

DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIKLI BEBEKLERDE KORDON KANI LÖKOSİT ALKALEN FOSFATAZ (LAP) SKORLARI

Özden ANAL*, Gülersu İRKEN*, Necla ÇEVİK*, Nevbahar TANELİ*, Halil ATEŞ**

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*
D. E.Ü. Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarı**

ÖZET

Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde kordon kanı lökosit alkalen fosfataz (LAP) düzeyleri normal terimde sağlıklı bebeklerle karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. LAP aktivitesi semikuantitatif bir yöntem olan skorlama ile belirlenmiştir. Her iki grupta elde edilen kordon kanı ortalama LAP skorları gebeliğin üçüncü trimestrindeki fizyolojik artışa uygun olarak yüksek bulunmuştur. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerin LAP skorlarında normal term bebeklere göre istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Sonuçlar, çeşitli klinik durumlarda lökosit alkalen fosfataz aktivitesinde gözlenen değişiklikler ışığında tartışılmıştır.

Anahtar sözcükler: Düşük doğum ağırlığı, kordon kanı, lökosit alkalen fosfataz.

İnsan nötrofillerinin zengin alkalen fosfataz kaynağı olduğu bilinmektedir (1). Lökosit alkalen fosfatazı (LAP) biyokimyasal ve immünolojik özellikleri açısından karaciğer, böbrek ve kemik alkalen fosfatazı ile aynıdır (2,3). Nötrofillerde maturasyon marker'ı olarak kabul edilen LAP aktivitesi çeşitli klinik durumlardan etkilenir (4). Pyojenik infeksiyonlar, gebelik ve lökomoid reaksiyonlarda artış gösterirken, başta kronik myeloid lösemi olmak üzere paroksizmal nokturnal hemoglobüri, infeksiyöz mononükleoz, aplastik anemi, trombositopenik purpura ve hipofosfatazyada azalmış bulunur (5,6). İnsanda vücut çinko düzeyinin duyarlı bir göstergesi olarak lökosit alkalen fosfatazının kullanılabileceği bildirilmiştir (7). Bu preliminer çalışmada düşük doğum ağırlıklı yeni doğanda kordon kanı lökosit alkalen fos-

SUMMARY

Leukocyte alkaline phosphatase (LAP) was studied in cord blood of low-birth-weight infants, and the results were compared with those in healthy newborns. LAP activity was determined by a semiquantitative scoring method. Mean LAP scores in both groups were high as in agreement with the physiological increase in LAP activity during the last trimester of pregnancy. Mean LAP scores in cord blood of low-birth-weight and healthy newborns were not found significantly different ($p>0.05$). The results were discussed considering the alterations in LAP activity in different clinical states.

Key words: Low-birth-weight, cord blood, leukocyte alkaline phosphatase.

fotazı, LAP skorlama yöntemiyle, normal terimde bebeklerle karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

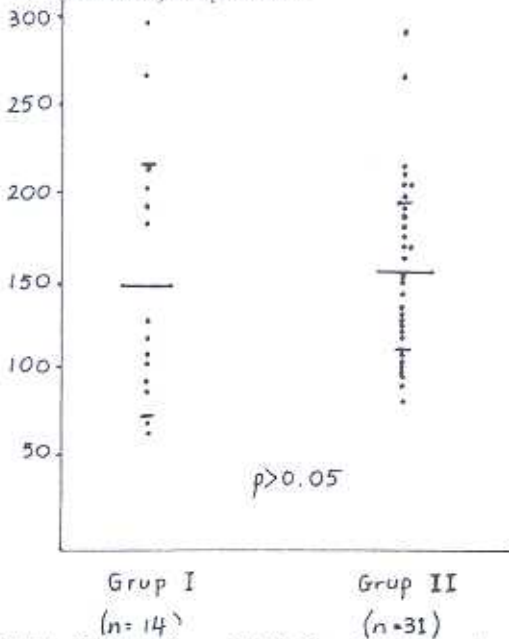
Doğum ağırlığı 2500 gram ve altında olan 36-40 haftalık infeksiyonsuz 14 yenidoğan (Grup I) ve terimde 2500 gramın üstünde 31 sağlıklı yenidoğanın (Grup II) kordon kanından yayma kan preparatı hazırlanmıştır. Metanol formaldehid solüsyonunda fikse edilen preparatlar a-naphthyl disodium thiophosphate (Sigma) substratı ile fast blue dye RR (Sigma) karışımında, pH: 9,5 ve oda ısısı şartlarında 10 dakika inkübe edilmiştir. Myers hematoxyline (Sigma) ile 3-4 dakika kontrast boyama uygulanmıştır. Yıkayıp kurutulan preparatların LAP skorlaması aynı çalışmacı (Ö.A) tarafından yapılmıştır. Skorlamada

Kaplow yöntemine göre (8,9) en az 100 nötrofil sayılarak her hücrenin stoplazmik granüllerindeki boyanma miktarı şöyle değerlendirilmiştir: 0: granül yok; 1:dağınık birkaç granül; 2: düzenli dağılımlı az sayıda granüller; 3: bol granül; 4: tüm sitoplazmada çok sayıda koyu granüller.

