

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN KOLOSTRUM SÜTÜNDE
NEOPTERİN VE KİNÜRENİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ecz. Sinem DELİVELİ

Farmasötik Toksikoloji Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2021

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN KOLOSTRUM SÜTÜNDE
NEOPTERİN VE KİNÜRENİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Sinem DELİVELİ

Farmasötik Toksikoloji Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Terken BAYDAR

ANKARA

2021

**İNSAN KOLOSTRUM SÜTÜNDE NEOPTERİN VE KİNÜRENİN DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Öğrenci: Ecz. Sinem DELİVELİ

Danışman: Prof. Dr. Terken BAYDAR

Bu tez çalışması 27/12/2021 tarihinde jürimiz tarafından “Farmasötik Toksikoloji Yüksek Lisans Programı” nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: **Prof. Dr. Gönül ŞAHİN**
Doğu Akdeniz Üniversitesi

Tez Danışmanı: **Prof. Dr. Terken BAYDAR**
Hacettepe Üniversitesi

Üye: **Prof. Dr. Pınar ERKEKOĞLU**
Hacettepe Üniversitesi

Üye: **Prof. Dr. Hande SİPAHİ**
Yeditepe Üniversitesi

Üye: **Doç. Dr. Gözde GİRGİN ATEŞ**
Hacettepe Üniversitesi

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

31 Aralık 2021

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

27/12/2021

Ecz. Sinem DELİVELİ

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Terken BAYDAR danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Ecz. Sinem DELİVELİ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez aşamasındaki yardımları, desteği ve paylaştığı değerli bilgiler için saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Terken BAYDAR'a,

Laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımları, bilgi ve deneyimlerini her zaman paylaşan Sayın Doç Dr. Gözde GİRGİN ATEŞ hocama,

Numunelerin toplanması konusunda desteklerini esirgemeyen başta Selin KARACA ve Meral CEVAHİR olmak üzere Tekirdağ Özel Star Medica Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisi'ndeki tüm hemşirelere,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, aldığım kararları her zaman destekleyen annem Canan MERİÇ, ablam Gizem SALDIRANER'e ve eşim Hanifi DELİVELİ'ye

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Deliveli, S., İnsan Kolostrum Sütünde Neopterin ve Kinürenin Düzeylerinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2021. Kolostrum insanlar, inekler ve diğer memelilerde meme sütü salınmadan önce üretilen meme sıvısıdır. Çok besleyicidir; bakteri ve enfeksiyonlara karşı antikorları yüksek miktarda içerir. Kolostrum yenidoğan ve bebeklerde büyümeyi uyarır, immüniteyi destekler ve sağlıklı bağırsak gelişimi sağlar. Neopterin, hücrel immün yanıtı gösteren konjuge olmayan bir pteridindir ve interferon gama (IFN- γ) uyarılması ile insan monosit/makrofajlarından salınır. Biyolojik örneklerde neopterin düzeylerinin belirlenmesinin hücrel immünitinin durumu hakkında bilgi sağladığı bilinmektedir. Hücrel immüniteyi yansıtan diğer bir gösterge, bulunduğu dokuda triptofanı tüketerek kinürenin oluşmasında rol oynayan indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimidir. Çeşitli biyolojik örneklerde neopterin ve kanda kinürenin (Kin) düzeylerini değerlendiren çok sayıda çalışma olmasına rağmen insan sütünde neredeyse belirlenmemişlerdir. Bu tez çalışmasının esas amacı, insan kolostrum örneklerinde neopterin, triptofan (Trp) ve kinürenin konsantrasyonlarını değerlendirmektir. Örneklerdeki neopterin konsantrasyonu enzim immüno analiz kiti ile belirlenmiştir. Triptofan ve kinürenin düzeylerinin ölçülmesi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Kolostrum örnekleri doğum ünitesinde yeni doğum yapan 17 anneden alınarak analize kadar -20 °C'de saklanmıştır. Kolostrum örneklerindeki belirlenen neopterin ve Kin/Trp oranı, çocukluk çağındakilere kıyasla sırasıyla yaklaşık 5 kat daha fazla olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Neopterin, kinürenin, triptofan, biyogösterge, kolostrum, insan sütü

ABSTRACT

Deliveli, S., Examining the amounts of neopterin and kynurenine in human colostrum milk, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Pharmaceutical Toxicology Program, Master Thesis, Ankara, 2021. Colostrum is a breast fluid produced by humans, cows, and other mammals before breast milk is released. It's very nutritious and contains high levels of antibodies, which are proteins that fight infections and bacteria. Colostrum promotes growth and immunity improves gut health in infants and newborn animals. Neopterin, a non-conjugated pteridine derivative, is a sensitive biomarker of cellular immune response, and it is released from human monocyte/macrophages by the stimulation of interferon gamma (IFN-g). It is known that detection of neopterin levels in biological samples provides information about the cellular immune condition. Another biomarker which reflects cellular immunity is the enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase, which plays a role in the formation of kynurenine (Kyn) by consuming tryptophan (Trp) in the tissues. Although there are a number of studies examining the neopterin, tryptophan and kynurenine levels in various biological samples, they are hardly ever detected in human milk. The main aim of the thesis study was to detect neopterin concentrations and the ratio of kynurenine to tryptophan in human colostrum milk samples. Neopterin levels of the milk samples were determined by an enzyme immunoassay while kynurenine and tryptophan levels were analyzed by high performance liquid chromatography method. Milk samples were collected in the first breastfeeding time as colostrum samples (n=17) and stored at -20°C until analysis. It has been detected that the mean neopterin concentrations and Kyn/Trp ratios in colostrum samples were 4-5 times higher than the childhood serum levels, respectively.

Keywords: neopterin, kynurenine, tryptophan, biomarker, colostrum, human milk

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Pteridinler	2
2.2. Neopterin	4
2.2.1. Neopterinin Özellikleri	4
2.2.2. Neopterinin Biyosentezi ve Fizyolojik Fonksiyonları	5
2.2.3. Sağlıklı Bireylerde Neopterin Konsantrasyonları	9
2.2.4. Vücut Sıvılarında Neopterin Ölçüm Yöntemleri	10
2.2.5. Çeşitli Hastalıklarda Neopterin Konsantrasyonları	12
2.3. Anne Sütü	15
2.3.1. Kolostrum	16
2.3.2. Anne Sütünde Bulunan Çeşitli Bileşenler	19
2.4. Triptofan	23
2.4.1. Triptofanın Özellikleri	23
2.4.2. Triptofanın Biyosentezi ve Fizyolojik Fonksiyonları	23
2.4.3. Kinürenin Yolağı	26
2.4.5. Kinürenin Yolağı ile İlişkili Hastalıklar	30

3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Gereçler	33
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
3.1.2. Kullanılan Araç ve Cihazlar	33
3.1.3. Neopterin Analizinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı	34
3.1.4. Triptofan ve Kinürenin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler	36
3.2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması	37
3.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	38
3.4. Yöntemler	38
3.4.1. Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi	38
3.4.2. Örneklerinde Neopterin Konsantrasyonlarının Hesaplanması	38
3.4.3. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesi	39
3.4.4. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması	39
3.4.5. Kullanılan Yöntemlerin Geçerliliğinin Değerlendirilmesi	40
3.4.6. İstatistiksel Değerlendirme	40
4. BULGULAR	41
4.1. Neopterin Düzeyleri	41
4.2. Triptofan ve Kinürenin Düzeyleri	41
4.3. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğru Örnekleri	43
4.4. Triptofan ve Kinürenin için Uygulanan Yöntemin Validasyon Çalışmaları	44
4.4.1. Geri Kazanım Oranının İncelenmesi	44
4.4.2. Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin (Kesinliğinin) İncelenmesi	44
4.4.3. Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi	45
4. 5. Katılımcıların Neopterin, Kinürenin ve Triptofan Düzeyleri	46
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ	58
7. KAYNAKLAR	60
8. EKLER	

EK-1: Etik Kurul Onayı

EK-2: Orjinallik Raporu

9. ÖZGEÇMİŞ



SİMGELER VE KISALTMALAR

3-HAA	3-hidroksiantranilik asit
3-OHkyn	3-hidroksikinürenin
5-HT	5-Hidroksitriptamin
AAPH	2,2'-azobis(2-aminopropan) dihidroklorür
AFM	Arilformamidaz
AIDS	Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
BH₄	Tetrahidrobiopterin
BOS	Beyin- Omurilik Sıvısı
CMV	Sitomegalovirüs
CTLA	Sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
EGF	Epidermal büyüme faktörü
ELİSA	Enzim bağlı immünosorbent analizi
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GH	Büyüme hormonu
GTP	Guanozin trifosfat
GTP-CH	Guanozin trifosfat siklohidrolaz I
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IDO	İndolamine 2,3-dioksijenaz
IFN	İnterferon
IGF	İnsüline benzer Büyüme Faktörü
IL	İnterlökin
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
IRMA	İmmünoradyometrik test
KAT	Kinürenin aminotransferaz
Kin	Kinürenin
KMO	Kinürenin-3 monooksijenaz
KYNA	Kinürenik asit

LcPUFA	Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri
MFGM	Süt yağı globül membranı
MSS	Merkezi sinir sistemi
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid 2'-fosfat
NMDA	N-metil-D-aspartat
QA	Kinolinik asit
RIA	Radyoimmünoanaliz
ROS	Reaktif oksijen türleri
SLE	Sistemik lupus eritamatozus
TDO	Triptofan deoksijenaz
TNF	Tümör nekroze edici faktör
Trp	Triptofan
UV	Ultraviyole
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
XaA	Ksentürenik asit

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Pteridin ve pterinin kimyasal yapısı	2
2.2. Lökositlerde neopterin biyosentezi	7
2.3. Triptofan metabolizması ürünleri	25
2.4. Triptofan metabolizması	26
2.5. IDO'nun katalitik aktivitesi	27
4.1. Neopterin kalibrasyon eğri örneği	41
4.2. Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kromatogramlar	42
4.3. Kolostrumda triptofan ve kinürenin kromatogram örnekleri	42
4.4. Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kalibrasyon doğruları	43
4.5. Anne yaşları ile triptofan, kinürenin, Kyn/Trp oranları ve neopterin ilişkisi	48

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Pteridinlerin kimyasal olarak sınıflandırılması	3
2.2. Neopterinin önemli fizyolojik süreçlerdeki rolleri	6
2.3. Serum ve idrar neopterin için referans değerler	10
2.4. Neopterin konsantrasyonlarının yükseldiği hastalıklara örnekler	12
2.5. İnsan ve sığır kolostrumu besin içeriğinin karşılaştırılması	17
2.6. İnsan ve sığır kolostrumu immün faktörlerinin karşılaştırılması	17
2.7. İnsan ve sığır kolostrumu büyüme faktörlerinin karşılaştırılması	18
2.8. Bir aylık bebeğin anne sütünde bulunan makro bileşenlerden aldığı enerji miktarları	20
2.9. Çeşitli besinlerin protein ve triptofan miktarları	24
3.1. Neopterin standart çözeltiler ve konsantrasyonları	35
3.2. Katılımcı bilgileri ve demografik özellikleri	37
4.1. Triptofan için yöntemin geri kazanım oranı	44
4.2. Kinürenin için yöntemin geri kazanım oranı	44
4.3. Güniçi ölçümlere ait varyasyon katsayıları	45
4.4. Günler arası ölçümlere ait varyasyon katsayıları	45
4.5. Neopterin, kinürenin ve triptofan düzeyleri	47
4.6. Analiz edilen triptofan, kinürenin, Kyn/Trp oranları ve neopterin ilişkisi	48
4.7. Demografik özelliklere göre ölçülen parametrelerin alt gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmelere ilişkin <i>p</i> değerleri	49

1. GİRİŞ

Kolostrum insanlar, inekler ve diğer memelilerce meme sütü salınmadan önce üretilen memede üretilen biyolojik bir sıvıdır. Kolostrum çok besleyicidir; bakteri ve enfeksiyonlara karşı proteinik yapılar olan antikorları yüksek miktarlarda içerir (1, 2); yenidoğan ve bebeklerde büyüme ve gelişmeyi uyarır, immün sistemi sağlar ve destekler ve sağlıklı gastrointestinal sistem oluşumunu ve özellikle bağırsak gelişimini sağlar (3, 4).

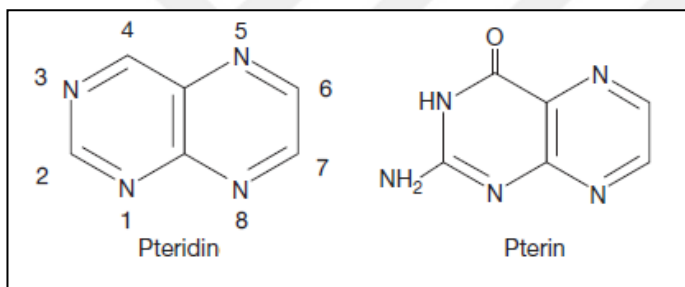
Neopterin, insanlarda hücreyel immün yanıtı gösteren konjuge olmayan bir pteridindir ve interferon-gama (IFN- γ) uyarılması ile monosit ve makrofajlardan salgınır. Çeşitli patolojiler, akut veya kronik hastalıklar ve fiziksel değişiklikler gibi stres uyarılarının değerlendirilmesinde biyogösterge olarak, kan veya idrar gibi biyolojik sıvılarda neopterin düzeylerinin belirlenmesi, T hücre aracılı immünitenin durumu hakkında bilgi sağlamaktadır (5, 6, 7). Hücreyel immüniteyi yansıtan diğer bir gösterge, bulunduğu dokuda triptofanı tüketerek kinürenin (Kin) oluşmasında rol oynayan indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimidaki olası değişimdir (8, 9). IDO farklılaşması, metabolit kinürenin konsantrasyonunun, triptofan (Trp) düzeyine oranlanması (Kin/Trp) ile ifade edilmektedir. Çeşitli biyolojik örneklerde neopterin ve kinürenin düzeylerini değerlendiren çok sayıda çalışma olmasına rağmen (10), insan sütünde neopterin ve IDO değerlendirmesini birlikte araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Sunulan bu yüksek lisans tez çalışmasında, insan ilk süt örneklerinde neopterin, triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarını belirlenmesi ve insan kolostrum süt örneklerindeki düzeyler ile serum konsantrasyonları kıyaslanmasının yapılması amaçlanmıştır. Süt örneklerindeki neopterin konsantrasyonu enzim bağlı immünosorbent analizi (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) ile belirlenmiştir. Triptofan ve kinürenin düzeylerinin ölçümü ise yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) yöntemi ile yapılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Pteridinler

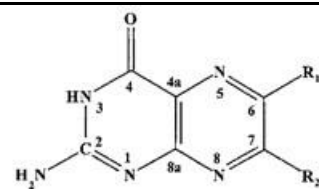
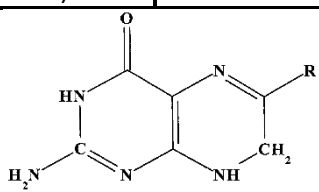
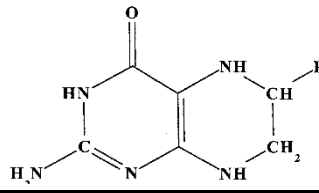
Pteridinler ilk olarak 1891’de Hopkins tarafından Lepidoptera kanatlarından sarı renkli pigment olarak izole edilmiştir. 1895’te Kdhling, pteridin türevlerini sentezlemiş, ancak sentezlenen bu maddeler ile Hopkins tarafından izole edilen kelebek pigmentleri arasındaki ilişki gösterilememiştir (11-17). İzole edilen bu pigmentlerin kimyasal yapıları, 1940 yılında Purrrman tarafından üç böcek pigmentinin (ksantopterin, izoksanthopterin ve lökoteperin) bisiklik azotlu halka sistemine sahip pirazino-(2,3-d) pirimidin içerdiğini göstermesiyle aydınlatılmıştır (12, 15). 1941 yılında Şekil 2.1’de gösterilen bu pteridin halka sistemine Wieland ve Schopf tarafından Yunanca kanat anlamına gelen pteron kökenli pteridin adı verilmiştir (11, 12).



Şekil 2.1. Pteridin ve pterinin kimyasal yapısı.

Pteridin adı, pirazin halkasına kaynaşmış pirimidin halkasından oluşan yapı üzerinde çeşitli süstitüentler içeren heterosiklik aromatik bileşiğe karşılık gelir. Pteridinler, ana bileşik 2-amino-4-oksodihidropteridin türevleri olduğunda pterinler; 2,4-dioksotetrahidropteridin türevleri olduğunda lumazinler olarak adlandırılır (12, 18). Pteridinler konjuge ve konjuge olmayan pteridinler olmak üzere iki gruba ayrılır; konjuge pteridinler, pterin halkasına bağlı 6. konumda p-aminobenzoilglutamik asit içeren folik asit türevleridir; diğerlerinin tümü konjuge olmayan pteridinlerdir (17, 19). Tablo 2.1’de pteridinler ve kimyasal yapıları gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Pteridinlerin kimyasal olarak sınıflandırılması.

Bileşik		
	R ₁	R ₂
Pterin	H	H
Neopterin	-CHOH-CHOH-CH ₃ OH (6-D-eritro)	H
7-neopterin	H	-CHOH-CHOH-CH ₂ OH (7-D-eritro)
Biopterin	CHOH-CHOH-CH ₃ (6-L-eritro)	H
7-biopterin	H	-CHOH-CHOH-CH ₃ (7-L-eritro)
6-metilpterin	-CH ₃	H
6-hidroksimetilpterin	-CH ₂ OH	H
6,7-dimetilpterin	-CH ₃	-CH ₃
Pterin-6-karboksilat	-COO ⁻	H
Pterin-7-karboksilat	H	-COO ⁻
6-formilpterin	-CH=O	H
Monapterin	-CHOH-CHOH-CH ₂ OH (6-L-treo)	H
Bileşik		
	R	
7,8-dihidrobiopterin	-CHOH-CHOH-CH ₃ (6-L-eritro)	
7,8-dihidroneopterin	-CHOH-CHOH-CH ₂ OH (6-D-eritro)	
Sepiapterin	-CO-CHOH-CH ₃	
Bileşik		
	R	
5,6,7,8-tetrahidropterin	H	
5,6,7,8-tetrahidrobiopterin	-CHOH-CHOH-CH ₃ (6-L-eritro)	
5,6,7,8-tetrahidroneopterin	-CHOH-CHOH-CH ₂ OH (6-D-eritro)	

Tetrahidrobiopterinin (BH_4), aromatik hidroksilazların kofaktörü olduğunun anlaşılması (20), BH_4 metabolizmasındaki konjenital bozuklukların hiperfenilalaninemiye yol açabileceğinin saptanması ve malign enfeksiyon hastalığı olan bireylerde, idrardaki pterinlerin miktarlarında (özellikle neopterin) değişikliğin bulunması (13), bu bileşiklere karşı ilgiyi artırmıştır. Pterinler bakteri, mavi yeşil alg ve tripanosomlardan memelilere kadar tüm canlı organizmalarda bulunur ve antimikrobiyal, antialerjik, immünosüpresif, antiinflamatuvar, antibakteriyel ve antikanser gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle uzun yıllardır araştırılan bileşiklerdir (21). Aynı zamanda enzimatik reaksiyonlarda kofaktör görevi gibi hücrelerin metabolizmasında anahtar pozisyonları olduğu görülmektedir (17, 22, 23). Biyolojik sıvılardaki pteridin türevlerinin normal miktarlarındaki değişiklikler, doku ve organ nakillerinde red atakları, viral enfeksiyonlar, otoimmün veya inflamatuvar hastalıklar gibi çeşitli hastalıklar, bu hastalıkların evreleri ve prognozu hakkında bilgi vermektedir (17, 24-27).

Sentez yoluyla elde edilen pteridinin çözünürlüğü yüksektir ve $139,5^{\circ}C$ 'de düşük erime özelliğine sahiptir. Ancak, doğal olarak oluşan pteridinler tüm çözücülerde çok düşük çözünürlüğe sahiptir ve $350^{\circ}C$ 'de bile erimez. Hidroksil grubu güçlü bir hidrojen bağlama grubudur, suda çözünürlüğü artırır; bu yüzden monohidroksipteridinlerden tetrahidroksipteridinlere doğru çözünürlük artar (11, 12). Pteridinler metal iyonları ile şelat ve cıva, gümüş tuzları ile çökelti oluşturma gibi özelliklere sahiptir. Ultraviyole (UV) ışığa maruz bırakıldığında güçlü mavi ile kırmızı floresan gösterirler. Bu özellikleri, eser miktarda pteridin içeren kaynaklardan saflaştırılmalarını sağlar (12).

2.2. Neopterin

2.2.1. Neopterinin Özellikleri

Neopterin, düşük molekül ağırlığa sahip, stabil ve konjuge olmayan pteridin türevidir (24). İlk olarak 1963 yılında arı larvalarından, işçi arılardan ve arı sütünden (15, 28), 1967 yılında ise Sakurai ve Goto tarafından insan idrarından izole edilmiştir (15, 16). Pterin halkasına sahip, izole edilen bu bileşik pteridin araştırmalarında yeni

bir çağ başlayabileceğini belirtmek için Yunanca yeni anlamına gelen "neo" kökenli "neopterin" olarak adlandırılmıştır (15).

Neopterin ve hidrojenlenmiş formları ışığa duyarlıdır. Bu nedenle pteridin içeren örneklerle yapılan tüm çalışmalarda doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmamalıdır ve mümkünse loş ışıkta veya karanlıkta ölçümler gerçekleştirilmelidir (14). Neopterin içeren serum veya plazma örnekleri, oda sıcaklığında 3 gün boyunca stabildir; buzdolabında 2-8°C'de 1 hafta veya -20°C'de 6 aya kadar dondurularak saklanabilir. Dondurularak depolanan örnekler, çözülme işleminden sonra tekrar dondurulursa, neopterin miktarında azalma görülür (15, 27).

Neopterinin vücut sıvılarında biyolojik ve kimyasal olarak kararlı olması, laboratuvar tanısında rutin ölçümler için kolaylık sağlar (27). Dihidro ve tetrahidro formları reaktif olduğu için laboratuvar tanısında rutin belirleme için uygun değildir. Bu formlar aynı zamanda ışığa duyarlıdır ve oksidatif bozunmalara maruz kalır (18, 29). Toplam pteridin içeriğini belirlemek için bu maddelerin önce neopterine oksitlenmesi gerekir (14, 26, 30). Okside neopterin yüksek performanslı sıvı kromatografisi veya radyoimmünoanaliz (RIA) ile ölçülebilir (15, 20). Neopterin ve hidrojenize formları olan dihidroneopterin ve tetrahidroneopterin biyolojik sıvılarda yaklaşık olarak sabit oranlarda bulunur; ancak, stabilite nedeniyle genellikle tamamen oksitlenmiş ve doğrudan ölçülebilir neopterin formu tespit edilir (14).

2.2.2. Neopterin Biyosentezi ve Fizyolojik Fonksiyonları

Neopterin, aktive edilmiş monositler, makrofajlar (15, 31, 32) dendritik hücreler, endotelial hücreler yoluyla daha az miktarda da böbrek epitel hücreleri, fibroblastlar ve vasküler düz kas hücrelerinde bulunmaktadır. Tetrahidrobiyopterin biyosentezi sırasında (26), guanozin trifosfattan (GTP) GTP siklohidrolaz I (GTP-CH) aracılığıyla in vivo olarak sentezlenir (13, 14, 24, 25, 33, 34). Neopterin salınımının nedeni belirsizdir. GTP siklohidrolaz eksikliği olan hastalarda immün yetmezliği belirtisi görülmez, bu da neopterin bağıklık sürecinde doğrudan aktif bir rol

oynamadığını göstermektedir (13, 35). Tablo 2.2’de neopterinin önemli fizyolojik süreçlerdeki rolleri gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Neopterinin önemli fizyolojik süreçlerdeki rolleri.

