



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**İMMUNONUTRİSYONUN
KEMOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA
IL-2 VE IL-6 SEVİYELERİNE VE
İMMUN SİSTEM HÜCRELERİNE ETKİLERİ**

**DR. ENGİN HAFTACI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

YARD. DOÇ. DR. ABDULKADİR İSKENDER

DÜZCE – 2013

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tezimin hazırlanması sürecinde başta Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Onur Özlü ve tez hocam Yard. Doç. Dr. Abdulkadir İskender olmak üzere, Doç. Dr. Yavuz Demiraran, Yard. Doç. Dr. Gülbin Sezen, Yard. Doç. Dr. İlknur Suidiye Şeker'e ve destekleriyle tezimi tamamlayabildiğim Doç. Dr. Şerif Demir, Prof. Dr. Handan Ankaralı'ya, Yard. Doç. Dr. Tekin Taş'a ve Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi Komisyonu'na sonsuz teşekkür ederim.

Maddi-manevi her şeyimi borçlu olduğum, iyi bir eğitim alabilmem için çok fedakarlıklar yapan canım anneme, babama, kardeşime; hayatı paylaşmaktan sonsuz keyif aldığım sevgili eşim Simender'e; tezimin son cümlelerini kocaman gözlerine bakarak yazdığım canım kızım Venus'e hayatımı doldurdıkları için ne kadar teşekkür etsem yetersiz kalır.

Haziran - 2013

Dr. Engin Haftacı

ÖZET

Giriş: Kemoterapi; kanser hastalarında sıklıkla başvuru alan bir tedavi metodudur. Ancak kemoterapi uygulamalarının ortak yan etkisi hastalarda immün supresyon oluşturmalarıdır. İmmünonutrisyon terimi; immün sistem fonksiyonlarını modüle edici substratları kapsar. İmmün besinler denilince akla sıklıkla; arjinin, glutamin, omega-3 yağ asitleri, nükleotidler gelmelidir.

Amaç: Bu deneysel çalışmada amaç; kemoterapi alan ratlarda immünonutrisyonun Interleukin-2 (IL-2), Interleukin-6 (IL-6) seviyelerine ve immün sistem hücrelerine etkilerini değerlendirmektir.

Gereç ve yöntem: Bu çalışmada 30 adet Wistar albino cinsi, 14-16 haftalık, 300-350 g ağırlığındaki erkek ratlar kullanıldı. İmmünonutrisyon grubu (Grup 1) immünonutrisyon ile beslenen ratlardan oluşturuldu ve kemoterapidan üç gün önce desteğe başlayıp, toplamda yedi gün devam edildi. Standart rat yemi grubu (Grup 2) standart rat yemi ile beslenen ratlardan oluşturuldu. Üçüncü gün tüm ratlara kemoterapötik ajan olarak Methotrexate (MTX) tek doz intraperitoneal yolla uygulandı. 3 farklı periyotta kan örnekleri alındı; deneyin başlangıcında, üçüncü gün kemoterapi uygulanmadan önce, deneyin son günü. Kan örneklerinde, ELİSA yöntemiyle Interleukin-2 (IL-2), Interleukin-6 (IL-6) seviyelerine ve tam kan sayımı yöntemiyle immün sistem hücrelerine immünonutrisyonun etkilerini değerlendirdik.

Bulgular: Tek doz intraperitoneal yolla MTX verilerek kemoterapi uygulanan ratlarda immünonutrisyonla besleme ile standart rat yemi ile besleme arasında lökosit, lenfosit, monosit, basofil değerlerinde ve IL-2 ölçümlerinde düşme, IL-6'da ise yükselme görülmüş ve bu değişimlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Nötrofil sayımlarında da nihai durum farklı değildir. Ancak immünonutrisyon desteğinin üçüncü gününde, henüz MTX uygulanmadan alınan örneklerde immünonutrisyon alan grupta nötrofil düzeylerindeki yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç: İmmünonutrisyon desteği kemoterapiyle ilişkili immün supresyon profilaksisinde ve/veya tedavisinde tek başına olmasa da güncel tedavilere adjuvan olarak kullanılabilecek potansiyele sahiptir.

Anahtar kelimeler: İmmünonutrisyon, IL-2, IL-6, methotreksat, immün supresyon.

ABSTRACT

Introduction: Chemotherapy is a common therapy for the population of cancer patient. As known well, the common side effect of chemotherapy is compromising of immun system . The term of immunutrition includes substances that modulate immun functions. When we mention of immun nutrition, we usually mean arginin,glutamin, omega-3 and nucleotids.

Purpose: The aim of this experimental study is evaluating of the effects of immunonutrition on the rats takes chemotherapy. That includes also evaluating of levels of Interleukin-2 (IL-2), Interleukin-6 (IL-6).

Materials and methods: In this study 30 male,14-16 weeks,300-350 g, Wistar rats were used . We designed two groups; Immunnutrition group (group I), was produced the rats which fed only immunonutrition; and this feeding was started 3 days ago from chemotherapy, continued 7 days..The other group, group II (standart feeding) was produced the rats that fed normal supplement. On the third day, as chemotherapeutic agent, methotrexate (MTX) was given one single dose by intraperitoneal injection. Blood samples were taken at three periods: at the first day of the experiment, at the third day, before chemotherapy injection, and at the end of the experiment. At the blood samples; we evaluated the degrees of IL-2, IL-6 and effects of immunnutrition on the immun system cells. Immun system cells were assessed by complete blood count, and IL-2, IL-6 were assesed by ELISA method.

Results: There was no significiant difference in the immunonutrition group for leukocytes, lymphocytes, monocytes, basophil, IL-2 and IL-6 levels and there was no statistical importance but as we expected, with the result of the intraperitoneal metotreksat injection all counts decreased but IL-2 levels increased. On the other hand, we determined increased neutrophil levels in the immunonutrition group, and the difference had statistical importance.

Conclusion: The support of immunonutrition has been useful for immunsupresyon treatment or prophylaxis. Related to chemotherapy and even not recommended on its own, it will be helpful as adjuvan therapy with other recent modalities.

Keywords: Immunonutrition, IL-2, IL-6, methotrexate, immun suppression.

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet(Abstract).....	iii
İçindekiler.....	iv
Simgeler ve kısaltmalar dizini.....	v
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Enteral nutrisyon ve immunonutrisyon.....	3
2.2. İmmun sistem.....	6
2.2.1. Lökositler.....	6
2.2.2. Sitokinler.....	8
2.3. Metotreksat.....	10
2.3.1. Endikasyonları.....	12
2.3.2. Kontrendikasyonları.....	12
2.3.3. Yan etkileri.....	12
3. Gereç ve yöntem.....	13
3.1. İstatistiksel analiz.....	16
4. Bulgular.....	17
5. Tartışma.....	26
6. Sonuçlar.....	31
7. Kaynaklar.....	32

SİMGE VE KISALTMALAR

BASO: Bazofil

EB: Enteral beslenme

EOS: Eosinofil

G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor

HBG: Hemoglobin

HCT: Hematokrit

Ig E: İmmunglobulin

IL-2: İnterleukin-2

IL-6: İnterleukin-6

LYM: Lenfosit

MCV: Mean corpuscular volume

MONO: Monosit

MPV: Mean platelet volume

MTX: Metotreksat

NEU: Nötrofil

PLT: Platelet

RDW: Red blood cell distribution width

TNF: Tümör nekrozis faktör

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kemoterapi; kanser hastalarında sıklıkla başvurulanan bir tedavi metodudur. Tıptaki gelişmeler daha efektif kemoterapötik ajanların kullanıma girmesini sağlamıştır. Ancak kemoterapi uygulamalarının ortak yan etkisi hastalarda immun supresyon oluşturmalarıdır. Metotreksat (MTX) folik asit türevi olan sitotoksik bir ajandır. Hücre bölünmesinin "S" fazında dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek DNA sentezi ve hücre bölünmesini önler. MTX'in doza bağımlı, yüksek toksisite potansiyeli vardır, , tek dozda bile immun supresyon yaptığı literatürde gösterilmiştir (1,2). MTX'in yol açtığı immun supresyonla baş etmek için laktoferrin desteği (1), Vitamin A ve lökovorin desteği (3) verilmiş ve bunun MTX tarafından indüklenen genetik hasara karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır.

Kemoterapi amacıyla kullanımında hemopoetik supresyon oluştuğu için kan tablosu tetkiklerinin düzenli aralıklarla yapılması gereklidir. Bu supressif etkisi aniden ve göreceli güvenilir bir dozla da ortaya çıkabilir. Kan hücrelerinin sayısında aşırı bir düşüş, tedavinin hemen kesilmesi ve uygun tedbirlerin alınmasını gerektirir. Malign hastalık tedavisi görenlerde, önceden bilinen kemik iliği aplazisi, lökoplaki veya anemi tanısı varsa ilacın çok dikkatli kullanılması gerekmektedir. Tedavi sırasında görülebilecek ağır lökopeni, bakteriyel enfeksiyona hatta sepsise yol açacak ağır bir tablo yaratabilir (4,5). Bu durumda ilaca ara verilir ve uygun antibiyotik tedavisi başlanır. Ağır kemik iliği depresyonunda eritrosit süspansiyonu veya trombosit transfüzyonu da gerekli olabilir (6). Kısaca kemoterapi kürü tamamlanamaz ve malignensi tedavisinde çok değerli olan zaman malignitenin tedavisi yerine araya giren enfeksiyon ve hemopoetik supresyonun tedavisi için harcanır. Tedavi süresinin uzaması, antibiyoterapi, yoğun bakım yatışları ve mekanik ventilatör desteğini de gerektirebilen diğer destek tedavileri sağlık sisteminde maliyeti arttırdığı gibi hasta için de ek morbidite yanında mortalite insidansını da arttırmaktadır (7,8).

Enteral Nutrisyon terimi 25 Mart 1999 tarihli Avrupa Birliği Yasal Düzenlemesinin 1999/21/EC sayılı kararına göre uygulama yoluna bakılmaksızın gıdaların özel medikal amaçlar için kullanımını kapsar. İmmünonutrisyon terimi; immün sistem fonksiyonlarını modüle edici (arttırıcı veya azaltıcı) substuratları kapsar (9).

İmmün besinler denilince akla sıklıkla; arjinin, glutamin, omega-3 yağ asitleri, nükleotidler gelmelidir (9-13).

İmmünonutrisyon endikasyonları; travma hastaları, genel cerrahi hastaları ve yoğun bakım hastaları olarak sıralanabilir (10). Majör abdominal cerrahide, immünonutrisyon desteğinin akut inflamatuvar yanıtı azalttığı ve hücresel immün desteği arttırdığı gösterilmiştir (11,12). MTX'ın etkinlik ve toksisitesi üzerine Glutaminin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada; MTX'ın tümör hücreleri tarafından alınmasına Glutaminin olumsuz etkisinin olmadığı ve terapötik aralığın genişlemesini sağlayabileceğini gösterilmiştir (13). Ancak bir derlemede de değinildiği gibi immünonutrisyonla yapılan klinik çalışmalar çok farklı sonuçlar verebilmektedir; bu durum; beslenme farklılıkları, besin kombinasyonlarının ve dozlarının, beslemeye başlama zamanının farklı olması; hastalarla ilgili faktörler, yaş,cinsiyet farklılıkları, önceki sağlık durumları, araştırma planı ve alınan çıktıları farklılığına bağlanabilir (14). Biz de bu değişkenleri minimuma indirerek daha güvenilir sonuçlar elde etmek için ratlarda bir deneysel çalışma tasarladık.