Her iki gruptaki bebeklerin kordon kanı LAP skorları ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, verilerin binominal dağılıma uygunluğu "normal dağılıma uygunluk testi" ile saptandıktan sonra Student'in t testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Düşük doğum ağırlıklı ve normal termde yenidoğanların kordon kanı LAP skorları Şekil 1'de gösterilmiştir. 2500 gramın altında doğan bebeklerin kordon kanı LAP skoru ortalama (mean \pm SD) 150.57 ± 74.13 , normal termde doğan bebeklerin ise 158.32 ± 52.63 olarak bulunmuştur. Laboratuvarımızın normal erişkinlerde LAP skoru 10-90 arasındır. Her iki gruptaki bebeklerin LAP skorları ortalamaları arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 1: Düşük doğum ağırlıklı (Grup I) ve normal termde sağlıklı (Grup II) bebeklerin kordon kanı LAP skorları

TARTIŞMA

Bu çalışmada düşük doğum ağırlıklı bebek kordon kanlarında LAP skorlarının normal term bebeklere göre farklı olup olmadığı incelenmiştir. Elde edilen skorların gebeliğin üçüncü trimestrinde LAP aktivitesindeki fizyolojik artışa uygun olarak normalden yüksek olduğu gözlenmiştir (5). Yenidoğanın lökosit alkalen fosfatazının üçüncü trimesterde gebe anne lökosit alkalen fosfatazı ile aynı izoenzim olduğu daha önce Vergnes ve arkadaşlarının çalışmasında gösterilmiştir (10). Her iki grup yenidoğandaki verilerin karşılaştırılmasında düşük doğum ağırlıklıların kordon kanı LAP skorlarında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

LAP skorlaması özel boyanmış periferik kan yayma preparatlarının ışık mikroskopunda değerlendirildiği semikantitatif sitokimyasal bir yöntemdir. Lökosit alkalen fosfatazın biyokimyasal analizi daha kesin bilgi vermekle birlikte 20-25 ml kan örneği ile çalışılan, çevre koşullarından fazlaca etkilenen, zor ve pahalı metodlar gerektirir. LAP skorlaması ile biyokimyasal tayin yöntemlerinden elde edilen sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu gösterilmiştir (11). Skorlama yönteminin subjektif olması dikkate alınarak tüm preparatların değerlendirilmesi aynı çalışmacı tarafından yapılmıştır. Lökosit alkalen fosfataz düzeylerinin lökositoz ve lökopeniden etkilendiği bilinmektedir (12). Enfeksiyon kuşkusu olan ve periferik kan lökosit sayıları normal sınırlar içinde bulunmayan bebeklerin preparatları çalışmaya alınmamıştır.

Lökosit alkalen fosfataz aktivitesinin birçok klinik patolojide anlamlılığı tam açık olmamakla birlikte değişiklikler gösterdiği bilinmektedir. Örneğin, Down Sendromunda ve diabetik hastalarda LAP'ın yükseldiği anlaşılmıştır (11,13). Cuckle ve arkadaşları

(14) üreye rezistan lökosit alkalen fosfatazın trizomi 21 fötüs taşıyan gebelerde etkin bir marker olarak antenatal taramada kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Tsavaris ve arkadaşları çalışmalarında (13) LAP skoru ile hemoglobin A1c düzeyleri arasında anlamlı korrelasyon gözlediklerini; LAP skorundan diabet takibinde basit bir parametre olarak yararlanılabileceğini belirtmişlerdir. Grozdea ve ark. (15) , AIDS hastası bir gebede LAP aktivitesinin oldukça düştüğüne ve bu değerın kötü klinik gidişle uyumlu bulunduğuna dikkati çekmişlerdir. Bu çalışmaların yanısıra majumdar G ve arkadaşları (16) tarafından LAP skorunun malign paraproteinemileri benign olanlardan ayırtmede yararlı olup olmadığı araştırılmış; benign paraproteinemilerde LAP skorunun normal bulunduğuna, ancak yüksek LAP skorunun mutlaka malignite düşündürmeyeceği bildirilmiştir.

