



# Term ve geç preterm bebeklerde göbek kordonu klemleme zamanının lenfosit alt grupları üzerine etkisi

The effects of umbilical cord clamping time on lymphocyte subgroups in term and late preterm infants

Nilgün Bahar<sup>1</sup>, Mehmet Satar<sup>2</sup>, Mustafa Yılmaz<sup>3</sup>, Selim Büyükkurt<sup>4</sup>, Ferda Özlü<sup>2</sup>, Hacer Yapıcıoğlu Yıldızdaş<sup>2</sup>, Akgün Yaman<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Yenidoğan Bilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>3</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Allerji ve İmmunoloji Bilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>4</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>5</sup>Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Adana, Türkiye

**Cite this article as:** Bahar N, Satar M, Yılmaz M, et al. The effects of umbilical cord clamping time on lymphocyte subgroups in term and late preterm infants. Turk Pediatri Ars 2018; 53(4): 214-21.

## Öz

**Amaç:** Göbek kordonu klemleme zamanının geç preterm ve term bebeklerde lenfosit alt gruplarına etkisinin değerlendirilmesi.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmaya gebelik haftası 34 ile 41 arasında olan 74 bebek alındı. Bu bebeklerden 37'sinin kordonu bebek uterus dışına alındıktan hemen sonra klemplendi, 37'sinin kordonu ise bebek uterus dışına alındıktan 1 dk. sonra klemplendi. Bebekler term ve preterm olarak iki gruba ayrıldı. Bebeklerin prenatal, natal, postnatal özellikleri ve kordon kanı ile yedinci günde alınan kanda hematolojik değerleri ve lenfosit alt grup yüzdeleri incelendi. Lenfosit alt grupları akım sitometri yöntemiyle değerlendirildi.

**Bulgular:** Kordonu geç klemplenen preterm bebeklerin kordon kanı lökosit sayısı ve CD3+T lenfosit yüzdeleri hemen klemplenenlere göre daha düşük, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise daha yüksek bulunmuştur. Kordonu geç klemplenen preterm bebeklerin yedinci günü alınan kanında CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdeleri hemen klemplenenlere göre daha düşük saptanırken, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise daha yüksek bulunmuştur. Gruplar arasında sepsis gelişme oranlarında istatistik olarak anlamlı fark saptanmadı.

**Çıkarımlar:** Preterm bebeklerde kordonun geç klemplenesinin lökosit sayısı, CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdesinde azalmaya, CD19+B lenfosit yüzdesinde artışa neden olduğu saptandı. Kordon klemleme zamanının geciktirilmesinin term ve preterm bebeklerde sepsis gelişme oranı üzerine etkisi saptanmadı. Bu verilerin enfeksiyon gelişimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için daha geniş serili çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar sözcükler:** Geç preterm, kordon klemleme zamanı, lenfosit alt grubu, sepsis, term

## Abstract

**Aim:** To evaluate the effect of umbilical cord clamping time on lymphocyte subgroups in term and late preterm infants.

**Material and Methods:** Seventy-four infants between 34 and 41 weeks of gestation were included in the study. Of these, 37 were umbilical cord clamped immediately after birth and the remaining 37 were clamped after waiting one minute. Babies were divided into two groups as term and preterm. The prenatal, natal, postnatal characteristics of the infants were recorded. Hematologic and lymphocyte subgroups were investigated in cord blood and venous blood at day 7. Lymphocyte subgroups were evaluated using flow cytometry.

**Results:** With the delay of cord clamping, the leucocytes count and the percentage of CD3+T lymphocytes in cord blood of preterm infants decreased and this decrease continued at day 7. On the contrary, CD19+B lymphocyte levels in the cord blood of preterm infants increased, and this increase continued at day 7. Also, the percentage of CD4+T lymphocytes of preterm infants decreased with the delay of cord clamping at day 7. There was no difference between groups for the rate of sepsis development.

**Conclusion:** With the delay of cord clamping, the leucocytes count, the percentage of CD3+T, and CD4+T lymphocytes decreased, and the percentage of CD19+B lymphocytes increased in preterm infants. The delay in cord clamping time in term and preterm infants seems to have no impact on the rate of sepsis development. Larger series of studies are needed to assess the effect of these findings on the development of infection in late preterm infants who have delayed cord clamping.

**Keywords:** Cord clamping time, late preterm, lymphocyte subgroups, sepsis, term

**Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Mehmet Satar E-posta / E-mail: msatar@cu.edu.tr

**Geliş Tarihi / Received:** 06.03.2018 **Kabul Tarihi / Accepted:** 31.08.2018

©Telif Hakkı 2018 Türk Pediatri Kurumu Derneği - Makale metnine [www.turkpediatriarsivi.com](http://www.turkpediatriarsivi.com) web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2018 by Turkish Pediatric Association - Available online at [www.turkpediatriarsivi.com](http://www.turkpediatriarsivi.com)

DOI: 10.5152/TurkPediatriArs.2018.6900

## Giriş

Plasenta yaklaşık 100 mL civarında kan içerir. Bu kanın 1/4'ü ilk 15 sn, 1/2'si 1 dk. içinde plasentadan bebeğe geçer. Göbek kordonunun erken ya da geç klemplenmesi ile bu kan volümünde yaklaşık %10 azalma ya da artma olur. Doğumda ortalama hemoglobin seviyesi göreceli olarak değişirse de 48 saat sonra hemoglobin değerlerinde plazma hacminin tekrar dağılımı ile eritrosit kitlesinde azalma ya da artma hemoglobin değerlerine yansır (1). Term bebeklerde yapılan bir çalışmada kordonu hemen ya da geç klemplenen bebeklerde doğumda hematokrit düzeyi aynı iken 48. saatteki hematokrit düzeyi erken klemplenen grupta % 48, geç klemplenen grupta % 65 bulunmuştur (2).