Kemoterapi alan ratlarda immünonutrisyonun; immün sistem hücrelerindeki baskılanmayı ve Interleukin-2 (IL-2) seviyesindeki düşüşü önleyeceğini ve akut faz yanıtında ilk sırada yükselen mediatör olan Interleukin-6 (IL-6) seviyesindeki yükselişi yavaşlatacağını öngörüyoruz. Çalışmamızın kemoterapi alan hastalara immünonutrisyon desteği verilmesi konusunda daha ileri çalışmalara ışık tutacağını düşünüyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enteral Nutrisyon ve İmmunonutrisyon

Kritik hastalıklar protein yıkımı, endojen protein depolarının kaybı, kas ve organlarda ağırlık azalması, immün cevapta bozulma ile sonuçlanan ağır katabolizma ile birliktedir. Kritik durumdaki hastaya verilecek erken nutrisyon desteği; stres, infeksiyon ve primer hastalığın yapacağı hasara karşı gelişen sitokin cevabını değiştirerek, hastalık sırasında oluşan metabolik değişiklikleri kontrol etmeye imkan sağlar. Hatta kritik hastalıklarda; parenteral yol yerine enteral yolla besleme, barsağın yapısal ve işlevsel bütünlüğünü koruyarak, bakteri ve endotoksinler için barsak geçirgenliğini sınırlayarak infeksiyon ve sistemik metabolik değişikliklerden koruyucu rol oynar (15-17).

Standart beslenmenin ötesinde çeşitli nütrientlerle zenginleştirilen ürünlerle beslenme ile hastanın immün durumunun güçlendirilmesi hedeflenmekte ve bu yaklaşım **immunonutrisyon** olarak adlandırılmaktadır (9). Pek çok çalışma, immün yönden desteklenen hastaların hiç olmazsa bir kısmında akut faz inflamatuvar cevabının süresi ve büyüklüğünün kontrol edilebileceğini göstermiştir (12,16). Arjinin, glutamin, pürin nükleotidleri, omega-3-yağ asitleri, çoklu doymamış yağ asitleri gibi besin öğelerinin inflamatuvar cevabın karmaşık yapısı içinde önemli basamaklarda rolleri olduğu bilinmektedir. İmmunonutrisyon preparatlarının içeriği değişiklik gösterebilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız Impact-Glutamin ® ürününün içeriği glutamin, L-Arjinin, RNA, doymuş yağ asidi, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri, omega-3 yağ asidi, mono- ve di- sakkaritler, laktoz, lif, su, vitamin A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C; çinko, selenyum, biyotin, folik asit, niasin, pantotenik asit, kolin, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, klor, demir, bakır, mangan, flor, iyot, molibden, kromdan oluşur.

Arjinin: Non-esansiyel bir aminoasittir. Büyüme hormonu, glukagon, prolaktin ve insülin salgılamada stimülandır, nitrik oksit prekürsörüdür. Nitrik oksit; potent vazodilatördür, hepatik protein sentezini düzenler, inflamatuvar mediyatör salgılamasını azaltarak antienflamatuvar etkilidir, zararlı ve ekzajere inflamatuvar yanıtı baskılar. Arjinin yine nitrik oksit yolu ile bakteri öldürme fonksiyonlarını da düzenler. Arjinin desteği kollajen sentezini artırarak yara iyileşmesine katkı sağlar (18).

Glutamin: Non-esansiyel bir aminoasittir ancak bazı şartlarda esansiyel olduğu kabul edilir. Hızlı yenilenen hücrelere enterosit, kolonosit gibi sindirim sistem hücrelerine; lenfosit, makrofaj gibi immun sistem hücrelerine oksidatif solunum için enerji kaynağıdır. Gastrointestinal sistemde koruyucu ve yenileyicidir. Nitrojen taşınımında önemlidir. Glutamin aynı zamanda antioksidan olan glutatyonun öncül maddelerindendir. Glutamin özellikle kas dokusunda bulunur, karaciğerde visseral proteinlerin sentezinde ve böbrekte renal amonyak sentezinde öncül maddedir. Stres durumunda glutamin ihtiyacı artar, bu artan ihtiyaç dışarıdan destekle karşılanmazsa plazma glutamini dramatik olarak azalır, ardından kas dokusu yıkılmaya başlar, vücut Krebs döngüsünde oluşan alfa-ketoglutaratı önce glutamat sonra glutamine çevirerek glutamini temin eder. Bu dönemde dışarıdan glutamin desteği bu katabolik etkiyi en aza indirir. Glutamin desteği; radyasyon ve kemoterapi uygulanmasında oluşacak intestinal mukoza harabiyetini en aza indirir (19). Glutamin desteği alan hastalarda sepsis daha az görülür (20). Bu durum; enterositler için yakıt olan glutaminin barsak fonksiyonlarını düzenlemesi veya korumasına bağlanır (20).

Pürin nükleotidleri: DNA ve RNA'nın yapı taşıdır. Hücresel düzeyde kataliz, enerji transferi, hormonal sinyallerin koordinasyonu gibi pek çok olayda nükleotidler gerekir. Nükleotidlerin sentezlenmesi oldukça karmaşık ve enerji gerektiren bir olaydır. Bu nedenle hızlı büyüme ve stres durumlarında dışarıdan verilmesi önemlidir. Yeterli destek sağlanmazsa; gastrointestinal mukoza hücreleri, lenfosit ve makrofaj gibi hücrelerin yenilenmesinde aksalık oluşur.

Esansiyel yağ asitleri: Yağ asitleri hücre membranının önemli komponentidir. Pıhtılaşma kaskadı ve pıhtılaşmanın inhibisyonu, hücre bölünmesi, büyüme, kontraksiyon, dilatasyon gibi pek çok olayı katalizler. İmmunonutrisyonda kullanılan yağ asitleri L-arjinin, glutamin, nükleotidlerden farklı olarak immun sistemi stimüle etmez. Omega-6-yağ asiti olan araşidonik asit yüksek düzeylerde immun fonksiyonları baskılar, inflamasyonu indükler. Eikosapentanoik asit (EPA) ve dokosaheksanoik asit (DHA) gibi omega-3-yağ asitleri hücre membranında siklooksijenaz metabolizmasında araşidonik asit için yarışmaya girer, başka bir deyişle omega-3-yağ asidi ile omega-6-yağ asitlerinin birbirine oranı immun fonksiyonların optimizasyonunda önemlidir.

Hücre membranında omega-6-yağ asitlerinin omega-3'e modifiye olması; T hücre proliferasyonu, hücrelerin adhezyonu, sitokin salınımını etkiler. Kritik hastalarda omega-3-yağ asidi desteğine başlandıktan 7 gün sonra eritrosit membranındaki omega-6/omega-3 oranının azaldığı gösterilmiştir. Araşidonik asit arttığında oluşan eikosanoidler immun supresyon ve inflamasyonu artırırken, EPA ve DHA 'nın arttırdığı eikosanoidler daha az inflamatuvar cevap yaratır, immun fonksiyonları ise suprese etmez.

Selenyum: Esansiyel bir elementtir. Glutasyon peroksidaz enziminin yapısına girerek antioksidan özellik gösterir. Serbest radikaller hem mikroorganizmaların hem de konakçının hücre membranlarına ve diğer hücresel yapılara zarar verirler. Önemli bir serbest radikal yakalayıcısı olduğundan inflamatuvar olaylarda düzenleyici rolü olduğu kabul edilir. Selenyum desteğinin fagositer ve natural killer aktivitesi, T hücre çoğalması, immunglobulin sentezini artırır.

Çinko: Bir mitojen olan çinkonun eksikliğinde T hücre proliferasyonu azalır.

Demir: Eksikliğinde hücresel immunité etkilenir, nötrofillerin bakterisidal kapasitesinde azalma olur.

Bakır: Eksikliğinde T ve B lenfosit sayılarının normalin alt sınırına indiğı, lenfositlerin proliferasyonunda azalma olduğu bilinir. Hücresel immunitéyi etkiler. Süperoksit dismutazın yapısına girerek oksijen radikallerini yakalar.

Vitamin A: Hücresel immun yanıtta rolü vardır. Deri, solunum, sindirim ve genitoüriner sistemlerde mukoza bütünlüğünü ve mukus sekresyonun sağlayarak bakteri invazyonunu önler ve böylece non-immünolojik immunitéde de rol oynar. T ve B lenfositler olgunlaşmak için Vitamin A'ya ihtiyaç duyarlar.

Vitamin E: Hücre membranlarının yapı ve devamlılığını sağlayan güçlü bir antioksidandır. Lenfosit proliferasyonu ve IL-2 sentezini artırır. Vitamin E eksikliğinde natural killer aktivitedeki artış, oluşan serbest radikallerin sonucudur.

Vitamin B₆ (Piridoksin): Eksikliğinde lenfosit sayısında azalma, nötrofil sayısında artma görülür.

Vitamin C (Askorbik asit): Fagositer seri hücrelerinin şekil değiştirmeleri ve hareketleri için gerekli olan tubulin proteininin yapımında yer alır.

Folik asit: Eksikliğinde lenfosit proliferasyonunda ve sitotoksik T hücre aktivitesinde azalma olur.

Glisin: Hücreleri iskemi-reperfüzyon hasarından, hipoksiden korur, serbest radikalleri inhibe eder, TNF yapımını engeller.

2.2. İmmun Sistem

Vücudumuzun enfeksiyöz ve toksik ajanlarla savaşıyan özelleşmiş bir sistemidir. Bu sistem lökositler ve lökositlerden kaynaklanan doku hücrelerinden oluşur. İmmun sistem klasik olarak iki komponentten meydana gelir: antikorlar aracılığıyla sağlanan **humoral immunité (B hücre bağışıklığı)** ve lenfositlerle sağlanan **sellüler (hücre) immunité (T hücre bağışıklığı)** (21).

2.2.1. Lökositler

Vücudun savunma sisteminin hareketli birimleridir. Kısmen kemik iliğinde (granülositler, monositler ve az sayıda lenfosit) ve kısmen de lenfoid dokuda (lenfositler ve plazma hücreleri) oluşur ve kan yoluyla farklı vücut bölgelerine taşınırlar. Kanda altı çeşit lökosit bulunur: nötrofiller, eosinofiller, bazofiller, monositler, lenfositler ve seyrek olarak da plazma hücreleri. İlk üç tip hücre polimorfonükleer tip hücrelerdir ve granüler görünümlü oldukları için granülositler olarak da adlandırılırlar. Granülositler ve monositler yabancı organizmaları fagosit ederler. Lenfosit ve plazma hücrelerinin fonksiyonu ise temelde immün sistem ile ilişkilidir.

Granülositler ve monositler yalnız kemik iliğinde üretilirler ve gerek duyuluncaya kadar burada depolanırlar. Lenfosit ve plazma hücreleri lenfoid dokularda, lenf bezleri, dalak, timus, tonsillerde üretilirler.

Erişkin insanda milimetre küp kanda 7000 kadar lökosit vardır. Lökosit tiplerinin normal yüzdeleri:

Nötrofiller: % 62.0

Eosinofiller: % 2.3

Bazofiller: % 0.4

Monositler: % 5.3

Lenfositler: % 30.0 (21).

