarda hücre savunma mekanizmalarında önemli bir fonksiyonu bulunmaktadır.

Foresti ve arkadaşları, hipoksi anında ratların kardiyomiyositlerinde indirekt hiperbilirubin hücre hasarını ve reaktif oksijen radikallerini azalttığını saptamışlardır (64). Bu, oksidatif stres varlığında, bilirubin vücut için koruyucu rol üstlenerek bir antioksidan gibi davranmış olabileceğini düşündürmüştür.

Benaron ve arkadaşları (65) ile Hegyi ve arkadaşları (66) nekrotizan enterokolit, bronkopulmoner displazi, intraventriküler kanama, prematüre retinopatisi, dolaşım yetmezliği, asfiksi, aspirasyon sendromları ve sepsis gibi serbest radikaller ile ilişkili hastalıkları olan yenidoğanlarda bilirubin düzeyinin kontrollere göre daha düşük olduğunu göstermiş ve bilirubin oksidatif strese karşı koymak üzere tüketildiğini iddia etmişlerdir.

Belanger ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sarılıklı bebeklerde kan değişimi öncesi ve sonrası in vivo antioksidan aktivite değerlendirilmiş, plazma antioksidan aktivitesinin kan değişimi sonrası azaldığı tespit edilmiş ve bu azalmanın kan bilirubin düzeyindeki azalmaya bağlı olduğu düşünülmüştür (67).

Bilirubin antioksidan etkisini gösteren çalışmalar yanında aksine bilirubin antioksidan etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. 1991 yılında Gatton ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada prematüre retinopatisinde bilirubin koruyucu etkisi gösterilememiştir (68).

Turgut ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da sarılıklı prematürelere sarılığı olmayanlara göre plazma total nitrit düzeyi yüksek, buna karşın eritrosit katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve vitamin A, vitamin C, vitamin E ile selenyum düzeyleri düşük bulunmuş ve prematürelere antioksidanların düşük olması nedeniyle oksidatif stresin arttığı ve buna bağlı olarak gelişen hemoliz nedeniyle de hiperbilirubinemi olduğu şeklinde yorumlanmıştır (69).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. İzolatların Toplanması

Ankara Zekai Tahir Burak Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, 1 Haziran 2009 – 31 Aralık 2011 tarihleri arasında, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan bebeklerden alınan kan kültürlerinde üreme tespit edildikten sonra elde edilen izolatlar skim milk besiyerinde (Oxoid, İngiltere) muhafaza edildikten sonra Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. 20 *Escherichia Coli*, 20 *Klebsiella Pneumoniae*, 20 *Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok*, 20 *Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok* olmak üzere toplam 80 izolat çalışmaya dahil edildi.

3.2. Kültür ve Bakteri Tanımlaması

Belirtilen tarihler arasında laboratuvara gönderilen klinik örneklerin kanlı agar (Oxoid, İngiltere) ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar (Oxoid, İngiltere) besiyerlerine ekimleri yapılarak, bunlar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, gram negatif, basil veya kokobasil morfolojisinde ve oksidaz negatif olan bakterilerin tanımlamaları, biyokimyasal özelliklerine (sitrata kullanımı, glikoz, laktoz, sükröz fermentasyonu, indol/üre hidrolizi, hareket, lizin dekarboksilaz aktiviteleri) göre yapıldı. Bu şekilde tanımlanamayan bakterilerin identifikasyonları için ise, BBL Crystal Identification Systems E/NF (Becton, Dickinson, ABD) tanımlama kiti kullanıldı. İnkübasyon sonrasında, gram pozitif, kok morfolojisindeki bakterilerin tanımlaması ise katalaz ve koagulaz testleri ve metisilin direncine göre yapıldı.

3.3. Besiyeri Hazırlaması ve Ekim

Bilirubin (AppliChem, Germany) EDTA ve NaHCO₃ içeren solüsyon içinde çözüldü ve ana stok hazırlandı. 1 desilitrelik solüsyonda 5 mg, 10 mg ve 15 mg bilirubin içerecek şekilde 3 ayrı konsantrasyonda hazırlanan bilirubin 50 °C'ye kadar

soğutulmuş Mueller Hinton agara (Oxoid, İngiltere) ilave edildikten sonra karıştırılarak, kalınlığı 4 mm olacak şekilde petri plaklarına döküldü. Besiyerleri katılaştıktan sonra, 5 mg/dl, 10 mg/dl ve 15 mg/dl'lik konsantrasyonlarda bilirubin içeren Muller Hinton agar besiyerlerine her bir izolattan 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp 5 µl alınarak, agar yüzeyinde 5-8 mm çapında bir alana yayılarak ekimi yapıldı. 35°C'de on sekiz saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra, bakteriyel üreme değerlendirildi.