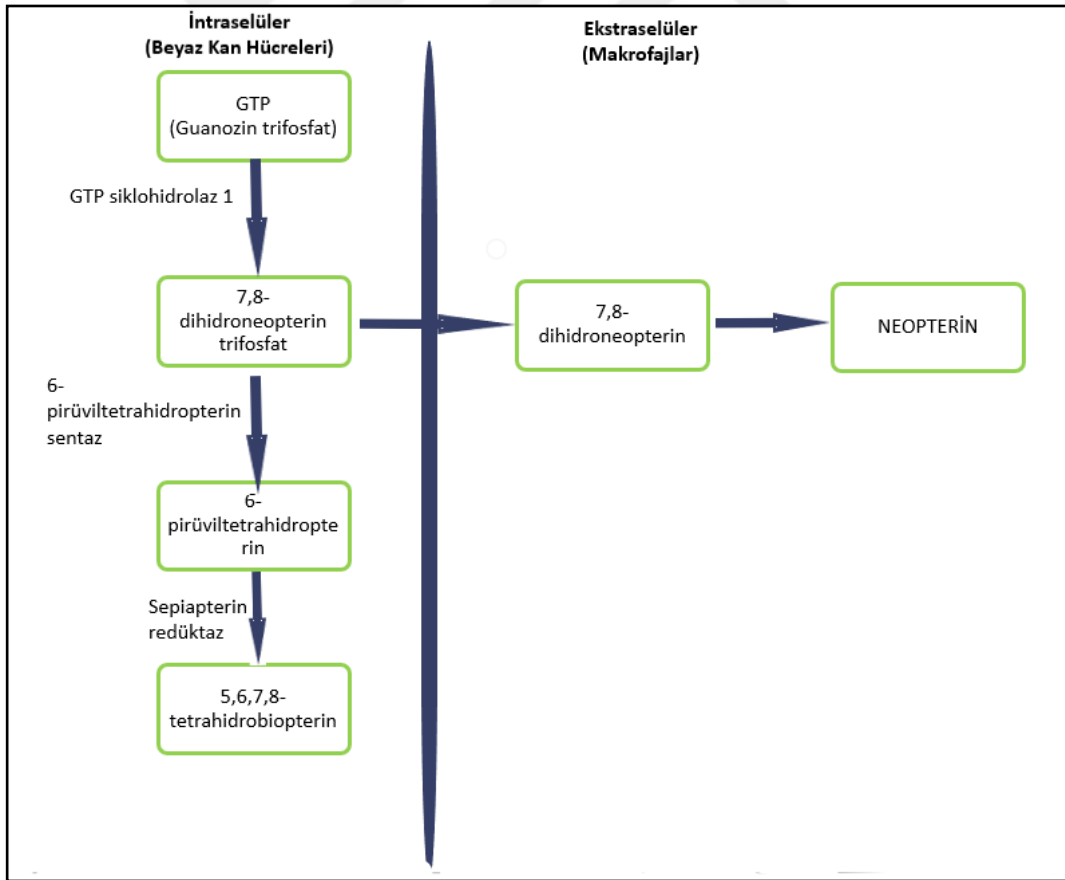
• Hücre içi patojenik mikroorganizmalar tarafından folat sentezinin endojen inhibitörüdür.
• İnsan monositlerinde hücre içi kalsiyum seviyesini etkiler.
• Uzun dalga ultraviyole ışığına (UV-A) bağlı sitotoksositeye karşı gücü artırır.
• Uyarılabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) gen ekspresyonunu uyarır.
• Güçlü bir zincir kırıcı antioksidandır.
• Linoleatın 2,2'-azobis(2-aminopropan) dihidroklorür (AAPH) aracılı oksidasyonunu inhibe eder.
• Düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunun gecikme süresini artırır.
• Nitrik oksitin aracılık etmediği apoptoz indüklenmesinden sorumludur.
• HIV-1 gen ekspresyonunun uyarılmasını sağlar.
• Redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive eder.
• Serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiği süreçlerde rol oynar.
• Makrofaj aracılı efektör mekanizmanın modülasyonunda etkilidir.
• pH değerine ve oksidasyon durumuna bağlı olarak sitotoksositeyi artırır ve azaltır.
• pH 7.5'te hidrojen peroksit ve kloramin-T aktivitesini artırır.

Vücut sıvılarındaki (idrar, kan, beyin omurilik veya sinovyal sıvı gibi), neopterin konsantrasyonlarının in vivo ölçümünün hücrel bağışıklık sistemi homeostazında değişikliğin olduğu hastalıkların izlenmesi için yararlı olduğu kanıtlanmıştır (27, 36). Kanser, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, hiperfenilalaninemi, gebelik gibi durumlarda serum, idrar ve beyin omurilik sıvısında dihidro ve tamamen oksitlenmiş neopterin konsantrasyonunda artış olduğu bildirilmiştir (13-15, 24, 37, 38). Bu fizyolojik değişikliklerde bağışıklık sistemi, patogeneizde yer alır veya bu süreçten etkilenir. Neopterin düzeylerinin ölçülmesi immün sistem üzerinde tek bir sitokinin etkisini yansıtmaz; immün sistem ve etkileşimlerinin monosit/makrofajlara olan etkisinin belirlenmesine olanak sağlar (27).

Guanozin trifosfatın neopterine dönüşümünü kontrol eden GTP-CH enzimi hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunur. Guanozin trifosfat siklohidrolaz

enziminin her aktif bölgesi bir çinko atomu içerir. Pterin biyosentezinde hız sınırlayıcı enzimdir ve regülasyonu transkripsiyonel ve post-translasyonel mekanizmalar ile sağlanmaktadır. E. coli ve insandaki GTP siklohidrolaz enziminin katalizör bölgeleri, amino asit dizilişi olarak %37 özdeşir; bu durum pterinlerin dünya üzerinde çok uzun zamandır olduğunu kanıtlamaktadır (17).

Pterin halka sistemindeki karbonlardan ikisi hariç diğerleri guaninin pürin halka sisteminden gelmektedir. Pirazin halkası için kalan iki karbon ve eritroz yan zincirin karbonları GTP'nin riboz kısmı tarafından sağlanmaktadır; guanin halkasından bir karbon format olarak salınır. Pterin ürünü dihidroneopterin trifosfattır. Ökaryotlarda dihidroneopterin trifosfat, dihidrobiyopterine dönüşür; ancak, dihidrobiyopterin çoğu bakteride oluşmaz (17). Şekil 2.2'de lökositlerdeki neopterin biyosentezi şematize edilmiştir.



Şekil 2.2. Lökositlerde neopterin biyosentezi (15).

T-lenfositler yabancı veya modifiye edilmiş hücre yapılarıyla karşılaştığında, interferon- γ gibi lenfokinler üretmeye başlarlar. Oluşturulan IFN, neopterin üretimi ve salımı için insan monositlerini/makrofajlarını uyarır (39). Makrofajlar, T-hücresinden üretilen interferonlar ile uyarıldığında GTP-CH'nin aktivitesini doğrudan arttırmaktadır.

İnsan monositleri/makrofajları, dihidroneopterin trifosfatı 6-piruvil tetrahidropterin dönüşüren, 6-piruvil tetrahidropterin sentetaz enziminden yoksundur. Monositler ve makrofajlar, BH_4 sentezlemek yerine fosfatazlar ile hidrolizden sonra dihidroneopterin veya neopterin olarak atılan dihidroneopterin trifosfatı biriktirir. Bu mekanizmalar temelinde, inflamatuvar hastalık sırasında artan neopterin biyosentezinin öncelikle interferon aktif monositler/makrofajlar aracılığıyla olduğunu kanıtlamaktadır (14, 15, 40). Birbirinden bağımsız olarak neopterin biyosentezini güçlendiren üç uyarıcı tanımlanmıştır. Bunlar IFN- α , IFN- γ ve endotoksindir (41). Esas olarak IFN- γ (27, 29, 42) tarafından indüklenen neopterin üretimi; tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α) ve endotoksinler tarafından kostimüle edilir (27, 35, 41). Diğer hücre tipleri, çeşitli uyarıcıları takiben ölçülebilir miktarda neopterin üretmez (15). IFN- γ ile stimülasyon üzerine makrofajlardan sadece neopterinler salınır (30). İmmünostimülatör tedavisi gören hastalarda IFN- γ salınımının uyarılması neopterin seviyelerini artırır (36). İmmünsüpresif tedavide de neopterin seviyeleri azalır (14).

7,8-dihidroneopterin yüksek konsantrasyonlarının oksidan-antioksidan dengede aktif rol oynayarak (43, 44) insan hücrelerinin apoptozuna yol açabileceği, (45, 46), HIV-1 gen ekspresyonunu uyardığı; neopterin insan monositlerindeki hücre içi kalsiyum seviyesini değiştirdiği, vasküler düz kas hücrelerinde in vitro olarak indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) gen ekspresyonunu uyardığı bildirilmiştir (15).

2.2.3. Sağlıklı Bireylerde Neopterin Konsantrasyonları

Neopterinin eliminasyonu renal sistemle sağlanır ve idrarda kan konsantrasyonuna göre daha fazla bulunur (27); plazma veya serumdaki neopterin konsantrasyonları idrardan çok daha düşüktür (47, 48). Bununla beraber, serum veya idrardaki neopterin düzeyleri azalma veya artma durumlarında paralellik gösterir (27). Böbrek fonksiyon bozukluğu olmadığı takdirde, serum neopterin konsantrasyonlarındaki değişiklikler idrar düzeylerine de yansır (15, 49). Renal bozukluklar ve immünolojik reaksiyonlara bağlı olarak artan neopterin üretimi arasında ayırım yapmak için neopterin idrar kreatinine oranlanarak hesaplanması yararlıdır (50, 51). Sağlıklı kişilerdeki idrar neopterin konsantrasyonlarının normal değerleri ve üst tolerans sınırları, esas olarak idrar kreatinin konsantrasyonlarının değişkenliğine bağlı olarak yaş ve cinsiyete göre de değişir (27). Sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalar, kreatinin içeriğine bağlı olarak pterinlerin üriner atılımının 24 saatlik bir süre boyunca sabit olduğunu ve on günlük bir süre boyunca günlük olarak atılan toplam pterin konsantrasyonlarında çok az değişiklik olduğunu göstermiştir (52).

Tablo 2.3'te serum ve idrar neopterin için referans değerler gösterilmiştir. Serumdaki neopterin konsantrasyonları nmol/L olarak ifade edilir (14). Azalmış renal atılım, artmış neopterin oluşumuna ek olarak kanda neopterin birikmesine neden olur ve üremi hastalarında serum veya plazmada >200 nmol/L gibi yüksek neopterin değerleri ölçülebilir (50, 51). Sağlıklı, gebe kadınlarda neopterin artışı ve triptofan azalması ile birlikte, kinürenin artışı ve triptofan azalması arasında anlamlı bir ilişki vardır (46). Kordon kanındaki miktar, çocukların kanından önemli ölçüde daha yüksektir (53). Anne sütünde ortalama neopterin konsantrasyonu $5,2 \pm 2,5$ nmol/L'dir. Sağlıklı bireylerde serum neopterin üst sınırı olarak 15 nmol/L (14) olarak verilse de (Tablo 2.3), normal değerler ve üst tolerans sınırları yaşa bağlıdır. 18-75 yaş aralığında yapılan bir araştırmada, serum neopterin konsantrasyonlarının yaşa bağlı olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği bildirilmiştir; ancak <18 yaş çocuklar

ile >75 yaş yetişkinlerde, ara yaş grubuna (18-75 yıl) göre anlamlı yüksek neopterin konsantrasyonu gözlenmiştir (15).

Tablo 2.3. Serum ve idrar neopterin için referans değerler (14).

Yaş (Yıl)	Serum Neopterin (nmol/L)	Üriner Neopterin (μ mol/mol kreatinin)
	0 - 15	50 - 250
1-18	3,5 - 13,5	40 - 310
19-75	2,6 - 8,7	55 - 220
>75	3,7 - 19	70 - 230

Beyin omurilik sıvısındaki neopterin konsantrasyonları serum veya plazmadakinden biraz daha düşüktür (20, 27). Yetişkinlerde, özellikle yaşlılarda, idrar neopterin atılımının yaşla birlikte arttığı bildirilmiştir (53). Yaş yetişkinliğe yaklaştıkça bağışıklık sistemi olgunlaşmasını tamamlar ve sonuç olarak neopterin, biyopterin ve kin/trp azalır (24).

2.2.4. Vücut Sıvılarında Neopterin Ölçüm Yöntemleri

Bağışıklık sisteminin aktivitesini değerlendirmek için neopterin miktarının belirlenmesi, IFN- γ 'nın doğrudan ölçümü ile karşılaştırıldığında çeşitli üstünlükler sağlar. Aslında IFN- γ hızla bozunur, çözünür veya hücreye bağlı reseptörlere bağlanabilir; böylece gerçek biyolojik etkili konsantrasyon ile elde edilen serbest ölçülebilir konsantrasyon farklılık gösterir. IFN- γ periferik dokularda üretilir; ancak, nadiren ve eser miktarlarda kan dolaşımına girmektedir. Buna karşılık neopterin, küçük moleküler yapısı, kimyasal stabilitesi ve reseptörlere bağlanmaması nedenleriyle dolaşımına kolaylıkla geçer ve vücut sıvılarında kolayca saptanabilir (13, 14, 54, 55).

Neopterinin 1960'lardaki ilk analizi, anyon değişim kromatografisi ve ardından kağıt kromatografisi ile yapılmıştır. Bu yöntemlerde fazla miktarda örneğe gereksinim duyulmaktadır ve analiz esnasında kayıplar meydana gelebilir; bu nedenle her iki

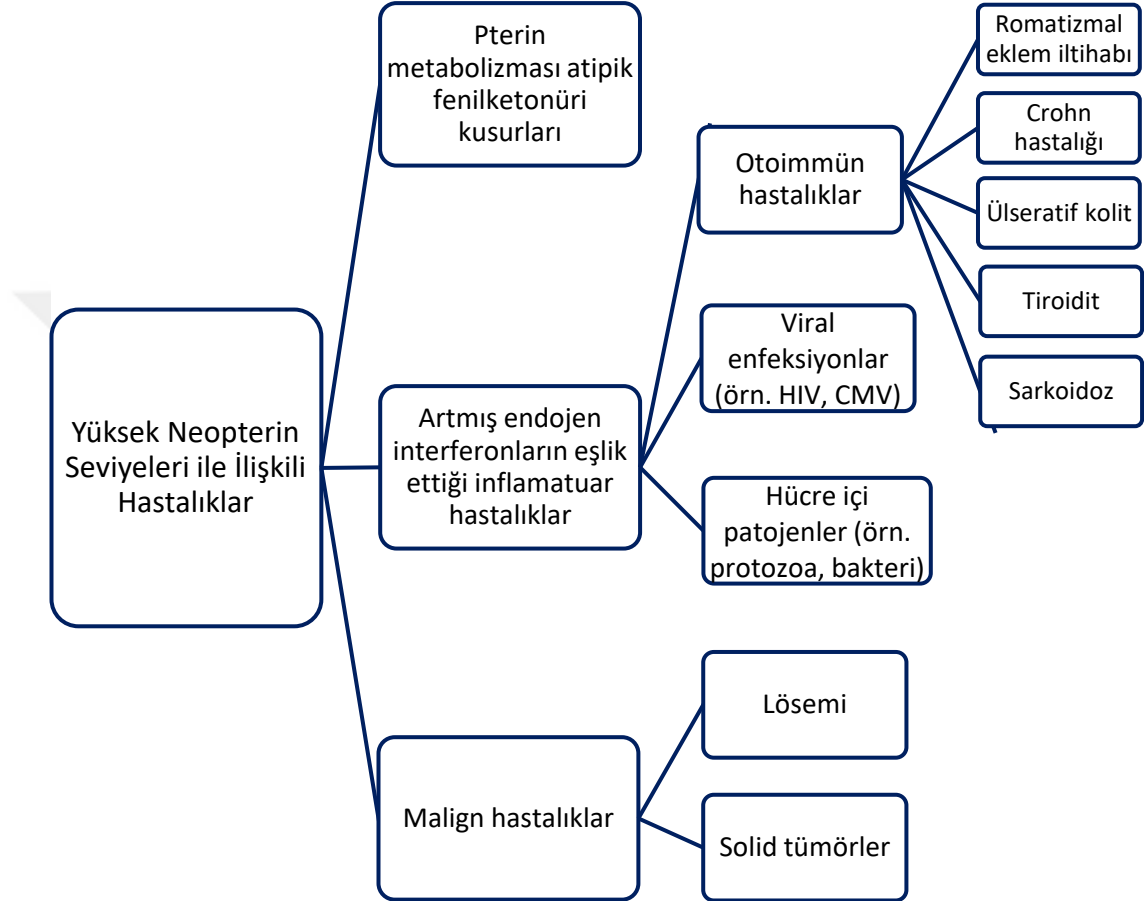
yöntemin de kullanılabilirliğini ve etkinliğini sınırlamaktadır (52). Günümüzde, vücut sıvılarında neopterin tespiti ve miktar tayini, yüksek basınç ve floresan dedektörü kullanılarak ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılmaktadır (16, 25). Biyolojik sıvılarda neopterin analizi için en yaygın kullanılan yöntemler (HPLC), radyoimmünoanaliz (RIA) ve immünoradyometrik test (IRMA) gibi radyoimmünolojik yöntemlerdir (14). HPLC ile serumda neopterin analizi, protein varlığı ve idrara göre yaklaşık 200 kat daha düşük neopterin konsantrasyonu nedeniyle daha zordur (15). İmmünolojik yöntemlerde kullanıma hazır ticari kitler gerekmektedir ve bu kitlerin uygulaması hızlı ve kolaydır. Bu yöntemler genellikle örnek sayısı fazla olduğunda ve kan gibi protein içeriği yüksek örneklerde tercih edilmektedir. Bu kitlerde kullanılan bağlayıcı antikorlar neopterin için yüksek spesifisiteye sahiptir ve hidrojenlenmiş neopterin formları ile çapraz reaktivite göstermez (14). Ancak her pterin için antikorların hazırlanması ve toplam pterin içeriğinin belirlenmesi, indirgenmiş formların oksidasyonunu gerektirmesi bu yöntem için bir kısıtlayıcıdır (52).

Tek bir pteridin türevinin analizi için genellikle ELISA yöntemi kullanılmaktadır (26). ELISA testi, kompetitif enzim immünolojik testidir. Kaplanmış kuyuculardaki mikrotitre tabakalar ile serumdaki neopterin kantitatif analizi yapılmaktadır (15). Cowperthwaite ve arkadaşları tripanosomatid böcek paraziti *Crithidia fasciculata*'nın konjuge edilmemiş bir pteridin için besinsel bir gereksinimi olduğunu göstermişlerdir. Bu pteridin daha sonra Patterson ve arkadaşları tarafından biyopterin olarak isimlendirilmiştir. *Crithidia fasciculata* ile yapılan mikrobiyal analiz konjuge olmayan pteridinlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda L-eritro pterinler D-eritro izomerlerinden çok daha düşük konsantrasyonlarda büyümeyi hızlandırdığından, pterinlerin D- ve L- konfigürasyonlarının kolaylıkla ayrılmasına olanak sağlamaktadır (52).

2.2.5. Çeşitli Hastalıklarda Neopterin Konsantrasyonları

Tablo 2.4'te neopterin değışikliklerinin değlendirildiği hastalıklara örnekler verilmiştir.

Tablo 2.4. Neopterin konsantrasyonlarının yükseldiği hastalıklara örnekler (14).



Pterin biyosentez yolağının farklı basamaklarında görülen, genetik pterin metabolizması bozuklukları olan bireylerde nörolojik hastalıklar, biyojenik aminonörotransmitter eksikliği ve hiperfenilalaninemi görülmektedir (56). Doğuştan gelen guanozin trifosfat siklohidrolaz-1 (GTP-CH-I), 6-piruviltetrahydropterin sentaz ve dihydropteridin redüktaz eksikliği olan hastalarda metabolik blok nedeniyle, örneğin neopterin veya biopterin gibi pterin metabolitleri birikir ve idrarla atılır. GTP siklohidrolaz-1 eksikliği olan hastalarda hiç pterin sentezlenmez. Bu hastalarda neopterin ve biopterin yanında, dopamin ve serotonin eksikliği de görülmektedir (34, 56). 6-piruvil tetrahydropterin sentaz eksikliği olan hastalarda neopterin; dihydropteridin redüktaz eksikliği olan hastalarda ise biopterin birikir (14). Bununla

birlikte, bu hasta gruplarında immünolojik testlerde anormallik görülmez (57). Hem insan hem de fare bağışıklık hücrelerinde, GTP siklohidrolaz-I, stimülasyona duyarlı tek pterin sentezleyen enzimdir ve bu nedenle yüksek pterin seviyelerinden sorumludur (58).

Enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ve hücre/doku nakilleri sonrası red olaylarında yükselmiş neopterin düzeyleri ve ölçülebilir düzeyde değişmiş interferon konsantrasyonları belirlenmektedir. Hücre aracılı bağışıklık sisteminin aktive olduğu jinekolojik malignitelerde, çocukluk çağı kanserinde, miyelom, Hodgkins dışı ve Hodgkins lenfoma, kronik lenfatik lösemi ve kronik miyelositik lösemi dahil hematolojik malignelerde (14) ve malign olmayan durumları olan hastalarda serum, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve idrar neopterin ve dihidroneopterin konsantrasyonları yüksektir (59). Bununla birlikte neopterin konsantrasyonlarının çoğu patolojide artması nedeniyle, neopterin ölçümünün “kesin ve özgün” bir tanı aracı olarak kullanımını sınırlamaktadır (13).

Günümüzde, HIV enfeksiyonunun prognozunun takibi için neopterin kabul gören ve kullanılan bir parametredir (60, 61). Enfeksiyonun asemptomatik olduğu süreçte de artmış neopterin düzeyleri saptanmaktadır (25). Hastalığın ilerlemesi ile neopterin konsantrasyonları gittikçe artar ve HIV seropozitif hastalarda monosit/makrofaj aktivasyonuna bağlı olarak serum neopterin düzeyleri ve idrarla neopterin atılımı yükselir (14, 15, 27, 62-65). HIV enfeksiyonunun akut evresindeki neopterin düzeyleri, diğer virüs enfeksiyonlarının serokonversiyon öncesi dönemdeki miktarlarıyla yakındır (27); ancak, serokonversiyon sonrası diğer enfeksiyonların aksine neopterin düzeyleri, HIV ile enfekte bireylerin yaklaşık %80'inde tedavi ile birlikte düşer, ancak tamamen normal değerlere gerilemez (27, 62, 66). HIV enfeksiyonu olan hastalarda BOS neopterin konsantrasyonları ile nöropsikiyatrik semptomların gelişimi arasında kuvvetli bir ilişki olduğu gösterilmiştir. HIV ile ilişkili demans ve intratekal neopterin oluşumu güçlü ilişkilidir; bu durumda BOS'ta neopterin düzeyleri, serumdakinden anlamlı derecede yüksek değerlere ulaşır (67-70).

Sitomegalovirüs (CMV) hastalarında virüs replikasyonunun sitokin aracılı olması nedeniyle, IFN- γ üretimine bağlı olarak, klinik seyir ile ilişkili olarak artan serum neopterin düzeyleri eşlik etmektedir (14).

Mycobacterium tuberculosis, *mycobacterium leprae*, *plasmodium falciparum* ve *plasmodium vivax* gibi hücre içi patojenlerle oluşan enfeksiyonlara, konakçı hücrenin IFN- γ aktivasyonuna neden olduğu için bu enfeksiyonlar sırasında yüksek neopterin konsantrasyonları gözlenmiştir (14, 71). Neopterin biyosentezinde en fazla artış septik şok sendromlu hastalarda görülmektedir (14). Sepsis, elektif cerrahi ve şiddetli travma sırasında veya sonrasında kan mononükleer hücrelerinden plazmaya neopterin salınması sonucu artan neopterin seviyeleri endotel hasarı ve septik komplikasyon riski ile ilişkilendirilmiştir. Gram negatif sepsisten septik şoka ilerleyen hastalarda neopterin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda sepsis sırasında neopterin seviyelerinde gözlenen bu artış, septik komplikasyonlu hastaların klinik değerlendirilmesinde neopterin seviyelerinin tanıl ve prognoz açısından önemli olduğunu desteklemektedir. (35)

Baydar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, hastaların üriner neopterin düzeylerinin de septik komplikasyonların ciddiyeti ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda neopterin seviyelerindeki artışa paralel olarak, yoğun bakım hastalarında kontrollere kıyasla triptofan yıkımının daha yüksek olduğu ve IDO aktivitesinin de sepsis sırasında arttığı saptanmıştır (72).