Lökositlerin kanda bulunma nedeni; kemik iliğinden veya lenfoid dokudan gereksinim duyulan yerlere taşınmalarıdır. Kemik iliğinden salındıktan sonra granülositlerin ömrü kanda 4-8 saat, dokularda 4-5 gündür.

Ciddi doku enfeksiyonu varlığında bu yaşam süreleri birkaç saate kadar düşer, çünkü granülositler hızla enfekte bölgeye gider, immun fonksiyonlarını yerine getirir ve kendilerini lizise uğratırlar.

Monositler dokulara geçmeden önce 10-20 saat kadar dolaşımda kalırlar. Dokularda doku makrofajları haline gelirler.

Lenfositler, lenfoid dokulardan lenf drenajı ile sürekli dolaşıma katılırlar. Birkaç saat sonra diapedez ile dokulara geçer ve sonra tekrar lenfatiklere girerek ya lenfoid dokuya ya da kana geri dönerler, böylece tüm vücutta lenfositlerin sürekli dolaşımı sağlanır. Lenfositlerin yaşam süresi gereksinime göre, aylarca hatta yıllarca olabilir.

2.2.1.1. Nötrofiller ve Makrofajlar

Dolaşımdaki monositler dokulara geçer ve şişmeye başlayarak makrofajları oluşturur. Nötrofiller ve monositler diapedez ile dolaşımdan dokuya geçer, ameboid hareketlerle ilerler. İnflamasyon bölgesine kemotaksi ile çekilirler. Saldırgan ajanı fagositoz yoluyla etkisiz hale getirirler. Nötrofiller olgun hücreler oldukları için hemen fagositoza başlayabilirler ve bir nötrofil ömrü boyunca 5-20 bakteriyi fagosit edebilir. Makrofajlar ise immun sistem tarafından aktive edildikten sonra fagositoza başlar ve 100 bakteriyi fagosit edecek güçtedir. Fagosit edilen partiküller intrasellüler enzimler tarafından sindirilir (21).

2.2.1.2. Eozinofiller

Eozinofiller zayıf fagositlerdir ve kemotaksi gösterirler.

Eozinofiller paraziter enfeksiyonlu kişilerde sıklıkla çok miktarda üretilirler ve parazitli dokulara göçerler. Parazitlerin çoğu eozinofiller veya diğer fagositik hücreler tarafından fagosit edilemeyecek kadar büyük olmasına rağmen eozinofiller özel yüzey molekülleri yoluyla parazitlere tutunurlar ve birçoğunu öldüren maddeleri salgırlar.

Eozinofiller ayrıca alerjik reaksiyonların olduğu dokularda toplanma eğilimindedirler. Mast hücreleri ve bazofillerin salgıladığı eozinofil kemotaktik faktör aracılığıyla alerjik dokuya göç ederler. Eozinofiller mast hücreleri ve bazofillerden salgılanan inflamasyonu uyarıcı maddelerin bir kısmını detoksifiye ederler, alerjen-antikor kompleksini yıkarak fagosit ederler böylece lokal inflamatuvar sürecin yayılımını önlerler.

2.2.1.3. Bazofiller

Dolaşan kandaki bazofiller, vücuttaki kapillerlerin çoğunun hemen dışında yerleşik büyük mast hücrelerine benzer. Hem bazofiller hem de mast hücreleri kanın pıhtılaşmasını önleyen heparini salarlar. Mast hücreleri ve bazofiller; histamin, az miktarda da bradikinin ve serotonin salarlar. Immunglobulin E (Ig E) alerjik reaksiyona neden olan bir antikor tipidir ve bazofillere özel tutunma eğilimindedir, böylece mast hücreleri ve bazofiller alerjik reaksiyonların bazı tiplerinde çok önemli rol oynarlar.

2.2.1.4. Lenfositler

Her iki tip lenfositler embriyoda pluripotent hemopoetik kök hücreden kaynaklanırlar. Timus bezinde işlenerek olgunlaşanlarına T lenfosit, fetal dönemde karaciğerde ve doğum sonrasında kemik iliğinde işlenenlere B lenfosit adı verilir. Lenfositlerin aktive edilmesinde makrofajlar hem yabancı antijenleri fagosite edip lenfositlere sunarak hem de lenfosit büyüme ve çoğalmasını kolaylaştıran IL-1' i salgılayarak etkili olurlar. Antijenlerin uyardığı T lenfositler 3 farklı tip T hücresine dönüşebilir: T_h (hepler, yardımcı T lenfosit), T_{sup} (supressor, baskılayıcı T lenfosit) ve T_{sit} (sitotoksik T hücreleri). T_h hücreler çeşitli sitokinler salarak B lenfositlerin uyarılmasına yardımcı olur. Hem T_h hücreler hem de makrofajların sunduğu antijenlerle uyarılan B lenfositlerin bir kısmı plazma hücrelerine dönüşerek gama globulin yapısındaki antikorları üretirlerken, bir kısmı da bellek hücrelerine dönüşürler. T_h hücreler tüm T lenfositlerin dörtte üçünü oluşturur, immun sistem işlevlerinde ana düzenleyici görevi üstlenir. Bu görevlerini lenfokin adı verilen protein yapısındaki aracı moleküller ile yaparlar. İnterleukin-2 (IL-2), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, Granulosit-Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör, İnterferon-gamma (IFN- γ) önemli lenfokinlerdir.

2.2.2. Sitokinler

İmmun sistemin çözünebilir mediatörleridir. Lenfositler, efektör hücreler ve antijen sunan hücreler tarafından salgılanan düşük molekül ağırlıklı polipeptidlerdir. Sitokinler etkilerini hedef hücrelerdeki spesifik yüksek-affinite reseptörlerine bağlanarak gösterirler. Örneğin; IL-2; T hücrelerindeki IL-2 reseptörlerine bağlanarak onları aktive eder.

Sitokinler otokrin, parakrin, endokrin yol olmak üzere üç yolla etki ederler ve bu etkileri artan kaskadlar şeklindedir, örneğin; Tümör Nekrosis Faktör (TNF), IL-1 sentezini tetikler, bu da IL-6 seviyesini artırır. Çoğu sitokin birçok farklı hücre tarafından meydana getirilir. Mesela; IL-1 ve TNF hemen her hücre tarafından sentezlenir. Sitokinlerin etkileri pleotropiktir; yani, birçok hücre üzerine birçok farklı etkiye neden olurlar, buna göre; T hücre gelişim faktörü olarak tanımlanan IL-2'nin B hücre ve NK hücrelerin gelişme ve farklılaşmasını da regüle ettiği bulunmuştur.

Sitokinlerin özgül düzenleyici işlevlerinden bazıları şunlardır:

- T_{sup} ve T_{sit} hücrelerinin büyüme ve çoğalmalarının uyarılması; özellikle IL-2'nin uyarıcı etkisi güçlüdür. IL-4 ve IL-5 ise daha zayıf ama benzer etki gösterirler.
- Plazma hücreleri ve antikorları oluşturmak üzere B hücrelerinin büyüme ve farklılaşmalarının uyarılması; IL-4,5,6 güçlü etkileri nedeniyle B hücre büyüme faktörleri olarak da adlandırılırlar.
- Makrofaj sisteminin aktivasyonu,
- Feedback ile yardımcı hücrelerin kendi kendilerini uyarıcı etkisi; IL-2'nin pozitif feedback ile T_h hücrelerini uyarıcı etkisi vardır (22).

2.2.2.1. İnterleukin-2 (IL-2)

İnsanların 4. kromozomundaki tek genle kodlanan 14-17 kD'luk bir glikoproteindir. IL-4 ve Transforming Growth Faktör- β (TGF- β) ile birlikte lenfosit aktivasyonu, büyüme ve farklılaşmasında görev alan bir mediatördür. T lenfositlerin hücre siklusunda; G1 fazından S fazına ilerlemesinden sorumludur, bu nedenle "T hücresi büyüme faktörü" (TCGF) olarak da adlandırılır. IL-2; CD4+T hücreleri ve daha az oranda da CD8+ T hücreleri tarafından üretilir. Sentezlendiği hücreler üzerine etki göstermesinden dolayı otokrin büyüme faktörü işlevi gösterir.

IL-2'nin temel etkisi lenfositler üzerinedir:

- T lenfositler için otokrin büyüme faktörüdür. IFN- γ ve lenfotoksin gibi T hücresinden kökenini alan sitokinlerin sentezini uyarır.
- NK hücrelerinin büyümesini uyarır ve sitolitik fonksiyonlarını artırır. Bunu lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hücreler (LAK) üreterek yapar. NK hücrelerinden IFN- γ salınımını artırır.

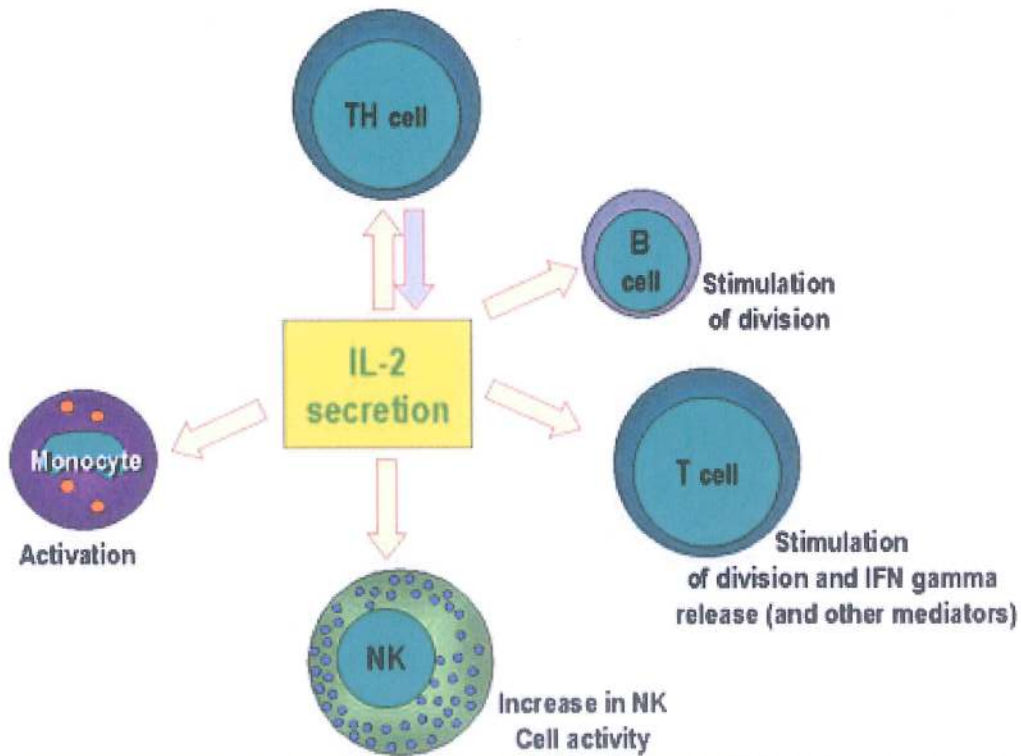
- IL-2 B lenfositlere etki ederek hem büyüme faktörü hem de antikor sentezi uyarıcı olarak etki gösterir (21).