Doğum sonrası kalp ve akciğer canlandırması gereken bebeklerde kordon klemplenmesinin en az 30 sn geciktirilmesi Amerikan Kalp Birliği'nin 2015 yılında yeniden düzenlenen yenidoğanın canlandırması kılavuzunda önerilmiştir (3). Bu uygulamanın sağkalım üzerine olumsuz etkisi olmadığı gibi daha yüksek kan basıncı, nekrotizan enterokolit gelişme sıklığı, daha seyrek ve düşük evrede intraventriküler kanama gelişme ve doğum sonrası kan nakli gereksiniminin azalması gibi olumlu etkileri vardır.

İmmün sistem iki kısımdan oluşur. Bunlar özgün ve özgün olmayan immün sistem olarak isimlendirilir. Monosit makrofaj sistemi ve nötrofiller özgün olmayan immün savunmada mikrobiyal patojenleri fagosite eder. Aynı monosit makrofaj sisteminin mikrobiyal antijenleri T lenfositlere sunması özgün immün yanıtın başlangıcıdır. Özgün immün yanıtta görevli hücreler T ve B lenfositlerdir (4). Kordon klemplenmenin geciktirilmesinin eritrositler üzerine etkisi gösterilmiş olmasına rağmen lenfosit alt grupları üzerine etkisi ile ilgili olarak dizinde bir veriye rastlanmamıştır.

Bu çalışmada umbilikal kord klemplemesinin geciktirilmesinin geç preterm ve term bebeklerde tam kan sayımı ölçümleri, lenfosit alt grupları ve enfeksiyon üzerine etkisi değerlendirilecektir.

## Gereç ve Yöntemler

Çalışma Şubat 2017 ile Mart 2017 tarihleri arasında ileriye yönelik olarak gerçekleştirildi ve gebelik yaşı 34 hafta üzerinde olan normal ya da sezaryen doğum ile doğan 74 bebek alındı. Çalışma için çalışmanın yapıldığı kurumun Etik Kurulunun onayı (7 Ekim 2016-Karar No:16) ve çalışmaya alınan tüm bebeklerin ailelerinden yazılı onam alındı.

İnsülin kullanan diabetes mellituslu anne bebekleri, ablasto plasentalı, plasenta dekolmanlı anne bebekleri, ortak plasentalı olan ikiz bebekler, yaşamla bağdaşmayan anomalisi olan bebekler, dış merkezde doğup nakille birime gelen bebekler, ağır intrauterin büyüme geriliği olan bebekler, ikizden ikize transfüzyon şüphesi olan gebelikler çalışma dışı bırakıldı. Son adet tarihinin ilk gününden itibaren 37. gebelik haftasından önce doğan bebekler preterm kabul edildi. Çalışmaya alınması planlanan bebekler için bilgisayar ortamında randomizasyon yapıldı. Çalışmaya alınan bebekler dört gruba ayrıldı.

Grup 1: Kordonu hemen klemplenen term bebekler

Grup 2: Kordonu geç klemplenen term bebekler

Grup 3: Kordonu hemen klemplenen preterm bebekler

Grup 4: Kordonu geç klemplenen preterm bebekler

Kordonu hemen klemplenen bebek gruplarında bebek uterus dışına alındıktan hemen sonra kordon klemplendi. Kordonu geç klemplenen bebek gruplarında ise bebek uterus dışına alındıktan sonra uterus seviyesi ya da 30 cm altında bir dakika beklendikten sonra kordonu klemplendi.

Çalışma kapsamındaki bebekler hastanede yatmış ise yatış sürecinde değerlendirildi. Hastaneye yatırılan ve doğum sonrası yedinci günden önce taburcu olan bebekler ise yatış sürecinde ve çıktıktan sonra postnatal yedinci günde değerlendirildi. Hastaneye yatışı gerekmeyen bebekler ise doğum sonrası hemen ve yedinci günde değerlendirildi. Tüm bebekler yenidoğan enfeksiyonu için 30. günde değerlendirilip olası sorunlar kayıt altına alındı. Olguların kordon kanından ve doğum sonrası yedinci günde periferik venden 2 mL kan örneği alındı. Alınan bu kan örneğinde tam kan sayımı, lenfosit alt grupları yüzdelere bakıldı.

Kordon kanı ve yedinci gün alınan periferik kanda lenfosit alt gruplarının akım sitometri cihazı ile belirlenmesinde; anti-CD3 FITC, anti-CD4 ECD, anti-CD8 PC7, anti-CD19 PC5, anti-CD16+56 PE ve anti-CD45 KrO antikorları (Beckman Coulter) kullanıldı. Lenfosit alt gruplarının belirlenmesi için, 100 µL kan örneği alındı. Bu örnek üzerine her bir monoklonal antikorlardan 10µL eklendi. Onbeş dakikalık inkübasyondan sonra 0,5 mL lizis solüsyonu (Opti-lyse, Beckman Coulter) eklendi. On dakika bekleme süresinden sonra 0,5 mL yıkama solüsyonu (Isoflow, Beckman Coulter) eklenerek 10 dk. beklendi. Hazırlanmış bu örnek Navios (Beckman Coulter) cihazında incelendi.