3.4. İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatiksel analizler için SPSS (Statistical Package for social Sciences) for Windows 11,0 (SPSS Inc., Chicaco, IL) programı kullanıldı. Verilerin istatiksel değerlendirilmesinde $P<0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi.

3.5. Etik Kurul İzni

Çalışma, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından 23/06/2009 tarihli toplantısında onaylanmıştır. (Belge no:2009/08) (Ek 1).

4. BULGULAR

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında tiplendirilmesi yapılan 20 *Escherichia coli*, 20 *Klebsiella Pneumoniae*, 20 *Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok*, 20 *Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok* olmak üzere toplam 80 izolat çalışmaya dahil edildi. Bilirubin grubunda 5 mg/dl, 10 mg/dl ve 15 mg/dl'lik konsantrasyonlarda bilirubin içeren Muller Hinton agar besiyerlerine her bir izolattan 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp 5 µl alınarak, agar yüzeyinde 5-8 mm çapında bir alana yayılarak ekimi yapıldı. Kontrol grubu olarak da yine aynı mikroorganizmalar bilirubin içermeyen Muller Hinton agar besiyerlerine her bir izolattan 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp 5 µl alınarak, agar yüzeyinde 5-8 mm çapında bir alana yayılarak ekimi yapıldı. 35°C'de on sekiz saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra, bakteriyel üreme değerlendirildi.

Tablo 3. Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok Üzerine Bilirubin Antibakteriyel etkisi

	Besiyeri Grupları	Bakteri Üremesi Olan Besiyeri	Bakteri Üremesi Olmayan Besiyeri	Toplam	p
Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok	Kontrol	20	0	20	1.00
	5 mg/dl	20	0	20	
	10 mg/dl	20	0	20	
	15 mg/dl	20	0	20	

Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok grubu için inkübasyon süresi sonrası yapılan değerlendirmede; besiyerlerine sırası ile 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl konsantrasyonunda eklenen bilirubin bakteriyel üremesini inhibe etmediği görüldü (Tablo 3). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1,00).

Tablo 4. Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok Üzerine Bilirubinin Antibakteriyel Etkisi

	Besiyeri Grupları	Bakteri Üremesi Olan Besiyeri	Bakteri Üremesi Olmayan Besiyeri	Toplam	p
Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok	Kontrol	20	0	20	1,00
	5 mg/dl	20	0	20	
	10 mg/dl	20	0	20	
	15 mg/dl	20	0	20	

Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok grubu için inkübasyon süresi sonrası yapılan değerlendirmede; besiyerlerine sırası ile 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl konstrasyonunda eklenen bilirubinin bakteri üremesini inhibe etmediği görüldü (Tablo 4). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1,00).

Tablo 5. Escherichia Coli Üzerine Bilirubinin Antibakteriyel Etkisi

	Besiyeri Grupları	Bakteri Üremesi Olan Besiyeri	Bakteri Üremesi Olmayan Besiyeri	Toplam	p
E. Coli	Kontrol	20	0	20	1,00
	5 mg/dl	20	0	20	
	10 mg/dl	20	0	20	
	15 mg/dl	20	0	20	

Escherichia Coli grubu için inkübasyon süresi sonrası yapılan değerlendirmede; besiyerlerine sırası ile 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl konstrasyonunda eklenen bilirubinin bakteri üremesini inhibe etmediği görüldü (Tablo 5). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1,00).

Tablo 6. Klebsiella Pneumoniae Üzerine Bilirubinın Antibakteriyel Etkisi

	Besiyeri Grupları	Bakteri Üremesi Olan Besiyeri	Bakteri Üremesi Olmayan Besiyeri	Toplam	p
Klebsiella Pneumoniae	Kontrol	20	0	20	1,00
	5 mg/dl	20	0	20	
	10 mg/dl	20	0	20	
	15 mg/dl	20	0	20	

Klebsiella Pneumoniae grubu için inkübasyon süresi sonrası yapılan değerlendirmede; besiyerlerine sırası ile 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl konstrasyonunda eklenen bilirubinın bakteri üremesini inhibe etmediği görüldü (Tablo 6). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1,00).