Malignitelerde gözlenen artmış neopterin biyosentezinin etiyolojisi hala tam olarak anlaşılamamıştır. İnsan malign hücrelerinin *in vivo* olarak kendiliğinden veya stimülasyon üzerine ne kadar neopterin sentezlediği bilinmemektedir (14, 73). Neopterin salımı tümör hücreleri tarafından değil bağışıklık sistemi hücreleri tarafından olduğu için, genel anlamda bir tümör belirteci değildir; ancak, prognozu değerlendirmede ve tedavinin izlenmesinde neopterin düzeylerinin izlemi önemlidir (74, 75). Malign hücreler tarafından T hücrelerinin aktivasyonunun indüklenmesi, sitokinlerin oluşumuna ve neopterin üretimi için makrofajlar/monositlerin

aktivasyonuna yol açar (75). Malign hastalıklar sırasında vücut sıvılarındaki neopterin konsantrasyonları, altta yatan neoplastik hastalığın kapsamı ve şiddeti ile ilişkili olduğu için (74) artan neopterin seviyeleri, daha ileri tanı önlemlerine ihtiyaç duyulduğunu gösterir (27).

Artmış neopterin biyosentezi, Crohn hastalığı (76), ülseratif kolit (77), romatoid artrit, çölyak hastalığı (78), akut sistemik lupus eritematosus (SLE) ve sarkoidoz (79) gibi potansiyel otoimmün patogenezi olan hastalıklarda gösterilmiştir. Otoimmün hastalıklarda, neopterin düzeyleri hastalığın akut fazında en yüksektir ve hastalığın şiddetini hassas ve uygun bir şekilde yansıtır (14).

Romatoid artritli hastalarda ortalama neopterin değerleri, osteoartritli hastalardan daha yüksektir; bu nedenle neopterin tespiti bu vakalarda ayırıcı tanıyı destekleyebilir. Romatoid artritli olan hastaların sinoviyal sıvısındaki neopterin konsantrasyonları serumdakinden daha yüksektir. Romatoid artrit hastalarında neopterin düzeyleri ilk olarak sinoviyal sıvıda, daha sonra serumda ve son olarak idrarda artmaktadır; bu nedenle sinoviyal sıvıda neopterin konsantrasyonları, hastalığın aktivitesini serum veya idrar konsantrasyonlarından daha iyi yansıtmaktadır (27, 80, 81).

2.3. Anne Sütü

Doğumdan hemen sonra üretilmeye başlayan anne sütü, ilk 6 ay boyunca ve sonrasında tam bir besin olmasa da bebekler için normal beslenme standardı olarak kabul edilmektedir (82-84). Anne sütü emebilecek kadar olgunlaşmış bebekler için de en güvenilir besindir (82). İlk 6 ay boyunca sadece anne sütüyle beslenen bebeklerde ölüm oranı, hiç anne sütüyle beslenmemiş bebeklere oranla %88 daha az olduğu görülmüştür (85). Dünya Sağlık Örgütü, ilk 6 ay boyunca sadece anne sütüyle beslenmenin ve en az 2 yaşına kadar da beslenmenin önemli bir kısmının anne sütü ile olmasını önermektedir (85). Anne sütünde değişen miktar ve oranlarda 100'den fazla bileşen bulunmaktadır (82). İçeriğinde bulunan besin bileşimi, gelişimi

destekleyen besleyici olmayan bileşenler (86, 87) ile doğal tamamlayıcı bileşenler, yenidoğanda bağışıklık sisteminin gelişmesine katkı sağlamaktadır (83).

Kan-süt arasındaki bariyerin seçici-geçirgen olmaması nedeniyle, anne sütündeki besin maddeleri ve immünolojik bileşenlerin yanı sıra annenin maruz kaldığı zararlı fiziksel, kimyasal ve biyolojik bileşenleri de içerebilmektedir (88). Anne sütü bileşimi dinamiktir ve çeşitli varyasyonlarda değişmektedir; gebelik zamanı, emzirme süresi, annenin genotipi, diyeti, kalıtsal veya edince hastalıklar, çevresel faktörlere bağlı olarak bu bileşim değişebilmektedir (85, 87, 89).

2.3.1. Kolostrum

Doğum sonrasında salgılanan ilk süt olarak tanımlanan kolostrum, doğum başladıktan sonra yaklaşık 2-4 gün salgılanmaktadır. Besinsel ve immünolojik içeriği, daha sonra salgılanan olgun süttten farklıdır. İmmüoglobülin, laktoferrin, laktoperoksidaz, laktalbümin ve laktoprotein içeriği ve bebeğe pasif bağışıklık kazandıran antikör açısından zengindir (92). Bağışıklık sisteminin gelişmesine olan katkısının yanısıra, içeriğinde bulunan insülin benzeri alfa ve beta büyüme faktörlerinin tek doğal kaynağı olması ile kas-iskelet sisteminin gelişmesini ve büyümeyi desteklemektedir. Bu büyüme faktörleri, kas ve kıkırdak onarım özelliklerine sahiptir; travma ve cerrahi hastalarda yara iyileşmesini destekler. Kolostral büyüme faktörleri, bağırsak gibi tüm yapısal vücut hücrelerine yayılan çoklu rejeneratif etkilere sahiptir (83). Kolostrum proteinler, karbonhidrat, oligosakkaritler, yağlar ve vitaminler ve mineraller gibi mikro besin maddelerini içerdiği için yenidoğanın yaşamının ilk aşamasında gerekli tüm bileşenleri sağlayan eksiksiz bir besindir (90-92).

Anne sütünde bulunan interferonlar, immunoglobülinler, demir bağlayıcı proteinler, makrofajlar ve lenfositler antimikrobiyal ajan görevi görmektedir (93, 94). Anne sütüyle beslenmenin diyare, solunum yolu enfeksiyonları ve orta kulak iltihabına karşı koruyucu olduğu görülmüştür (93, 95). Transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunu düzenleyen, hücre döngüsü, proliferasyon, farklılaşma gibi çeşitli

hücrel fonksiyonları modüle eden mikroRNA'lar da anne sütünde bol miktarda bulunmaktadır (96). 200'den fazla filotipi bulunan mikrobiyal topluluk içeren anne sütü, yenidoğan için ilk probiyotik olarak tanımlanmaktadır (97). "Enteromamary yolağı" ile anne bağırsağında bulunan bakterilerin lenf ve kan dolaşımı ile meme bezlerine taşındığı düşünülmektedir (98). Anne sütü aynı zamanda içerdiği insülin, leptin, adiponektin gibi hormonlarla metabolizma ve vücut bütünlüğünü değiştirip düzenlemektedir (99).

Suda yaşamdan karasal yaşama geçişe uyum sürecinde, yenidoğanın ihtiyaç duyduğu zengin besin, antikor ve büyüme faktörlerini içerdiği bilinmektedir (100, 101). Tablo 2.5, Tablo 2.6 ve Tablo 2.7'de, sırasıyla kolostrum besinsel içeriği, immün ve büyüme faktörleri dağılımı sunulmuştur. Anne sütüyle beslenemeyen yenidoğanın beslenme gereksinimini daha iyi anlayabilmek için anne sütü bileşiminin ve miktarlarının belirlenmesi önemlidir (82).

Tablo 2.5. İnsan ve siğir kolostrumu besin içeriğinin karşılaştırılması (92).

Beslenme Faktörü	İnsan Kolostrumu (mg/ml)	Siğir Kolostrumu (mg/ml)
Enerji (kcal)	0,58	1,3
Protein	37	149
Laktoz	53	26
Yağ	29	67

Tablo 2.6. İnsan ve siğir kolostrumu immün faktörlerinin karşılaştırılması (92).

İmmün Faktörleri	İnsan Kolostrumu (mg/ml)	Siğir Kolostrumu (mg/ml)
Laktoferrin	700	100
IgA	17,35	3,9
IgG	0,43	47,6
IgG2	-	2,9
IgM	1,59	4,2

Anne sütleri ile yapılan çalışmalarda, annelere bağlı yaş, ırk, genetik faktörler, meme bezlerinin boyutu ve anatomik yapısı, duygusal faktörler ve diyet alışkanlıklarındaki farklılıklar ve çevresel koşullar (temiz hava, güneş ışığı, dinlenme vb.) ile anne sütü örneklerinin toplanması, saklanması, analiz yöntemleri ve kolostrum, geçiş sütü ve olgun sütün salgılanma dönemlerinin net olarak ayrılması gibi sebeplerden dolayı kimyasal bileşenleri ve miktarları tam olarak tanımlanamayacağı bildirilmektedir (82, 87).

Tablo 2.7. İnsan ve sığır kolostrumu büyüme faktörlerinin karşılaştırılması (92).

Büyüme Faktörleri	İnsan Kolostrumu	Sığır Kolostrumu
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	200 mcg/L	30-50 mcg/L
Dönüştürücü büyüme faktörü (TNF- α)	2,2-7,2 mcg/L	2,2-7,2 mcg/L
Dönüştürücü büyüme faktörü (TNF- β)	20-40 mg/L	1-2 mg/L
İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF)	18 mg/L	10 mg/L
Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)	75 mcg/L	Mevcut değil
Büyüme hormonu (GH)	41 ng/L	<0,03 ng/L

Emzirme zamanı ilerledikçe anne sütündeki bazı maddelerin miktarı artar veya azalır. Meme bezlerinin ilk salgısı olarak bilinen kolostrum, doğumdan önce ve sonra meme bezleri ve kanallarının hazırlanması, salgılanan sütün dışarı atılması sırasında kalan hücrel bileşenler ve kalıntıları da içermektedir. Bu dönemin uzunluğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, salgılanmanın 1-5 gün arasında devam ettiği görülmüştür (82). Postpartum ilk birkaç günde düşük miktarda üretilen, immünoglobülin içeriğinin fazla olması nedeniyle en güçlü doğal bağışıklık güçlendirici olarak bilinen kolostrum, IgA, laktoferrin, lökositler gibi immünolojik bileşenlerin yanı sıra epidermal büyüme faktörü gibi gelişim faktörleri bakımından da zengindir (102-104). Sütten daha fazla miktarda protein, immünoglobulin, protein olmayan azot, yağ, sodyum, klorür ve magnezyum vitamin ve mineral içerir.

Bazı vitaminler plasenta bariyerini geçemediği için, kolostrum bu vitaminlerin doğum sonrası birincil kaynağıdır (103, 105). Kolostrumdaki oligosakkarit içeriği olgun sütün yaklaşık olarak 2 katı kadardır. 4. günde 21 g/100 ml olan oligosakkarit miktarı, 2. ayın sonunda 13 g/100 ml'ye düşer (106). Geçiş sütü postpartum ise 5-14 gün arasındaki süreçte salgılanır. Kolostruma benzer nitelikte olmakla beraber, gelişen bebeğin ihtiyaçlarını karşılamak için süt üretiminin arttığı ve kimyasal bileşenlerinin oranının olgun süte yaklaştığı dönemdir (82, 87). Doğumdan sonraki 2. haftadan itibaren, süt olgun olarak kabul edilir ve 4.-6. hafta arasında tamamen olgunlaşır (85, 87). Kolostrum ve geçiş sütünün aksine, olgun süt bileşimi daha stabildir.

2.3.2. Anne Sütünde Bulunan Çeşitli Bileşenler

Anne Sütü Protein İçeriği

İnsan sütünün protein içeriği anneye ve emzirme dönemine bağlı olarak değişmektedir; ancak, farklı popülasyonlarda benzer içeriğe sahiptir. Prematüre doğum yapan annelerin sütündeki protein içeriği, zamanında doğum yapan annelere göre önemli ölçüde daha yüksektir (87). Doğum zamanlamasına bakılmaksızın anne sütü protein konsantrasyonu 4-6 haftadan sonra azalmaktadır (87, 107). Protein içeriği 2. aydan 7. aya kadar azalır ve daha sonra sabit kalır (87, 89, 108). Kolostrumdaki protein konsantrasyonu, olgun süttten yaklaşık %54 daha yüksektir (82).

Proteinlerle ve anne sütüyle yapılan çalışmalarda, tek bir protein miktarı yerine toplam aminoasit miktarının ve dağılımının değerlendirilmesinin daha önemli olduğu bildirilmektedir (82). Anne sütü protein içeriği genel olarak kazein ve *whey* proteinlerden oluşmaktadır. Kazeinler α , β ve γ kazeini içermektedir. *Whey* proteinler ise α -laktalbumin, laktoferrin, lizozim, sekretuar immunoglobulin IgA'dır (85, 109). Kolostrumda bulunan IgA, yaklaşık olarak doğum sonrasındaki ilk 3 günde yenidoğana aktarılmış olur (101). Proteinler, bebeklerin sağlıklı büyümesi için gereklidir; kolostrumda olgun süte göre çok daha yüksek konsantrasyonda bulunan epidermal büyüme faktörü polipeptit yapıdadır (83). Anne sütündeki proteinler sadece besin ihtiyacını karşılamakla kalmayıp çeşitli biyoaktif işlevlerin yerine getirilmesini de

sağlamaktadır. Diğer besinler için taşıyıcı görevi görürler, besin emilimi ve bağırsak gelişimini desteklerler ve antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler (102).

Üre, ürik asit, kreatin, kreatinin, amino asitler ve nükleotitler gibi nitrojen içeren protein olmayan bileşikler anne sütündeki azotun %25'ini oluşturur (87).

Anne Sütü Lipit İçeriği

Tablo 2.8'de 1 aylık bebeğin anne sütünde bulunan makro bileşenlerden aldığı enerji miktarları gösterilmiştir. Yağ, anne sütünde konsantrasyon olarak en değişken bileşendir. Kolostrumdaki yağ konsantrasyonu ve enerji değeri, olgun süte doğru artmaktadır (103, 106). Olgun sütteki yağ ve kalori miktarı kolostrumdan yaklaşık %54 daha fazladır (82). Bir emzirme sürecinde son sütte bulunan yağ konsantrasyonu, ön süttten yaklaşık 2-3 kat daha fazladır (111). 71 anneden 24 saatlik sürede toplanan süt ile yapılan bir çalışmada, gece ve sabah alınan sütteki yağ oranı, öğleden sonra veya akşam alınan süte göre önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur (112). Yapılan başka bir çalışmaya göre, anne sütündeki yağ içeriğinin değişiminin yaklaşık %25'i, annenin protein alımından etkilenmektedir (87). Sütün sağladığı toplam enerjinin %44'ü lipid içeriğinden gelmektedir (85).

Tablo 2.8. Bir aylık bebeğin anne sütünde bulunan makro bileşenlerden aldığı enerji miktarları (85).

Makro Bileşen	Enerji Yüzdesi
Lipit	44,5 ±5,2
Protein	8,4 ±1
Karbonhidrat	43,9 ±5,8

Anne sütü 200'den fazla yağ asidi içermektedir. Triaçilgliseroller, bu içeriğin %98'ini oluşturmaktadır. Lipitler, meme epitelyum hücrelerinin endoplazmik retikulumunda oluşan triaçilgliserollerin çekirdeğini içeren yağ globülleri formunda bulunmaktadır. Endoplazmik retikulumdan sitozole salgılandığında, çekirdek ilk

olarak bir iç zar ile kaplanmaktadır; daha sonra alveolar boşluğa salındıklarında, meme alveolar hücre plazma zarından oluşan bir dış zarla kaplanmaktadır. Süt yağı globül membranı (MFGM) olarak adlandırılan bu yapı gliserofosfolipidler, sfingolipitler, sfingomiyelin, glikolipitler, kolesterol gibi yüksek miktarda biyoaktif madde içermektedir (85). MFGM bileşiklerinin nörobilişsel gelişim ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu görülmüştür (113).

Annenin beslenme alışkanlıkları, özellikle uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (LcPUFA) miktarını büyük ölçüde etkilemektedir. LcPUFA'lar büyüme, immün yanıt, retinal ve beyin fonksiyonlarının gelişimi ile özellikle membran fonksiyonları üzerinde önemli aktiviteye sahiptir. Orta zincirli yağ asitlerinin, birçok patojeni *in vitro* olarak inaktive ettiği ve böylece invaziv enfeksiyonlara karşı koruma sağladığı görülmüştür. Kısa zincirli yağ asitleri ise anne sütü için önemli bir enerji kaynağıdır ve bebeğin sindirim sisteminin gelişimine katkı sağlamaktadır (114).

Anne Sütü Karbonhidrat İçeriği

Anne sütünün ana şekeri disakkarit laktoz olup, konsantrasyonu en az değişken bileşendir (87). Laktoz içeriği 4. ve 7. aylar arasında yüksektir ve daha sonra azalır. Yaklaşık olarak 6,7 g/100 ml konsantrasyonda bulunan laktoz, merkezi sinir sisteminin gelişmesini ve beyin besin ihtiyacını sağlamaktadır (89). Diğer önemli karbonhidrat olan oligosakkaritler kolostrumda 1,5-2,3 g/100 ml, olgun sütte ise 0,1-1 g/100 ml konsantrasyonlarda bulunmaktadır (83, 85). Oligosakkaritlerin miktarı, laktasyon evresi ve maternal genetik faktörlere bağlı olarak değişmektedir (115, 116). Patojenler, oligosakkaritlerin belirli bölgelerine bağlanma için yüksek afinitiyeye sahiptir; bu yüzden anneler arasındaki oligosakkarit bileşiminde görülen farklılıklar sağkalımı desteklemektedir (102).

Anne Sütü Vitamin İçeriği

Hücrel aktivitenin fizyolojisinde, büyüme, gelişme ve yaşamın sürdürülmesinde önemli bir yere sahip olan vitaminler, anne diyetine ve vücut depolarına bağlı olarak değişmektedir (82, 87). Her annenin beslenmesi optimum

düzyeyde olamadığı için, emzirme döneminde multivitamin takviyesi önerilmektedir. K vitamini, anne beslenmesinden bağımsız olarak sütte son derece düşük miktarda bulunur. Bu nedenle, yenidoğanın hemorajik hastalığından kaçınmak için doğum sonrası K vitamini enjeksiyonu önemlidir (112). D vitamini, çoğu annenin güneş ışığına maruziyetinin az olması nedeniyle anne sütünde düşük miktarda bulunmaktadır. Epitelyum dokunun bütünlüğü, dişlerin, gözlerin ve kemiklerin düzgün gelişimi için gerekli olan A vitamini konsantrasyonu, kolostrumda 1,61 mg/100 ml iken, olgun sütte 0,61 mg/100 ml'dir. Karbonhidrat metabolizmasından sorumlu enzim sisteminin önemli bir parçasını oluşturan tiamin, geçiş sütünde kolostrumun yaklaşık 3 katı, olgun sütte ise 7 katı kadar bulunmaktadır. Tiamin alımındaki bu hızlı artış, metabolizmanın yeniden düzenlenmesini ve bebeğin hızlı büyümesini sağlamaktadır (82).

Bebeklerin endojen enzim sisteminin tam anlamıyla oluşması gebeliğin 28. haftasından sonra gerçekleşmektedir ve antioksidan görev gören E vitamini, fetüse son trimesterde fetüse geçer (117). Bu durum, antioksidan savunma sistemi gelişimi sınırlı olan yenidoğanlarda oksidatif strese karşı savunmasızlık nedenidir (118). Anne sütü içeriğindeki antioksidan süpürücü süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerine ve C ve E vitaminler sayesinde yenidoğanın oksidatif stres yükünü azaltmaya yardımcıdır (117, 118). Bununla beraber, anne sütünde bulunan aktif antioksidan bileşiklerin tam olarak neler olduğu henüz aydınlatılamamıştır (117).

Anne Sütü Neopterin İçeriği

Anne sütünde bulunan pteridin konsantrasyonları anneler arasında farklılık göstermektedir (119). Aynı anneden gün içinde alınan süt örneklerinde önemli miktarda farklılık olmadığı gösterilmiştir. Anne sütü içeriğinde bulunan neopterin, annenin vücudunda meydana gelen patolojik süreçleri değerlendirmek için doğal bir belirteç görevi görmektedir. Anne sütü bileşimini düzenleyen pek çok faktör ve örnek almadaki olası zorluklar, neopterinin anne sütündeki konsantrasyonu ve potansiyel etkilerinin araştırılmasını kısıtlamaktadır (88).

2.4. Triptofan

2.4.1. Triptofanın Özellikleri

1900'lü yılların başında Hopkins ve Cole tarafından kazeinden izole edilen triptofanın moleküler yapısı, kısa bir süre sonra Ellinger ve Flamand tarafından aydınlatılmıştır (120). 1980'li yıllarda triptofanın kimyasal olarak sentetik sentezinin ardından, triptofan takviyelerinin kullanılmasıyla birlikte Eozinofili Miyalji Sendromu (EMS) adeta "salgın" haline gelmiştir. Bunun üzerine Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA), triptofanın takviye olarak kullanımına sınırlama getirmiştir (121).

Triptofan (Trp), protein sentezi gibi önemli metabolik işlevler için tüm canlıların gereksinim duyduğu temel bir aminoasittir. Triptofan; bakteriler, mantarlar ve bitkilerdeki fosfoenopiruvat gibi moleküllerden sentezlenmektedir (122). Gerekli enzimatik mekanizmaya sahip olmadığı için insan vücudu triptofan sentezleyemez ve bu esansiyel aminoasidi dışarıdan almak zorundadır (123, 124). Tüm aminoasitler arasında en yüksek antiradikal aktiviteyi triptofan gösterir (125).

2.4.2. Triptofanın Biyosentezi ve Fizyolojik Fonksiyonları

Vücuttaki aminoasitler içinde en düşük konsantrasyona sahip olan triptofan için yetişkinlerde önerilen günlük alım miktarı 3,5-6 mg/kg'dır (126). Bakla, maş fasulyesi, mercimek, nohut ve bezelye önerilen triptofan alım miktarının yaklaşık %90'ını; tahıllar arasında en düşük triptofan içeriğine sahip olan mısır ise yaklaşık %70'ini içermektedir. İnsanlarda triptofandan nikotinic asit sentezlenebildiği için, süt ve yumurta zengin triptofan içeriğinden dolayı aynı zamanda pellagra hastalığında faydalı olduğu kabul edilmiştir (127).

Çeşitli besinlerin protein ve triptofan miktarları Tablo 2.9'da sunulmuştur. Gıdalar içerisinde diyetle alınan triptofan, hepatik portal sistem aracılığıyla karaciğere ulaşır ve hücreler tarafından protein sentezi ve diğer metabolik olaylarda kullanılmak için kan dolaşımına katılır. İnsanlarda ve hayvanlarda protein sentezi için gerekli

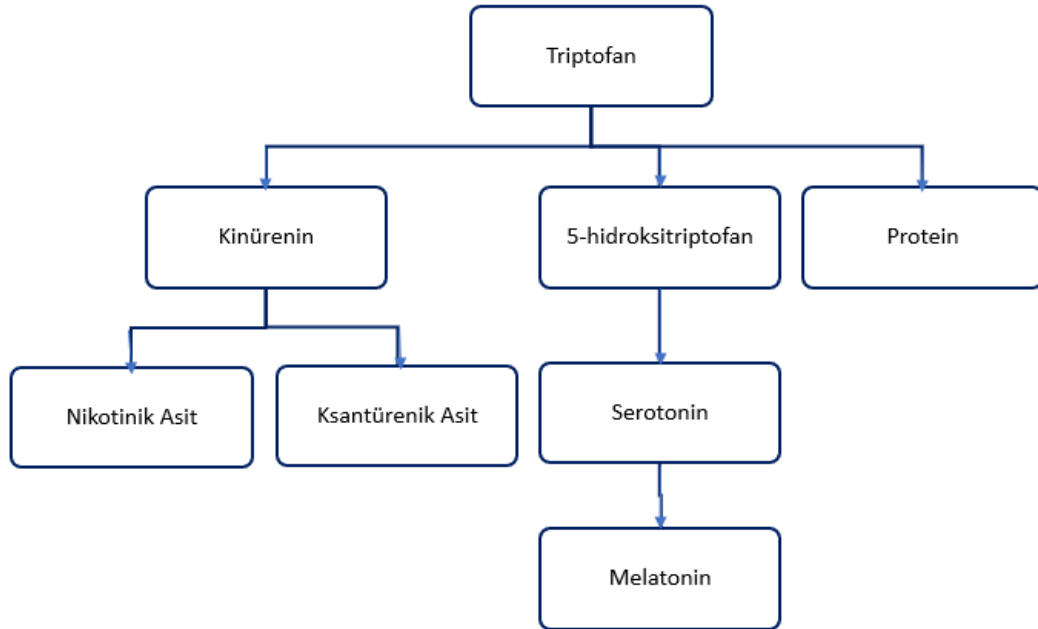
moleküllerden biri olmasının yanı sıra, aynı zamanda önemli birkaç molekülün üretimi için de tek substrat kaynağıdır (123).

