

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

**ANNE SÜTÜ SİTOKİN DÜZEYLERİNİN
UZAMIŞ YENİDOĞAN SARILIĞI İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Kader APAYDIN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Bahri ERMİŞ

ZONGULDAK

2010

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Anne Sütü Sitokin Düzeylerinin Uzamış Yenidoğan Sarılığı İle İlişkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. KADER APAYDIN

Tez Savunma Tarihi: 16/08/2010

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Bahri ERMİŞ

Doç. Dr. Bahri ERMİŞ
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Bahri ERMİŞ
Z.K.Ü. TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
Çocuk Sağlığı ve Yenidoğan Uzmanı
Dip. No.: 42968 / 53669

Doç. Dr. Abdülkadir BABAOĞLU
Üye

Doç. Dr. A. Kadir BABAOĞLU
Kocaeli Üniversitesi Hastanesi
Çocuk Sağlığı ve Yenidoğan Uzmanı
Dip. No: 21686 / 25184 Tez. No: 87862
Tez. No: 11416013

Yrd. Doç. Dr. İbrahim Etem PİŞKİN
Üye

ZKÜ Tıp Fakültesi Hastanesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.
Yrd. Doç. Dr. İ. Etem PİŞKİN
Dip. No.: 99311091

Yrd. Doç. Dr. Nihal PİŞKİN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Nihal PİŞKİN
ZKÜ Tıp Fakültesi
Em. Hsp. No: 57033/9184
Dip. No: 99311125

Yrd. Doç. Dr. Aykut BARUT
Üye

ZKÜ Tıp Fakültesi Hastanesi
Yrd. Doç. Dr. Aykut BARUT
Em. Hsp. No: 57033/9184
Dip. No: 99311125

UYGUNDUR
16/08/2010

Doç. Dr. A. Eksal KARGI
Dekan V.



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Bahri Ermiş'e;

Değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Gonca Üstündağ, Yrd. Doç. Dr. İ. Etem Pişkin, Yrd. Doç. Dr. Mutlu Yüksek, Yrd. Doç. Dr. Nazmiye Yüksek'e;

Tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan İmmunoloji Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. İshak Özel Tekin, üstün özverilerinden dolayı İmmunoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet Araslı ve İmmunoloji Laboratuvarı çalışanları'na;

Tez çalışmama sağladığı katkılarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Vildan Sümbüloğlu ve öğretim görevlisi Füzuran Köktürk'e;

Rotasyonum süresince bilgilerinden yararlandığım Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Deniz Akduman, öğretim üyeleri, asistan, hemşire ve sağlık personeli'ne;

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nde mesaimi paylaşan tüm araştırma görevlisi, hemşire ve sağlık personeli'ne;

Beni bugünlere getiren ailem, bu zahmetli yolda bir an olsun yanımdan ayrılmayan hayat arkadaşım eşim, ilk göz ağrım oğlum ve ailemize ışık olan kızım'a;

Teşekkür'ü bir borç bilirim.

Dr. Kader Apaydın
ZONGULDAK, 2010

ÖZET

Kader Apaydın, Anne Sütü Sitokin Düzeylerinin Uzamış Yenidoğan Sarılığı ile İlişkisi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Tezi. Zonguldak, 2010.

Uzamış sarılık, miadında doğmuş bebeklerde, 15. günden sonra klinik sarılığın gözlenmesidir. Olası nedenler; anne sütü, hipotiroidi, üriner enfeksiyonlar ve pylor stenozudur. Uzamış sarılığın en sık nedeni anne sütü olup; anne sütü sarılığı tanısı, diğer nedenlerin dışlanması ile konabilmektedir. Bununla birlikte vakaların çoğunda neden belirlenemez.

Erken anne sütü sarılığında; kalori eksikliği, bilirübinin, hepatik atılımının azalması ve intestinal emiliminin artması söz konusu iken; geç anne sütü sarılığında, anne sütünde bulunan steroidler, nükleotidler, metal iyonları ve henüz tanımlanmamış bazı maddelerin UGT enzimini inhibe ederek ya da bilirübin emilimini etkileyerek sarılığa neden oldukları düşünülmektedir. Ancak, geç anne sütü sarılığının nedeni tam anlaşılamamıştır.