2.2.2.2. İnterleukin-6 (IL-6)

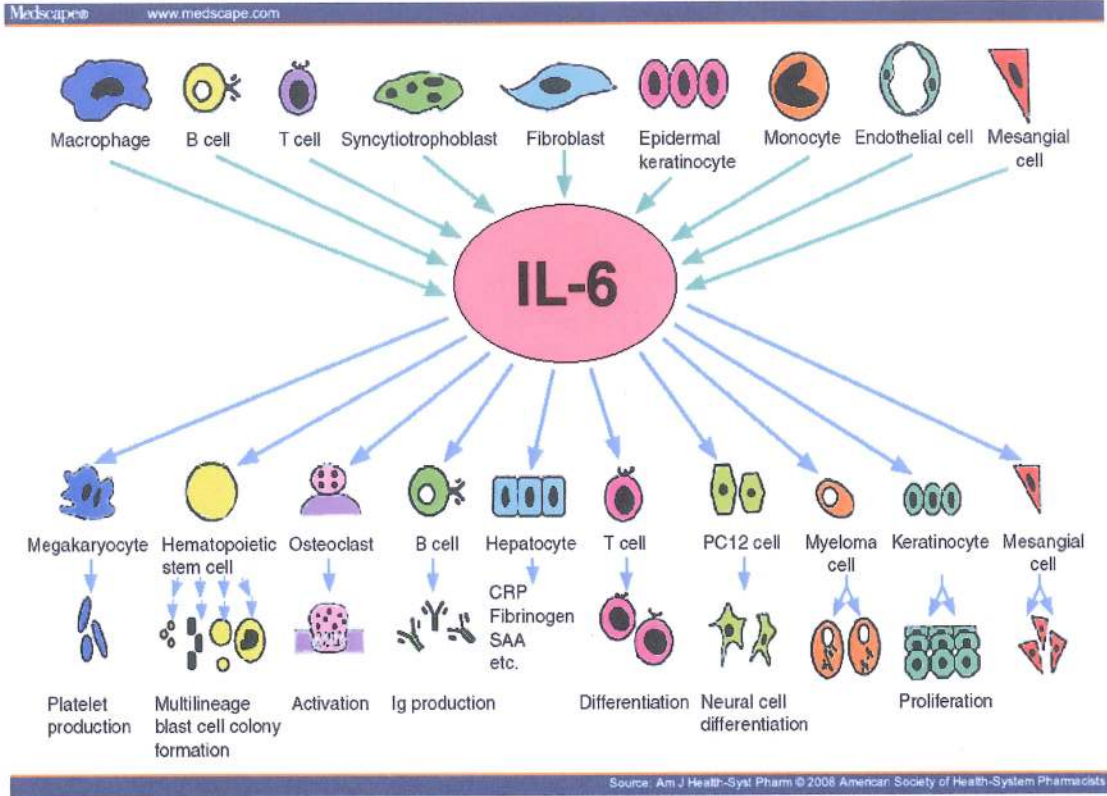
IL-6 yaklaşık 26 kD'luk bir sitokindir. IL-6 reseptörü ise 60 kD'luk bağlayıcı bir protein ve 130 kD'luk sinyal ileten alt birimden oluşur. Tip 1 interferon, TNF, IL-1 ve kemokinler gibi doğal bağışıklık mediatörlerinden biridir. Mononükleer fagositler, vasküler endotel hücreleri, fibroblastlar, astrositler, B hücreleri ve bazı aktive T hücreleri tarafından sentezlenir.

IL-6'nın görevleri hepatositler ve B lenfositler üzerindendir:

- Hepatositlerden fibrinojen, hemopeksin, α 1-antikimotripsin, α 2-makroglobulin gibi akut faz reaktanlarının sentezini indükler.
- Etkin B hücrelerinin büyümesini ve plazma hücrelerine farklılaşmasını indükler.
- Plazma hücrelerinden de antikor salgısını uyarır.
- Diğer sitokinlerle birlikte kemik iliği hemopoetik ana hücreleri için erken dönemde büyüme kofaktörü olarak etki gösterir (21).



Şekil 1:IL-2'nin fonksiyonları



Şekil 2: IL-6'nın fonksiyonları

2.3. Metotreksat

Folik asit türevi olan metotreksat (MTX) sitotoksik bir ajandır. Hücre bölünmesinin "S" fazında dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek DNA sentezi ve hücre bölünmesini önler. MTX'in bu etkisine malign hücreler, kemik iliği, fetusa ait hücreler, derinin epitel tabakası, ağız ve bağırsak mukozası ve mesane hücreleri gibi aktif bölünme ile çoğalan hücreler daha hassastır.

Parenteral uygulamada yarım saat ile bir saatte serum seviyesi maksimuma ulaşır. İlacın yarısı serum proteinlerine reversibl bağlanmasına rağmen, vücut sıvılarına kolayca geçebilir ve doku hücrelerine diffüze olur.

Atılım, böbrekler yoluyla. Hematolojik, hepatik veya renal bozukluklarda doz azaltılmalıdır.

2.3.1. Endikasyonları

A. Anti-neoplastik Kemoterapi

Düşük doz MTX koryokarsinom, akut lenfositik lösemi, meninks lösemisi, meme karsinomunda büyük ölçüde etkilidir. Malign lenfoma, baş ve boyun epidermoid karsinomu, skuamöz hücreli ve küçük hücreli akciğer kanseri ve osteojenik sarkomda ise ilaç yüksek dozlarda etkilidir.

Rabdomiyosarkom, liposarkom, sinovya sarkomları, mycosis fungoides, pankreas sarkomu, anorektal karsinom, akciğerin büyük hücreli karsinomu, servikal karsinom ve malign melanom hastalıklarında yüksek dozlarla bazen etkili cevaplar gözlenmiştir.

B. Psoriasis Kemoterapisi

Ancak tanısı, biyopsi ile kesinleştirilmiş, ve diğer tüm tedavi yöntemlerine yeterli cevap alınamamış ağır, refrakter ve inatçı psöriasis olgularında endikedir.

2.3.2. Kontrendikasyonları

Ağır karaciğer ve böbrek bozukluklarında, aktif enfeksiyon varlığında, belirgin veya laboratuvar bulgularıyla saptanmış immün yetmezlik sendromlarında, ağır anemi, lökopeni veya trombositopenide kontrendikedir. İmmünosupresif tedavi gören hastalarda enfeksiyonlara karşı direnç azalacağından tedavi süresince aseptik ortamlarda yaşamlarını sürdürmeleri gerekmektedir

2.3.3. Yan Etkileri

Yan etkiler; hemopoetik sistem, gastrointestinal sistem ve bazen de derinin hızla çoğalan normal hücrelerine metotreksatın sitotoksik etkisi sonucu ortaya çıkmaktadır.

En sık yan etkileri; kemik iliği depresyonu, lökopeni, trombositopeni, anemi, hipogammaglobulinemi, çeşitli bölgelerde kanama, sepsisemi, mide bulantısı, ülseratif stomatit ve bağırsak bozukluklarıdır. Diğer yan etkiler ise sebepsiz yorgunluk, titreme ve ateş, baş dönmesi ve enfeksiyona karşı direncin azalmasıdır.

MTX'ın immünosupresif etkisi vardır ve bu nedenle ilaç ile aynı zamanda aşı yapılmasından kaçınılmalıdır; ağır antijenik reaksiyonlar ortaya çıkabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 11.04.2012 tarih, no: 2012/03 ile onaylanan bu çalışma Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi DETAM (Deneysel Tıp Araştırma Merkezi) laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretme ve Araştırma Laboratuvarı'ndan elde edilen 30 adet Wistar albino cinsi, 14-16 haftalık, 300-350 g ağırlığındaki erkek ratlar dahil edildi. Rat seçimi, literatür bilgilerine ve önceden yapılan çalışmalardaki en uygun tür ve özellikler dikkate alınarak belirlendi.

Ratlar randomize olarak her grupta 15'er rat olmak üzere **2 gruba** ayrıldı.

İmmunonutrisyon grubu (Grup 1): İmmunonutrisyon ile beslenen ratlar.

Standart rat yemi grubu (Grup 2): Standart rat yemi ile beslenen ratlar.

30 cmx 50 cm plastik kafeslerde, her kafeste 5 (beş) hayvan olacak şekilde barındırıldı. Bütün hayvanlar kontrollü çevresel şartlarda (20-23 °C, 12 saat aydınlık/karanlık, %50 nem) ve su kısıtlaması olmaksızın kontrol altında tutuldu. Grup 2 standart unlu, kepekli rat yemi ile beslendi, herhangi bir yem kısıtlaması yapılmadı; Grup 1'de ise herbir rat için 50 mL immünonutrisyon (**Impact-Glutamin** ® İmmunonutrisyon, Nestle Türkiye Gıda San. A.Ş. İstanbul / Türkiye) ile beslenme sağlandı.

İmmunonutrisyon uygulamalarında operasyondan üç gün önce desteğe başlayıp, toplamda yedi gün devam edilmesi önerisi (9) doğrultusunda ratlar beslenmeye başlandı. Üçüncü gün tüm ratlara kemoterapötik ajan olarak MTX (**Methotrexate-Koçak** ® 50 mg/mL Enjektabl solüsyon içeren flakon, Koçak Farma Tekirdağ/Türkiye) 20 mg/kg tek doz intraperitoneal yolla uygulandı (23).

Bu süreçte; **3 farklı periyotta** ratların kuyruk veninden kan örnekleri alındı:

1. Deneyin başlangıcında,
2. Üçüncü gün kemoterapi uygulanmadan önce,
3. Deneyin son günü.

Bu işlemler esnasında 40 mg/kg ketamin (**Ketalar**®, 50 mg/mL ketamin baz, Pfizer İlaçları Ltd. Şti. İstanbul/Türkiye) intraperitoneal yolla uygulanarak ratlarda sedasyon oluşturuldu.

Kan örneklerinde, immunonutrisyonun IL-2, IL-6 seviyelerine ve immun sistem hücrelerine olan etkilerini değerlendirdik. İmmun sistem hücreleri tam kan sayımı yöntemiyle ve IL-2, IL-6 ölçümleri ELİSA yöntemiyle yapıldı. Tam kan sayımı Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Laboratuvarında Cell Dyn 3700, Abbott, Türkiye cihazıyla gerçekleştirildi. IL-2 ve IL-6 ölçümleri için önce Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Laboratuvarında Hettich Rotofix 32A, DJB Labcare, United Kingdom cihazıyla santrifüj edilen kan örnekleri derin dondurucuda -12 C'de muhafaza edildi. Tüm örnekler toplandıktan sonra, ELİSA yöntemiyle IL-2 ve IL-6 ölçümleri yapılmak üzere, soğuk zincir bozulmadan Bolu Abant İzzet Baysal Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD laboratuvarına nakledildi. Rat IL-2 Platinum ELISA ve Rat IL-6 Platinum ELISA (eBioscience Campus Vienna Biocenter 2. 1030 Vienna, Austria) ELİSA kitleriyle yapılan ölçümlerde ELİSA yıkayıcısı olarak Thermo scientific wellwash 4 mk 2 cihazı; ELİSA okuyucusu olarak da Thermo scientific multiscan fc cihazı kullanıldı.



Resim 1. Çalışmada kullanılan tam kan sayımı cihazı.



Resim 2. Çalışmada kullanılan ELİSA okuyucusu.

3.1. İstatistiksel Analiz

IL-2 ve IL-6 seviyelerini ELİSA yöntemiyle ölçtüğümüz çalışmamızda, interleukin seviyeleri birbirine yakın sonuçlar verebileceğinden, istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edebilmek için her grubu 15 rattan oluşturduk.