Tablo 2.9. Çeşitli besinlerin protein ve triptofan miktarları (128).

Besin	Protein miktarı (g/100g porsiyon)	Triptofan miktarı (mg/100g porsiyon)
Avokado	2	26
Muz	1,7	28
Sert haşlanmış yumurta	13	209
Tam yağlı süt	3,3	42
Pişmiş/konserve bezelye	4,6	66
Pişmiş yağsız tavuk göğsü	29	394
Haşlanmış mercimek	6,8	49
Kavrulmuş fıstık	25,1	285
Kepekli ekmek	8,8	112

Triptofan vücut tarafından absorbe edildikten sonra periferik dolaşımda albümine bağlı olarak veya serbest formda bulunur (129). Kan-beyin bariyeri boyunca sadece kompetitif ve spesifik olmayan L-tipi amino asit taşıyıcı ile serbest formda taşınabilir (126, 130). Merkezi sinir sistemine (MSS) girdikten sonra, triptofan çeşitli metabolik yollarla başka moleküllere metabolize olan bir aminoasittir (130). Triptofan, sinir sisteminde ve bağırsakta, serotonin sentezi için gerekli bir substrat iken, epifiz bezinde melatonin sentezi için gereklidir (122); bu metabolitler duygu durumu, kan basıncı ve bağışıklık gibi çok çeşitli fizyolojik süreçler üzerinde etkilidir (131). Diyetteki triptofan, protein sentezi için gereken miktarı aştığında, karaciğerdeki triptofan deoksijenaz (TDO), fazla triptofanın bir kısmını nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD)'e dönüştürür ve geri kalanını enerji için okside eder. Diyet hem triptofan hem de niasin açısından zayıf olduğunda, dolaşımdaki triptofan karaciğer tarafından alınabilir ve metabolik ve enerji gereksinimleri karşılamak için temel hücrel kofaktör olan NAD'a dönüştürülebilir (122, 132).

Şekil 2.3'te gösterildiği üzere, diyetle alınan triptofanın yaklaşık %1'i serotonine dönüştürülürken geri kalan %99'u, kinürenin (Kyn) yolağıyla metabolize edilir (134). Serotonin ve kinürenin üretiminden sorumlu biyokimyasal yollar farklıdır. Serotonin, triptofan hidroksilaz ve aromatik L-amino asit dekarboksilaz enzimleri aracılığıyla iki aşamada triptofandan üretilirken, kinüreninler, toplu olarak kinürenin yolağı olarak adlandırılan bir seri enzimatik reaksiyonla üretilir (131). Kyn yolu, merkezi sinir sistemi hastalıkları, periferik hastalıklar, enfeksiyonlar, immünoregülasyon ve göz merceğinde UV koruma gibi birçok biyolojik süreçte önemli rol oynamaktadır (122, 135).

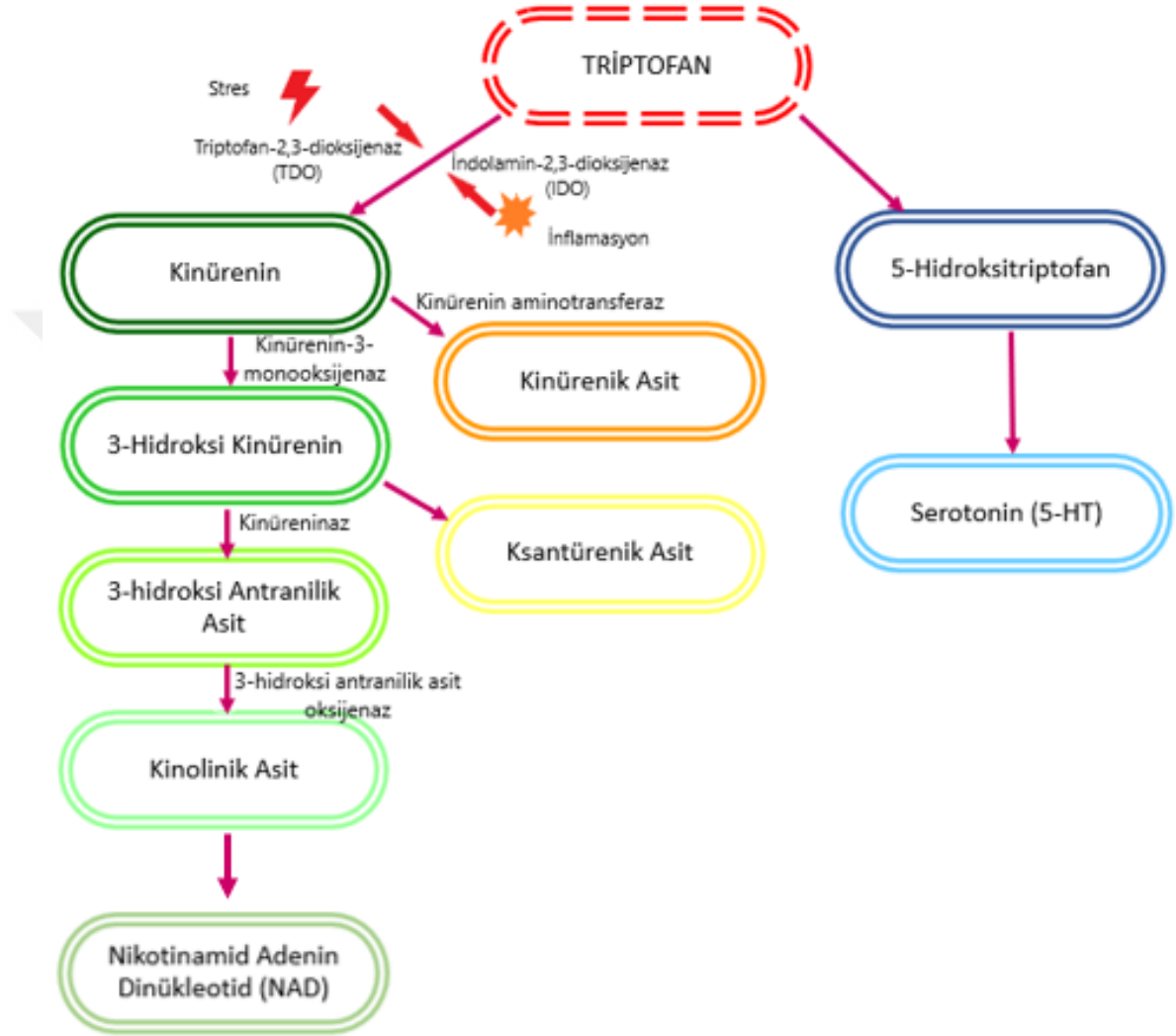


Şekil 2.3. Triptofan metabolizması ürünleri (133).

Triptofan miktarındaki azalma, HIV enfeksiyonu, otoimmün hastalıklar ve kanserde de gözlenen immünosupresyon, kilo kaybı, duygudurum ve bilişsel bozukluklar ile sonuçlanmaktadır. Triptofan miktarından bağımsız olarak kinürenin üretiminin artması, serotonin sentezinin azalmasına ve başta depresyon olmak üzere bazı psikiyatrik hastalıklara neden olabilir (136).

2.4.3. Kinürenin Yolağı

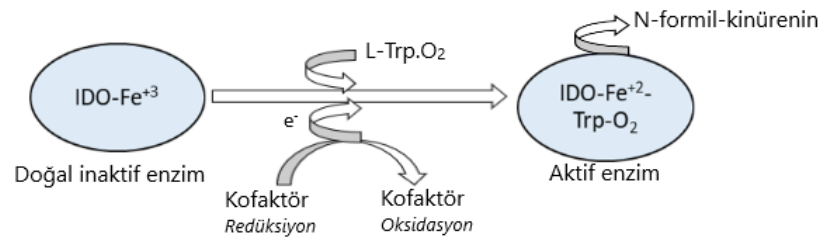
Triptofanın memelilerde ana katabolik yolu olan kinürenin yolağı, temel kofaktör olan NAD biyosenteziyle sonuçlanmaktadır (Şekil 2.4) (137, 138).



Şekil 2.4. Triptofan metabolizması.

Yolağın adı, triptofan metabolizmasının yan ürünleri arasında en bol bulunan molekül olan kinüreninden türetilmiştir. Kinürenin doğrudan triptofandan üretilmez; kinürenin, arilformamidaz (AFM) enzim aktivitesinin bir sonucu olarak, N-formilkinüreninden üretilir. Kyn yolunun ilk ve hız sınırlayıcı reaksiyonu, Trp'nin indoleamin-2,3-dioksijenaz-1 (IDO-1), indoleamin 2,3 dioksijenaz-2 (IDO-2) ve triptofan-2,3-dioksijenaz (TDO) enzimleri tarafından N-formil-kinürenine

oksidasyonudur (137). Karaciğer hücrelerinde triptofan, triptofan oksijenaz ve L-triptofan pirolaz olarak da bilinen TDO enzimi tarafından, diğer hücre tiplerinde ise indüklenebilir enzim olan ve triptofan pirolaz olarak da bilinenIDO tarafından N-formil-kinürenine metabolize edilmektedir (137, 138). IDO'nun aktivasyonu için L-Trp ve O_2 'nin enzimin aktif bölgesine bağlanmasını kolaylaştıran, Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye dönüşümü gerekmektedir (137, 139). Şekil 2.5'te, IDO'nun katalitik aktivitesi şematize edilmiştir.



Şekil 2.5. IDO'nun katalitik aktivitesi.

N-formil-kinürenin oluşumu, kinürenin sentezinde triptofan metabolizmasının başlatılması kadar önemlidir (131); N-formil-kinürenine daha sonra kendiliğinden formik asit ve Kyn'e ayrışır. IDO aracılığıyla kinürenin üretiminin ardından, çeşitli enzimler ile kinürenin daha fazla metabolize edilebilmektedir (140). Kinüreninaz, Kyn'den antranilik asit (AA) üretir. Kinürenin-3 monooksijenaz (KMO), Kyn'i, 3-hidroksikinürenin (3-OHkyn)'e dönüştürür; oluşan 3-OHkyn, kinürenin aminotransferaz (KAT) enzimi ile ksantürenik asit (XA) veya kinüreninaz enzimi ile 3-hidroksiantranilik asit (3-HAA) oluşturmak için kullanılır (141). 3-HAA güçlü bir uyarıcı ve konvülsan olan eksitotoksin kinolinik aside (QA) metabolize edilir (141, 142). KAT aynı zamanda Kyn'i kinürenik aside (KYNA) metabolize eder. KYNA, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonist özelliklerinden dolayı nöroprotektif bir bileşiktir. İnsanlarda, sıçanlarda ve farelerde, merkezi sinir sisteminde KYNA sentezinde KAT I, II ve III olarak adlandırılan üç protein yer alır (143). Bu enzimler, substrat özgüllüğü ve diğer biyokimyasal, biyofiziksel özellikleriyle ayırt edilir. KAT I ve KAT III benzer genomik yapıya sahipken, KAT II tamamen farklı bir genomik yapıdadır. KAT I glia ve nöronlarda, kan basıncı ve kalp atış hızı regülasyonunda etkilidir (144). KAT III ve KAT I, böbrek, karaciğer, kalp, akciğer ve nöroendokrin

organlar dahil olmak üzere birçok dokuda eksprese edilir. KAT II ise en çok sıçan ve insan beyinde bulunur (138).

Kinürenin-3-monooksijenaz, merkezi sinir sisteminde mitokondriyal dış membranda yer alır ve ağırlıklı olarak mikroglia da eksprese edilen bir β -nikotinamid adenin dinükleotid 2'-fosfat (NADPH) bağımlı flavin monooksijenazdır (145). KMO ekspresyonu inflamasyon durumlarında veya immün stimülasyondan sonra artar. Kinürenin yolağının dallanma noktasındaki konumu KMO'nun Alzheimer hastalığı ve Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef haline getirir. Birçok çalışma, KMO inhibitörlerinin beyin hasarı modellerinde olumlu etkilerini göstermiştir; ancak, kan-beyin bariyerinin zayıf penetrasyonu bir problemdir (138).

Triptofan metabolizması ve kinürenin üretiminin başlatılmasında rol oynayan TDO, esas olarak karaciğerde bulunur ve triptofan veya kortikosteroidler tarafından uyarılır. TDO, TDO₂ tarafından kodlanan hem içeren sitozolik bir enzimdir. İnsan vücudundaki Trp akışının fizyolojik düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. TDO, anksiyeteye ilişkin davranıştan sorumlu olan metabolik yolda potansiyel olarak yer almaktadır (122, 131, 138, 146).

İndoleamin-2,3-dioksijenaz-1 ise, ekstra hepatik dokularda daha fazla bulunan bir enzimdir ve makrofajlar, mikroglia, nöronlar ve astrositler dahil olmak üzere birçok hücrede bulunabilir. Lipopolisakkaritler, amiloid peptitler ve (139, 147) TNF- α , IL-6 gibi T yardımcı hücre kaynaklı sitokinler ve inflamatuvar moleküller tarafından indüklenir.IDO-1, proinflamatuvar sitokinler tarafından indüklendiği için,IDO-1 ekspresyonunun mukozal inflamasyonla karakterize gastrointestinal hastalıkların ve kolon kanserinin biyobelirteci olarak rol oynamaktadır. Kudo ve Boyd, plasentada bir triptofan taşıyıcısını karakterize ederek, indoleamin-2,3 dioksijenaz aktivitesinin IFN- γ tarafından güçlü bir şekilde uyarıldığını göstermiştir (130, 148, 146). IFN- γ , *in vivo* ve *in vitro* olarak IDO-1'in gen ekspresyonunu ve enzimatik aktivitesini indüklemektedir. IFN- α , IFN- β , lipopolisakkarit (LPS) ve sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen (CTLA)-4 gibi

diğer inflamatuvar uyarılar, IDO'yu IFN- γ 'ya göre daha düşük miktarda indüklemektedir (137, 138).

Bazı virüsler, hücre içi patojenler ve hücrel enfeksiyonlar belirli hücrelerde IDO'yu indükleyerek kinüenin metabolitlerinin oluşmasını sağlamaktadır. IDO'nun indüklenerek triptofan katabolizmasını arttırması, enfeksiyöz hastalıklarda büyüme için triptofana ihtiyaç duyan mikroorganizmalar üzerinde antiproliferatif etkiye neden olmaktadır (149-151).

İmmün sistem aktive olduğunda, aktif T hücreleri ve lökositler tarafından IFN- γ salımı kinüenin yolağını yukarı regüle eder. Bu yolağın aktive edilmesi, triptofanın hızla bozunmasına ve kinüenin miktarının artmasına sebep olur (152). Triptofan degradasyonunun artmasıyla birlikte genellikle serum, BOS ve/veya beyin dokusunda Kyn miktarında artış gözlenir. Triptofanın kinüenin yolağıyla parçalanması, genellikle kinolinik asit üretimiyle sonuçlanmaktadır (130). Kinolinik asit birincil olarak bir eksitotoksik NMDA reseptör agonisti olarak kabul edilmektedir (146). Eksitotoksin kinolinik asit üretimi, inflamasyon sonucunda bağışıklık aktivasyonunun ardından genellikle önemli ölçüde artar (130).

Triptofanın metabolik degradesyonu sırasında oluşan ilk kararlı ara ürün kinüenindir (130) ve kinüenin üretildikten sonra, yolağın diğer iki dalına girerek, ksentürenik asit (XaA) ve/veya kinürenik aside metabolize edilebilir (131); oluşan ara ürünler birbirlerinin etkilerini sinerjistik veya antagonist olarak etkileyebilir (130). KA'nın merkezi sinir sisteminde önemli bir rol oynadığı görülmüştür. KA, N-metil-D aspartat reseptörlerinin aktivasyonunu inhibe ederek, nöron hücrelerini NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile uyarılan hücre ölümüne karşı koruyabilmektedir (131).

Kinüenin yolağının yukarı regülasyonu HIV gibi enfeksiyöz hastalıklar, nörolojik bozukluklar, afektif bozukluklar, otoimmün hastalıklar, periferal durumlar ve malignite gibi patolojik durumlarda görülmektedir. Akciğer ve meme kanserinde

de triptofan miktarında önemli artışlar rapor edilmiştir (153). Triptofan tükenme derecesi, nörodejeneratif bozukluklarda çok önemlidir. Triptofan katabolizmasındaki progresif artış aynı zamanda normal yaşlanma sürecinin bir parçasıdır. Bu yüzden patolojik durumlarla ilgili çalışmalar, yaşa göre sınıflandırılmış kontrol gönüllüleri ile gerçekleştirilir (154). Bazı çalışmalarda neopterin konsantrasyonları ile Kyn düzeyinin ve Kyn/Trp oranları beraber değerlendirilmektedir ve neopterin ile Kyn/Trp değerleri ters orantılı bulunmuştur (155).

2.4.5. Kinürenin Yolağı ile İlişkili Hastalıklar

Kinürenin ve metabolitlerinin biyolojik aktivitesinin iyi bilinmesi, yolaktaki biyokimyasal reaksiyonların regülasyonu ve kontrolüne olanak sağlamaktadır (131). Kinürenin yolağının çeşitli basamaklarında oluşan hidroksiantranilik asit, kinolinik asit, kinürenik asit ve pikolinik asit nöroaktiftir (130). Kinürenik asit merkezi sinir sisteminde nöro koruyucu rol oynayan bir moleküldür. N-metil-D aspartat reseptörlerinin aktivasyonunu azaltarak nöron hücrelerini NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile uyarılmış hücre ölümüne karşı koruyabilir (131, 156). Kinürenik asit, gastrointestinal sistemde antiinflamatuvar etkiye sahiptir ve *in vitro* kolon kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (146). Alzheimer hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz, Huntington hastalığı, AIDS demans kompleksi, sıtma, kanser, depresyon gibi birçok hastalıkta kinürenin yolağının aktif olarak rol oynadığı görülmüştür (130). Bu patolojiler sırasında gözlenen önemli ölçüde değişen triptofan ve metabolit miktarları, normal düzeylere getirildiğinde semptomların azalmasını sağlamaktadır. Kinürenin yolağı metabolitleri son dönem böbrek hastalarında önemli ölçüde yüksek çıkarken, üremik hastalarda triptofan konsantrasyonları sağlıklı insanlara göre oldukça düşüktür (138). Kyn, *in vitro* olarak sistein, NADH ve askorbik asidi fotooksidize edebilir ve *in vivo* olarak lens içinde meydana gelen fotobiyolojik süreçlerle doğrudan ilgilidir. Bu fotooksidasyon, yaşa bağlı olarak azalmış glutatyonun tükenmesinden ve/veya lenste H₂O₂ oluşumundan sorumludur. Artan Kyn seviyeleri, doğal öldürücü (NK) hücrelerde reaktif oksijen türleri (ROS) yoluyla hücre ölümüne ve sistemik inflamasyonda düşük kan basıncına neden olduğu gösterilmiştir (139, 150).

Aynı zamanda Kyn, astroglial hücrelerde büyüme faktörü üretimini uyararak erken nöronal büyüme ve gelişmeye katkıda bulunabilir. Kan beyin bariyerini kolayca geçebildiği için beyindeki kinürenin yaklaşık % 60'ı çevreden gelmektedir (138).

Arilformamidaz enzimi, 305 amino asitli bir proteindir. Memelilerde, AFM'nin ekspresyonu ağırlıklı olarak böbrekler ve karaciğerde olmaktadır. Hücre içi düzeyde ise AFM'nin ekspresyonu daha çok olarak sitoplazmada olmaktadır. AFM enzimatik aktivitesi böbrekler ve karaciğerde beyin, kalp, akciğer, timus, mide, bağırsak, dalak gibi diğer organ ve dokulardan daha yüksektir (131).

Enzim IDO-1 ile benzer yapısal ve aktivitelere sahip görece olarak yeni bir enzim olan IDO-2 ve IDO-1 için kodlama genleri yan yana yer almaktadır. IDO-2, ekspresyon modeli ve sinyal yolağı bakımından farklılık gösterir ve D-1-metil-triptofan tarafından inhibe edilmektedir (157). 1998 yılında Munn ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada IDO'nun, fetüsün anne saldırısından korunmasında etkili olduğu görülmüştür. İnsanlarda IDO, gebeliğin 6. gününden itibaren, blastosistler tarafından ve sonrasında gebelik sonuna kadar sinsitiotrofoblastlar, ekstrasvillöz sitotrofoblastlar ve villöz stroma ve fetal membranlardaki makrofajlar tarafından üretilir. Bu enzim, koryonik gonadotropin gibi hamilelik sırasında yüksek oranda üretilen hormonlar tarafından uyarılır. Kinürenin yolağının, gebelikte immünosupresif rolü olduğu için bu yolakta meydana gelen bir deformasyon gebelik sırasında gebeliğin sonlandırılmasına kadar varabilen komplikasyonlara neden olabilmektedir (158).

Yapılan çalışmalarda inflamasyonun eşlik ettiği çeşitli hastalıklarda triptofan katabolizmasının etkili olduğu görülmüştür. Triptofan konsantrasyonunun yüksek olduğu dokularda lökositlerde birikiminin olduğu görülmüştür. Bu durum triptofan veya metabolitlerinin bağışıklık sistemi aktivasyonunu modüle ettiği kanısını desteklemektedir (122). Triptofan ve kinürenin düzeyleri ve Kyn/Trp oranı çeşitli patolojik koşullar altında ölçülerek, immün sistem aktivasyonunun derecesi ve kinürenin yolu ile hastalık durumları arasındaki ilişki ortaya çıkmaktadır (130). Farelerde yapılan bir çalışmada triptofan tükenmesinin T hücre proliferasyonunu ve

aktivitesini baskıladığı; böylece fetal dokuların reddine karşı koruduğu görölmüştür (130, 148).

Farelere lipopolisakkarit enjeksiyonu ile triptofan metabolizmasının indüklendiği, uygulamadan 24 saat sonra alınan serumlarda kinürenin konsantrasyonunun 3 kat attığı saptanmıştır. Kinürenin kan dolaşımına geçtiğinden, serumda kinürenin konsantrasyonunun artması belirli bir dokuda meydana gelen artmış triptofan metabolizmasını yansıtabilmektedir. Kinürenin böbrekler ve karaciğer ile kandan temizlenmektedir. Radyoaktif işaretlenmiş kinüreninin farelere intravenöz olarak verilmesinden 4 saat sonra işaretli kısmın yaklaşık %80'inin XaA'ya metabolize olduğu ve idrarla atıldığı görölmüştür (131).