Çalışma kapsamındaki tüm olgular için anne yaşı, gebelik haftası, antenatal steroid uygulanması, annede enfeksiyon hastalığı varlığı, çoğul gebelik durumu, cinsiyetini içeren prenatal özellikler ile doğum şekli, doğum ağırlığı, 1. ve 5. dk. APGAR skorlarını içeren natal özellikler, postnatal dönemde sepsis gelişme durumu değerlendirildi.

Hastaların sepsis değerlendirmesi Türk Neonatoloji Derneği 'Yenidoğan Enfeksiyonları Tedavi ve İzlem Rehberi-2014' kılavuzuna göre yapıldı. Bebekte etkenin gösterilemediği, ancak klinik ve laboratuvar bulgularıyla sepsisin tanı dışı bırakılmaması klinik sepsis, etkenin kültürle saptandığı sepsis kanıtlanmış sepsis olarak kabul edildi (5).

### İstatistiksel Çözümleme

Verilerin istatistiksel çözümlemesinde SPSS 20,0 paket programı kullanıldı. Nitel veriler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümlerse ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde en düşük-en yüksek) olarak yazıldı. Nitel verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümlerin iki grup arasında karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Aynı bireyler üzerinde farklı zamanlarda yapılan sayısal ölçümlerin zaman içindeki değişimini karşılaştırmada tekrarlı ölçümlerde çoklu varyans analizi (GLM-Repeat Measure Analyses) uygulandı; modelde kordon

kanı ve yedi gün: zaman-tekrarlı ölçüm, klemp durumu: "subject", term durumu ise "covariate" olarak alınmıştır. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlamaması nedeniyle bu sürekli ölçümler arasındaki korelasyon Spearman korelasyon katsayısı ile incelendi. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

### Bulgular

Çalışmaya alınan 74 bebekten 37'si term, 37 preterm idi. Otuz yedi term bebekten 19'u Grup 1'de, 18'i Grup 2'de; 37 term bebekten 19'u Grup 3'te, 18'i Grup 4'te yer aldı. Grup 1 ve Grup 3'te birer bebeğin aileleri çalışmaya devam etmek istemediğinden verileri ve izlemleri eksikti.

Çalışmaya alınan bebeklerin gebelik haftaları, doğum ağırlıkları, doğum şekli, cinsiyetleri ve Apgar skorları Tablo 1'de verilmiş olup, gruplar arasında istatistiksel yönden belirgin bir fark yoktu.

Hematolojik ölçümler ve lenfosit yüzdelerinin kordon kanı ve yedinci gün değerlerinin ana gruplara göre (klempleme zamanı ve gebelik haftası) dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre term ve preterm bebek grupları arasında yedinci günde alınan kanda CD3+T ve CD8+T lenfosit yüzdelerinde artma,

**Tablo 1. Olgulara ait özellikler**

	Term Bebekler			Geç Preterm Bebekler		
	Hemen Klemplenen n= 19	Geç Klemplenen n= 18	p	Hemen Klemplenen n= 19	Geç Klemplenen n= 18	p
Gebelik haftası	39,1±0,8 38-40	38,7±1,1 37-41	0,18	35,6±0,7 (34-36)	35,0±0,7 (34-36)	0,08
Doğum ağırlığı (g)	3572±536 2960-4 750	3405±437 3625-4 115	0,75	2635±482 1930-3760	2527±574 1600-3450	0,66
Normal vajinal yol	8(42,19)	7(38,9)	1	0(0)	1(5,6)	1
Sezaryen	11(57,9)	11(61,1)		19(100)	17(94,4)	
Kız	13(68,4)	8(44,4)	0,19	9(47,4)	13(72,2)	0,18
Erkek	6(31,6)	10(55,6)		10(52,6)	5(27,8)	
Apgar 1.dk	8,5±0,8	8±1,3	0,28	7,9±0,4	7,4±1,4	0,25
Skoru	6-9	5-9		7-8	3-9	
Apgar 5.dk	9,6±0,7	9,2±1	0,18	8,8±0,5	8,6±1,2	0,77
Skoru	8-10	7-10		8-9	5-10	

Değerler Ort±SS, en düşük-en yüksek olarak verilmiştir

**Tablo 2. Hematolojik ölçümler ve lenfosit yüzdelерinin kordon kanı ve yedinci gün değеrlerinin ana gruplara göre dağılımı**