Gruplar çalışmaya alınan bakteriler için ayrı ayrı incelendiğinde, besiyerlerine 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl konstrasyonunda eklenen bilirubinın in vitro şartlarda bakteri üremesini inhibe etmediği görüldü. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=1,00).

5. TARTIŞMA

Sarılık, yenidoğan döneminde en sık görülen sorunlardan biri olup hayatın ilk haftası içerisinde term bebeklerin % 60'ında, preterm bebeklerin % 80'inde görülmektedir (70).

Amerikan Pediatri Akademisi 1994 yılında yapmış olduğu önerileri güncelleyerek 2004 yılında yenidoğan sarılığı tedavisine yönelik yeni önerilerini içeren bir yönerge yayınlamıştır. Yenidoğan hiperbilirubinemisine yönelik fototerapi, kan değişimi, çeşitli ajanların (fenobarbital, metalloporfirinler, oral agar, IVIG) kullanımı gibi birçok tedavi yöntemi mevcuttur (1, 52, 56).

Yıllardır süren çalışmalara rağmen, hem katabolizması sonucu ortaya çıkan bilirubinin herhangi bir özelliği olmayan bir son ürün ve atık bir madde mi, yoksa önemli fizyolojik rolü bulunan bir molekül mü olduğu konusu tam açıklık kazanmamıştır (5). Ancak bu görüş bilirubin/biliverdinin antioksidan etkilerinin yapılan çalışmalarla gösterilmeye başlanması ile değişime uğramıştır. (61, 63, 71)

Son yıllarda bilirubinin antioksidan özelliğinin gösterilmesi, antibakteriyel özelliğinin var olduğuna inanılmasıyla yenidoğan sarılıklarında mevcut tedavi rejimlerinin tekrar gözden geçirilmeye başlanmıştır (72). Bu bilgiler ışığında, “fototerapi ve kan değişimini gereğinden fazla mı uyguluyoruz?”, “yenidoğanların plazma bilirubin düzeylerini ne kadar azaltmalıyız?”, “vücudun bir savunma mekanizmasını mı bloke ediyoruz?” soruları akla gelmektedir.

Fizyolojik şartlarda insanlardaki plazma bilirubin düzeyi 0,3-1 mg/dl (5-17 µM) arasında değişir ve hemen tamamı albümine bağlı olarak bulunurken, 17,6 mg/dl'dan (300 µM) yüksek kan düzeyleri beynin bazı bölgelerinde bilirubin depolanması ve bunun sonucunda gelişen nörotoksisite ile ilişkilidir (61). Toksik olmayan biliverdinden, enerji harcanan bir indirgenme reaksiyonu ile toksik bir molekül olan bilirubinin oluşması fizyolojik olarak yararlı olduğu iddiasını destekler niteliktedir.

Bilirubinin in vitro çalışmalara dayanan güçlü bir antioksidan olduğu bilgisinden hareketle sarılıklı bebeklerde kan değişimi öncesi ve sonrası in vivo antioksidan aktivite değerlendirilmiş ve plazmanın antioksidan aktivitesinin kan değişimi sonrası azaldığı tespit edilmiş ve bu azalmanın kan bilirubin düzeyindeki azalmaya bağlı olduğu iddia edilmiştir (67). Ancak kan değişimi sonrası antioksidan

aktivitedeki azalmanın bilirubin dışında başka faktörlerle de (çok miktarda kan verilmesi ve dolayısıyla demir yükü gibi) ilişkili olabileceği belirtilmiştir.

Yiğit ve arkadaşlarının çalışmasında (73) sarılığı olan yenidoğanlarda oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit düzeyleri sarılığı olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bilirubinün antioksidan etkisi ön kabulüne dayanarak malondialdehitteki artış, artmış oksidatif stres sonucu hemoliz ve bunun sonucunda da bilirubin artışı şeklinde yorumlanmıştır.