Piridoksal fosfat, kinüreninaz enziminin kofaktörüdür ve bu kofaktörün yokluğunda kinüreninaz enzimi inaktif olacağı için, kinürenin metabolitlerine dönüştürülemez. Triptofan yüklü, ancak piridoksal fosfat tükenmiş sıçan ve insanlardan alınan idrar örneklerinde, kinürenin atılımının arttığı görölmüştür. İdrarla atılımının artması, kinüreninin yetersiz metabolizmasına karşılık klerensinin fizyolojik bir yoludur. Kinürenin yolağındaki alt akış enzimlerinin yetersiz aktiviteleri, immün sistemin uyarılmasıyla artan kinürenin üretiminin metabolizasyonu için hız sınırlayıcı bir faktördür. Bu yüzden serumda kinürenin birikimi, neopterin artışı ile birlikte inflamasyonun biyokimyasal belirtecidir. Neopterin, aktifleştirilmiş makrofajlarda aşırı miktarda üretilen GTP'nin bir metabolitidir. Neopterin konsantrasyonunun artması, inflamatuvar bir reaksiyona işaret ederken, artmış kinürenin, kinürenin yolağıyla triptofan metabolizmasının aktivasyonunu gösterir. Romatoid artrit, sistemik lupus eritematöz, sepsis ve Huntington hastalığı dahil olmak üzere birçok hastalıkta kinürenin konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Ayrıca, kinürenin ve akış aşığı metabolitleri biyolojik olarak aktiftir. Bağışıklık sisteminde, kinürenin ve metabolitleri immünsüpresyona dahil olur. Bu nedenle, azalmış kinürenin metabolizması, 3-HK ve 3-HAA gibi kinürenin antiinflamatuvar metabolitlerinin fizyolojik rolünü azaltabilir (131).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Gereçler

3. 1. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde	Marka
Albümin	Sigma
Asetonitril	Merck
L-kinürenin	Sigma
L-triptofan	Sigma
Perklorik asit	Sigma
Potasyum dihidrojen fosfat	Merck
Sodyum hidroksit	Merck

3. 1. 2. Kullanılan Araç ve Cihazlar

Cihaz Adı	Marka-Model
Bilgisayar	HP
Buzdolabı	Arçelik
Deiyonize distile su cihazı	Baunstead
Derin dondurucu	Arçelik
Enzim-immünoassay plak okuyucu	Spectra MaxM2
Floresan dedektörü	HP Agilent G1312A
Manyetik karıştırıcı	Dottingen
Neopterin-enzim-immünoassay kiti	IBL
Oktadodesil silikajel C18 Kolon 25 cm x 4,6 mm partikül büyüklüğü 5µ	ACE

Ön kolon (Oktadodesil silikajel C 18)	Hichrom
Otomatik örnekleyici	HP Agilent G1313A
Otomatik pipetler	Gilson
pHmetre	Cyberscan pH500
Pompa	HP Agilent G1311A
Santrifüj	Hettich Universal
Terazi	Mettler_Schimadzu
UV-görünür bölge dedektörü	HP Agilent G1314A
Vorteks	Janke-Kunkel VF2
Yatay çalkalayıcı	Edmond Bühler
Yazıcı	HP Laser
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	HP Agilent 1100

3.1.3. Neopterin Analizinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı

Örneklerde neopterin analizlerinde kullanılan çözeltiler, üretici firmanın ELISA kit protokolü olarak hazırladığı uygulama esaslarında yer aldığı şekilde hazırlandı.

Neopterin Enzim Konjugatı

Kullanıma hazır halde bulunan çözeltilerdir; neopterin/alkalin fosfat konjugatı gerekli miktarda doğrudan kullanıldı.

Neopterin Antiserum Çözeltisi

Kullanıma hazır halde bulunan çözelti gerekli miktarda doğrudan alındı.

Yıkama Tampon Çözeltisi

Konsantre halde bulunan yıkama çözeltisi, kullanılmadan önce deiyonize su ile 1:20 oranında seyreltilti.

TMB (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin) Substrat Çözeltisi

Kullanıma hazır halde bulunan çözelti doğrudan gerekli miktarda alındı.

TMB Reaksiyon Durdurma Çözeltisi

Kullanıma hazır halde bulunan 1M H₂SO₄ çözeltisi, gerekli miktarda doğrudan alındı.

Neopterin Standart Çözeltileri

Tablo 3.1'de gösterildiği gibi farklı konsantrasyonlarda neopterin, fosfat tamponu ve koruyucu madde içeren neopterin standart çözeltileri ELISA kitinin içinde yer almaktadır.

Tablo 3.1. Neopterin standart çözeltiler ve konsantrasyonları.

Standard Çözelti	Konsantrasyon (nmol/L)
Standart A	0
Standart B	1,35
Standart C	4
Standart D	12
Standart E	37
Standart F	111

Kontrol Serumları

Ölçümlerin doğruluğunu kontrol amacıyla üretici firma tarafından sağlanan, biri negatif diğeri pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere, konsantrasyonları bilinen (0,94 ve 4,9 ng/ml) 2 adet serum örneği.

3.1.4. Triptofan ve Kinürenin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

%7 (h/h) Asetonitril içeren 0,015 M Potasyum Fosfat Tamponu pH 6,4

4,08 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) tartıldı ve 140 ml asetonitril eklenerek deiyonize su ile 2 L'ye tamamlandı, manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak çözülmesi sağlandı.

pHmetre pH 4, 7 ve 10 olan solüsyonlarla kalibre edildi; manyetik karıştırıcı üzerinde 1 N sodium hidroksit (NaOH) çözeltisi kullanılarak %7 (h/h) asetonitril içeren KH_2PO_4 pH 6,4 tampon çözeltisi hazırlandı.

Albümin Standart Çözeltisi

70 g/L albümin standart çözeltisi hazırlamak için 665 mg albümin tartıldı, deiyonize suyla çözülerek hacim 9,5 ml'ye tamamlandı.

Perklorik asit çözeltisi

Protein çöktürme amacı ile perklorik asit çözeltisi doğrudan kullanıldı.

1 mM Kinürenin Standart Çözeltisi

1,26 mg tartılan L-kinürenin 6,052 ml deiyonize suda çözülerek kinürenin standart çözeltisi hazırlandı.

1 mM Triptofan Standart Çözeltisi

1,36 mg olarak tartılan L-triptofan 6,659 ml deiyonize suda çözülerek triptofan standart çözeltisi hazırlandı. Distile su ile albuminsiz olarak hazırlanan standart çözeltiler ependorflara aşağıdaki miktarlarda hazırlandı:

- SST₁: 500 μL S₂ + 500 μL distile su
- SST₂: 25 μL Triptofan + 5 μL K + 970 μL distile su
- SST₃: 50 μL Triptofan + 10 μL K + 940 μL distile su
- SST₄: 75 μL Triptofan + 15 μL K + 910 μL distile su

Hazırlanan eppendorflar vortekslendikten sonra viallere 200 µL SST çözeltilerinden alınıp her birine 250 µL distile su eklendi.

3. 2. Çalışma Gruplarının Tanımlanması

Bu tez çalışması, Tekirdağ Özel Star Medica Hastanesi'nin 29.08.2019 tarih ve 2019/481 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiş ve çalışma süresince Helsinki Bildirgesi ilkeleri takip edilmiştir.

Çalışma grubu Tekirdağ Özel Star Medica Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran kişilerden oluşturulmuştur.

Bu tez çalışması toplam 17 katılımcı ile gerçekleştirilmiştir. Katılımcılara ait demografik bilgiler Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Katılımcı bilgileri ve demografik özellikleri.

Demografi		n	Yaş (Yıl)		
			Ortalama±SS	Minimum	Maksimum
Sigara alışkanlığı	Var	2	24,5±6,4	20	29
	Yok	15	26,3±4,8	17	34
Doğum şekli	Normal	2	28,5±3,5	26	31
	Sezeryan	15	25,7±5	17	34
Önceki doğum	Var	7	30±2,6	26	34
	Yok	10	23,3±4	17	30
Kan grubu	A	9	25,6±5,8	17	34
	B	4	27,8±2,6	24	30
	0	4	25,5±4,8	21	31
	Rh +	14	26,4±4,6	20	34
	Rh -	3	24,3±6,6	17	30
Toplam katılımcı		17	26,1±4,8	17	34

3. 3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Katılımcı olmayı kabul eden, yeni doğum yapmış ve kolostrum sütü geldiği hekim tarafından doğrulan her bir anneden, 3-4 ml kolostrum doğrudan alındı. Tüp içerisinde, analiz gününe kadar -20°C'de örnekler soğukta saklandı. Neopterinin ışığa duyarlı olma özelliği nedeniyle kolostrum örneklerinin toplanması, saklanması ve ölçüm aşamalarında gün ışığından korunmasına özen gösterildi.

3.4. Yöntemler

3. 4. 1. Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi

Analiz günü, dondurucudan çıkarılan ve oda ısısında ışıktan korunarak çözünmesi beklenen her bir kolostrum örneği vortekslendi ve eppendorflara aktarıldı. 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Yağ tabakası ayrılan örnek süpernatantları, standart ve kontrol çözeltilerinin her birinden 20 µl alınarak ELISA plağı kuyucuklarına ilave edildi. 100 µl enzim konjugatı çözeltisi ve 50 µl neopterin antiserum plak kuyucuklarına ilave edildi. Plak ışıktan korunarak oda ısısında yatay çalkalayıcıda 500 devir/dk'da 90 dakika inkübasyona bırakıldı.

90 dakika sonunda kuyucuklardaki çözeltiler uzaklaştırıldı ve hazırlanan yıkama solüsyonundan her seferinde 300 µl kullanılarak 4 kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 150 µl TMB substrat çözeltisi eklendi ve plak oda sıcaklığında, ışıktan korunarak, yatay çalkalayıcıda 500 devir/dk hızda 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra her bir kuyucuğa 150 µl TMB durdurma solüsyonu eklendi. 450 nm dalga boyunda ELISA plak okuyucuda optik dansiteler ölçüldü.

3. 4. 2. Örneklerde Neopterin Konsantrasyonlarının Hesaplanması

Sonuçlar değerlendirilirken neopterin düzeylerine karşılık gelen optik dansite değerleri kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı ve örneklerdeki neopterin konsantrasyonları hesaplandı ve nmol/L olarak ifade edildi.

3.4.3. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesi

Her bir örnekten 100 µl alınarak 0,015 M KH₂PO₄ tamponu, pH: 6,4 ile 1:2 oranında seyreltildi. 50 µl perklorik asit çözeltisi ilave edilerek protein çöktürme işlemi yapıldı. Anne sütündeki kinürenin miktarı çok düşük olduğu için örnekler 100 µl kinürenin çözeltisi ile spike yapıldı.

Tüpler vortekslenmeyi takiben 10 dakika süreyle 15000 devir/dk'da santrifüjlendi. Süpernatantlar 400 µl alınarak viallere aktarıldı. 25 µl hacimde HPLC enjeksiyonu yapıldı. Hareketli faz olarak 0,015 M KH₂PO₄ tamponu kullanıldı ve 0,8 ml/dk akış hızında ölçümler yapıldı.

Triptofan düzeylerinin belirlenmesinde floresan dedektör (eksitasyon dalga boyu 285 nm, emisyon dalga boyu 365 nm), kinürenin düzeylerinin saptanmasında ise ultraviyole dedektör (dalga boyu 360 nm) kullanıldı. Her iki ölçüm eş zamanlı yapıldı ve triptofan ve kinürenin mol/L olarak hesaplandı. İndolamin 2,3-dioksijenaz aktivitesini ifade etmek için, her bir örnekteki kinürenin konsantrasyonunun, o örnekteki triptofan konsantrasyonuna oranı (Kyn/Trp) kullanıldı ve µmol/mmol olarak ifade edildi.

3.4.4. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

1 mM standart konsantrasyonda hazırlanan triptofan ve kinürenin stok standart çözeltileri, çeşitli konsantrasyonlarda otomatik örnekleyici ile sisteme yüklendi. Standart konsantrasyonlara karşılık gelen pik yüksekleri kullanılarak kalibrasyon doğruları hazırlandı.

Örneklerdeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarının belirlenmesinde, standartlarla hazırlanan kalibrasyon doğruru kullanıldı.

3.4.5. Kullanılan Yöntemlerin Geçerliliğinin Değerlendirilmesi

Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi

Distile su ile albüminsiz olarak hazırlanan 12.5, 25, 50, 75 μM standart triptofan ve 2.5, 5, 10, 15 μM standart kinürenin çözeltileri analiz edilerek triptofan ve kinürenin için kullanılan yöntemin geri kazanım oranları saptandı.

Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin (Kesinliğinin) İncelenmesi

Rastgele seçilen aynı kolostrum örneği kullanılarak, aynı gün yapılan ölçümler ile triptofan ve kinürenin için gün içi varyasyon katsayısı (VK) bulundu. Günler arası % VK değerleri ise aynı yöntemin farklı tarihlerde uygulanması sonucu saptanan ölçümlerin sonuçları kullanılarak hesaplandı.

Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak ölçülen triptofan ve kinürenin için belirlenebilen ve ölçülebilen en düşük değerler olan nitel (NTL) ve nicel (NCL) konsantrasyonlar hesaplandı.

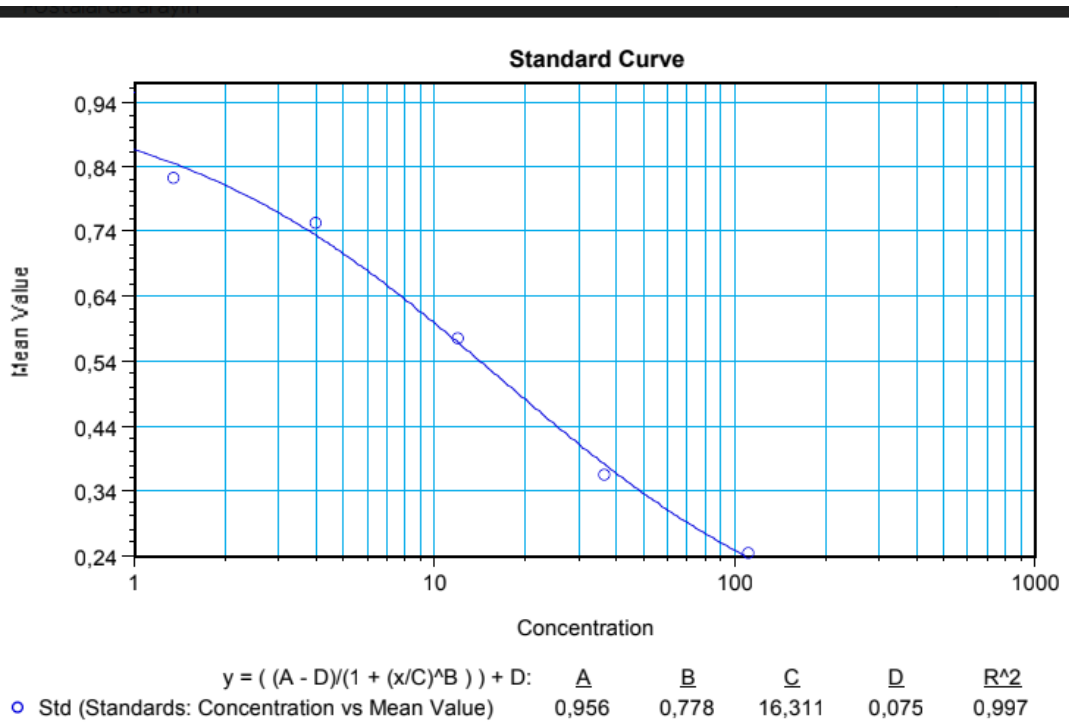
3.4.6. İstatistiksel Değerlendirme

Demografik bilgiler ile ölçümler sonucunda elde edilen veriler, "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS) istatistik yazılımı kullanılarak değerlendirildi. Neopterin, triptofan, kinürenin ve Kyn/Trp oranları aritmetik ortalama ve standart sapma (hata) ile gösterildi. Tanımlayıcı istatistikler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişki korelasyon analizi ve basit regresyon analizi ile değerlendirildi. Alfa değeri 0,05 olarak seçilerek, $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4. 1. Neopterin Düzeyleri

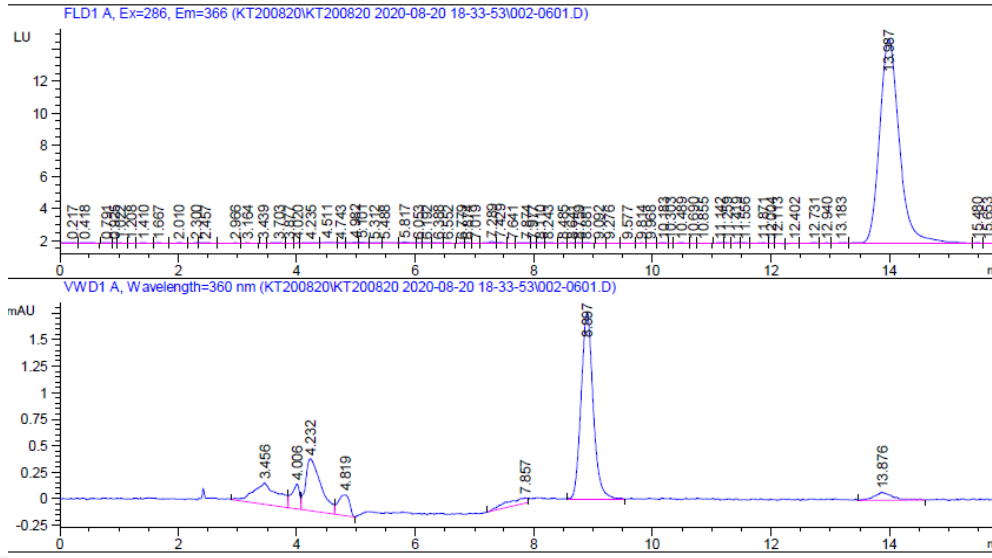
Neopterin düzeyleri ELISA kit kullanma talimatı ile hazır standart çözeltiler ile yapılan ölçümlerle elde edilen kalibrasyon doğrusu kullanılarak hesaplanmıştır. Şekil 4.1'de standart neopterin çözeltileri ile elde edilen kalibrasyon eğri örneği gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Neopterin kalibrasyon eğri örneği.

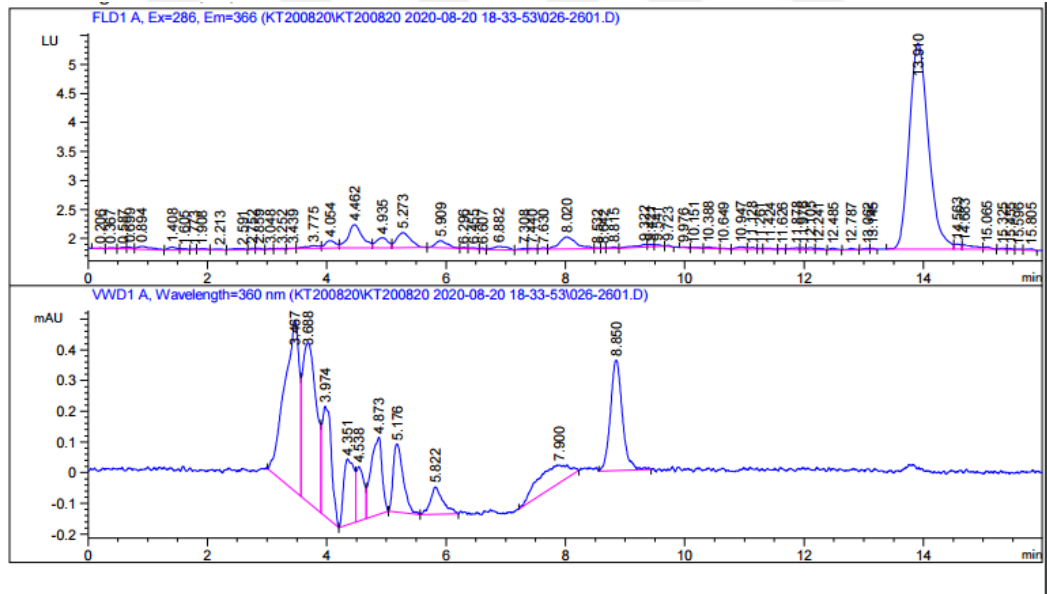
4. 2. Triptofan ve Kinürenin Düzeyleri

Triptofan ve kinürenin standart çözeltileri kullanılarak eş zamanlı elde edilen pik örnekleri Şekil 4.2'de verilmiştir. Şekil 4.3'te ise rastgele seçilen bir kolostrum örneğine ait triptofan ve kinürenin kromatogramları gösterilmiştir.



Şekil. 4.2. Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kromatogramlar.

Hareketli faz: %7 (h/h) asetonitril içeren 0,015 M KH_2PO_4 , pH: 6,4 Tamponu. Akış hızı: 0,8 ml/dk. A) Floresan dedektör: Triptofan (λ_{eks} : 285 nm, λ_{em} : 365 nm) B) UV dedektör: Kinürenin, λ : 360 nm.

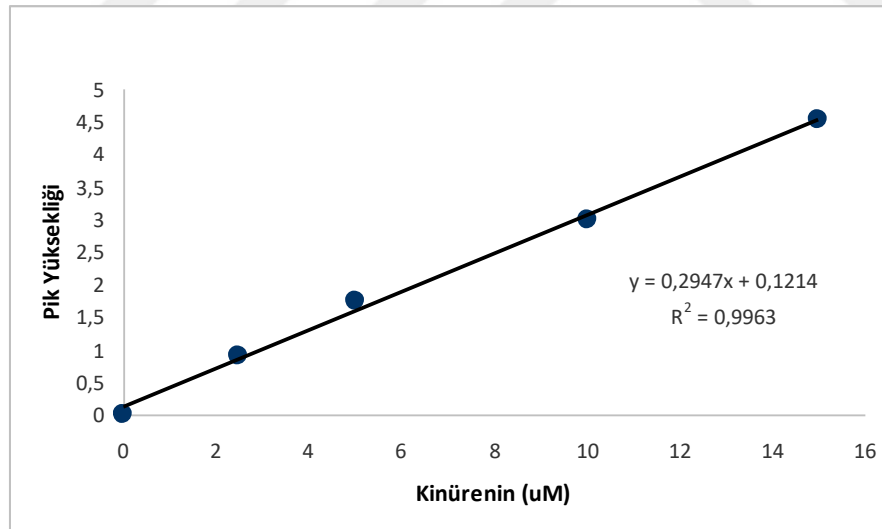
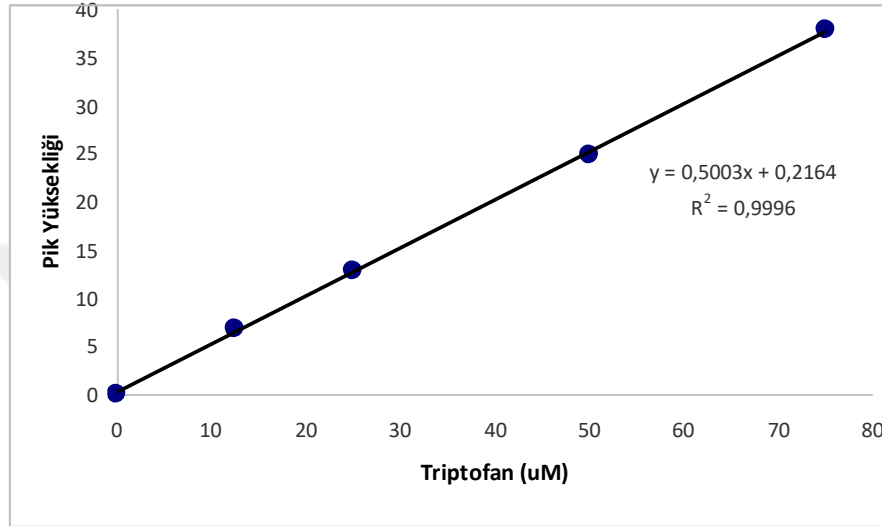


Şekil. 4.3. Kolostrumda triptofan ve kinürenin kromatogram örnekleri.

Hareketli faz: %7 (h/h) asetonitril içeren 0,015 M KH_2PO_4 , pH: 6,4 Tamponu. Akış hızı: 0,8 ml/dk. A) Floresan dedektör: Triptofan (λ_{eks} : 285 nm, λ_{em} : 365 nm) B) UV dedektör: Kinürenin, λ : 360 nm.

4. 3. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğru Örnekleri

Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan standart triptofan ve kinürenin çözeltileri ile kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır (Şekil 4. 4). Validasyon çalışmaları ile tüm serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin düzeyleri, ilgili kalibrasyon doğrusuna ait denklem kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.4. Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kalibrasyon doğruları.