Herbir ölçüm parametresi için grup ile periyot etkileşimi; Tukey HSD Test ve Tekrarlanan Ölçümlerle Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. İstatistiksel analiz için PASW 18 (Predictive Analytics Software 18. sürüm) istatistik paket programı kullanıldı, $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Lökosit (WBC) bakımından yapılan değerlendirme sonucunda grup ile periyot etkileşiminin anlamlı olmadığı; yani periyotlar arasındaki farkın gruptan gruba, gruplar arasındaki farkın da periyottan periyoda değişmediği belirlenmiştir. Yani her iki grupta da deneyin başlangıcı (1. periyot) ile üçüncü gün MTX uygulanmadan önce (2. periyot) ve deneyin son günü (3. periyot) arasındaki fark ve 2. periyot ile 3. periyot arasındaki fark anlamlı çıkmıştır (her birisi için $P < 0.001$). Yukarıdaki tabloda yer alan ortalamalar incelendiğinde WBC ortalamasının periyot ilerledikçe anlamlı düzeyde düştüğü söylenebilir.

Ayrıca 3 periyotta da ölçülen WBC değerlerinin gruplar arasında anlamlı farklılık göstermediği görülmüştür (1. periyotta gruplar arası farklılık için $p=0.999$; 2. periyotta gruplar arası farklılık için $p=0.405$; 3. periyotta gruplar arası farklılık için $p=0.999$).

Tablo 1: WBC ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
WBC_1	1,00	12,01533	3,780270	15
	2,00	12,15267	2,999044	15
WBC_2	1,00	8,44333	3,657629	15
	2,00	5,99667	3,807496	15
WBC_3	1,00	3,11453	3,134457	15
	2,00	3,00787	3,490926	15

Nötrofil (NEU) bakımından grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.013$). Bu sonuca göre NEU için gruplar arasındaki farkın periyotlara (1.,2.,3.) göre değiştiği ve üç periyot arasındaki farkın da gruplara göre değiştiği söylenebilir.

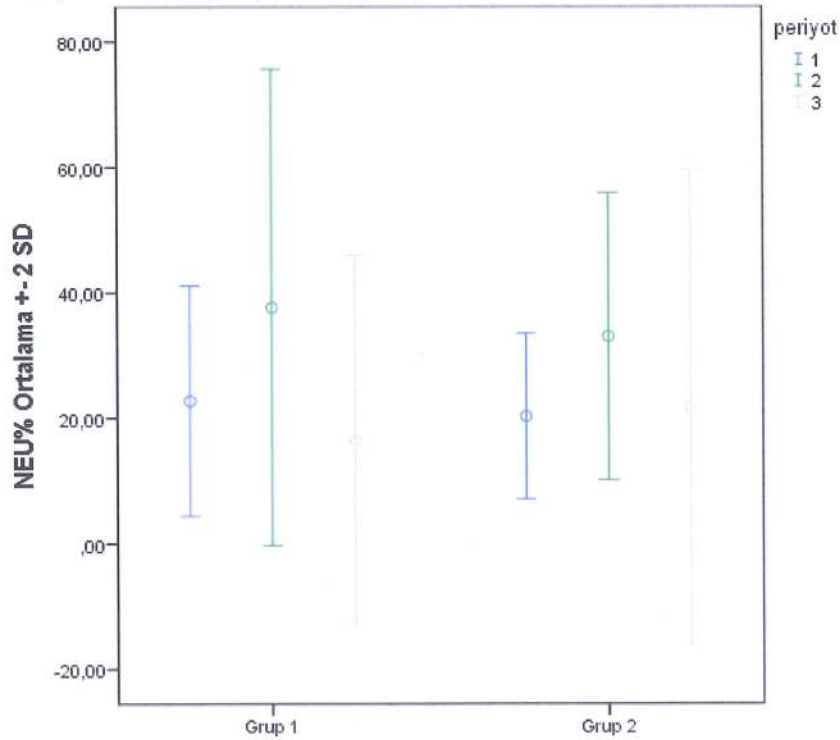
Kesin sonuca ulaşmak için ileri değerlendirmede NEU için grup 1’de 3. periyotta ölçülen ortalama NEU değerinin diğer periyotlarda ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0.001$; $p<0.001$) bulunurken 1. ve 2. periyotlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.967$). Grup 2’de 1. periyotta ölçülen ortalama NEU değerinin 3. periyotta ölçülen değerinden anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüş ancak ($p=0.026$) diğer periyotlar arasında (1. ve 2; 2. ve 3.) anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir ($p=0.528$; $p=0.672$).

Ayrıca 2. periyotta ölçülen NEU değerinin grup 1’de daha yüksek olduğu ($p=0.04$) bulunmuştur. Ancak diğer periyotlarda (1, 3) ölçülen NEU değerlerinin gruplar arasında anlamlı düzeyde değişmediği saptanmıştır (1. periyot için gruplar arası farklılık $p=0.988$; 3. periyot için gruplar arası farklılık $p=0.885$).

Tablo 2: NEU ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
NEU_1	1	2,604	0,976859	15
	2	2,34467	0,608228	15
NEU_2	1	2,91247	1,768984	15
	2	1,67867	0,542496	15
NEU_3	1	0,65313	0,742888	15
	2	1,10007	1,515407	15

Grafik 1: NEU değerlerinin farklı periyotlarda gruplara göre dağılımı (Periyot 1: Deneyin başlangıcı, Periyot 2: Üçüncü gün MTX uygulanmadan önce, Periyot 3: Deneyin yedinci günü)



Lenfosit (LYM) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.324$).

LYM ortalama değerinin periyotlar arasında anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği ve bu farklılıkların her iki grupta da aynı olduğu söylenebilir ($p<0.001$). Yani periyot ilerledikçe LYM ortalaması anlamlı düzeyde düşmektedir. Ancak her 3 periyotta da iki grup arasında anlamlı farka rastlanmamıştır.

Tablo 3: LYM ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
LYM_1	1	8,04133	3,099520	15
	2	8,71533	2,692014	15
LYM_2	1	4,72993	3,335733	15
	2	3,92327	3,407940	15
LYM_3	1	2,15293	2,355573	15
	2	1,98920	1,994874	15

Monosit (MONO) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.030$). Bu sonuca göre **MONO** için gruplar arasındaki farkın periyotlara (1.,2.,3.) göre değiştii ve üç periyot arasındaki farkın da gruplara göre değiştii söylenebilir.

Kesin sonuca ulaşmak için ileri değerlendirmede **MONO** için grup 1’de 1. periyotta ölçülen ortalama değerin diğer periyotlarda ölçülen değerlerden anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.001$; $p<0.001$) ayrıca 2. periyotta ölçülen MONO değerinin de 3. periyotta ölçülen değerinden daha yüksek olduğu söylenebilir ($p<0.001$). Grup 2’de 1. periyotta ölçülen ortalama MONO değeri diğer periyotlarda ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0.001$; $p<0.001$). Ancak 2. ve 3. periyotlar arasında bu anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0.915$).

Tablo 4: MONO ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	Grup	Mean	Std. Deviation	N
MONO_1	1	,71107	,310663	15
	2	,58767	,219890	15
MONO_2	1	,42153	,291851	15
	2	,17260	,229870	15
MONO_3	1	,08440	,128061	15
	2	,10327	,099488	15

Eosinofil (EOS) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.496$). Ayrıca periyotlar arasında anlamlı fark olmadığı ve bu sonucun her iki grup için de geçerli olduğu bulunmuştur. Bunun yanı sıra her 3 periyotta da iki grup arasında anlamlı farka rastlanmamıştır.

Tablo 5: EOS ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
EOS_1	1	,31807	,186829	15
	2	,22800	,120201	15
EOS_2	1	,25113	,430167	15
	2	,11613	,064961	15
EOS_3	1	,15427	,179990	15
	2	,15060	,165005	15

Bazofil (BASO) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.382$).

BASO ortalama değerinin periyotlar arasında (özellikle (1-2); (1-3)) anlamlı düzeyde farklılıklar gösterdiği ve bu farklılıkların her iki grupta da aynı olduğu söylenebilir ($p<0.001$). Buna karşın her 3 periyotta da iki grubun BASO ortalaması anlamlı düzeyde farklı bulunmamıştır.

Tablo 6: BASO ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
BASO_1	1	,34887	,116103	15
	2	,28600	,144919	15
BASO_2	1	,11713	,101253	15
	2	,10127	,168083	15
BASO_3	1	,05933	,077129	15
	2	,07600	,120079	15

Eritrosit (RBC) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p=0.018$). Bu sonuca göre **RBC** için gruplar arasındaki farkın periyotlara (1.,2.,3.) göre değiştiği ve üç periyot arasındaki farkın da gruplara göre değiştiği söylenebilir.

Kesin sonuca ulaşmak için ileri değerlendirmede **RBC** için grup 1'de periyotlar arasında ((1-2),(1-3), ve (2-3)) anlamlı farklılıklar bulunmamıştır ($p=0.07$; $p=0,999$; $p=0,123$). Grup 2'de 1. periyotta ölçülen ortalama RBC değeri

diğer periyotlarda ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek iken ($p=0.01$; $p=0.002$) 2. ve 3. Periyotlar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.989$).

Ayrıca 3. periyotta ölçülen RBC değerinin grup 1'de anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptanırken ($p=0.003$) diğer periyotlarda (1, 2) gruplar arasında bu farklılık saptanmamıştır ($p=0,999$; $p=0,987$).

Tablo 7: RBC ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
RBC_1	1	8,55867	,305260	15
	2	8,59467	,282738	15
RBC_2	1	7,55933	,708655	15
	2	7,33467	,917636	15
RBC_3	1	8,47867	1,147207	15
	2	7,11193	1,627667	15

Hemoglobin (HGB) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Bu sonuca göre HGB için gruplar arasındaki farkın periyotlara (1.,2.,3.) göre değiştiği ve üç periyot arasındaki farkın da gruplara göre değiştiği söylenebilir.

Kesin sonuca ulaşmak için ileri değerlendirmede HGB için grup 1'de 1. periyotta ölçülen değerinin 2. periyotta ölçülen değerinden anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunurken ($p=0.025$) diğer periyotlar arasında ((1-3), ve (2-3)) anlamlı farklılıklar bulunmamıştır ($p=0.934$; $p=0.220$).Grup 2'de 3. periyotta ölçülen ortalama HGB değeri diğer periyotlarda ölçülen değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek iken ($p<0.01$; $p=0.048$) diğer periyotlar arasında (1-2) anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.125$).

Ayrıca 3. periyotta ölçülen HGB değerinin grup 1 de anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptanırken ($p=0.002$) diğer periyotlarda (1, 2) bu farklılık saptanmamıştır ($p=0,997$; $p=0,871$).

Tablo 8: HGB ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
HGB-1	1	15,12667	,486190	15
	2	15,38000	,396773	15
HGB_2	1	13,46667	,645497	15
	2	14,06000	1,688533	15
HGB-3	1	14,64200	1,959418	15
	2	12,54600	2,249980	15

Hemotokrit (HCT) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.644$).

Her iki grupta da 2. periyotta anlamlı bir azalma gözlenmiş, ancak her 3 periyotta da gruplar arasında anlamlı farka rastlanmamıştır.