Son yıllarda bilirubinün antioksidan etkisi üzerine yapılan çalışmaların artması, hem katabolizması sonucu oluşan biliverdin/bilirubinün antibakteriyel etkinliğinin araştırılması konusunda merak uyandırmıştır. Overhaus ve ark. tarafından biliverdinün antibakteriyel etkinliğini değerlendirmek için ratlara intraperitoneal biliverdin uygulanmış, sepsisten koruyucu etkisi araştırılmıştır. Biz de çalışmamızda in vitro ortamda bilirubinün antibakteriyel etkisini bakteriler üzerinde değerlendirdik. Overhaus ve ark. yaptıkları çalışma sonucu biliverdinün sepsis, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu, multi organ yetmezliğinden koruyucu etkinliği canlı ratlar üzerinde gösterilmişken bizim çalışmamızda in vitro olarak antibakteriyel etki saptanmamıştır (72).

Çalışmamızda bilirubinün antibakteriyel etkinliğinin saptanamamış olmasının nedeni in vivo mekanizmalarla in vitro mekanizmaların birbirinde farklı oluşu olabilir. Bilirubinün in vivo antibakteriyel etkisi olup - olmadığı gösterilmemiştir. Bilirubin belki de antioksidan etki yoluyla çeşitli farklı mekanizmaları kullanarak antibakteriyel etki sağlamaktadır. Çalışmamızın in vitro koşullarda olması bunu öngörmemizi engellemiş olabilir. Çalışmamızda sınırlı çeşitlilikte mikroorganizma kullanılmıştır. Farklı mikroorganizmalarla yapılacak çalışmalarda in vitro etki gösterilebilir. Çalışmamızda bilirubinün in vitro olarak 15 mg/dl üzerindeki konsantrasyonlarda antibakteriyel etkinliği sağlıklı yaşamla bağdaşmaması ve bu konsantrasyonlarda yenidoğan üzerinde toksik etkileri nedeni ile değerlendirilmemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilirubin in vitro olarak çeşitli bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliğinin olup olmadığını araştırmak amacıyla 1 Haziran 2009 – 31 Aralık 2011 tarihleri arasında, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan bebeklerden alınan kan kültürlerinde üreme tespit edildikten sonra elde edilen izolatlar skim milk besiyerinde (Oxoid, İngiltere) muhafaza edilip Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. 20 *Escherichia Coli*, 20 *Klebsiella Pneumoniae*, 20 *Metisiline Duyarlı Koagulaz Negatif Stafilokok*, 20 *Metisiline Dirençli Koagulaz Negatif Stafilokok* olmak üzere toplam 80 izolat çalışmaya dahil edildi. Bilirubin EDTA ve NaHCO₃ içeren solusyon içinde çözüldü. 5 mg/dl, 10 mg/dl ve 15 mg/dl'lik konsantrasyonlarda bilirubin içeren Muller Hinton agar besiyerlerine her bir izolattan 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanıp 5 µl alınarak, agar yüzeyinde 5-8 mm çapında bir alana yayılarak ekimi yapıldı. 35°C'de on sekiz saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra, bakteriyel üreme değerlendirildi. Gruplar çalışmaya alınan bakteriler için ayrı ayrı incelendiğinde, besiyerlerine % 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl konsantrasyonunda eklenen bilirubin in vitro şartlarda bakteri üremesini inhibe etmediği görüldü.

Literatürde bilirubin antioksidan etkinliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bilirubin antibakteriyel etkinliği ve antibakteriyel etkinliğin saptandığı minimum bilirubin konsantrasyon düzeyinin tespiti, yenidoğan sarılıklarında tedavi protokollerini değiştirecek öneme sahiptir. Bu nedenle bilirubin antibakteriyel etkinliğinin araştırılması için in vivo ortamda ve daha çok çeşitlilikte mikroorganizmaları kapsayan geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Can G, Çoban A, İnci Z. Yenidoğan Sarılıkları. In: Neyzi O, Ertuğrul T. *Pediatrici Cilt:1 Nobel İstanbul*: 402-20, 2002.
2. Oran O, Gurakan B. Bilirubin Metabolizması, *Katkı Pediatrici Dergisi* 16:667-669, 1995.
3. Stoll BJ, Kliegman RM. Digestive System Disorders. In Berhrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. Philadelphia: Saunders Company: 592-596, 2004.
4. Shapiro SM. Bilirubin toxicity in the developing nervous system. *Pediatr Neurol*; 29: 410-421, 2003.
5. Brito MA, Brites D, Butterfield DA. A link between hyperbilirubinemia, oxidative stress and injury to neocortical synaptosomes. *Brain Res*; 1026: 33-43, 2004.
6. Hoffman DJ, Zanelli SA, Kubin J, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M. The in vivo effect of bilirubin on the N-methyl-D-aspartate receptor/ion channel complex in the brains of newborn piglets. *Pediatr Res*; 40: 804-808, 1996.
7. Grojean S, Lievre V, Koziel V, Vert P, Daval JL. Bilirubin exerts additional toxic effects in hypoxic cultured neurons from developing rat brain by the recruitment of glutamate neurotoxicity. *Pediatr Res*; 49: 507-513, 2001.
8. Tiribelli C, Ostrow JD. The molecular basis of bilirubin encephalopathy and toxicity: report of an EASL Single Topic Conference, Trieste, Italy, 1-2 October, 2004. *J Hepatol*; 43: 156-166, 2005.
9. Brito MA, Rosa AI, Falcao AS, Fernandes A, Silva RF, Butterfield Da, Brites D. Unconjugated bilirubin differentially affects the redox status of neuronal and astroglial cells. *Neurobiol Dis*; 29: 30-40, 2008