Yaşamın ilk haftasında sarılığı olan ve sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde yapılan bir çalışmada, anne kolostrumundaki IL-1 beta seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. IL-1 beta'nın; hepatik uptake, hepatik atılım, konjugasyon ve intestinal absorpsiyon üzerinden sarılığa yol açmış olabilecekleri öne sürülmektedir.

Erken anne sütü sarılığındaki bu verilere rağmen, geç anne sütü sarılığının sitokinlerle ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, geç anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne sütü sitokin düzeylerinin sarılıkla olan ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Uzamış sarılığı olan bebeklerin anne sütü sitokin düzeyleri 47,96 pg/ml (0,01-165,89), kontrol grubunun 29,86 pg/ml (0,01-209,08) idi. Gruplar arasında belirgin istatistiksel fark vardı ($p=0,013$). IL-6 ($p=0,174$), IL-8 ($p=0,285$), IL-10 ($p=0,067$) ve TNF-alfa ($p=0,053$) seviyeleri arasında ise anlamlı fark saptamadık. Bu durum, anne sütündeki yüksek IL-1 beta değerlerinin uzamış sarılığın bir nedeni olabileceğini düşündürmektedir.

Erken anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne sütlerinde IL-1 beta seviyelerinin yüksek bulunması; benzer sonuçların, uzamış sarılığı olan bebeklerin anne sütlerinde de göstermemiz; “Geç anne sütü sarılığı ayrı bir hastalık mı, yoksa erken anne sütü sarılığının bir devamı mı?” sorusunu da gündeme getirmektedir. Bu sorunun cevabı; geç anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne kolostrumlarındaki sitokin düzeylerinin çalışılması ile verilebilecektir.

Sonuçta, IL-1 beta değerlerinin geç anne sütü sarılığı ile ilişkili olduğu görülmektedir. Geç anne sütü sarılığının, erken anne sütü sarılığının bir devamı olması da olasıdır.

Anahtar kelimeler: Anne sütü sarılığı, geç anne sütü sarılığı, uzamış sarılık, anne sütü sitokin düzeyleri, IL-1 beta, TNF-alfa

ABSTRACT

Kader Apaydın, Relationship Between Human Milk Cytokine Levels and Prolonged Neonatal Jaundice, Zonguldak Karaelmas University Faculty of Medicine, Thesis of Child Health and Illness. Zonguldak, 2010.

Prolonged jaundice is, clinical observation of jaundice after 15th days in babies born at term. Possible causes are; mother's milk, hypothyroidism, urinary tract infections and pylori stenosis. Breastfeeding is the most common cause of prolonged jaundice; diagnosed of breastfeeding jaundice is made by exclusion of other causes. However, in most cases the cause can not be determined.

In the early breast milk jaundice, there are calorie deficiency, decreased hepatic excretion and increased intestinal absorption of bilirubin while in late breast milk jaundice, steroids in the breast milk, nucleotides, metal ions and other substances not yet identified are thought to cause jaundice by affecting the UGT enzymes or affecting the absorption of bilirubin. However, underlying cause of breast milk jaundice is not fully understood.

In the study with jaundice during the first week of life and breastfed only infants, IL-1 beta concentration in colostrum of mothers of these infants are reported to be higher than in the control group. IL-1 beta; can cause jaundice by hepatic uptake, hepatic excretion, conjugation and intestinal absorption of bilirubin.

Despite this data in early breast milk jaundice, there is not a study that investigated the relationship between the cytokines and breast milk jaundice. In our study, we investigated the relationship between jaundice and milk cytokine levels of mother's of the babies with late breast milk jaundice.

Mother cytokine level in breast milk of infants with prolonged jaundice was 47,96 pg / ml (0,01 to 165,89) and 29,86 pg / ml (0,01 to 209,08) in control group, respectively. There was significant difference between groups ($p = 0,013$). There was no significant difference between IL-6 ($p=0,174$), IL-8 ($p=0,285$), IL-10 ($p=0,067$) and TNF-alpha ($p=0,053$) levels. In late breast milk jaundice, we also found high levels of IL-1 beta. This situation suggests that high IL-1 beta levels in breast milk

might be a cause of prolonged jaundice. Discovery of higher levels of IL-1 beta in mother's milk of infants with early breast milk jaundice and shown similar results in mother's milk of infants with prolonged jaundice also raises the question of " Is breast milk jaundice is a separate disease, or whether a continuation of early breast milk jaundice?" To answer this question; cytokine levels in the colostrum of breastfeeding mothers of babies with jaundice should be studied.