		Klempleme zamanı Ort±SS Min-Maks			Gebelik haftası Ort±SS Min-Maks		
		Hemen n:38	Geç n:36	p <sup>b</sup>	Term n:37	Preterm n:37	p <sup>c</sup>
Hemoglobin (g/dL)	Kordon kanı	17,9±2,3	16,8±3,2	0,001	17,6-±2,3	17,1±3,2	0,065
		13,8-21,3	7,5-23,5		12,2-23,0	7,5-23,5	
	Yedinci gün	17,3±2,4	17±3,2	0,937	16,7±3,1	17,6±2,4	0,270
		13,8-22,7 <sup>a</sup>	7,8-21,7		7,8-21	13,8-22,7	
Hematokrit (%)	Kordon kanı	52,2±6,3	49,9±8,9	0,122	52,3±6	50,2±9,2	0,615
		39,1-63,1	24,3-66,3		36,9-63,4 <sup>a</sup>	24,3-66,3	
	Yedinci gün	49,6±6,7	49,8±8,1	0,892	49±7,9	50,4±7	0,461
		40,1-62,7 <sup>a</sup>	31,2-63,5		31,2-63,5	38,8-62,9	
Lökosit sayısı (10 <sup>3</sup> /μL)	Kordon kanı	15,6±4,3	12±5,3	0,147	15,2±5,1	12,5±4,9	0,372
		7,9-25,8	1,6-27,4		7,7-27,4 <sup>a</sup>	1,7-24,5	
	Yedinci gün	12,1±2,9	12,5±3,8	0,822	12,8±3,4	11,9±3,3	0,600
		7,4-18,2 <sup>a</sup>	7,4-26,1		8,1-26,1	7,38-18,2	
CD3+T lenfosit	Kordon kanı	71±11,7	67,2±7,3	0,011	67,3±10	71±9,6	0,210
		47,3-95	52,2-84,4		47,3-84,4	52,2-95	
	Yedinci gün	79,6±6,7	75,2±5,7	0,007	75,1±5,6	79,9±6,7	0,003
		65,9-91,2 <sup>a</sup>	60,6-87,0 <sup>a</sup>		60,6-89,5 <sup>a</sup>	66,7-91,2 <sup>a</sup>	
CD4+T lenfosit	Kordon kanı	51,7±12,4	48±8,2	0,025	49,4±11,8	50,5±9,6	1,000
		21,8-74,3	30,9-65,9		21,8-69	30,9-74,3	
	Yedinci gün	60,2±7,1	56,3±6,2	0,015	57,3±6,8	59,2±7	0,341
		45-75 <sup>a</sup>	37,5-65,5 <sup>a</sup>		37,5-68 <sup>a</sup>	45-75 <sup>a</sup>	
CD8+T lenfosit	Kordon kanı	19,8±5,3	18,6±5,1	0,289	18,1±5,1	20,4±5,1	0,054
		9,1-32,6	9,9-31,4		9,1-31,4	9,9-32,6	
	Yedinci gün	20,2±5	19,1±4,1	0,608	18,3±4,8	21±4	0,023
		11,1-28,5	11,5-26,3		11,1-28,5	13,1-28,5	
CD19+B lenfosit	Kordon kanı	15,8±5,2	19,9±6,8	0,006	18,7±4,4	16,8±7,8	0,055
		0,7-26,8	6,9-41,8		11,4-28,4	0,7-41,8	
	Yedinci gün	10,3±3,9	13,6±6,5	0,024	12,1±5,4	11,8±5,8	0,761
		2,1-19,4 <sup>a</sup>	1,6-33,8 <sup>a</sup>		3,9-33,8 <sup>a</sup>	1,6-24,6 <sup>a</sup>	
CD16/56+NK hücresi	Kordon kanı	11,4±9,1	10,8±6,3	0,475	12±8,7	10,2±6,8	0,499
		2,0-35,1	2,8-32,6		2-35,1	3,1-32,6	
	Yedinci gün	8,2±4,7	9,4±5,8	0,362	10,4±6	7,2±3,9	0,009
		1,6-22,6	0,6-27,5		1,6-27,5	0,6-18,9	

<sup>a</sup>p<0,05 kordon kanı ve yedinci gün karşılaştırması (Wilcoxon test)<sup>b</sup>Hemen ve geç klempleme gruplarının karşılaştırılması (Mann Whitney U test)<sup>c</sup>Term ve preterm gruplarının karşılaştırılması (Mann Whitney U test)

**Tablo 3. Hematolojik ölçümler ve lenfosit yüzdelerinin kordon kanı ve yedinci gün değerlerinin alt gruplara göre dağılımı**