4. 4. Triptofan ve Kinürenin için Uygulanan Yöntemin Validasyon Çalışmaları

4.4.1. Geri Kazanım Oranının İncelenmesi

Tablo 4.1. Triptofan için yöntemin geri kazanım oranı.

TRİPTOFAN (μM)			
Örnek	Beklenen Düzey	Saptanan Düzey	% Geri Kazanım
SST-1	12,5	13,37	106,96
SST-2	25	25,20	100,8
SST-3	50	56,09	112,18
SST-4	75	67,54	90,05
Ortalama geri kazanım \pm SS			102,50 \pm 9,51

Tablo 4.2. Kinürenin için yöntemin geri kazanım oranı.

KİNÜRENİN (μM)			
Örnek	Beklenen Düzey	Saptanan Düzey	% Geri Kazanım
SST-1	2,5	2,42	96,8
SST-2	5	4,63	92,6
SST-3	10	10,19	101,9
SST-4	15	11,98	79,87
Ortalama geri kazanım \pm SS			92,79 \pm 9,42

4. 4. 2. Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin (Kesinliğinin) İncelenmesi

Rastgele seçilen serum örnekleri ile aynı gün ve farklı günlerde aynı koşullarda HPLC yöntemi ile triptofan ve kinürenin düzeyleri ölçülerek gün içi ve günler arası ölçümlerin tekrarlanabilirliği incelendi.

Gün içi ve günler arası ölçümlerin % varyasyon katsayısı (VK) aynı gün ve farklı günlerde iki kez ölçüm yapılarak değerlendirilmiş ve sırasıyla Tablo 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Güniçi ölçümlere ait varyasyon katsayıları.

Ölçüm	Gün içi, % VK			
	Triptofan (μM)		Kinürenin (μM)	
	Ortalama \pm SS	% VK	Ortalama \pm SS	% VK
1.	10,33 \pm 0,21	2,03	0,23 \pm 0,0113	4,9
2.	6,87 \pm 0,08	1,16	0,22 \pm 0,0033	1,5
3.	30,8 \pm 0,31	1	0,41 \pm 0,018	4,3
Ortalama % VK	1,4		3,6	

Tablo 4.4. Günler arası ölçümlere ait varyasyon katsayıları.

Ölçüm	Günler arası, % VK			
	Triptofan (μM)		Kinürenin (μM)	
	Ortalama \pm SS	% VK	Ortalama \pm SS	% VK
1.	6,87 \pm 0,24	3,44	0,87 \pm 0,04	4,66
2.	12,81 \pm 0,43	3,32	03,0632 \pm 0,08	2,49
3.	35,97 \pm 2,26	6,30	1,62 \pm 0,16	9,57
4.	26,54 \pm 2,02	7,60	4,09 \pm 0,50	12,34
Ortalama % VK	5,2		7,3	

4. 4. 3. Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi

Triptofan ve kinürenin için saptanabilir alt limiti ifade eden nitel limit (NTL) ve nicel limit (NCL) incelenmiştir. Yöntemin duyarlılığını gösteren bu değerlerden NTL triptofan ve kinürenin için sırasıyla 1,32 ve 0,12 μM olarak hesaplanmıştır. NCL değer ise triptofan ve kinürenin için sırasıyla 4,0 ve 0,37 μM olarak hesaplanmıştır.

4. 5. Katılımcıların Neopterin, Kinürenin ve Triptofan Düzeyleri

Sunulan yüksek lisans tez projesi kapsamında, yeni doğum yapan 17 anneden alınan kolostrum örneklerinde belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin konsantrasyonları ile IDO aktivitesini ifade eden Kin/Trp düzeyleri hesaplanmıştır. Bu değerler Tablo 4.5'te sunulmuştur. Kolostrum örneklerinde saptanan neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ile Kyn/Trp değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Tablo 4.6'da korelasyon değerleri (Rs) ve p değerleri gösterilen korelasyonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (Tümü, $p>0,05$).

Örnek alınan yeni doğum yapmış katılımcı annelerin yaşları ile tez kapsamında kolostrum örneklerinde belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin konsantrasyonları ile Kyn/Trp düzeyleri arasında herhangi bir istatistiksel ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Kolostrum örneklerinde ($n=17$) belirlenen bu değişkenler ile annelerin yaşı arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olmadığı bulunmuştur (Şekil 4.5). Kolostrum örneklerinde belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ile Kyn/Trp değerleri arasında herhangi bir istatistiksel olmayan ilişki korelasyon katsayısı (Rs) ve p değerleri ile ifade edilmiştir Şekil 4.5'te sunulmuştur. Anne yaşı ile kolostrum triptofan düzeyleri arasında negatif ilişkili olduğu, ancak neopterin ve kinürenin konsantrasyonları ile Kyn/Trp değerlerinin pozitif değişme eğiliminde olduğu saptanmıştır (Tümü, $p>0,05$).

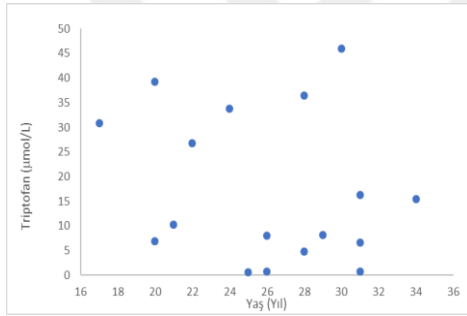
Kolostrum örneği alınan annelerin daha önce doğum yapıp ($n=2$) yapmadıkları ($n=15$) ve doğum şekilleri (normal, $n=7$; sezeryan, $n=10$) sorgulanmış ve buna göre alt gruplama yapılmıştır. Bu değişkenler ile annenin Rh faktörü, kan grubu, sigara içme alışkanlığı ve bebeğin cinsiyeti ile ölçülen parametreler ile alt sınıflamalar ayrıntılanmıştır. Bu şekilde yapılan alt gruplamalara göre belirlenen parametreler (neopterin, triptofan, kinürenin ve Kin/Trp) değerlendirilmiştir. Demografik özelliklere göre alt gruplarda, ölçülen parametrelerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuş ve alt gruplar arasında istatistiksel değerlendirmelere ilişkin p değerleri Tablo 4.7.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Neopterin, kinürenin ve triptofan düzeyleri.

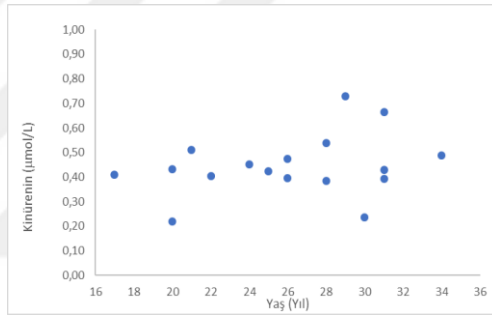
		Ortalama \pm SH (Minimum - Maksimum)			
		Triptofan ($\mu\text{mol/L}$)	Kinürenin ($\mu\text{mol/L}$)	Kyn/Trp ($\mu\text{mol/mmol}$)	Neopterin (nmol/L)
Toplam	n=17	17,29 \pm 62,43 (0,62-46,11)	0,45 \pm 0,03 (0,22-0,73)	153,92 \pm 65,35 (4,97-828,81)	28,88 \pm 2,6 (13,91-47,41)
Önceki Doğum	Var (n=7)	8,64 \pm 2,1 (0,8-16,35)	0,50 \pm 0,53 (0,39-0,73)	166,38 \pm 110,76 (23,98-828,81)	30,59 \pm 4,88 (16,12-47,41)
	Yok (n=10)	23,35 \pm 5,37 (0,78-46,11)	0,41 \pm 0,034 (0,22-0,54)	145,20 \pm 84,63 (4,97-592,13)	27,69 \pm 2,98 (13,91-43,89)
Doğum şekli	Normal (n=2)	4,45 \pm 3,65 (0,8-8,09)	0,53 \pm 0,13 (0,40-0,66)	438,79 \pm 390,02 (48,76-828,81)	19,64 \pm 0,30 (19,34-19,94)
	Sezeryan (n=15)	19,0 \pm 3,94 (0,62-46,11)	0,44 \pm 0,03 (0,22-0,73)	115,94 \pm 56,64 (4,97-707,5)	30,11 \pm 2,79 (13,91-47,51)

Tablo 4.6. Analiz edilen triptofan, kinürenin, Kyn/Trp oranları ve neopterin ilişkisi.

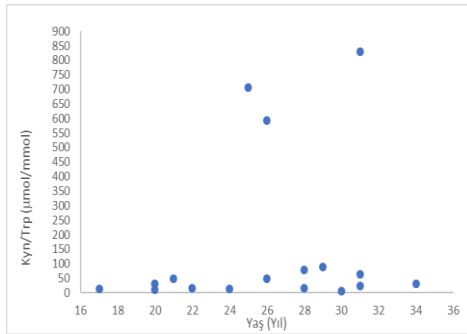
Parametre	Triptofan	Kinürenin	Kin/Trp
Kinürenin	Rs=-0,089 P=0,735		
Kin/Trp	Rs=-0,944 P=0,000	Rs=0,346 P=0,174	
Neopterin	Rs=0,025 P=0,926	Rs=0,034 P=0,896	Rs=0,051 P=0,844



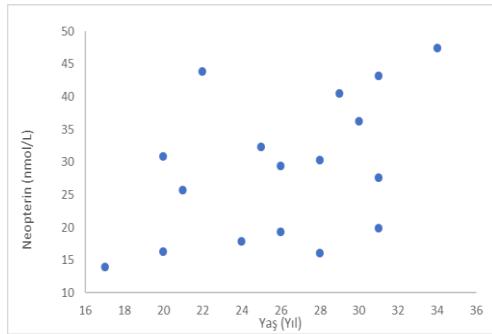
$$p = 0,484; Rs = -0,182$$



$$p = 0,235; Rs = 0,363$$



$$p = 0,300; Rs = 0,242$$



$$p = 0,446; Rs = 0,073$$

Şekil 4.5. Anne yaşları ile triptofan, kinürenin, Kyn/Trp oranları ve neopterin ilişkisi.

Annelerin daha önce doğum yapma/yapmama durumu, doğum şekilleri, annenin Rh faktörünün negatif veya pozitif olması ile kan grupları ve sigara içme

alışkanlıklarının kolostrum neopterin, triptofan, kinürenin ve Kin/Trp düzeylerine etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Tümü, $p>0,05$).

Tablo 4.7. Demografik özelliklere göre ölçülen parametrelerin alt gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmelere ilişkin p değerleri.

<i>Değişken</i>	Triptofan	Kinürenin	Kin/Trp	Neopterin
Daha önce doğum (\pm)	0,143	0,659	0,079	0,696
Rh faktörü (\pm)	0,529	0,411	0,313	0,614
Kan grubu (A, B, O)	0,101	0,505	0,377	0,686
Sigara içme alışkanlığı (\pm)	0,371	0,203	0,766	0,881
Bebeğin cinsiyeti (K, E)	06,88	0,880	0,688	0,421
Doğum şekli (N/S)	0,233	0,765	0,180	0,297

TARTIŞMA

Kolostrum, memeli türüne bağlı olarak doğum sonrası dönemde ilk 24-96 saat boyunca bir memeli tarafından üretilen ilk süttür (159). Yeni doğan bebeğin anne memesinden alacağı ilk besin olan kolostrum, özel olarak çok besleyicidir; yenidoğanı pek çok hastalıktan/patojenden korur ve immün sistemi için ilk aşı gibidir. İlk süt miktarı az olmasına karşın, ilk günlerde yenidoğanın beslenmesi ve gastrointestinal sistemin iyi çalışması için yeterlidir. Önemli olan annenin doğumdan sonra en kısa zamanda hemen emzirmeye başlamasıdır ve sık aralıklarla emzirerek bebeğin bu ilk sütü mümkün olduğunca çok almasına çaba harcamasıdır. İlk günlerde sık emzirme, aynı zamanda daha sulu ve bol olan “olgun” süt yapımını hızlandırır. Bebek büyüdükçe gereksinimleri karşılayacak şekilde anne süt içeriği değişir (160). 2021 yılında Keikha ve ark. yayınladıkları sistematik derlemede, anne sütünün bileşiminin genellikle anne beslenmesine bağlı olduğu ve anne tarafından kullanılan A vitamini, D vitamini, B1 vitamini, B2 ve C vitamini de dahil olmak üzere bazı besin takviyelerinin insan sütüne yansiyebileceğini ve kolostrumda mikro ve makro nutrientlerin olgun süttten daha fazla bulunabileceği bildirilmiştir. Yapılan çalışmaların derlendiği bu makalede, annenin diyeti ve aldığı vitamin ve/veya mineral desteklerinin, özellikle yağda çözünen vitaminler, B1 B2 ve C vitaminlerinin anne sütü bileşimine yansiyabileceği bildirilmiştir; bununla beraber, mega doz ile minerallerin tek doz uygulaması arasında fark bulunmadığı da bildirilmiştir (161).

Kolostrum, yenidoğanı viral ve bakteriyel enfeksiyonlardan korumak ve doğumda bağışıklık sistemi fonksiyonunu desteklemek için IGA, IgM ve IgG immüoglobülinlerinin ideal bileşimini, büyüme faktörleri, antikorlar, vitaminler, mineraller, enzimler ve amino asitleri içerir. Th1 tipi immün yanıtlar sırasında, hücre aracılı immün yanıtların gelişimi için önemli rolü olan proinflamatuvar fonksiyonlara aracılık eden aktive edilmiş T hücreleri tarafından IL-2 veya IFN- γ gibi büyük miktarda sitokinler salınır. Diğer yolların yanı sıra, T-hücresi türevlenen IFN- γ , makrofajlarda indoleamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enziminin aktivasyonunu indükler ve bu enzim triptofanı N-formilkinürenine ve daha sonra kinürenine dönüştürür (162).

Bu tez çalışmasının birincil amacı, insan anne ilk sütündeki neopterin fizyolojik düzeylerini belirlemektir. Pteridin grubuna ait düşük molekül ağırlıklı bir bileşik olan neopterin, neoplazma ve viral enfeksiyonlarda yükselir; günümüzde hücrel immün yanıtın aktivite belirteci olarak kabul edilmektedir. Çeşitli enfeksiyonlar, otoimmün bozukluklar ve greft versus-host reaksiyonlarında artmış neopterin konsantrasyonları saptanmaktadır. Neopterin, reaktif oksijen türleri dahil olmak üzere serbest radikallerin sitotoksitesini modüle eder, anti-oksidan reaksiyonları indükleyerek veya inhibe ederek etki eder. Neopterin konsantrasyonu ile ROS seviyesi arasındaki pozitif korelasyon nedeniyle, bu bileşiğin immün aracılı oksidatif stresin ciddiyetinin dolaylı bir belirteci olduğu da düşünülmektedir. Neopterin bağışıklık sistemine dahil olması nedeniyle yanıt ve antioksidatif süreçlerin belirlenmesi bu bileşiğin konsantrasyonu üç durumda yararlı olabilir: klinik fonksiyonlar: ayırıcı tanı koymak, hastalığın seyrini izleyerek formüle etmek ve öngörü yapmak (88). Çocukluk çağı malnütrisyona bağlı immün ilişkili İnflamatuar markörlerin değerlendirildiği Lima ve ark. çalışmasında, miyeloperoksidaz, neopterin ve kalprotektin dahil olmak üzere bağırsak ve sistemik inflamasyon biyobelirteçlerinin yüksek olmasında, anne sütü ile beslenen veya beslenmeyen çocuklar arasında fark olmadığı bildirilmiştir (163).

Kinürenin yolağı olan Trp'nin Kin'ye biyotransformasyonu esnasında immün sistem görevine başlar; örneğin sitokinler dahil biyoaktif moleküllerin indüksiyonu, T-hücre düzenlemesi, maternal-fetal immün tolerans düzenlenir (164).IDO, antimikrobiyal immün yanıt sırasında hücre içi bakteri ve virüslerin baskılanmasında merkezi bir rol oynar; çünkü devam eden triptofan bozunması, bu esansiyel amino asidin yoksunluğuna bağlı olarak protein biyosentezini sınırlar (165).

İnsan doku ve vücut sıvılarında 10 farklı pterin bileşiği bulunmaktadır. Bunlardan neopterin sadece insan ve primatlarda bulunması nedeniyle çalışmalarda önemli bir yer almaktadır (40). Neopterin, günümüzde hücrel bağışıklık sistemi aktivasyonunun biyokimyasal göstergesi olarak kabul edilmektedir. İnterferon-gama'nın doğrudan ölçümü ile karşılaştırıldığında, neopterin seviyelerinin

belirlenmesinin çeşitli üstünlükleri bulunmaktadır. İnterferon-gama hızlı bozulmaya maruz kalır ve çözünebilir veya hücreye bağlı reseptörlere bağlanabilir; neopterin ise bu durumlar söz konusu değildir (54). Neopterin konsantrasyonları, belirli bir hastalık durumunda kontrollere kıyasla anlamlı şekilde artabilir ve belirli bir hastadaki neopterin konsantrasyonlarının belirlenmesi ve izlenmesi önemlidir (166).

Çeşitli vücut sıvılarında neopterin ve kinürenin düzeyleri farklı yöntemlerle belirlenmesine rağmen anne sütü ve kolostrumda neopterin düzeylerinin ve kinürenin yolağının eş zamanlı belirlenmesine yönelik çalışmalar yetersizdir. Sunulan bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı, yeni doğum yapan annelerden alınan kolostrum örneklerinde neopterin, kinürenin, triptofan düzeyleri ile Kyn/Trp oranlarının hesaplanarak elde edilen İDO aktivitesinin belirlenmesi ve değerlendirilmesidir. Bu değişkenlerin doğum şekli, annelerin doğum yaşı, daha önce doğum yapıp yapmadıkları, bebeklerin cinsiyeti, annenin kan grubu ve sigara içme alışkanlıkları ile değişmesi de araştırılmıştır. Çalışma grubu Tekirdağ Özel Star Medica Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde doğum yapan ve çalışmaya katılmaya onam veren kadın bireylerden oluşturulmuştur.

Tez çalışmasında kinürenin yolağı ile ilişkili parametrelerin yüksek performanslı sıvı kromatografisinde ölçümü için validasyon çalışmaları yapılmıştır. Uygulanan yöntemin duyarlı, kesin, tekrarlanabilir, doğru ve özgün olduğu gösterilmiştir. Nitel limit ve nicel limit değerleri saptanan yöntemin ideal analitik yöntem değerlerinde olması gereken değerlerde düşük olduğu saptanmıştır. ELİSA ticari kitleri ile ölçülen neopterin düzeyleri, kit içerisinde negatif ve pozitif referans örneklerin bulunması nedeniyle ilave validasyon çalışması yapılmamıştır.

Sunulan yüksek lisans tez projesi kapsamında, yeni doğum yapan 17 anneden alınan kolostrum örneklerde belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin konsantrasyonları ile İDO aktivitesini ifade eden Kin/Trp düzeyleri hesaplanarak Tablo 4.5'te sunulmuştur. Kolostrum örneklerinde saptanan neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ile Kyn/Trp değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Tablo 4.6'da korelasyon değerleri (Rs) ve p değerleri

gösterilen korelasyonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (Tümü, $p>0,05$). Örnek alınan yeni doğum yapmış katılımcı annelerin yaşları ile tez kapsamında kolostrum örneklerinde belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin konsantrasyonları ile Kyn/Trp düzeyleri arasında herhangi bir istatistiksel ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Kolostrum örneklerinde ($n=17$) belirlenen bu değişkenler ile annelerin yaşı arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olmadığı bulunmuştur (Şekil 4.5). Kolostrum örneklerinde belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ile Kyn/Trp değerleri arasında herhangi bir istatistiksel olmayan ilişki, korelasyon katsayısı (R_s) ve p değerleri ile ifade edilmiş ve Şekil 4.5'te sunulmuştur. Anne yaşı ile kolostrum triptofan düzeyleri arasında negatif ilişkili olduğu, ancak neopterin ve kinürenin konsantrasyonları ile Kyn/Trp değerlerinin pozitif değişme eğiliminde olduğu saptanmıştır (Tümü, $p>0,05$).

Kolostrum örneği alınan annelerin daha önce doğum yapıp ($n=2$) yapmadıkları ($n=15$) ve doğum şekilleri (normal, $n=7$; sezaryen, $n=10$) sorgulanmış ve buna göre alt gruplama yapılmıştır. Bu değişkenler ile annenin Rh faktörü, kan grubu, sigara içme alışkanlığı ve bebeğin cinsiyeti ile ölçülen parametreler ile alt sınıflamalar ayrıntılanmıştır. Bu şekilde yapılan alt gruplamalara göre belirlenen parametreler (neopterin, triptofan, kinürenin ve Kin/Trp) değerlendirilmiştir. Demografik özelliklere göre alt gruplarda, ölçülen parametrelerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuş ve alt gruplar arasında istatistiksel değerlendirmelere ilişkin p değerleri Tablo 4.7'de gösterilmiştir. Annelerin daha önce doğum yapma/yapmama durumu, doğum şekilleri, annenin Rh faktörününü negatif veya pozitif olması ile kan grupları ve sigara içme alışkanlıklarının kolostrum neopterin, triptofan, kinürenin ve Kin/Trp düzeylerine etkisinin olmadığı anlaşılmıştır (Tümü, $p>0,05$).

Kan, idrar, beyin omurilik sıvısı, göz yaşı, sinoviyal sıvı, pankreas suyu, tükürük, asit sıvısı ve anne sütü dahil olmak üzere biyolojik sıvılarda neopterin düzeyleri saptanmış ve referans aralıkları belirlenmiştir. Patolojik süreçlerin yanı sıra, biyolojik materyaldeki neopterin konsantrasyonları fizyolojik durum, yaş, kan grubu, ırk ve cinsiyet gibi diğer birey özellikleri ile de modüle edilebilir (88). Groer ve ark. yaptıkları

bir araştırmada, kontrol kadınlara kıyasla doğum yapan annelerde kan neopterin düzeylerinin daha yüksek olduğunu, ancak doğum sonrası 4.-6. haftalarda sadece emziren ve sadece mama veren annelerdeki neopterin düzeyleri arasında farklı olmadığını saptamışlardır (167). Besinlerin ve pasif immünite bileşenlerin yanı sıra, insan anne sütü de yenidoğan sağlığını olumsuz yönde etkileyen birçok faktörden bir vektör oluşturabilir. Kan-süt bariyerinin nispeten seçici olmayan geçirgenliği nedeniyle emziren kadının maruziyeti anne sütünde zararlı kimyasal, fiziksel ve biyolojik faktörler bulunmasına yol açabilir. Ayrıca, anne vücudunun patolojik süreçleri anne sütünün beslenme profili üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabilir. Sonuç olarak, anne sütü güvenliliğinin evrensel bir belirteci gereksinim vardır. İmmünite ve antioksidatif süreçlere katılımı nedeniyle, neopterin doğal bir güvenlilik markörü olarak düşünülebilir. Bununla birlikte, örnek toplamadaki hafif zorluklar ve insan sütünün bileşimini potansiyel olarak modüle edebilecek çeşitli faktörlerden kaynaklanan nedenlerden dolayı insan anne sütündeki neopterin fizyolojik konsantrasyonu ve potansiyel modlatrleri hakkında az Őey bilinmektedir. Daha önce yapılan birçok çalışmada, çevresel ve gebelik-doğum süreçlerindeki faktörleri gibi laktasyon süreci ve tek bir beslenmenin evresini içeren laktasyon özellikleri ile anne sütünün bileşiminin modüle edildiğini gösterilmiştir (88).