10. Brito MA, Lima S, Fernandes A, Falcao AS, Silva RF, Butterfield DA, Brites D. Bilirubin injury to neurons: contribution of oxidative stress and rescue by glycoconjugated deoxycholic acid. *Neurotoxicology*; 29: 259-269, 2008.
11. Madan A, Mac Mahon JR. Neonatal hyperbilirubinemia. In Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA (eds). *Avery's Diseases of the Newborn*. Philadelphia: Elsevier-Saunders: 1226-1256, 2005.
12. Melton K, Akinbi HT. Neonatal jaundice: strategies to reduce bilirubin – induced complications. *Postgraduate Med* 1999; 106:167-178.
13. Alpay F, Öztürk A. Yenidoğan sarılığı. *Türkiye Klinikleri J Ped Sp Iss* 2(7): 689-697, 2004.
14. Dağoğlu T., Ovalı F. İndirekt Hiperbilirubinemi. *Neonatoloji, İstanbul, Nobel Tıp*: 443-460, 2000.
15. Tiribelli C, Ostrow JD. New concepts in bilirubin chemistry, transport and metabolism. Report of the international bilirubin workshop, April 6-8, 1989, Trieste, Italy. *Hepatology* 11:303-313, 1990.
16. Stevenson DK, Fanaroff AA, Maisels MJ, Young BW, Wong RJ, Vreman HJ, MacMahon JR, Yeung CY, Seidman DS, Gale R, Oh W, Bhutani VK, Johnson LH, Kaplan M, Hammerman C, Nakamura H. Prediction of hyperbilirubinemia in near-term and term infants. *Pediatrics*; 108: 31-39, 2001.
17. Sivaslı E. Yenidoğan Bebeklerde Uzamış Sarılık. *Gaziantep Tıp Dergisi*; 15 (2): 49-55, 2009.
18. Schmid R. Bilirubin Metabolism in Man. *N Eng J Med*; 287:573-578, 1972.
19. Mac Mahon JR, Stevenson DK, Oski FA. Bilirubin. In: Taeusch HM, Ballard RA. (eds). *Avery's Diseases of the Newborn*, 7th ed, Philadelphia: A Division of Horcourt Brace Company: pp 995-1020, 1998.