		Alt gruplar Ort±SS Min-Maks				p <sup>e</sup>	p <sup>f</sup> p <sup>g</sup>
		Grup 1 Hemen+Term n:19	Grup 2 Geç+Term n:18	Grup 3 Hemen+Preterm n:19	Grup 4 Geç+Preterm n:18		
Hemoglobin (g/dL)	Kordon kanı	17,8±2,0	17,3±2,5	17,8±2,5	16,2±3,6	0,002	0,077
		14,8-21,3	12,2-21,0	13,8-21,0	7,5-23,5		
	Yedinci gün	17,3±2,3	16,1±3,7	17,2±2,5	17,8±2,3	0,746	
		14,5-20,7	7,8-21,1	13,8-22,7	13,8-21,7		
Hematokrit (%)	Kordon kanı	52,9±5,3	51,5±6,7	52,1±7,3	42,9±10,5	0,362	0,047
		44,3-62,3	36,9-63,4	39,1-63,1	24,3-66,3		
	Yedinci gün	49,8±6,6	48,2±8,9	49,3±6,9	51,3±7	0,538	
		40,7-61,1	31,2-63,5	40,1-62,7 <sup>a</sup>	38,8-62,9		
Lökosit sayısı (10 <sup>3</sup> /μL)	Kordon kanı	16,4±4,5	13,9±5,3	14,8±3,9	10±4,5	0,370	0,041
		11,2-25,8	7,7-27,3 <sup>d</sup>	7,9-24,5	1,6-17,5 <sup>c</sup>		
	Yedinci gün	12,4±2,2	13,1±4,3	11,7±3,5	11,9±3,1	0,681	
		8,4-17,9 <sup>a</sup>	8,1-26,1	7,41-18,1 <sup>a</sup>	7,38-18,1		
CD3+T lenfosit	Kordon kanı	66,2±12,3	68,5±7	75,7±9,1	65,9±7,4	0,004	0,049
		47,3-78,8	55,2-84,4	56,2-95 <sup>b</sup>	52,2-81,5 <sup>c</sup>		
	Yedinci gün	76,7±5,9	73,5±4,9	82,4±6,20	76,9±6	0,001	
		65,9-89,5 <sup>a</sup>	60,6-82,0 <sup>a</sup>	66,9-91,0 <sup>ab</sup>	66,7-87,0 <sup>ac</sup>		
CD4+T lenfosit	Kordon kanı	49,3±13,9	49,3±9,3	54±10,4	46,6±6,8	0,073	0,089
		21,8-69	32,1-65,9	33,4-74,3	30,9-58,6		
	Yedinci gün	58,1±6,2	56,4±7,3	62,2±7,4	56,1±4,9	0,026	
		6,2-68,0 <sup>a</sup>	37,5-65,5 <sup>a</sup>	45,0-75,0 <sup>a</sup>	46,4-64,9 <sup>ac</sup>		
CD8+T lenfosit	Kordon kanı	17,7±4,6	18,4±5,5	21,8±5,1	18,7±4,6	0,110	0,119
		9,1-25,0	10,5-31,4	13,5-32,6	9,9-26,7		
	Yedinci gün	18,9±5,2	17,6±4,2	21,3±4,5	20,5±3,4	0,141	
		11,1-28,5	11,5-23,7	13,9-28,5	13,1-26,3		
CD19+B lenfosit	Kordon kanı	18,1±3,9	19,2±4,8	13,3±5,2	20,4±8,3	0,001	0,002
		12,2-24,0	11,4-28,4	0,7-26,8 <sup>b</sup>	6,9-41,8 <sup>c</sup>		
	Yedinci gün	10,8±3,2	13,3±6,8	9,7±4,5	13,9±6,4	0,121	
		5,8-15,9 <sup>a</sup>	13,9-33,8 <sup>a</sup>	2,1-19,4 <sup>a</sup>	1,6-24,6 <sup>ac</sup>		
CD16/56+NK hücresi	Kordon kanı	13,7±10,9	10±5,1	9±6,1	11,5±7,4	0,582	0,128
		2,0-35,1	2,8-25,0	3,1-22,1	3,3-22,1		
	Yedinci gün	9,8±5,7	10,8±6,2	6,4±2,4	7,8±4,9	0,056	
		1,6-22,6	2,4-27,5	3,3-11,5	0,6-18,9		

<sup>a</sup>p<0,05 kordon kanı ve 7.gün karşılaştırması (Wilcoxon test)<sup>b</sup>p<0,017 grup 1 ve grup 3 arasında (Mann Whitney U test)<sup>c</sup>p<0,017 grup 3 ve grup 4 arasında (Mann Whitney U test)<sup>d</sup>p<0,017 grup 1 ve grup 2 arasında (Mann Whitney U test)<sup>e</sup>4 grubun karşılaştırılması (Kruskal Wallis testi)<sup>f</sup>Tekrarlayan zamana göre karşılaştırma, g zaman ve klemleme etkileşimine göre karşılaştırma (Tekrarlı ölçümlerde çoklu varyans analizi-GLM; Repetead measure analyses; kordon kanı ve yedi gün: tekrarlı ölçüm, klemleme durumu: "subject", term durumu: "covariate" olarak alınmıştır)

CD16/56+NK lenfosit yüzdelerinde azalma istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Hemen ve geç klempleme grupları arasında ise CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdelerinde hem kordon kanı hem de yedinci günde anlamlı azalma olduğu saptanırken, CD19+B lenfosit yüzdelerinde anlamlı artma olduğu bulundu. Hemen ve geç klempleme grupları arasında CD8+T ve CD16/56+NK lenfosit yüzdelerinde anlamlı fark saptanmadı.

İkili karşılaştırmalarda kordonu hemen ve geç klemplenen preterm bebek grupları arasında lökosit sayısı, CD3+T, CD4+T ve CD19+B lenfosit yüzdeleri kordon kanı ve yedinci günde farklılık gösterdi. Buna göre kordonu geç klemplenen preterm bebeklerin kordon kanı lökosit sayısı ve CD3+T lenfosit yüzdeleri hemen klemplenenlere göre daha düşük, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise daha yüksek bulundu. Kordonu geç klemplenen preterm bebeklerin yedinci gün alınan kanında CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdeleri hemen klemplenenlere göre daha düşük saptanırken, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise daha yüksek bulundu. Tekrarlı ölçümlerde çoklu varyans çözümleme modeli uygulandığında (kordon kanı ve yedi gün: zaman-tekrarlı ölçüm, klempleme durumu ana etken-“subject”, gebelik haftası ise karıştırıcı-“covariate” faktör olarak alınan model) değerlendirilen sonuçlara göre, hematokrit düzeyi, lökosit sayısı, CD3+T ve CD19+B lenfosit yüzdeleri zamana göre farklılık gösterdi. CD3+T düzeylerinde ise gebelik haftası ve klempleme zamanı ilişkisi aynı anda saptandı. Kordonu geç klempe edilen preterm bebeklerde hematokrit düzeyi, lökosit sayısı, CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdeleri anlamlı azalmış, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise anlamlı artmış bulundu (Tablo 3).