Bu çalışmaya alınım düşük doğum ağırlıklı

yenidoğanlar ülkemizde neonatolojide sık rastlanan vaka grubudur. Bu bebeklerdeki intrauterin gelişme geriliğinden sorumlu nutrisyonel faktörler arasında çinko eksikliğinin önemi çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir (17,18). Çinkoya bağımlı bir enzim olan lökosit alkalen fosfataz aktivitesinin düşük doğum ağırlıklı bebeklerde muhtemel çinko eksikliğinden etkilenmiş olabileceği düşünülerek daha ileri bir çalışmada kordon kanı LAP skorlarının kordon kanı çinko düzeyleri ile de karşılaştırılmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır. Lökosit alkalen fosfataz aktivitesinin çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda değişiklikler gösterdiği; adrenokortikosteroid verilmesiyle ve stress hallerinde arttığı bilinmektedir (5). Neonatal morbidite ve mortalite riskinin yüksek olduğu düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda perinatal stress faktörlerinin de bu çalışmada kordon kanı LAP değerlerinin beklenenden yüksek bulunmasında rol oynamış olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Smith GP, Anderson BB, Peters TJ. Levels and subcellular localisation of pyridoxal and pyridoxal phosphate in human polymorphonuclear leukocytes and their relationship to alkaline phosphatase activity. *Clin Chim Acta* 1983; 129: 13-8.
2. Smith GP, Harris H, Peters TJ. Studies of the biochemical and immunological properties of human neutrophil alkaline phosphatase with comparison to the established alkaline phosphatase isoenzymes. *Clin Chim Acta* 1984; 142: 221-9.
3. Stinson RA, Gainer AL, Chai J, Chan JA. Substrate specificity of alkaline phosphatase from human polymorphonuclear leukocytes. *Clin Chim Acta* 1986; 161: 283-91.
4. Sato N, Asano S, Mori M, et al. Characterization of neutrophil alkaline phosphatase-inducing factor (NAP-IF). *Cell Physiol* 1985; 124: 255-60.
5. Athens JW. Variations of leukocytes in disease. In: Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN, ed. *Wintrobe's Clinical Hematology*, fourth Edition. London: Lea- Febiger, 1993: 1570-2.
6. Stinson RA, Mc Phee J, Lewanczk R, Dinwoodie A. Neutrophil alkaline phosphatase in hypophosphatasia. *N Eng J Med* 1985; 312 (25): 1642-3.
7. Prasad AS. Diagnostic approaches to trace element deficiencies. In: Chandra RK, ed. *Trace Elements in Nutrition of Children*. Nestle Nutrition Workshop Series 8, NY: Raven Press, 1985; 21.
8. Kaplow LS. Cytochemistry of leukocyte alkaline phosphatase. *Am J Clin Pathol* 1963; 39: 439-49.
9. Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont Am. *Atlas of Blood Cells, Function and Pathology*. First Edition, Philadelphia: Lea-Febiger, 1981; 4.
10. Vergnes H , Grozdea J , Brisson-Lougarre A . Fontanilles AM, Fourné A, Bierme R. Evidence that neutrophil alkaline phosphatase in newborns is the same isoenzyme as that expressed in pregnant women in the third trimester. *Int J Feto Mat Med* 1988; 1: 57-62.

11. Grozdea J, Vergnes H, Brisson-Lougarre A, et al. Difference in activity properties and subcellular distribution of neutrophil alkaline phosphatase between normal individuals and patients with trisomy 21. *Br J Hemat* 1991; 77: 282-6.
12. Özsoylu Ş. About leukocyte alkaline phosphatase. *Acta Haemat* 1989; 82: 108.
13. Tsavaris NB, Pangalis GA, Variami E, Karabelis A, Kosmidis P, Raptis S. Association of neutrophil alkaline phosphatase activity and glycosylated haemoglobin in diabetes mellitus. *Acta Haemat* 1990; 83(1): 22-5.
14. Cuckle HS, Wald NJ, Goodburn SF, Sneddon J, Amess JA, Dunn SC. Measurement of activity of urea resistant neutrophil alkaline phosphatase as an antenatal screening test for Down's Syndrome. *Brit Med J* 1990; 301 (6759): 1024-6.
15. Grozdea J, Brisson-Lougarre A, Vergnes H, et al. Neutrophil alkaline phosphatase in AIDS. *Acta Haemat* 1988; 80: 229.
16. Majumdar G, Hunt M, Singh AK. Use of leukocyte alkaline phosphatase (LAP) score in differentiating malignant from benign paraproteinemias. *J Clin Pathol* 1991; 44: 606-7.
17. Simmer K, Iles CA, Slavin B, Keeling PW, Thompson RP. Maternal nutrition and intrauterine growth retardation. *Hum Nutr Clin Nutr* 1987; 41: 193.
18. VossJepsen N, Clemensen K. Zinc in Danish women during late normal pregnancies with intrauterine growth retardation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1987; 66: 401.