20. Halamek LP, Stevenson DK. Neonatal jaundice and liver disease, In: Fanaroff AA, Martin RJ (eds). Neonatal Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Newborn. St Louis; Mosby; 1309-1350, 2002.
21. Alpay F. Sarılık. In: Türk Neonatoloji Derneği. Yurdakök M, Erdem G. (eds). Neonatoloji. Ankara: Alp Ofset; 559-578, 2004.
22. Beşışık S, Beşışık F, Taşçıoğlu C. Sarılıklı hastaya yaklaşım; XI. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi; 145-146, 2009.
23. Türk Neonatoloji Derneği Neonatoloji . Sarılıklar. Ed: Murat Yurdakök, Gülşen Erdem, Ankara: 559-78, 2004.
24. Wong RJ, Desandre GH, Sibley E, Stevenson DK. Neonatal Jaundice and liver diseases. In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC (eds). Neonatal-Perinatal Medicine. Diseases of the Fetus and Infant, 8th edition Mosby Elsevier; 1419-5, 2006.
25. Steffensrud S, Hyperbilirubinemia in term and near-term infants: Kernicterus on the rise. Newborn and Infant Nursing Reviews: 4:191-200, 2004.
26. Gartner LM. Neonatal jaundice. *Pediatr Rev* ;15:422-432, 1994.
27. Maisels MJ, Gifford KL, Antle CE, Lieb GR. Jaundice in the healthy newborn infant: a new approach to an old problem. *Pediatrics*; 81:505-511, 1988.
28. McMahon JR, Stevenson DK, Oski FA. Physiologic Jaundice . In: Taeusch HW, Ballard RA, eds. *Avery's Disease of the Newborn* 7th ed. Philadelphia, WB Saunders, pp 1003-1007, 1998.
29. Bracci R, Bounocore G, Bruchi S, Berni S. Epidemiologic study of neonatal jaundice. *Acta Pediatr Scand*; 360:S87-S92, 1989.
30. Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence risk of neonatal hyperbilirubinemia in siblings. *AJDC*; 142:1065-1069, 1988.
31. Maisels MJ, Gifford K. Normal serum bilirubin levels in the newborn and the effect of breast-feeding. *Pediatrics*; 78:837-843, 1986.

32. Blanchette V, Doyle J, Schmidt B, Zipursky A. Hematology. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG (Eds). Neonatology: Pathophysiology and management of the Newborn. Philadelphia: JB Lippincott Co: 952-98, 1994.
33. Maisels JM . Jaundice. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG (eds) neonatology: Pathophysiology and management of the newborn. 4 th ed, Philadelphia, JB. Lippincott Company, pp 630 -725, 1994.
34. Maisels MJ. Physiologic jaundice. In: Macdonald MG, Mullet MD, Seshia MMK (eds) Avery's Neonatology Pathophysiology & Management of the Newborn. 6th Edition. Philadelphia Lippincott Saunders: 768-846, 2005.
35. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. N Engl J Med: 344; 581-90, 2002.
36. Porter ML, Dennis BL, Hyperbilirubinemia in the Term Newborn, Am. Fam. Physician: 65, 599-606, 2002.
37. Osborn LM, Reiff MI, Bolus R. Jaundice in the fullterm neonate. Pediatrics; 73:520-5, 1984.
38. Schneider AP II. Breast milk jaundice in the newborn. A real entity. JAMA; 255:3270-4, 1986.
39. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. N Engl J Med; 344:581-90, 2001.
40. Melton K, Akinbi HT. Neonatal jaundice. Strategies to reduce bilirubin-induced complications. Postgrad Med ; 106:167-8,171-4,177-8, 1999.
41. Siberry GK, Iannone R, eds. The Harriet Lane handbook: a manual for pediatric house officers. 15th ed. St. Louis: Mosby: 257-8, 2000.
42. Gartner LM, Herschel M. Jaundice and breastfeeding. Pediatr Clin North Am; 48:389-99, 2001.
43. Poland RL. Breast-milk jaundice. J Pediatr; 99: 86-8, 1981.

44. Brodersen R, Herman LS. Intestinal reabsorption of unconjugated bilirubin. *Lancet*; 1:1242, 1963.
45. Kültürsay ve ark, İndirekt Hiperbilirubinemi/Nedenler ve Tanı, *Güncel Pediatri*; 2:21-5, 2006.
46. American Academy of Pediatrics: Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics* 114:297-316, 2004.
47. Wennberg RP. The blood-brain barrier and bilirubin encephalopathy. *Cellular and Molecular Neurobiology*; 20: 97-109, 2000.
48. Vural M, Bilirubin Toksisitesi; *Güncel Pediatri*; 6:112-113, 2008.
49. Bhutani VK, Johnson LH, Schwoebel A, Gennaro S. A systems approach for neonatal hyperbilirubinemia in term and near-term newborns. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*; 35:444-55, 2006.
50. Akım MA KS, Özbek S, Aldemir SE. Erken taburcu olan yenidoğanlarda yeniden hastaneye yatış nedenleri ve sonuçları. *Türk Pediatri Arşivi*; 41:207-9, 2006.
51. Çoban A, İndirekt Hiperbilirubinemi Tedavisi; *Güncel Pediatri*; 3:114-117, 2006.
52. Acunaş B, Hiperbilirubinemide Tedavi, *Güncel Pediatri*; 3:114-118, 2008.
53. Lucey J, Ferreiro M, Hewitt J. Prevention of hyperbilirubinemia of prematurity by phototherapy. *Pediatrics*; 41:1047, 1968.
54. Cremer RJ, Perryman PW, Richards DH. Influence of light on the hyperbilirubinaemia of infants. *Lancet*; 24:094-1097, 1958.
55. Stokowski LA. Fundamentals of phototherapy for neonatal jaundice. *Adv Neonatal Care*; 6: 303-312, 2006.
56. Whittington PR, Alanso EM. Disorders of Bilirubin Metabolism. In Nathan and Oski's *Hematology of Infancy and Childhood*. Nathan DG, Orkin SH. (eds). Philadelphia: W:B. Saunders: 79-113, 1988.