İnsan sütü, yaşamın ilk 6 ayında bebekler için en uygun besin kaynağı olarak bilinir. Tamamlayıcı gıdalar ile anne sütü verilmesine, bebeğin hayatının ikinci yılının sonuna kadar uygun Şekilde devam ettirilmelidir. İnsan sütünün bebeğin büyümesi ve gelişimi üzerinde önemli bir etkisi vardır ve insan sütünün bileşimi üzerine yapılan çalışma önemlidir. İnsan sütünün bileşimi ve insan sütünün bileşiminin bebek mamaları ile karşılaştırılması üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Standart ve sabit bir bileşime sahip bebek mamasının aksine, insan sütü bileşimi anne yaşı, anne doğum sayısı, beslenme faktörleri, davranış faktörleri, anne hormonları, çevresel faktörler, bebek cinsiyeti, emzirme süresi ve diğer birçok faktör gibi faktörlere bağlı olarak değişir. İnsan sütünün bileşimi üzerindeki en büyük etkenlerden biri, annenin beslenme durumu ve diyetidir (162). Anne sütü içeriğindeki neopterin ile ilgili az sayıdaki çalışmalardan ilki Dhondt ve ark. tarafından yayınlanmış ve doğumdan 1

hafta sonra neopterin konsantrasyonu $15,8 \pm 7,4$ nmol/L olarak bildirilmiştir (119). Doğumdan sonraki ilk 30 gün boyunca anne sütü neopterin konsantrasyonundaki değişikliklerin izlendiği Lizuka ve ark. tarafından yapılan çalışmada, insan sütünde neopterin konsantrasyonunun dinamikleri farklı olduğu, neopterin konsantrasyonunun doğumdan sonraki 1 günde en yüksekken sonrasında kademeli olarak azaldığı ve 8. günde minimum düzeye indiği raporlanmıştır (9). Plata-Nazar ve ark., laktasyonun çeşitli aşamalarında anne sütü neopterin konsantrasyon aralığı, doğumdan 2-4 gün sonra $15,4-19,2$ nmol/L, 15. günde $20,2-23,0$ nmol/L, 30. günde $20,8-24,5$ nmol/L ve 90. günde $16,9-20,4$ nmol/L olduğunu bildirmişlerdir (88). Anne sütü neopterin konsantrasyonunun laktasyon evresine bağlı olarak değiştiğini gösteren bu çalışmada, doğumdan 2-4 gün sonra en düşük neopterin düzeylerinin olduğu, zamanla bu konsantrasyonların arttığı ve yaklaşık 30. günde en yüksek değerine ulaştığı raporlanmıştır. Laktasyonun 90. gününde, neopterin anne sütü konsantrasyonu doğumdan hemen sonraki düzeylere gerilediği bildirilmiştir (88). Tez çalışmasında, insan kolostrum örneklerimizde neopterin düzeylerini $13,91-47,41$ nmol/L olarak değişen düzeylerde olduğunu ve ortalama kolostrum neopterin konsantrasyonunun $28,88 \pm 2,6$ nmol/L olduğu belirlenmiştir. Saptanan bu düzeylerin doğumdan sonra alınan anne sütlerinde belirlenen değerlere benzer olduğu, ancak ortalama neopterin kolostrum düzeyininse daha yüksek olduğu bulunmuştur. Plata-Nazar ve ark., insan anne sütünün bileşiminin laktasyon aşamasına bağlı olarak ve tek bir beslenme sırasında değiştiği fenomeninin, neopterin ile ilgili olarak doğrulanmadığını ve başlangıç konsantrasyonu 7 ve 15 dakikalık beslenmede önemli ölçüde değişmediğini bildirmişlerdir. Neopterin belirlenmesi için süt örneklerinin beslenme sırasında herhangi bir zamanda alınabilmesinin, klinik uygulamada yararlı olabileceği ve neopterin insan anne sütünün bir güvenilirlik belirteci olarak kullanılabilirliğini raporlamışlardır (88). Tez çalışmasında doğumdan sonraki ilk 24 saat içerisinde toplanan ilk süt değerlendirilmiş, her anneden bir defa örnek alınmıştır; bu nedenle, emzirme süresince neopterin düzeylerinin değişimi incelenmemiştir. Gebelik fizyolojik sürecinin artmış neopterin kan konsantrasyonları arasında ilişkisinin bulunduğu bildirilmiştir. Doğumdan hemen sonra, neopterin kan

konsantrasyonu üçüncü trimesterde gözlenene benzer şekilde yükselir; daha sonra yavaş yavaş azalır ve yaklaşık 6. haftada gebelik öncesi düzeylere inmektedir. Bu nedenle, doğumdan sonra kan neopterin konsantrasyonunun dinamikleri, çeşitli laktasyon dönemlerinden itibaren anne sütünde bildirilen sonuçlarla tutarlı değildir. İnsan sütünde bulunan neopterin, emziren annenin kanından değil, meme bezinde sentezlendiği düşünülmelidir (168). Ganglberger ve ark. ile Arntzen ve ark., neopterin anne sütü konsantrasyonunun kan veya idrar konsantrasyonu ile ilişkili olmadığını göstermişlerdir (169, 170).

Plata-Nazar ve ark., annenin O, A, B ve AB kan gruplarına göre doğumdan sonraki 2-4 gün meme sütünde neopterin düzeyleri ($18,32 \pm 7,45$; $19,35 \pm 6,18$; $17,42 \pm 8,37$ ve $24,21 \pm 6,65$, sırasıyla) arasındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (88). Sunulan tez çalışmasında anne yaşının, doğum şeklinin, anne kan grubunun ve sigara içme durumunun kolostrum neopterin düzeylerin üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu sonuç, daha önce Plata-Nazar ve ark. (88) çalışma sonuçları ile uyumludur ve incelenen eksternal faktörlerin neopterin düzeylerini etkilememesi, bu araştırmacıların bildirdikleri gibi, anne sütünde neopterin düzeylerinin bağımsız güvenilirlik belirteci olarak kullanılabileceği hipotezine katkı sağlamıştır.

İnflamasyon ve immün aktivasyon ile ilişkili hastalıklarda, hızlandırılmış triptofan yıkımı serum triptofan konsantrasyonlarında azalmaya ve IDO aktivitesini gösteren kinürenin-triptofan oranlarında (Kyn/Trp) artışa neden olur (163). Triptofan yıkımı ile eşzamanlı olarak IFN- γ , insanlarda T hücresi / makrofaj ekseninin aktivasyonu için başka bir belirteci temsil eden guanosinetrifosfat (GTP)-siklohidrolaz I enziminin indüksiyonu yoluyla neopterin oluşumunu da uyarır (39, 162). Doğrudan ölçümlerini sınırlayan sitokinlerin kısa yarı ömrü nedeniyle, IDO aktivitesinin (Kyn/Trp) ve neopterin oluşumunun belirlenmesi Th1 tipi bir immün yanıtın modülasyonunu değerlendirmek için kullanılmaktadır (171). Düşük veya yüksek miktarda laktoz içeren sığır kolostrumunun, uyarılmamış insan periferal kan mononükleer hücrelerinde (human peripheral blood mononuclear cells, PBMC) Th1

tipi bir immün yanıtı ve mitojenle uyarılmış hücrelerde ise Th1 tipi immün yanıtla indüklenen biyokimyasal yollar üzerinde güçlü bir baskılayıcı etki olmak üzere bifazik etki şekli oluşturduğu gösterilmiştir (172). Pedersen ve Hidaya, sığır kolostrumu ile yaptıkları çalışmada, uyarılmamış PBMC hücrelerinde Th-1 tipi bir immün aktivasyonun yanı sıra, mitojen uyarılmış PBMC'de Th-1 kaynaklı biyokimyasal yollar üzerinde güçlü bir baskılama kapasitesi olduğunu saptamışlar ve bifazik etki saptadıklarını bildirmişlerdir. Fitohemagglütin (PHA) ile indüklenen triptofan yıkımında sığır kolostrumunun süpresyon potansiyeli, laktoferrin içeriği ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (173).



SONUÇ

Meme ile beslenen bebeklerde esansiyel amino asit triptofanın (Trp) tek kaynağı anne sütüdür. Protein sentezi için kullanılmayan triptofanın çoğu (%99) kinürenin yolu ile metabolize edilir. Trp metabolizmasının kin yolunda iki enzim, triptofan 2,3-dioksijenaz (TDO) ve indoleamin 2,3-dioksijenaz (IDO) yer alır. TDO öncelikle strese duyarlı bir enzimdir, IDO ise öncelikle immün yanıt veren bir enzimdir. Hem TDO hem de IDO yolları katabolitler olan kinürenin, nöroprotektif kinürenik asit (KYNA) ve nörotoksik 3-hidroksikinürenin ve kinolinik asit üretimine yol açar. Triptofanın anne kan düzeyleri oldukça değişkendir; TDO ve IDO'nun aktivitesi hem gebelik sırasında hem de doğum sonrasında sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. IDO'nun, fetüsü T hücreleri kaynaklı lokal inflamatuvar yanıtlardan koruduğu için gebeliğin sürdürülmesi için gerekli olduğu tespit edilmiştir (174). Dolayısı ile, anne sütünde yer alan triptofan, metabolit kinürenin ve IDO aktivitesinin serum konsantrasyonlarının yansımaları olabileceği düşünülmüştür. Sağlıklı çocuklarda ülkemizde yapılan bir araştırmada, 0-5 yaş grubunda (n=34) serum triptofan konsantrasyonu $66,4 \pm 2,50$ $\mu\text{mol/L}$, kinürenin düzeyi $2,70 \pm 0,10$ $\mu\text{mol/L}$ ve Kin/Trp oranı $41,8 \pm 2,80$ $\mu\text{mol/mmol}$ olarak bildirilmiştir (24). Orak hücreli anemi hastası çocuklarda yapılan bir çalışmadaki kontrol grubu sağlıklı 28 çocukta yapılan değerlendirmede serum Kin/Trp oranı $32,77 \pm 6,19$ olarak bulunmuştur (176). Kamimura ve ark., tarafından yapılan bir araştırmada, laktasyonun üçüncü gününde $39,4 \pm 3,1$, beşinci gününde $6,3 \pm 1,1$ ve otuzuncu günde $3,5 \pm 0,8$ nmol/mL olarak total triptofan düzeylerini bildirmişlerdir ve bu üç günde alınan örneklerdeki triptofan anlamlı farklı olduğunu raporlamışlardır. Aynı çalışmada, doğumdan sonraki birinci ve beşinci gün bebeklerden alınan kan örneklerinde belirlenen triptofan ve kinürenin düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığını, ancak annelerinkinden daha yüksek konsantrasyonların olduğu gösterilmiştir (177). Tez çalışması kapsamında toplanan kolostrum örneklerinde belirlenen triptofan, kinürenin ve Kin/Trp değerleri, sırasıyla $17,29 \pm 62,43$ (0,62-46,11) $\mu\text{mol/L}$, $0,45 \pm 0,03$ (0,22-0,73) $\mu\text{mol/L}$ ve $153,92 \pm 65,35$ (4,97-828,81) $\mu\text{mol/mmol}$ olarak saptanmıştır. Kamimura ve ark. tarafından üçüncü gün anne sütü örneklerinde bildirilen triptofan değerleri ile bu tez kapsamında

kolostrumlarda saptanan triptofan düzeyleri uyumludur. Ancak, triptofan ve kinürenin konsantrasyonları ile kinürenin biyotransformasyonunu gösteren IDO aktivitesi olan Kin/Trp oranlarına ait minimum ve maksimum değerlerin geniş bir aralıkta olduğu görülmüştür. Sayı az olduğu için minimum ve maksimum sonuçların farklı olmasına rağmen bu alt sınıflamadan (doğum şekli, önceki doğum varlığı, sigara içme alışkanlığı, kan grubu, Rh faktörü, anne yaşı) bir fark olmadığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında sağlıklı annelerin ilk süt örneklerinde neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri saptanmış ve IDO aktivitesini yansıtan kinüreninin triptofana oranı değerlendirilmiştir. Kolostrumdaki neopterin düzeyleri ile kinürenin yolağının, yenidoğan gelişimi ve sağlıklı yaşamın ilk günlerinde değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Adesokan HK, Alabi PI, Cadmus SI, Stack JA. Knowledge and practices related to bovine brucellosis transmission amongst livestock workers in Yewa, south-western Nigeria. *Journal of the South African Veterinary Association*. 2013;84(1):1-5.
2. McCormick BJ, Lee GO, Seidman JC, Haque R, Mondal D, Quetz J, et al. Dynamics and trends in fecal biomarkers of gut function in children from 1–24 months in the MAL-ED study. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2017;96(2):465-72.
3. Hindle LJ, Gitau R, Filteau SM, Newens KJ, Osrin D, Costello AM, et al. Effect of multiple micronutrient supplementation during pregnancy on inflammatory markers in Nepalese women. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;84(5):1086-92.
4. Ye J, Qiu W, Han L, Zhang H, Zhou J, Gao X, et al. Diagnosis, treatment and gene mutation analysis of the first case with dihydropteridine reductase deficiency in the mainland of China. *Zhonghua er ke za zhi= Chinese Journal of Pediatrics*. 2008;46(4):281-5.
5. Lizuka T, Sasaki M, Oishi K, Uemura S, Koike M. The presence of nitric oxide synthase in the mammary glands of lactating rats. *Pediatric research*. 1998;44(2):197-200.
6. Rollins NC, Filteau SM, Coutsooudis A, Tomkins AM. Feeding mode, intestinal permeability, and neopterin excretion: a longitudinal study in infants of HIV-infected South African women. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2001;28(2):132-9.
7. Breinekova K, Svoboda M, Smutna M, Vorlova L. Markers of acute stress in pigs. *Physiological research*. 2007;56(3):323.
8. Tomaso H, Reisinger E, Grasmug E, Ramschak H, Krejs G. Transmission of HIV infection. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 1995;107(3):85-90.
9. Lizuka T, Sasaki M, Oishi K, Uemura S, Koike M, Minatogawa Y. Nitric oxide may trigger lactation in humans. *The Journal of pediatrics*. 1997;131(6):839-43.
10. Matsubara Y, Gaull GE. Biopterin and neopterin in various milks and infant formulas. *The American journal of clinical nutrition*. 1985;41(1):110-2.
11. Albert A. The pteridines. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products/Progrés dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles*. 1954:350-403.
12. Pfeleiderer W. 2.16 - Pteridines. In: Katritzky AR, Rees CW, editors. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. Oxford: Pergamon; 1984. p. 263-327.
13. Hyland K, Howells DW. Analysis and clinical significance of pterins. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1988;429:95-121.
14. Müller MM, Curtius H-C, Herold M, Huber CH. Neopterin in clinical practice. *Clinica chimica acta*. 1991;201(1-2):1-16.
15. Hamerlinck F. Neopterin: a review. *Experimental dermatology*. 1999;8(3):167-76.

16. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G, Werner E, et al. Neopterin: biochemistry-methods-clinical application: Walter de Gruyter; 2011.
17. Daubner SC, Fitzpatrick PF. Pteridines. Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition: Elsevier Inc.; 2013. p. 666-9.
18. Rembold H, Gyure WL. Biochemistry of the pteridines. Angewandte Chemie International Edition in English. 1972;11(12):1061-72.
19. Kaufman S. Pteridine cofactors. Annual review of biochemistry. 1967;36(1):171-84.
20. Rokos H, Bienhaus G, Gadow A, Rokos K. Determination of neopterin and reduced neopterins by radioimmunoassay. February 23–March 2, 1985, St Christoph, Arlberg, Austria: De Gruyter; 2019. p. 73-84.
21. Li Z-H, Zhao T-Q, Liu X-Q, Zhao B, Wang C, Geng P-F, et al. Synthesis and preliminary antiproliferative activity of new pteridin-7 (8H)-one derivatives. European journal of medicinal chemistry. 2018;143:1396-405.
22. Zeitler H-J, Andondonskaja-Renz B. [44] Separation of pteridines from blood cells and plasma by reverse-phase high-performance liquid chromatography. Methods in enzymology. 122: Elsevier; 1986. p. 273-93.
23. Kośliński P, Bujak R, Dagher E, Markuszewski MJ. Metabolic profiling of pteridines for determination of potential biomarkers in cancer diseases. Electrophoresis. 2011;32(15):2044-2054.
24. Girgin G, Baydar T, Fuchs D, Sahin G, Özmert E, Yurdakök K. Evaluation of serum and urinary levels of some pteridine pathway components in healthy Turkish children. Pteridines. 2012;23(1):90-5.
25. Eisenhut M. Neopterin in diagnosis and monitoring of infectious diseases. Journal of biomarkers. 2013, 1–10 (2013).
26. Tornero EM, Merás ID, Espinosa-Mansilla A. HPLC determination of serum pteridine pattern as biomarkers. Talanta. 2014;128:319-26.
27. Neopterin. Erişim adresi: http://www.neopterin.net/neopterin_e.pdf Erişim tarihi:16.09.2021
28. Rembold H, Buschmann L. Struktur und synthese des neopterins. Chemische Berichte. 1963;96(5):1406-10.
29. Smith I, Howells D, Hyland K. Pteridines and mono-amines: relevance to neurological damage. Postgraduate medical journal. 1986;62(724):113-23.
30. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner E, Wachter H. Neopterin in clinical medicine. The Lancet. 1988;331(8587):702.
31. Hausen A, Fuchs D, Grünewald K, Huber H, König K, Wechter H. Urinary neopterin as marker for haematological neoplasias. Clinica Chimica Acta. 1981;117(3):297-305.
32. Huber C, Fuchs D, Hausen A, Margreiter R, Reibnegger G, Spielberger M, et al. Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogeneic or

modified self major histocompatibility complex (MHC) determinants. *The Journal of Immunology*. 1983;130(3):1047-50.

33. Blau N, Schoedon G, Curtius H-C. Biosynthesis and significance of neopterin in the immune system. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*. 1989;25(4):603-5.

34. Berdowska A, Zwirska-Korczala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2001;26(5):319-29.

35. Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi H, et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. *Journal of critical care*. 2009;24(3):318-21.

36. Abita J, Cost H, Milstien S, Kaufman S, Saimot G. Urinary neopterin and biopterin levels in patients with AIDS and AIDS-related complex. *The Lancet*. 1985;326(8445):51-2.

37. Vrecko K, Staedtler P, Mischak I, Maresch L, Reibnegger G. Periodontitis and concentrations of the cellular immune activation marker neopterin in saliva and urine. *Clinica chimica acta*. 1997;268(1-2):31-40.

38. Melichar B, Solichova D, Freedman R. Neopterin as an indicator of immune activation and prognosis in patients with gynecological malignancies. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2006;16(1).

39. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, et al. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *The Journal of experimental medicine*. 1984;160(1):310-6.

40. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. *Advances in clinical chemistry*. 1989;27:81-141.

41. Troppmair J, Nachbaur K, Herold M, Aulitzky W, Tilg H, Gastl G, et al. In-vitro and in-vivo studies on the induction of neopterin biosynthesis by cytokines, alloantigens and lipopolysaccharides (LPS). *Clinical and experimental immunology*. 1988;74(3):392.

42. Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1) upon cytokine treatment. *Cancer research*. 1990;50(10):2863-7.

43. Mori H, Arai T, Mori K, Suzuki T, Makino K. Does the reduced form of neopterin serve as an antioxidant? *IUBMB Life*. 1996;40(4):799-806.

44. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Wachter H. Chronic immune stimulation, oxidative stress, and apoptosis in HIV infection. *Biochemical pharmacology*. 1997;53(6):755-63.

45. Schobersberger W, Hoffmann G, Hobisch-Hagen P, Böck G, Völkl H, Baier-Bitterlich G, et al. Neopterin and 7, 8-dihydroneopterin induce apoptosis in the rat alveolar epithelial cell line L2. *FEBS letters*. 1996;397(2-3):263-8.

- 46.Schröcksnadel H, Baier-Bitterlich G, Dapunt O, Wachter H, Fuchs D. Decreased plasma tryptophan in pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*. 1996;88(1):47-50.
- 47.Niederwieser A, Staudenmann W, Wetzel E. High-performance liquid chromatography with column switching for the analysis of biogenic amine metabolites and pterins. *Journal of Chromatography A*. 1984;290:237-46.
- 48.Werner E, Bichler A, Daxenbichler G, Fuchs D, Fuith L, Hausen A, et al. Determination of neopterin in serum and urine. *Clinical chemistry*. 1987;33(1):62-6.
- 49.Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A, Murr C, Hunsmann G, Wachter H. Neopterin--its clinical use in urinalysis. *Kidney International Supplement*. 1994(47).
- 50.Hacini D, Guerin C, Berthoux P, Ville G, Berthoux F, editors. Monitoring of the serum neopterin/creatinine ratio in renal transplantation. *Transplantation proceedings*; 1987.
- 51.Kaneda Y, Suga A. Usefulness of serum neopterin in renal transplantation considering the neopterin/creatinine ratio. *Nephron*. 1988;49(3):259-60.
- 52.Nichol CA, Smith GK, Duch DS. Biosynthesis and metabolism of tetrahydrobiopterin and molybdopterin. *Annual review of biochemistry*. 1985;54(1):729-64.
- 53.Bjelaković G, Živić SS, Jevtović-Stoimenov T, Stojanović I, Bjelaković B, Nikolić J, et al. Pteridines: Metabolic functions and clinical disorders. *Acta medica Medianae*. 2004;43(2):59-64.
- 54.Woloszczuk W, Troppmair J, Leiter E, Flener R, Schwarz M, Kovarik J, et al. Relationship of interferon-gamma and neopterin levels during stimulation with alloantigens in vivo and in vitro. *Transplantation*. 1986;41(6):716-9.
- 55.Hoffmann G, Schobersberger W, Frede S, Pelzer L, Fandrey J, Wachter H, et al. Neopterin activates transcription factor nuclear factor- κ B in vascular smooth muscle cells. *FEBS letters*. 1996;391(1-2):181-4.
- 56.Niederwieser A, Blau N, Wang M, Joller P, Atares M, Cardesa-Garcia J. GTP cyclohydrolase I deficiency, a new enzyme defect causing hyperphenylalaninemia with neopterin, biopterin, dopamine, and serotonin deficiencies and muscular hypotonia. *European journal of pediatrics*. 1984;141(4):208-14.
- 57.Blau N. Inborn errors of pterin metabolism. *Annual review of nutrition*. 1988;8(1):185-209.
- 58.Schoedon G, Niederwieser A, Curtius H-C, Fontana A, Troppmair J, Huber C. Metabolism of pterins in the cellular immune system of man and mouse. *Unconjugated pterins and related biogenic amines: De Gruyter*; 2011. p. 161-8.
- 59.Dirheimer G. The modified nucleosides of transfer RNA, II. *FEBS LETTERS*. 1984.
- 60.Krämer A, Biggar RJ, Hampl H, Friedman RM, Fuchs D, Wachter H, et al. Immunologic markers of progression to acquired immunodeficiency syndrome are time-dependent and illness-specific. *American journal of epidemiology*. 1992;136(1):71-80.

61. Zangerle R, Steinhuber S, Sarcletti M, Dierich MP, Wachter H, Fuchs D, et al. Serum HIV-1 RNA Levels Compared to Soluble Markers of Immune Activation to Predict Disease Progression in HIV-1-Infected Individuals. *International archives of allergy and immunology*. 1998;116(3):228-39.
62. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Dierich MP, Wachter H. Neopterin as a marker for activated cell-mediated immunity: application in HIV infection. *Immunology today*. 1988;9(5):150-5.
63. Tsoukas C, Bernard N. Markers predicting progression of human immunodeficiency virus-related disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 1994;7(1):14-28.
64. Plaeger S, Bass HZ, Nishanian P, Thomas J, Aziz N, Detels R, et al. The prognostic significance in HIV infection of immune activation represented by cell surface antigen and plasma activation marker changes. *Clinical Immunology*. 1999;90(2):238-46.
65. Amirayan-Chevillard N, Tissot-Dupont H, Obadia Y, Gallais H, Mege J-L, Capo C. Highly active antiretroviral therapy (HAART) and circulating markers of immune activation: specific effect of HAART on neopterin. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*. 2000;7(5):832-4.
66. Fuchs D, Spira T, Hausen A, Reibnegger G, Werner E, Felmayer GW, et al. Neopterin as a predictive marker for disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clinical chemistry*. 1989;35(8):1746-9.
67. Fuchs D, Chiodi F, Albert J, Asjö B, Hagberg L, Hausen A, et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum of individuals infected with HIV-1. *AIDS (London, England)*. 1989;3(5):285-8.
68. Brew BJ, Bhalla RB, Paul M, Gallardo H, McArthur JC, Schwartz MK, et al. Cerebrospinal fluid neopterin in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 1990;28(4):556-60.
69. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 1992;29(3-4):307-44.
70. Yilmaz A, Yiannoutsos CT, Fuchs D, Price RW, Crozier K, Hagberg L, et al. Cerebrospinal fluid neopterin decay characteristics after initiation of antiretroviral therapy. *Journal of neuroinflammation*. 2013;10(1):1-7.
71. Reibnegger G, Boonpucknavig V, Fuchs D, Hausen A, Schmutzhard E, Wachter H. Urinary neopterin is elevated in patients with malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1984;78(4):545-6.
72. Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, Yuksel O, Kurukahvecioglu O, Sare M, et al. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients. *Toxicology mechanisms and methods*. 2011;21(3):231-5.