Tablo 9: HCT ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
HCT%_1	1	69,88000	2,435511	15
	2	71,20667	2,306038	15
HCT%_2	1	52,27333	13,499972	15
	2	54,97333	12,765885	15
HCT%_3	1	67,91600	17,659635	15
	2	65,24933	5,343615	15

Mean Corpuscular Volume (MCV) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.457$).

MCV ortalama değerinin periyotlar arasında (özellikle (1-2); (2-3)) anlamlı düzeyde farklılıklar gösterdiği ve bu farklılıkların her iki grupta da aynı olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Buna karşın 3 periyotta da gruplar arasında anlamlı farka rastlanmamıştır.

Tablo 10: MCV ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

Periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
MCV_1	1	81,65333	2,185297	15
	2	82,90000	2,052873	15
MCV_2	1	67,20000	16,331696	15
	2	62,26667	13,624330	15
MCV_3	1	78,36000	6,326227	15
	2	77,30667	7,717093	15

Red Blood cell Distribution Width (RDW) bakımından grup ve periyot farklılıkları incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.173$).

Her iki grupta da 3 periyot arasında anlamlı fark bulunmamış, ancak 3 periyotta da 2. grubun ortalaması anlamlı düzeyde düşük çıkmıştır.

Tablo 11: RDW ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

Periyot	Grup	Mean	Std. Deviation	N
RDW%_1	1	18,02000	1,684891	15
	2	17,74667	1,647018	15
RDW%_2	1	19,86000	3,790741	15
	2	17,45333	1,387118	15
RDW%_3	1	17,53333	2,021551	15
	2	16,94000	1,513652	15

Platelet (PLT) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.442$).

PLT ortalama değerinin periyotlar arasında (özellikle (1-3); (2-3)) anlamlı düzeyde farklılıklar gösterdiği ve bu farklılıkların her iki grupta da aynı olduğu söylenebilir ($p<0.001$). Buna karşın 3 periyotta da gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 12: PLT ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

Periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
PLT_1	1	673,80000	113,828317	15
	2	670,73333	152,256582	15
PLT_2	1	630,93333	136,772735	15
	2	657,66667	96,177415	15
PLT_3	1	326,60000	162,269529	15
	2	248,13333	271,608507	15

Mean Platelet Volume (MPV) bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.897$).

Her 2 grupta da periyotlar arasında anlamlı bir fark gözlenirken, gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 13: (MPV) ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

Periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
MPV_1	1	8,05867	,560903	15
	2	8,04800	,568961	15
MPV_2	1	6,41600	1,866344	15
	2	6,57333	1,614482	15
MPV_3	1	7,36333	1,268236	15
	2	7,24667	,688712	15

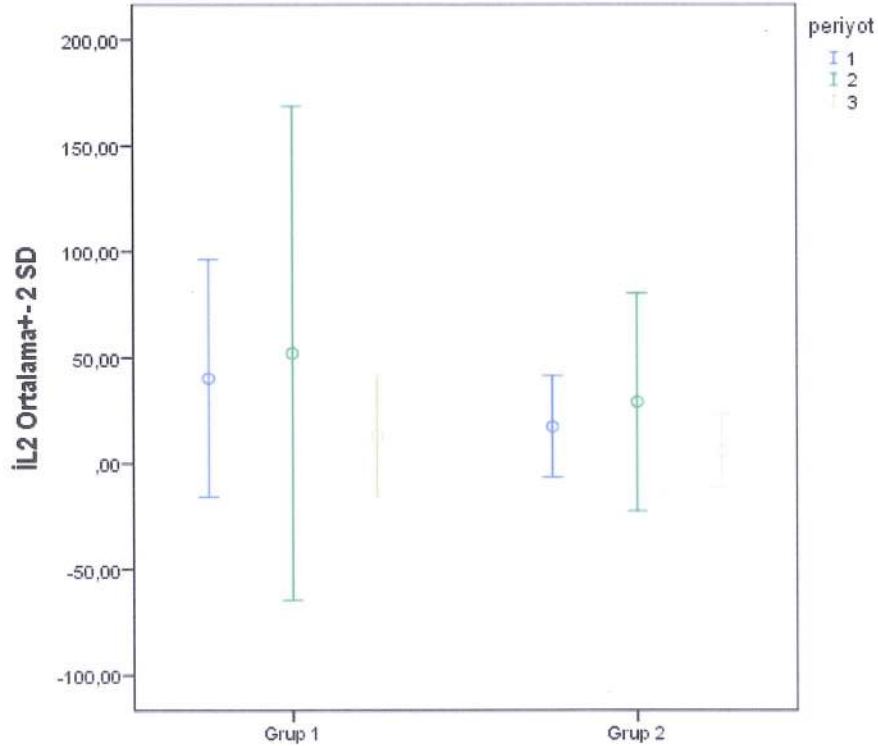
IL-2 bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.468$).

Ancak IL-2 ortalama değerinin periyotlar arasında (özellikle (1-3); (2-3)) anlamlı düzeyde farklılıklar gösterdiği ($p<0.001$) ve bu farklılıkların her iki grupta da aynı olduğu söylenebilir. Buna ilaveten her 3 periyotta da 2. grubun IL-2 ortalaması anlamlı düzeyde düşük çıkmıştır ($p=0.013$).

Tablo 14: IL-2 ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

Periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
IL-2_1	1	40,28533	28,040352	15
	2	17,47133	11,967749	15
IL-2_2	1	52,07667	58,323035	15
	2	29,06467	25,667899	15
IL-2_3	1	13,04400	14,478957	15
	2	5,98267	8,567333	15

Grafik 2: IL-2 değerlerinin farklı periyotlarda gruplara göre dağılımı



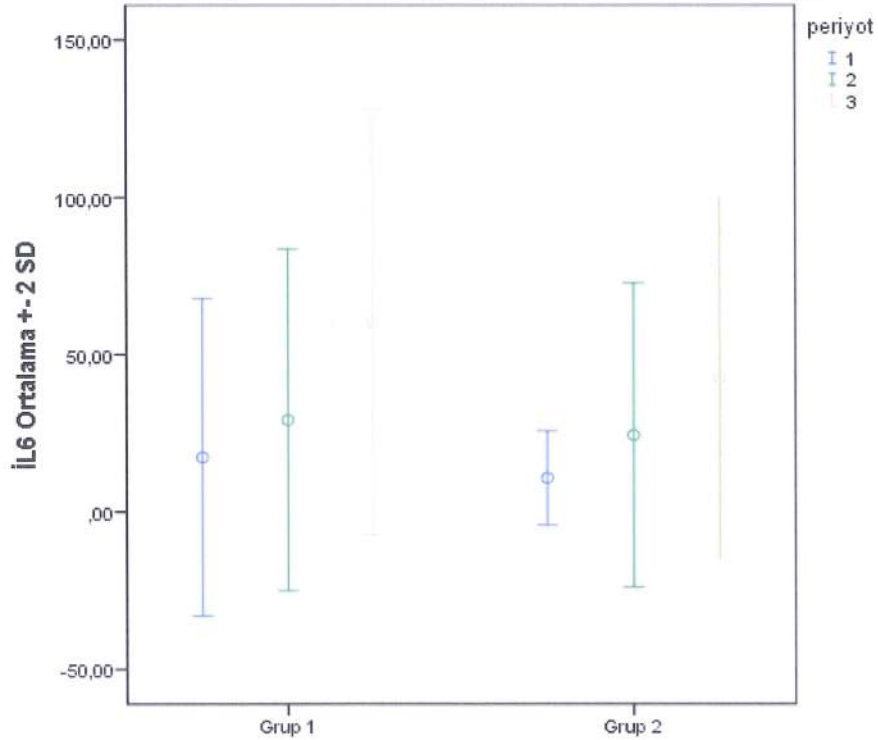
IL-6 bakımından incelendiğinde grup ve periyot etkileşiminin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p=0.420$).

Ancak IL-6 ortalama değerinin periyotlar arasında (özellikle (1-3)) anlamlı düzeyde farklılıklar gösterdiği ($p<0.001$) ve bu farklılıkların her iki grupta da aynı olduğu söylenebilir. Her 2 grupta da periyotlar arası anlamlı fark olmasına karşın, gruplar arasında anlamlı farka rastlanmamıştır.

Tablo 15: IL-6 ölçümlerinin her bir periyotta her bir gruptaki tanımlayıcı değerleri (ortalama $\pm$ SD).

Periyot	grup	Mean	Std. Deviation	N
IL-6_1	1	17,44213	25,238789	15
	2	10,89400	7,481997	15
IL-6_2	1	29,33267	27,157187	15
	2	24,50867	24,119574	15
IL-6_3	1	60,46000	33,715020	15
	2	42,54667	28,735366	15

Grafik 3: IL-6 değerlerinin farklı periyotlarda gruplara göre dağılımı



5. TARTIŞMA

Enteral beslenme (EB) gastrointestinal sistemi fonksiyonel olan hastalar için tercih edilecek beslenme şeklidir çünkü daha güvenli ve daha iyi prognozla birlikte. EB'nin intestinal fizyolojinin devamlılığını sağladığı, barsak villus atrofisini engellediği, intestinal perfüzyonu uyarak iskemi- reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu, lokal ve sistemik immün cevabı düzelttiği ve epitelyal proliferasyonu arttırdığı bildirilmiştir (24). İmmunonutrisyon ürünleri standart EB solüsyonlarından farklı olarak glutamin, arjinin, omega-3 yağ asitleri, nükleotidler ve antioksidanlar içerir (9). Glutamin sağlıklı bireyde nonesansiyel kabul edilir. Ancak kritik hastalarda sıklıkla esansiyel hale gelir. Hücreleri oksidatif hasara karşı korur, enterositler için enerji kaynağıdır, hücre apoptozisini ve sitokin salınımını azaltır, lenfosit ve makrofajlar için bir subtrat ve enerji kaynağıdır. İn vitro lenfosit farklılaşması için de glutamin gerekliliği gösterilmiştir (25). Arjinin de glutamin gibi nonesansiyel bir amino asittir. Ancak hastalık sırasında esansiyel hale gelir. Arjinin hücre büyümesi ve proliferasyonunda, yara iyileşmesinde, kollajen sentezinde ve nitrik oksit sentezinde prekürsör rol oynar. Omega-3 yağ asitleri araşidonik asitle yarışarak antiinflamatuvar etki gösterir. Nükleotidler kritik hastada hızlanmış DNA ve RNA sentezinde prekürsör olarak kullanılır. Cerrahi tedavi uygulanan hastalarda immunonutrisyon desteği, hastanede yatış süresini ve enfeksiyöz komplikasyonların sıklığını azalttığı bildirilmiştir (26). Ancak cerrahi tedavi uygulanmayan ve uzun süre enteral beslenme desteği gereken hastaları kapsayan başka bir çalışmada bu solüsyonların standart EB solüsyonlarından bir üstünlüğünün olmadığı bildirilmiştir (27).

Günümüzde immunonutrisyon endikasyonları ve kontrendikasyonları beslenme rehberlerinde ve yayınlarda ele alınmıştır (9,10,28). Cerrahi stres altındaki veya senilite , kaşeksi gibi nedenlerle genel durumu düşkün hastalara immunonutrisyon desteği verildiğinde immün sistem hücrelerinin sayı ve fonksiyonunda iyileşme olmaktadır (29-31,32,33). Kemoterapi alan hastalarda ise rutin immunonutrisyon desteği öneriler arasında değildir.