Kordonu geç klempe edilen term bebek grubunda sadece bir sepsis gelişirken, kordonu hemen ve geç klemplenen preterm grubundaki yedişer bebekte sepsis gelişti. Gruplar arasında sepsis gelişme oranlarında istatistik olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Sepsis tanısı konan hiçbir bebeğin kan kültüründe üreme olmadı. Tüm sepsisli bebekler klinik sepsis tanısıyla izlendi. Sepsis gelişen preterm bebeklerin lenfosit alt grupları arasında sadece kordon kanı CD8+T lenfosit yüzdesi sepsis gelişmeyen gruba kıyasla daha yüksek saptandı ( $p=0,04$ ). Çalışmaya alınan bebeklerin hiç biri ölmedi.

### Tartışma

Bu çalışmada plasental transfüzyonu artırıcı yöntemlerden olan kordon klempleme zamanının geciktirilmesinin geç preterm ve term bebeklerde lenfosit alt grup

ları üzerine etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Kordon klemplemesinin geciktirilmesiyle ilgili dizinde çok sayıda çalışma olmasına karşın, kordon klemplemenin geciktirilmesinin lenfosit alt grupları üzerine etkisi ile ilgili bir veriye rastlanmamıştır (6-12). Prematüre bebeklerde de lenfosit alt grupları ile ilgili çok az veri vardır (13, 14).

Kordon klemplemenin geciktirilmesi plasentadaki fetal kanın bebeğe geçmesine zaman kazandırmaktadır (15). Bu aktarılan kan miktarı bebeğin tutulduğu seviye ve kordon sıkıştırılmasının geciktirildiği süreye göre değişir (16, 17). Geciktirilen süre 30 sn kordon pulsasyonunun durmasına kadar geniş bir yelpazededir. Dünya Sağlık Örgütü ise kordon klemplemenin geciktirilme zamanını 1-3 dk. olarak belirlemiştir (18). Bu çalışmada kordonu geç klemplenen bebek gruplarında kordon 1 dk. beklendikten sonra klemplenmiştir.

Kordonun geç klempe edilmesinin hemoglobin ve hematokrit düzeylerine etkisinin karşılaştırıldığı birçok çalışmada erken dönemde hematokrit ve hemoglobin düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (6-10, 12). Oliveira ve ark. (11) term bebeklerde yaptığı bir çalışmada ise kordon klemplemesi 60 sn geciktirilen bebeklerin kordon kanında bakılan hemoglobin, hematokrit değerleri hemen klemplenenlere benzer bulunmuştur. Bizim çalışmamızda kordonu hemen ve geç klemplenen term ve preterm bebeklerin kordon kanı ve yedinci günde bakılan hemoglobin değerleri arasında fark bulunmazken, kordonu geç klemplenen preterm bebeklerin hematokrit değerlerinde anlamlı düşme saptanmıştır. Çalışmaların sonuçlarındaki uyumsuzluğun nedeni kordon klemplenme süresi ve örnek alınma zamanlarındaki farklılığa bağlı olabilir.

Dizinde plasental transfüzyonun lökositler üzerine etkisiyle ilgili olarak var olan tek çalışmada, Kılıçdağ ve ark. (19) kordon sağma yöntemi uygulanan preterm bebeklerde lökosit sayısının azaldığını bildirilmiştir. Bu çalışmada 32 gebelik haftası ve altındaki bebeklerde kordonu klemplenmeden önce sağılan grubun birinci, üçüncü ve yedinci günde bakılan nötrofil sayıları hemen klemplenen gruptan daha az bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da kordon klemplenmesi geciktirilen preterm bebek grubunda kordon kanı lökosit değerleri daha düşük bulunmuştur. Fakat bu azalış yedinci gün bakılan kanda saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda kordon sağma yöntemi yerine kordon klempleme zamanı geciktirilerek plasental transfüzyon yapılmıştır.