73. Reibnegger G, Egg D, Fuchs D, Günther R, Hausen A, Werner ER, et al. Urinary neopterin reflects clinical activity in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*. 1986;29(9):1063-70.
74. Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Eriksson A, Nilsson B, Nordström L. Serum levels of neopterin as related to the prognosis of human prostatic carcinoma. *European urology*. 1986;12:422-5.
75. Reibnegger G, Hetzel H, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, Werner ER, et al. Clinical significance of neopterin for prognosis and follow-up in ovarian cancer. *Cancer research*. 1987;47(18):4977-81.
76. Prior C, Bollbach R, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Niederwieser D, et al. Urinary neopterin, a marker of clinical activity in patients with Crohn's disease. *Clinica chimica acta*. 1986;155(1):11-21.
77. Niederwieser D, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Wachter H, et al. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical assessment of ulcerative colitis. *Immunobiology*. 1985;170(4):320-6.
78. Knapp M, Cove-Smith J, Dugdale R, Mackenzie N, Pownall R. Possible effect of time on renal allograft rejection. *Br Med J*. 1979;1(6156):75-7.
79. Eklund A, Blaschke E. Elevated serum neopterin levels in sarcoidosis. *Lung*. 1986;164(1):325-32.
80. Maerker-Alzer G, Diemer O, Strümper R, Rohe M. Neopterin production in inflamed knee joints: high levels in synovial fluids. *Rheumatology international*. 1986;6(4):151-4.
81. Simsek H, Kadayifci A, Altindag ZZ, Sahin G. High urinary neopterin levels in Familial Mediterranean Fever. *Clin Exp Rheumatol*. 1996 Mar-Apr;14(2):224-5. PMID: 8737737.
82. Macy IG. Composition of human colostrum and milk. *American Journal of Diseases of Children*. 1949;78(4):589-603.
83. Uruakpa F, Ismond M, Akobundu EN. Colostrum and its benefits: a review. *Nutrition research*. 2002;22(6):755-67.
84. Eidelman AI, Schanler RJ. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. (2012) 129:e827-41.
85. Mosca F, Gianni ML. Human milk: composition and health benefits. 2017; 39(2):155.
86. Oftedal OT. The evolution of milk secretion and its ancient origins. *Animal*. 2012;6(3):355-68.
87. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics*. 2013;60(1):49-74.

88. Plata-Nazar K, Woś-Wasilewska E, Szlagatys-Sidorkiewicz A, Łuczak G, Zagierski M, Martysiak-Żurowska D, et al. Human breast milk concentration of neopterin at various stages of lactation and during a single feeding. *Pteridines*. 2015;26(2):73-7.
89. Andreas NJ, Kampmann B, Le-Doare KM. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early human development*. 2015;91(11):629-35.
90. Playford RJ, Macdonald CE, Johnson WS. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;72(1):5-14.
91. Kaducu F, Okia S, Upenyho G, Elfstrand L, Florén C-H. Effect of bovine colostrum-based food supplement in the treatment of HIV-associated diarrhea in Northern Uganda: a randomized controlled trial. *Indian Journal of Gastroenterology*. 2011;30(6):270-6.
92. Godhia ML, Patel N. Colostrum—its Composition, Benefits as a Nutraceutical—A Review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2013;1(1):37-47.
93. Chandra R. Breast feeding: immunologic, and nutritional considerations. *Clin Nutr*. 1983;2:21-4.
94. Nommsen-Rivers LA, Dolan LM, Huang B. Timing of stage II lactogenesis is predicted by antenatal metabolic health in a cohort of primiparas. *Breastfeeding Medicine*. 2012;7(1):43-9.
95. Horta BL, Victora CG, Organization WH. Short-term effects of breastfeeding: a systematic review on the benefits of breastfeeding on diarrhoea and pneumonia mortality. 2013.
96. Alsaweed M, Lai CT, Hartmann PE, Geddes DT, Kakulas F. Human milk cells and lipids conserve numerous known and novel miRNAs, some of which are differentially expressed during lactation. *PloS one*. 2016;11(4):e0152610.
97. Bode L, McGuire M, Rodriguez JM, Geddes DT, Hassiotou F, Hartmann PE, et al. It's alive: microbes and cells in human milk and their potential benefits to mother and infant. *Advances in Nutrition*. 2014;5(5):571-3.
98. Funkhouser LJ, Bordenstein SR. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS biology*. 2013;11(8):e1001631.
99. Demmelmair H, Koletzko B. Variation of metabolite and hormone contents in human milk. *Clinics in perinatology*. 2017;44(1):151-64.
100. Xanthou M, Bines J, Walker W. Human milk and intestinal host defense in newborns: an update. *Advances in pediatrics*. 1995;42:171-208.
101. Xu R-J. Development of the newborn GI tract and its relation to colostrum/milk intake: a review. *Reproduction, Fertility and Development*. 1996;8(1):35-48.
102. Kulski J, Hartmann P. Changes in human milk composition during the initiation of lactation. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*. 1981;59(1):101-14.

103. Pang WW, Hartmann PE. Initiation of human lactation: secretory differentiation and secretory activation. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2007;12(4):211-21.
104. Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *The Journal of nutrition*. 2011;141(6):1181-7.
105. Quigley IJ, Drewry J. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre-and postcalving. *Journal of Dairy Science*. 1998;81(10):2779-90.
106. Smilowitz JT, Lebrilla CB, Mills DA, German JB, Freeman SL. Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate. *Annual review of nutrition*. 2014;34:143-69.
107. Bauer J, Gerss J. Bauer J, Gerss J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clinical nutrition*. 2011;30(2):215-20.
108. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC pediatrics*. 2014;14(1):1-14.
109. Lönnerdal B. Human milk proteins. *Protecting Infants through Human Milk*. 2004:11-25.
110. Haschke F, Haiden N, Thakkar SK. Nutritive and bioactive proteins in breastmilk. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2016;69(Suppl. 2):16-26.
111. Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Acta Paediatrica*. 2005;94(9):1176-81.
112. Kent JC, Mitoulas LR, Cregan MD, Ramsay DT, Doherty DA, Hartmann PE. Volume and frequency of breastfeedings and fat content of breast milk throughout the day. *Pediatrics*. 2006;117(3):e387-e95.
113. Timby N, Domellöf M, Lönnerdal B, Hernell O. Supplementation of infant formula with bovine milk fat globule membranes. *Advances in Nutrition*. 2017;8(2):351-5.
114. Isaacs CE, Litov RE, Thormar H. Antimicrobial activity of lipids added to human milk, infant formula, and bovine milk. *The Journal of nutritional biochemistry*. 1995;6(7):362-6.
115. Korhonen H, Syväoja EL, Ahola-Luttilla H, Sivelä S, Kopola S, Husu J, et al. Bactericidal effect of bovine normal and immune serum, colostrum and milk against *Helicobacter pylori*. *Journal of Applied Bacteriology*. 1995;78(6):655-62.
116. Ramsey KH, Poulsen CE, Motiu PP. The in vitro antimicrobial capacity of human colostrum against *Chlamydia trachomatis*. *Journal of reproductive immunology*. 1998;38(2):155-67.

- 117.Friel JK, Martin SM, Langdon M, Herzberg GR, Buettner GR. Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula. *Pediatric research*. 2002;51(5):612-8.
- 118.Frank L, Roberts RJ. Developmental characteristics of pulmonary superoxide dismutase: relationship to idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatric research*. 1976;10(3):154-8.
- 119.Dhondt J-L, Delcroix M, Farriaux J-P. Unconjugated pteridines in human milk. *Clinica Chimica Acta*. 1982;121(1):33-5.
- 120.Hopkins FG, Cole SW. A contribution to the chemistry of proteids: Part I. A preliminary study of a hitherto undescribed product of tryptic digestion. *The Journal of physiology*. 1901;27(4-5):418-28.
- 121.Kilbourne EM. Eosinophilia-myalgia syndrome: coming to grips with a new illness. *Epidemiologic reviews*. 1992;14:16-36.
- 122.Moffett JR, Namboodiri MA. Tryptophan and the immune response. *Immunology and cell biology*. 2003;81(4):247-65.
- 123.Wurtman RJ, Hefti F, Melamed E. Precursor control of neurotransmitter synthesis. *Pharmacological Reviews*. 1980;32(4):315-35.
- 124.Young VR. Adult amino acid requirements: the case for a major revision in current recommendations. *The Journal of nutrition*. 1994;124(suppl_8):1517S-1523S.
- 125.Pazos M, Andersen ML, Skibsted LH. Amino acid and protein scavenging of radicals generated by iron/hydroperoxide system: an electron spin resonance spin trapping study. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2006;54(26):10215-10221.
- 126.Richard DM, Dawes MA, Mathias CW, Acheson A, Hill-Kapturczak N, Dougherty DM. L-tryptophan: basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *International Journal of Tryptophan Research*. 2009;2:45-60.
- 127.Nielsen HK, Hurrell RF. Content and stability of tryptophan in foods. *Progress in Tryptophan and Serotonin Research: De Gruyter*; 2019. p. 527-34.
- 128.Soh NL, Walter G. Tryptophan and depression: can diet alone be the answer? *Acta Neuropsychiatrica*. 2011;23(1):3-11.
- 129.McMenamy RH. Binding of Indole Analogues to Human Serum Albumin EFFECTS OF FATTY ACIDS. *Journal of Biological chemistry*. 1965;240(11):4235-43.
- 130.Chen Y, Guillemin GJ. Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states. *International Journal of Tryptophan Research*. 2009;2:IJTR. S2097.
- 131.Kolodziej LR, Paleolog EM, Williams RO. Kynurenine metabolism in health and disease. *Amino acids*. 2011;41(5):1173-83.
- 132.Shibata K, Motooka K, Kurata K. The differences in growth and activity of the tryptophan-NAD pathway between Wistar and Sprague Dawley strains of rats fed on tryptophan-limited diet. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 1982;28(1):11-9.

133. Berker B, Çakmak T, Koçak Aö, Selamoğlu Te, Türeli T. Mutluluğun İletimi Serotonin ve İnsan Sağlığı. Erişim tarihi: 14/12/2021. Erişim adresi: <http://tip.baskent.edu.tr/kw/upload/464/dosyalar/cg/sempozyum/ogrsmpzsnm14/14.P3.pdf>
134. Rambali B, Van Andel I, Schenk E, Wolterink G, Stevenson H, Vleeming W. The contribution of cocoa additive to cigarette smoking addiction. 2003.
135. Zadori D, Klivenyi P, Plangar I, Toldi J, Vecsei L. Endogenous neuroprotection in chronic neurodegenerative disorders: with particular regard to the kynurenines. *J Cell Mol Med.* 2011;15(4):701-17.
136. Myint A-M, Kim Y-K. Network beyond IDO in psychiatric disorders: revisiting neurodegeneration hypothesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 2014;48:304-13.
137. King NJ, Thomas SR. Molecules in focus: indoleamine 2, 3-dioxygenase. *The international journal of biochemistry & cell biology.* 2007;39(12):2167-72.
138. Wang Q, Liu D, Song P, Zou M-H. Tryptophan-kynurenine pathway is dysregulated in inflammation, and immune activation. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2015;20:1116-43.
139. Takikawa O. Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2, 3-dioxygenase-initiated L-tryptophan metabolism. *Biochemical and biophysical research communications.* 2005;338(1):12-9.
140. Brouns R, Verkerk R, Aerts T, De Surgeloose D, Wauters A, Scharpé S, et al. The role of tryptophan catabolism along the kynurenine pathway in acute ischemic stroke. *Neurochemical research.* 2010;35(9):1315-22.
141. Stone TW. Neuropharmacology of quinolinic and kynurenic acids. *Pharmacological reviews.* 1993;45(3):309-79.
142. Schwarcz R, Pellicciari R. Manipulation of brain kynurenines: glial targets, neuronal effects, and clinical opportunities. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 2002;303(1):1-10.
143. Guidetti P, Okuno E, Schwarcz R. Characterization of rat brain kynurenine aminotransferases I and II. *Journal of neuroscience research.* 1997;50(3):457-65.
144. Kapoor R, Okuno E, Kido R, Kapoor V. Immuno-localization of kynurenine aminotransferase (KAT) in the rat medulla and spinal cord. *Neuroreport.* 1997;8(16):3619-23.
145. A Thevandavakkam M, Schwarcz R, J Muchowski P, Giorgini F. Targeting kynurenine 3-monooxygenase (KMO): implications for therapy in Huntington's disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders).* 2010;9(6):791-800.
146. Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Kynurenine pathway metabolism and the microbiota-gut-brain axis. *Neuropharmacology.* 2017;112:399-412.

147. Fujigaki S, Saito K, Sekikawa K, Tone S, Takikawa O, Fujii H, et al. Lipopolysaccharide induction of indoleamine 2, 3-dioxygenase is mediated dominantly by an IFN- γ -independent mechanism. *European journal of immunology*. 2001;31(8):2313-8.
148. Kohl C, Walch T, Huber R, Kemmler G, Neurauter G, Fuchs D, et al. Measurement of tryptophan, kynurenine and neopterin in women with and without postpartum blues. *Journal of affective disorders*. 2005;86(2-3):135-42.
149. Müller A, Heseler K, Schmidt SK, Spekker K, MacKenzie CR, Däubener W. The missing link between indoleamine 2, 3-dioxygenase mediated antibacterial and immunoregulatory effects. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2009;13(6):1125-35.
150. Narui K, Noguchi N, Saito A, Kakimi K, Motomura N, Kubo K, et al. Anti-infectious activity of tryptophan metabolites in the L-tryptophan–L-kynurenine pathway. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2009;32(1):41-4.
151. Plangár I, Zádori D, Klivényi P, Toldi J, Vécsei L. Targeting the kynurenine pathway-related alterations in Alzheimer's disease: a future therapeutic strategy. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2011;24(s2):199-209.
152. Brown R, Ozaki Y, Datta S, Borden E, Sondel P, Malone D. Implications of interferon-induced tryptophan catabolism in cancer, autoimmune diseases and AIDS. *Kynurenine and serotonin pathways*. 1991:425-35.
153. Cascino A, Cangiano C, Ceci F, Franchi F, Mineo T, Mulieri M, et al. Increased plasma free tryptophan levels in human cancer: a tumor related effect? *Anticancer research*. 1991;11(3):1313-6.
154. Widner B, Leblhuber F, Fuchs D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *Journal of neural transmission*. 2002;109(2):181-9.
155. Murr C, Gerlach D, Widner B, Dierich MP, Fuchs D. Neopterin production and tryptophan degradation in humans infected by *Streptococcus pyogenes*. *Medical microbiology and immunology*. 2001;189(3):161-3.
156. Okuno E, Schmidt W, Parks DA, Nakamura M, Schwarcz R. Measurement of rat brain kynurenine aminotransferase at physiological kynurenine concentrations. *Journal of neurochemistry*. 1991;57(2):533-40.
157. Metz R, DuHadaway JB, Kamasani U, Laury-Kleintop L, Muller AJ, Prendergast GC. Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2, 3-dioxygenase inhibitory compound D-1-methyl-tryptophan. *Cancer research*. 2007;67(15):7082-7.
158. Mándi Y, Vécsei L. The kynurenine system and immunoregulation. *Journal of neural transmission*. 2012;119(2):197-209.

- 159.Solomons NW. Modulation of the immune system and the response against pathogens with bovine colostrum concentrates. *Eur J Clin Nutr.* 2002 Aug;56 Suppl 3: S24-8. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601480.
- 160.What Is Colostrum? Nutrition, Benefits, and Downsides Erişim Tarihi: 13.10.2021, Erişim Adresi: <https://www.healthline.com/nutrition/bovine-colostrum>.
- 161.Keikha, M., Shayan-Moghadam, R., Bahreynian, M. *et al.* Nutritional supplements and mother's milk composition: a systematic review of interventional studies. *Int Breastfeed J* 16,1 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13006-020-00354-0>.
- 162.Wirleitner B, Neuraüter G, Schroecksadel K, Frick B, Fuchs D. Interferon- -induced conversion of tryptophan: immunologic and neuropsychiatric aspects. *Curr Med Chem* 2003; 10:1581-1591.
- 163.Lima AAM; Leite ÁM, Di Moura A, Lima NL, Soares AM, Abreu CB, Filho JQ, Mota RMS, Lima IFN, Havt A, Medeiros PHQS, Prata MMG, Guedes MM, Cavalcante PA, Veras HN, Santos AKS, Moore SR, Pinkerton RC, Houpt ER, Guerrant RL. Determinant Variables, Enteric Pathogen Burden, Gut Function and Immune-related Inflammatory Biomarkers Associated with Childhood Malnutrition, *The Pediatric Infectious Disease Journal*: 2017, 36 (12) 1177-1185. doi: 10.1097/INF.0000000000001569.
- 164.Sedlmayr P, Blaschitz A, Stocker R. The role of placental tryptophan catabolism. *Front. Immunol.* 5, 230 (2014). Durr S, Kindler V. Implication of indolamine 2,3 dioxygenase in the tolerance toward fetuses, tumors, and allografts. *J. Leukoc. Biol.* 93(5), 681–687 (2013).
- 165.Pfefferkorn ER. Interferon- blocks the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1984; 81:908-912; Ozaki Y, Edelstein MP, Duch DS. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase: a mechanism of the antitumor activity of interferon-gamma. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1988; 85:1242-1246.
- 166.Wachter H, Curtius H Ch, Pfeleiderer W, eds. *Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines*. Berlin, New York: de Gruyter, 1985: 4: 286. Scott J, Weir DG. In: Blakley R L, Whitehead V M, eds. *Folates and Pterins*. New York: Wiley Sons, 1986: 3: 297.
- 167.Groer MW, Davis MW, Smith K, Casey K, Kramer V, Bukovsky E. Immunity, Inflammation and Infection in Post-partum Breast and Formula Feeders. *American Journal of Reproductive Immunology* 54 (2005) 222–231.
- 168.Schröcksadel K, Widner B, Bergant A, Neuraüter G, Schennach H, Schröcksadel H, et al. Longitudinal study of tryptophan degradation during and after pregnancy. *Life Sci* 2003; 72: 785–93.
- 169.Arntzen KJ, Liabakk NB, Jacobsen G, Espevik T, Austgulen R. Soluble tumor necrosis factor receptor in serum and urine throughout normal pregnancy and at delivery. *Am J Reprod Immunol* 1995; 34: 163–9.

170. Ganglberger H, Kurz-Schroecksadel K, Fuchs D, Schroecksadel H. Neopterin concentrations in breast milk and maternal serum and urine. *Conf Publ* 2009; 20: 12–3.
171. Jenny M, Klieber M, Zaknun D, Schroecksadel S, Kurz K, Ledochowski M, Schennach H, Fuchs D. In vitro testing for anti-inflammatory properties of compounds employing peripheral blood mononuclear cells freshly isolated from healthy donors. *Inflamm Res*.
172. Jenny M, Pedersen NR, Hidayat BJ, Fuchs D. Bovine colostrum modulates immune activation cascades in human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *New Microbiol* 2010;33;128-134.
173. Pedersen NR, Hidayat BJ. Immune Modulation by cross-linked Bovine Colostrum in vitro and in vivo. *Pteridines* 21, 94 – 102, 2010.
174. O'Rourke L, Clarke G, Nolan A, Watkins C, Dinan TG, Stanton C, Ross RP, Ryan CA. Tryptophan metabolic profile in term and preterm breast milk: implications for health. *Journal of nutritional science*, 2018, 7, e13. <https://doi.org/10.1017/jns.2017.69>.
175. Sabuncuoglu S, Oztas Y, Yalcinkaya A, Unal S, Baydar T, Girgin G, “The increased neopterin content in Turkish pediatric patients with sickle cell anemia” *Annals of Hematology*, 2020, 99, 41-47. DOI: 10.1007/s00277-019-03817-5.
176. Kamimura S, Eguchi K, Sekiba K. Tryptophan and its metabolite concentrations in human plasma and breast milk during the perinatal period. *Acta Med Okayama* 1991, 45 (2), 101-106.

EKLER**Ek-1: Etik Kurul Onayı**

29/08/2019

ÖZEL STAR MEDICA HASTANESİ**Sayı** : 2019/481**Konu** : Kolostrum ve Olgun Anne Sütünde Neopterin
Düzeylerinin ve Kinürenin Yolağının Araştırılması**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ' ne**

Özel Star Medica Hastanesi kurumumuzda görev yapan Eczacı Sinem MERİÇ isimli öğrencinizin TEZ çalışması kurul kararı ile onaylanmıştır.

Gereği için bilgilerinize arz ederim.

Doç. Dr. Özgür BİGE
Başhekim/Mesul Müdür



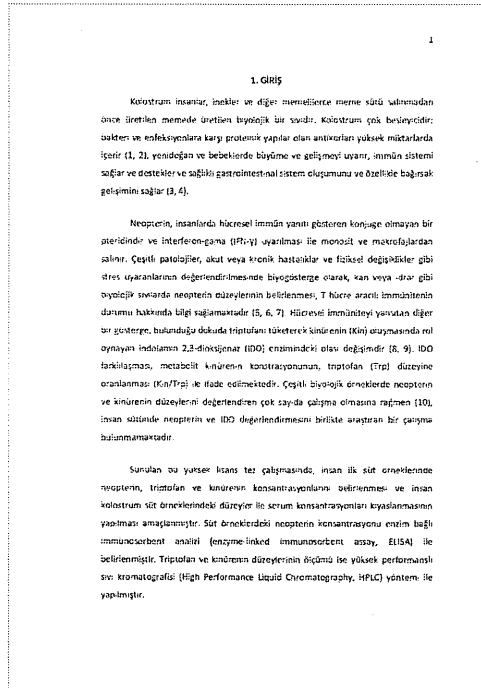


Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: Sinem Deliveli
 Assignment title: Anne sütü
 Submission title: İnsan Kolostrum Sütünde Neopterin ve Kinürenin Düzeyleri...
 File name: Sinem_Meric_Turnitin-2.docx
 File size: 1.18M
 Page count: 60
 Word count: 11,590
 Character count: 83,268
 Submission date: 14-Jan-2022 10:00AM (UTC+0300)
 Submission ID: 1741548548



TEZ BAŞLIĞI: İNSAN KOLOSTRUM SÜTÜNDE NEOPTERİN VE KİNÜRENİN DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ÖĞRENCİNİN ADI SOYADI: SİNEM DELİVELİ

TOPLAM SAYFA SAYISI: 60

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

11%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

8%

★ nek.istanbul.edu.tr:4444

Internet Source

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

ÖZGEÇMİŞ

10.07.1994'te Uzunköprü/EDİRNE'de doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini Uzunköprü'de tamamladıktan sonra 2013 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne başladı. 2018 yılında Eczacılık Fakültesi'nden mezun olduktan sonra Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Yüksek Lisans eğitimine başladı. 04.2019- 11.2019 ayları arasında Tekirdağ Özel Star Medica Hastanesi'nde Mesul Müdür Eczacı olarak görev yaptı. 12.2019- 06.2020 ayları arasında Gaziantep Gayem Eczanesi'nde yardımcı eczacılığını tamamladı. 09.2020'den beri Bursa Ecza Koop. Sincan Şube'de Mesul Müdür olarak görev yapmaktadır.