Kemoterapi alan hastalarda görülen stomatitin şiddetinde ve süresinde glutamin desteği sonucu azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (34). T. Coşkun (28) un derlemesinde; deney hayvanlarıyla yapılan bir çalışmada, travma sonrası arjinin

desteği verildiğinde T hücre fonksiyonlarının düzeldiği ve immünitenin güçlendiğine dikkat çekilmiştir. Arjinin T hücrelerindeki IL-2 reseptörlerini ve IL-2 sentezini arttırır. Nükleotidler; IL-1,2,6 ve TNF alfa salınımını arttırır ve immün sistemi güçlendirir.

Selenyum immunonutrisyon ürünlerinde bulunan bileşenlerden biridir. Selenyumun immün sistem üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalarda; fagositlerin ve natural killer hücrelerin aktivitesini, immünglobülin sentezini arttırdığı ve CD4+ T hücrelerinde T hücre reseptör sinyal gücünü arttırarak T hücrelerin proliferasyon ve diferansiasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (35-37). Çinko T hücre matürasyonu için gereklidir, çünkü bir timus hormonu olan timulinin kofaktörüdür. Çinko eksikliğinde T hücre proliferasyonunda azalma olur (38).

Arjininin etkinliği yönünde farklı sonuçlar veren çalışmaların bulunması (39-41); balık yağı, vitamin E birlikteliğinin tam olarak bilinmeyen bir mekanizmayla vitamin E etkinliğini azalttığına dair sonuçların varlığına (32) rağmen glutamin, selenyum, omega-3 yağ asitlerinin etki mekanizmalarıyla birlikte immün sistemi destekleyici özelliklerinin ispatlanmış olması (25,26,29-31,35-38,42); immunonutrisyonun önemini canlı tutmakta ve klinik uygulama alanlarının genişlemesine olanak sağlamaktadır.

 zkan ve ark. (29) major abdominal cerrahi geçiren hastalarda arjinin, RNA nükleotidleri ve omega-3 yağ asitleri ile zenginle tirilmi  immunonutrisyon ile standart EB solüsyonlarını kar ıla tırdıkları çalışmalarında IL-2 düzeylerinin immunonutrisyon alan grupta preoperatif 5. güne kıyasla postoperatif 1. günde artış gösterdiğini izlemişlerdir ve bu sonucu; arginin içeren immunonutrisyon ürünlerinin hücresel immünite üzerine olumlu etkisine bağlamışlardır. Gencer ve ark. (12) da major abdominal kanser cerrahisi geçiren hastalarda total parenteral nutrisyon ile immunonutrisyonu kar ılatırmı  ve benzer sonuca varmışlardır. Bu iki çalışmada da IL-2 seviyeleri;  enkal ve ark. (30) tarafından yapılan ve sadece postoperatif erken dönemde standart nütrisyon ile immunonutrisyon ürünlerinin etkilerini kar ıla tıran çalışmaya göre daha belirgin yükselmiştir. Braga ve ark. (31) da gastrik kanser cerrahisi geçiren hastaları arjinin, omega-3 yağ asitleri ve RNA desteğine ba lama zamanına göre preoperatif 7 gün önce ve postoperatif dönemde olmak üzere iki gruba ayırmı lar ve immunonutrisyona preoperatif dönemde ba lamanın hücresel

immun sistemdeki baskılanmayı önlediğini, protein sentezinin yönünü akut faz proteinlerinden yapısal proteinlere kaydırıldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmaların ortak sonucu olarak; immunonutrisyon içeriğinde bulunan arjinin başta olmak üzere tüm bileşenlerin terapötik seviyelere ulaşması için preoperatif dönemden itibaren uygulanması gerekliliğini göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda benzer şekilde kemoterapi uygulamasından üç gün önce immunonutrisyon desteğine başladık.

Genel olarak çalışmaların çoğu immunonutrisyon uygulamasının akut inflamatuvar reaksiyon şiddetini azalttığı, bunun sonucu olarak da akut faz proteinlerinin en erken yükseleni olan IL-6 seviyesini düşürdüğünü göstermiştir (29-31,39,42). Ancak Hamani ve ark (40) omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri ve arjininin ciddi inflamasyon durumunda immun sisteme etkilerini karşılaştırdıkları bir çalışmalarında; immunonutrisyonla beslenen ratların makrofajlarından izole edilen IL-6 mRNA düzeylerinde anlamlı düşme olduğunu tespit etmişlerdir. Makrofaj fonksiyonlarını kuvvetlendirdiği bilinen arjininin bu etkisi araştırmacılar için şaşırtıcı olmuştur. Aynı çalışmada omega-3 yağ asitlerinin IL-6 mRNA sentezinde azalmaya yol açtığı ancak IL-6 seviyesine etkisi olmadığı görülmüş ve ciddi inflamasyonu olan ratlara verilen immunonutrisyon desteğinin IL-6 seviyesini arttırıcı yönde etkisi olduğu ifade edilmiştir. Çalışmamızda da MTX uygulanması sonucu immun supresyon gelişen ratlarda immunonutrisyon veya standart rat yemi ile beslenmenin IL-6 seviyelerinde artışla sonuçlandığı ve 2 grup arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür. IL-6 düzeyinde yükselme, Hamani ve ark'nın (40) ileri sürdüğü gibi arjinin etkisi sonucu gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca bu konudaki çalışmalar genellikle cerrahi strese bağlı akut inflamatuvar yanıtı değerlendirdiğinden; çalışmamızda MTX'ın etki mekanizması da göz önüne alınarak IL-6'daki yükselme açıklanabilir (23). Çünkü MTX kemik iliğindeki B hücre diferansiasyonunda inhibisyona yol açmakla beraber olgun B hücre popülasyonuna direk etkili değildir. Bu nedenle MTX uygulamasından 4 gün sonra ölçülen IL-6'nın kaynağı olgun B lenfositlerden sentezlenen IL-6 olması nedeniyle immunonutrisyon verilen grupta; immunonutrisyonun iyi bilinen immun modüle edici etkisine rağmen IL-6 seviyeleri yüksek ölçülmüştür. IL-6 sentezinin sadece lenfositlerde değil aynı zamanda fibroblastlar ve vasküler endotel hücrelerinde de olması IL-6'nın bu çalışmada

değerlendirilmeyen farklı kaynaklardan da üretilmiş olabileceğini bize düşündürmektedir.

Wu ve ark. (32) 65 yaş ve üstü deneklere Vitamin E desteği verdiklerinde; lenfosit proliferasyonunda ve IL-2 üretiminde artış saptamışlardır. Vitamin E'ye balık yağı eklediklerinde ise Vitamin E'nin plazma konsantrasyonunda düşme ve bunun sonucu olarak T hücreler üzerindeki etkisinde azalma gözlemlemişlerdir. Vitamin E ile balık yağı arasındaki bu ilişkiyi açıklayamamışlardır. Çalışmamızda immunonutrisyon ürünü olarak glutamin, L-Arjinin, RNA, doymuş yağ asidi, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri, omega-3 yağ asidi, mono- ve disakkaritler, laktoz, lif, su, vitamin A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C; çinko, selenyum, biyotin, folik asit, niasin, pantotenik asit, kolin, sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, klor, demir, bakır, mangan, flor, iyot, molibden, krom içeren hazır preparat kullandığımızdan içeriğinde farklılık yapmamız söz konusu olmamıştır ve bu ürün her iki bileşeni de içermektedir. Ancak bunlar arasındaki ilişki, etkin doz oranlarının tespiti farklı çalışmaların konusudur.

Yanık travması geçiren ratlara glutamin, arjinin, balık yağı ve nükleotidden zengin diyet verildiğinde; yanığa bağlı olarak gelişmesi beklenen mezenterik lenf nodu T hücre proliferasyonunda ve IL-2 üretimindeki baskılanma önlenmiştir (43). Çalışmamızda kullanılan immunonutrisyon ürününün aynısıyla yapılan bu çalışmada T hücre aktivasyon sinyal mekanizmasının Prostaglandin E₂ tarafından regüle edildiği ve ürünün Prostaglandin E₂'yi ve IL-2 sentezini arttırarak T hücre proliferasyonunu ve makrofaj üretimini arttırdığı sonucuna varmışlardır. İmmunonutrisyon preparatının bu etkilerinde glutamin ve arjininin etkileirinin ön planda olduğunu vurgulamışlardır. Kolorektal rezeksiyon uygulanan cerrahi hastalarında yapılan bir klinik çalışmada ise total parenteral nutrisyon (TPN) şeklinde glutamin desteği verildiğinde; glutaminin T lenfosit yanıtını güçlendirdiği fakat IL-2, IL-6 ve TNF üretimine etkisi olmadığı gözlenmiştir (44).

Glutamininin immun sistem üzerindeki olumlu etkisi sadece cerrahi hastalarında değil aynı zamanda kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda glutamin destekli TPN verildiğinde klinik enfeksiyon insidansında azalma oluşuyla (33) ve kemoterapi uygulanan ratlarda popliteal lenfoproliferasyonu indüklemesiyle

(45) de desteklenmiştir. Yine de kemoterapi alan ratlarda gecikmiş tip hipersensitivite yanıtının güçlenmesi popliteal lenfoproliferatif yanıtı göre çok daha sonra (deneyin 44. günü) gelişmiş ve daha zayıf kalmıştır.

Glutaminin aksine arjininin IL-2 üzerine etkisi net değildir. Arjininin IL-2 düzeyini arttırdığını söyleyen yayınlar olduğu gibi lenfosit proliferasyonunu ve IL-2 üretimini arttırmadığını gösteren yayınlar da mevcuttur (39,41,42).

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda genel olarak; immunonutrisyon kullanımının T hücre proliferasyonunu, diferansiasyonunu ve IL-2 sentezini arttırdığı söylenmiştir (25,26,29-31,35-38). Ancak böyle bir etkinin görülmediği çalışmalar da mevcuttur (39-41,43,44). Çalışmamızda tek doz intraperitoneal yolla MTX verilerek kemoterapi uygulanan ratlarda immunonutrisyonla besleme ile standart rat yemi ile besleme arasında lökosit, lenfosit, monosit, basofil değerlerinde ve IL-2 ölçümlerinde düşme görülmüş ve bu düşüşte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Nötrofil sayımlarında da nihai durum farklı değildir. Ancak immunonutrisyon desteğinin üçüncü gününde, henüz MTX uygulanmadan alınan örneklerde immunonutrisyon alan grupta nötrofil düzeylerindeki yüksekliğin istatistiksel olarak anlamlı bulunması immunonutrisyonun immun sistemi destekleyici etkisini göstermektedir ve belki de doz veya uygulama süresi modifiye edilerek kemoterapiye bağlı nötropenin önlenmesinde etkin olabileceğine dair umut ışığı doğurmaktadır.

Lin ve ark.'nın (45) da değindiği gibi glutaminin immun sistemi güçlendirici etkisi uzun süreli kullanımda belirginleşir. Çalışmamız; önceki çalışmaların (9) önerilerini de göz önüne alarak toplam yedi gün gibi kısa bir zaman dilimini, dolayısıyla kısa bir tedavi süresini değerlendirmektedir. Immunonutrisyondan beklenen etkilerin tam olarak ortaya çıkamamış olması bu zaman faktörüne bağlanabilir.