Otuz gebelik haftasından önce doğan bebeklerde doğumda bağışıklık sisteminin daha az geliştiği varsayılır, ancak lenfosit alt gruplarının immunolojik basamaklar ve olgunlaşmaları hakkında çok az şey bilinmektedir (13). Sepsis tanısı konan bebeklerde lenfosit yüzdeleri, oranları ve sayıları ile ilgili çalışmalar olduğu gibi; kordon klemleme zamanının geç başlangıçlı sepsis ile ilişkisinin değerlendirildiği çalışmalar da vardır (10, 14, 20-27). Prematüre bebeklerde yapılan çalışmaların bir kısmında kordonun geç kleplenmesinin geç başlangıçlı sepsis sıklığında azalmaya neden olduğu saptanırken, bir kısmında ise kordon klemlemesi geciktirilen bebeklerde geç başlangıçlı sepsis sıklığında azalma saptanmamıştır (10, 28-30). Çalışmamızda kordonu hemen kleplenen ve kordon kleplenmesi geciktirilen term ve preterm bebeklerde kordon kanı ve yedinci günde alınan kan örneklerinde bazı lenfosit alt grupları değerleri arasında farklılık saptanmasına rağmen, gruplar arasında sepsis gelişme sıklığı açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Yenidoğan sepsisinde düzenleyici B hücrelerinin rolü bilinmemektedir. Sofatzis ve ark. (23) tarafından yapılan bir çalışmada sepsisli bebeklerde yaşamın ilk haftasında CD3+T lenfosit, CD4+T lenfosit sayısının sağlıklı bebeklerle kıyaslandığında anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Aygün ve ark. (26) çalışmasında ise kültürle kanıtlanmış sepsisi olan yenidoğanlarda CD4+T lenfosit oranı ve mutlak sayısı kültür ile kanıtlanmış sepsisi olmayanlara kıyasla daha az bulunmuştur. Bussel ve ark. (24) tarafından preterm bebeklerde yapılan bir çalışmada yaşamın ilk sekiz haftasında term bebeklerle kıyaslandığında CD3+T lenfosit ile CD8+T lenfosit yüzdeleri düşük; CD19+ B lenfosit yüzdeleri yüksek saptanmıştır. Bochennek ve ark. (14) yaptıkları bir çalışmada preterm doğup geç başlangıçlı sepsis görülen olgularda NK hücre işlevselliğinde azalma saptanmıştır. Bizim çalışmamızda kordonu geç kleplenen preterm bebeklerin kordon kanı CD3+T lenfosit yüzdeleri hemen kleplenenlere göre daha düşük, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise daha yüksek bulunmuştur. Kordonu geç kleplenen preterm bebeklerin yedinci günü alınan kanında CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdeleri hemen kleplenenlere göre daha düşük saptanırken, CD19+T lenfosit yüzdeleri ise daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak preterm bebeklerde kordonun geç kleplenmesinin hematokrit düzeyi, lökosit sayısı, CD3+T ve CD4+T lenfosit yüzdesinde azalmaya, CD19+B lenfosit yüzdesinde artışa neden olduğu saptandı. Kordon klemleme zamanının geciktirilmesinin term ve preterm bebeklerde sepsis gelişme oranı üzerine etkisi saptanmadı. Bu verilerin enfeksiyon gelişimi üzerinde-

ki etkisini değerlendirmek için daha geniş serili çalışmalara gereksinim vardır.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için Etik Kurul onayı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır (7.10.2016/16).

**Hasta Onamı:** Yazılı hasta onamı hastanın ebeveynlerinden alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir - M.S.; Tasarım - M.S., N.B.; Denetleme - M.Y., S.B., A.Y.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - N.B., F.Ö., H.Y.Y., A.Y.; Analiz ve/veya Yorum - M.S., N.B., F.Ö., H.Y.Y., M.Y.; Literatür Taraması - M.S., N.B., F.Ö., H.Y.Y.; Yazıyı Yazan - M.S., N.B.; Eleştirel İnceleme - M.Y., H.Y.Y., S.B.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Mali Destek:** Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destekleme fonundan mali katkı alınmıştır.

**Ethics Committee Approval:** Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Çukurova University School of Medicine (7.10.2016/16).

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from patients' parents.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept - M.S.; Design - M.S., N.B.; Supervision - M.Y., S.B., A.Y.; Data Collection and/ or Processing - N.B., F.Ö., H.Y.Y., A.Y.; Analysis and/or Interpretation - M.S., N.B., F.Ö., H.Y.Y., M.Y.; Literature Review - M.S., N.B., F.Ö., H.Y.Y.; Writing - M.S., N.B.; Critical Reviews - M.Y., H.Y.Y., S.B.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors received financial support from Çukurova University Scientific Research Project Development Fund.

## Kaynaklar

1. Diab Y, Luchtman-Jones L. Hematologic and oncologic problems in the fetus and neonate. In: Martin RS, Fanaroff AA, Walsh MC, (eds). Fanaroff and Martin's neonatal-perinatal medicine. 10th edition. Philadelphia: Elsevier, 2015.p.1294-1343.