57. Tan KL, Boey KW. Efficacy of phototherapy in non-haemolytic hyperbilirubinemia. *Br Med J (Clin Res Ed)*; 293:1361-1263, 1986.
58. Vreman HJ, Wong RJ, Stevenson DK. Phototherapy: Current methods and future directions. *Seminars In Perinatology*; 28(5):326-33, 2004.
59. Ham WT, Mueller HA, Sliney DH. Retinal sensitivity to damage from shortwavelength light. *Nature*; 260: 153-5, 1976.
60. Speck WT, Rosenkranz HS: Intracellular deoxyribonucleic acid-modifying activity of phototherapy lights. *Pediatr Res* 10: 553-555, 1976.
61. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*; 235: 1043-1046, 1987.
62. Bliuger AF, Dudnik LB, Maiore AIa, Mieza IE. Role of bilirubin as a natural antioxidant in regulating lipid peroxidation intensity in acute viral hepatitis. *Biull Eksp Biol Med*; 99:166-168, 1985.
63. Neuzil J, Stocker R, Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for α -tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *J Biol Chem* 269: 16712-16719, 1994.
64. Foresti R, Goatly H, Green CJ, and Motterlini R. Role of heme oxygenase-1 in hypoxia-reoxygenation: requirement of substrate heme to promote cardioprotection. *Am J Physiol* 281: H1976-H1984, 2001.
65. Benaron DA, Bowen FW. Variation of initial serum bilirubin rise in newborn infants with type of illness. *Lancet*; 338: 78-81, 1991.
66. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J Perinatol*; 14: 296-300, 1994.
67. Belanger S, Lavoie JC, Chessex P. Influence of bilirubin on the antioxidant capacity of plasma in newborn infants. *Biol Neonate*; 71: 233-238, 1997.

68. Gaton DD, Gold J, Axer-Siegel R, Wielunsky E, Naor N, Nissenkorn I. Evaluation of bilirubin as possible protective factor in the prevention of retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol*; 75: 532-534, 1991.
69. Turgut M, Başaran O, Cekmen M, Karataş F, Kurt A, Aygün AD. Oxidant and antioxidant levels in preterm newborns with idiopathic hyperbilirubinaemia. *J. Pediatr Child Health*; 40: 633-637, 2004.
70. Ives NK, Rennie JM, Robertson NRC. Jaundice. *Textbook of neonatology*, 3rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; p. 715–732, 1999.
71. Otterbein LE, Soares MP, Yamashita K, Bach FH. Heme oxygenase- 1: unleashing the protective properties of heme. *Trends Immunol* 24:d 449–455, 2003.
72. Overhaus M, Moore A.B, Barbato J, Behrendt F, Doering J, Bauer A; Biliverdin protects against polymicrobial sepsis by modulating inflammatory mediators, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290:G695-G703, 2006.
73. Yiğit S, Yurdakök M, Kilin K, Oran O, Erdem G, Tekinalp G. Serum malondialdehyde concentrations in babies with hyperbilirubinemia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* ; 80: F235-237, 1999.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu


TOPLANTI TARİHİ : 23.06.2009
TOPLANTI NO : 2009/08

KARARLAR :

37- Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığının "Bilirübinin Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Antibakteriyel Etkisinin İnvitro Olarak Araştırılması" konulu çalışmasının Etik Kurallara uygun olduğuna,

Oy Birliği ile karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR


Doç.Dr. Banu D. GÜN
Hastane Etik Kurulu Başkanı