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak kemoterapi uygulanan ratlara; immunonutrisyon desteği verilmesi ile sadece standart unlu kepekli rat yemi ile besleme arasında beklediğimiz aksine lökosit, lenfosit, nötrofil, monosit, basofil değerlerinde ve IL-2 ölçümlerinde düşme; IL-6'da ise yükselme görülmüş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Yine de çalışmanın üçüncü günü MTX uygulamasından önce alınan kan örneklerinde, immunonutrisyon grubunda, nötrofil değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselme olması, immunonutrisyonun kemoterapi alan hastalarda etkinliğini destekleyen bir bulgu olarak göze çarpar.

Çalışmamızda da MTX kemik iliği supresyonu yaptığından; tek başına immunonutrisyon desteği, kemoterapiye bağlı nötropeniye önlemekte yeterli olamamıştır. Ancak kemoterapinin indüklediği immun supresyonun profilaksisi için her hastada etkinliği kanıtlanmış, güvenle kullanılabilen bir preparat da mevcut değildir. Bu nedenle immunonutrisyon desteğinin, kemoterapiyle ilişkili immun supresyon profilaksisinde ve/veya tedavisinde tek başına olmasa da güncel tedavilere adjuvan olarak kullanılabilecek potansiyele sahip olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Zimecki M, Artym J, Chodaczek G, Kocieba M, Kuryszko J, Houszka M, Kruzel M. Immunoregulatory function of lactoferrin in immunosuppressed and autoimmune animals. *Postepy Hig Med Dosw.* (online), 2007;61:283-287.
2. Zhang Z, Zhao P, Li A, Lv X, Gao Y, Sun H, Ding Y, Liu J. Effects of Methotrexate on Plasma Cytokines and Cardiac Remodeling and Function in Postmyocarditis rats. *Mediators of Inflammation* 2009;389720:9 pages.
3. Madhyastha S, Prabhu LV, Saralaya V, Rai R. A comparison of vitamin A and leucovorin for the prevention of methotrexate-induced micronuclei production in rat bone marrow. *CLINICS* 2008;63(6):821-6.
4. Quirino IEP, Correia MITD, Cardoso VN. The impact of arginine on bacterial translocation in an intestinal obstruction model in rats. *Clinical Nutrition* 2007;26:335-340.
5. Yüncü M, Eralp A, Celik A. Effect of Aged Garlic Extract Against Methotrexate-induced Damage to the Small Intestine in Rats. *Phytotherapy Research* 2006;20: 504-510.
6. Ommaty R. *Vademecum, Modern İlaç Rehberi ve ATC Index*; Sayfa:953-954. Pelikan Tıp Kitabevi 2011.
7. Heyland DK, Novak F, Drover JW. Should immunonutrition become routine in critically ill patients? A Systematic review of the evidence. *JAMA* 2001;286:944-953.
8. Waitzberg DL. Postsurgical Infections are Reduced with Specialized Nutrition Support. *World J Surg.* 2006; 30: 1592–1604.
9. Valentini L, Schütz T, Allison S, Howard P, Pichard C, Lochs H. (Çeviri: Korfalı G, Bahar M.) *ESPEN Enteral Nutrisyon Rehberi* 2010;Sf:4,31,37.
10. Kudsk KA. Immunonutrition in surgery and critical care. *Annu. Rev. Nutr.* 2006;26:463-479.
11. Özkan S, Gökben M, Özsoy M, Acar V, Öncül O, Poçan S. Majör abdominal cerrahide standart ve immünonütrisyonun, nütrisyon ve immünoloji parametrelerine etkilerinin karşılaştırılması. *Türk Anest Rean Mecmuası* 2002;30:473-479.

12. Gencer A, Özdemir Y, Sücüllü Aİ, Yücel E, Akın E, Yıldız M. Majör abdominal kanser cerrahisi uygulanan hastalarda total parenteral nutrisyon ve enteral immunonutrisyon karşılaştırılması. *Balkan Medical Journal* 2010; 27 (4): 404-410.
13. Rubio IT, Cao Y, Hutchins LF, Westbrook KC, Klimberg VS. Effect of glutamine on methotrexate efficacy and toxicity. *Annals of Surgery* 1998;227(5):772-780.
14. Özen H. İmmün beslenme. *Türkiye Klinikleri J. Pediatr. Sci.* 2007;3(6):99-104.
15. Gökpınar İ, Gürleyik E, Pehlivan M, Özcan Ö, Özaydın İ, Aslaner A, Demiraran Y, Gültepe M. Erken enteral ve glutaminli enteral beslenmenin kolon anastomoz iyileşmesine etkisi. *Ulus Travma Derg* 2006;12(1):17-21.
16. Tuğrul S, Özcan PE, Akıncı İÖ, İsmailov M, Çağatay A, Çakar N, Esen F. Yoğun bakım hastalarında uygulanan immunonutrisyonun nozokomiyal enfeksiyon gelişimine ve klinik sonuca etkisi. *Ulus Travma Derg* 2004;10 (2): 89-96.
17. Zhou X, XinLi Y, Li N, Shou Li J. Effect of structural adaptation of remnant small intestine: Animal experiment. *World Journal of Gastroenerology* 2001;7(1):66-73.
18. Osowska S, Neveux N, Nakib S, Lasserre V, Cynober L, Moinard C. Impairment of arginine metabolism in rats after massive intestinal resection: effect of parenteral nutrition supplemented with citrulline compared with arginine. *Clinical Science* 2008; 115: 159-166.
19. Savarese DMF, Savy G, Vahdat L, Wischmeyer PE, Corey D. Prevention of chemotherapy and radiation toxicity with glutamine. *Cancer Treatment Reviews* 2003;29:501-513.
20. Gündoğdu H. Yoğun bakım ünitesinde yeni beslenme ürünleri. *Yoğun Bakım Dergisi* 2003;3: 215-224.
21. Guyton CA, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*; 6. Ünite; Bölüm 34: Sayfa:445-457. Nobel Tıp Kitabevleri 1996.
22. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Temel Patoloji*; Bölüm 1; Kısım 5: Sayfa:103-165. Nobel Tıp Kitabevleri 2003.

23. Zandvoort A, Lodewijk ME, Klok PA, Dammers M, Kroese FGM, Timens W. Slow recovery of follicular B cells and marginal zone B cells after chemotherapy:
implications for humoral immunity. *Clinical and Experimental Immunology*, 2001; 124: 172-179.
24. Zaloga GP. Parenteral nutrition in adult inpatients with functioning gastrointestinal tracts: assessment of outcomes. *Lancet* 2006; 367: 1101-11.
25. O'Leary MJ, Coakley JH. Nutrition and immunonutrition. *Br. J. Anaesth.* 1996; 77: 118-127.
26. Kondrup J, Allison SP, Elia M. Educational and Clinical Practice Committee, European Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ESPEN). ESPEN guidelines for nutrition screening 2002. *Clin Nutr* 2003; 22: 415-21.
27. Sakurai Y, Oh-Oka Y, Kato S. Effects of long-term continuous use of immune-enhancing enteral formula on nutritional and immunologic status in non-surgical patients. *Nutrition* 2006; 22: 713-21.
28. Coşkun T. İmmünonutrisyon. *Clinic Pediatri*. 2008; 3(4): 1-19.
29. Özkan S, Gökben M, Özsoy M, Acar V, Öncül O, Poçan S. Majör Abdominal Cerrahide Standart ve İmmünonütrisyondun, Nütrisyond ve İmmünoloji Parametrelerine Etkilerinin Karşılaştırılması. *Türk Anest Rean Cem Mecmuası* 2002; 30: 473-479.
30. Senkal M, Zumbobel V, Bauer KH, Marpe B, Wolfram G, Frei A et al. Outcome and cost-effectiveness of perioperative enteral immunonutrition in patients undergoing elective upper gastrointestinal tract surgery: a prospective randomized study. *Arch. Surg.* 1999; 134: 1309-16.
31. Braga M, Gianotti L, Viagnali A, Di Carlo V. Immunonutrition in Gastric Cancer Surgical Patients. *Nutrition* 1998; 14: 831-835.
32. Wu D., Han SN, Meydani M, Meydani SN. Effect of Concomitant Consumption of Fish Oil and Vitamin E on T Cell Mediated Function in the Elderly: A Randomized Double-Blind Trial. *Journal of the American College of Nutrition* 2006; 25 (4): 300-306.

33. Ziegler TR, Young LS, Benfell K, Scheltinga M, Hortos K, Bye R, Morrow FD, Jacobs DO, Smith RJ, Antin JH, Wilmore DW. Clinical and Metabolic Efficacy of Glutamine-supplemented Parenteral Nutrition after Bone Marrow Transplantation: A Randomized, Double-Blind, Controlled Study *Annals of Internal Medicine Journal* 1992;116(10):821-828.
34. Heys SD, Wahle KWJ: Targeted nutrition in critically ill: a therapeutic modality for the new millennium? *Nutrition* 2001;17:57-58.
35. Angstwurm MWA, Schottdorf J, Schopohl J, Gaertner R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Critical Care Medicine* 1999; 27:1807-1813.
36. Forceville X, Vitoux D, Gauzit R, Combes A, Lahilaire P, Chappuis P. Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis and outcome in critically ill patients. *Critical Care Medicine* 1998; 26: 1536-3544.
37. Hoffmann FW, Hashimoto AC, Shafer LA, Dow S, Berry MJ, Hoffmann PR. Dietary Selenium Modulates Activation and Differentiation of CD4+ T Cells in Mice through a Mechanism Involving Cellular Free Thiols 1-3 *The Journal of Nutrition* 2010;140: 1155-1161.
38. Wellinhausen N, Kirchner H, Rink L. The immunobiology of zinc. *Immunology Today* 1997; 18:519-521.
39. Braga M, Viagnali A, Gianotti L, et al. Immune and nutritional effect of early enteral nutrition after major abdominal operations. *European Journal of Surgery* 1996; 162:105-12.
40. Hamani D, Kuhn M, Charrueau C, Waligora-Dupriet AJ, Neveux N, Butel MJ, Cynober L, Moinard C. Interactions between ω 3 polyunsaturated fatty acids and arginine on nutritional and immunological aspects in severe inflammation. *Clinical Nutrition* 2010; 29:654-662.
41. Langkamp-Henken B., Herrlinger-Garcia KA, Stechmiller JK, Nickerson-Troy JA, Lewis B, Moffatt L. Arginine supplementation is well tolerated but does not enhance mitogen-induced lymphocyte proliferation in elderly nursing home residents with pressure ulcers. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2000; 24(5): 280-7.

42. Gianotti L, Braga M, Fortis C. et al. A prospective randomized clinical trial on preoperative feeding with arginine omega-3 fatty acid and enriched enteral diet: effect on host response and nutritional status. JPEN 1999; 23:314-20.
43. Choudhry MA, Haque F, Khan M, Fazal N, Al-Ghoul W, Ravindranath T, Gamelli RL, Sayeed MM. Enteral nutritional supplementation prevents mesenteric lymph node T-cell suppression in burn injury. Critical Care Medicine 2003; 31(6): 1764-1770.
44. O'Riordain MG, Fearon KCH, Ross JA, Rogers P, Falconer JS, Bartolo DCC, Garden J, Carter DC. Glutamine-Supplemented Total Parenteral Nutrition Enhances T-Lymphocyte Response in Surgical Patients Undergoing Colorectal Resection. Annals of Surgery 1994;220 (2): 212-221.
45. Lin CM, Abcouwer SF, Souba WW. Effect of dietary glutamate on chemotherapy-induced immunosuppression. Nutrition 1999;15(9):687-96.