2. Linderkamp O, Nelle M, Kraus M, Zilow EP. The effects of early and late cord-clamping on blood viscosity and other hemorheological parameters in full-term neonates. *Acta Paediatrica* 1992; 81: 745-50. [\[CrossRef\]](#)
3. Wyckoff MH, Aziz K, Escobedo MB, et al. Part 13: Neonatal Resuscitation: 2015 American heart association guidelines update for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. *Circulation* 2015; 132: 543-60. [\[CrossRef\]](#)
4. Benjamin JT, Mezu-Ndubuisi O, Maheshwari A. The immune system. In: Martin RS, Fanaroff AA, Walsh MC, (eds). *Fanaroff and Martin's neonatal-perinatal medicine*. 10th edition. Philadelphia: Elsevier, 2015.p. 696-720.
5. Satar M, Arısoy A. Türk Neonatoloji Derneği Yenidogan Enfeksiyonları Tedavi ve İzlem Rehberi 2014.p.6-11 Erişim:<http://www.neonatology.org.tr/wp-content/uploads/2016/12/enfeksiyon.pdf>.
6. McDonald S, Middleton P, Dowswell T, Morris S. Effect of timing of umbilical cord clamping of term infants on maternal and neonatal outcomes. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 7: 74. [\[CrossRef\]](#)
7. Emamed MO, Van Rheenen P, Brabin BJ. The early effects of delayed cord clamping in term infants born to Libyan mothers. *Trop Doct* 2004; 34: 218-22. [\[CrossRef\]](#)
8. Shirvani F, Radfar M, Hashemieh M, Soltanzadeh MH, Khaledi H, Mogadam MA. Effect of timing of umbilical cord clamp on newborns' iron status and its relation to delivery type. *Arch Iran Med* 2010; 13: 420-5.
9. Ceriani Cernadas JM, Carroli G, Pellegrini L, et al. The effect of timing of cord clamping on neonatal venous hematocrit values and clinical outcome at term: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006; 117: 779-86. [\[CrossRef\]](#)
10. Dicky O, Ehlinger V, Guyard-Boileau B, Assouline C, Arnaud C, Casper C. Delayed umbilical cord clamping in preterm infants born before 37 weeks of gestation: A prospective observational study. *Arch Pediatr* 2017; 24: 118-25. [\[CrossRef\]](#)
11. Oliveira FDE CI, Yard KF, Martins MC, et al. Timing of clamping and factors associated with iron stores in full-term newborns. *Rev Saude Publica* 2014; 48: 10-8. [\[CrossRef\]](#)
12. Raju TN. Timing of umbilical cordclamping after birth for optimizing placental transfusion. *Curr Opin Pediatr* 2013; 25: 180-7. [\[CrossRef\]](#)
13. Huenecke S, Fryns E, Wittekindt B, et al. Percentiles of lymphocyte subsets in preterm infants according to gestational age compared to children and adolescents. *Scand J Immunol* 2016; 84: 291-8. [\[CrossRef\]](#)
14. Bochennek K, Fryns E, Wittekindt B, et al. Immune cell subsets at birth may help to predict risk of late-onset sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Early Hum Dev* 2016; 93: 9-16. [\[CrossRef\]](#)
15. Airey RJ, Farrar D, Duley L. Alternative positions for the baby at birth before clamping the umbilical cord. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 10: 55.
16. Kc A, Målqvist M, Rana N, Ranneberg LJ, Andersson O. Effect of timing of umbilical cord clamping on anaemia at 8 and 12 months and later neurodevelopment in late pre-term and term infants. *BMC Pediatr* 2016; 16: 35-6. [\[CrossRef\]](#)
17. Duley L, Batey N. Optimal timing of umbilical cord clamping for term and preterm babies. *Early Hum Dev* 2013; 89: 905-8. [\[CrossRef\]](#)
18. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. *Guidelines on basic Newborn Resuscitation*. Geneva, World Health Organization, 2012.
19. Kilicdag H, Gulcan H, Hanta D, et al. Is umbilical cord milking always an advantage? *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016; 29: 615-8. [\[CrossRef\]](#)
20. Melville JM, Moss TJ. The immune consequences of preterm birth. *Front Neurosci* 2013; 7: 79-80. [\[CrossRef\]](#)
21. Strunk T, Temming P, Gembruch U, Reiss I, Bucsky P, Schultz C. Differential maturation of the innate immune response in human fetuses. *Pediatr Res* 2004; 56: 219-26. [\[CrossRef\]](#)
22. Pan X, Ji Z, Xue J. Percentage of peripheral CD19+CD Regulatory B cells in neonatal sepsis patients and its functional implication. *Med Sci Monit* 2016; 22: 2374-8. [\[CrossRef\]](#)
23. Sofatzis J, Driva I, Mexi Bourna P, Lioussis G, Costalos C. Lymphocyte subpopulations in neonatal sepsis. *Prenatal and Neonatal Medicine* 2012; 3: 353-7.
24. Bussel JB, Cunningham-Rundles S, La Gama EF, Shellbarger M. Analysis of lymphocyte proliferative response subpopulations in very low birth weight infants and during the first 8 weeks of life. *Pediatric Res* 1988; 23: 457-62. [\[CrossRef\]](#)
25. Juretić E, Juretić A, Uzarević B, Petrovecki M. Alterations in lymphocyte phenotype of infected preterm newborns. *Biol Neonate* 2001; 80: 223-7. [\[CrossRef\]](#)
26. Aygün AD, Çıtak Kurt AN, Gödekmerdan A, et al. Neonates with culture proven sepsis have lower amounts and percentage of CD45RA+ T cells. *Inflammation* 2008; 31: 222-6. [\[CrossRef\]](#)
27. Hotoura E, Giapros V, Kostoula A, Spyrou P, Andronikou S. Pre-inflammatory mediators and lymphocyte subpopulations in preterm neonates with sepsis. *Inflammation* 2012; 35: 1094-101. [\[CrossRef\]](#)
28. Mercer JS, Vohr BR, McGrath MM, Padbury JF, Wallach M, Oh W. Delayed cord clamping in very preterm infants reduces the incidence of intraventricular hemorrhage and late-onset sepsis: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006; 117: 1235-42. [\[CrossRef\]](#)
29. Menget A, Mougey C, Thiriez G, Riethmuller D. Advantage of delayed umbilical cord clamping in newborn infant. *Arch Pediatr* 2013; 20: 1022-7. [\[CrossRef\]](#)
30. Dong XY, Sun XF, Li MM, Yu ZB, Han SP. Influence of delayed cordclamping on preterm infants with a gestational age of <32 weeks. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2016; 18: 635-8.