As a result, it is seen that the concentration of IL-1 beta is associated with late breast milk jaundice. The late breast milk jaundice is likely possible to be a continuation of early breast milk jaundice.

Key words: Breast feeding jaundice, late breast milk jaundice, prolonged neonatal jaundice, breast milk cytokine levels, IL-1 beta, TNF-alfa

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
TABLO DİZİNİ.....	xii
ŞEKİL DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Bilirubin Metabolizması	2
2.1.1.Bilirubin sentezi ve yapısı	2
2.1.2.Bilirubin plazmaya taşınması.....	3
2.1.3.Bilirubin karaciğere alınması	3
2.1.4.Bilirubin konjugasyonu.....	3
2.1.5.Bilirubin bilier eksresyonu ve intestinal geri emilimi.....	4
2.2.Yenidoğan Sarılığı	5
2.2.1.Yenidoğan sarılığının epidemiyolojisi	5
2.2.2.Fizyolojik sarılık	6
2.2.3.Patolojik sarılık	9
2.2.4.Uzamış sarılık.....	9
2.2.5.Anne sütü sarılığı	11
2.3.Anne Sütü.....	14
2.3.1. Anne sütündeki proteinler	14
2.3.2. Anne sütündeki karbonhidratlar	14
2.3.3. Anne sütündeki lipitler	15
2.3.4. Anne sütündeki vitaminler	15
2.3.5. Anne sütündeki minareler	16
2.3.6. Anne sütünün immünolojik özellikleri	17
2.3.7. Anne sütü sitokinleri	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Çalışma Planı	34
3.2. Total Serum Bilirubin Ölçümü	35
3.3. Serum Direkt Bilirubin Ölçümü.....	35

3.4. Serum TSH Düzeylerinin Ölçümü	35
3.5. Serum Serbest T4 (sT4) Düzeylerinin Ölçümü.....	35
3.6. Serum Total T4 (TT4) Düzeylerinin Ölçümü	35
3.7. Serum Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH) Enzim Ölçümü	36
3.8. Hemogram Ölçümü.....	36
3.9. Direkt Coombs Testi Ölçümü	36
3.10. Kan Grubu Bakılması.....	36
3.11. Retikülosit ölçümü	36
3.12. İdrar kültürü bakılması.....	36
3.13. Anne sütünde sitokin düzeylerinin ölçümü.....	36
3.14. İstatistiksel Analiz.....	37
3.15. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam.....	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	48
6. KAYNAKLAR	54
7. EKLER.....	69
EK 1: Etik Kurul Onayı	69

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFP	: Alfa fetö protein
APA	: Amerikan Pediatri Akademisi
BOS	: Beyin omur ilik sıvısı
BSF-2	: Beta hücre uyarıcı faktör 2
C3	: Kompleman 3
CNS	: Criggler-Najjar sendromu
CO	: Karbon monoksit
COX-2	: Siklooksijenaz
CRP	: C reaktif protein
CSF	: Koloni stimulan faktör
CYP-450	: Sitokrom P 450
DCT	: Direkt coombs testi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü/World Health Organization (WHO)
EGF	: Epidermal growth faktör
EMB	: Eozin Metilen Blue
G6PD	: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
GCP-2	: Granülosit kemotaktik protein
G-CSF	: Granülosit koloni stimulan faktör
GF	: Growth factor
GM-CSF	: Granülosit monosit koloni stimulan faktör
HIV	: Human immunodeficiency virus
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HO	: Hem oksijenaz
HPGF/IL-HP	: Hibridoma/plazmositom büyüme faktörü
HSF	: Hepatosit uyarıcı faktör
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünoglobulin
IL	: İnterlökin
IL-1R1/R2	: İnterlökin 1 reseptör 1 ve 2

iNOS	: Nitrik oksit sentaz
kDa	: Kilodalton
LPS	: Lipopolisakkarit
LTB4	: Lökotrien B4
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein
MGI-2	: Monosit-granülasit indükleyici tip 2
MHC1/II	: Major histocompatibility kompleks 1/2
MIP 1alfa	: Makrofaj inflamatuvar
MMP	: Matriksmetalloproteinaz
NK	: Natural killer
NSVD	: Normal Spontan Vaginal Doğum
P	: Persantil
PDGF	: Platelet derived growth factor
RANTES	: Aktivasyonu düzenlenmiş normal T ekspresyonu ve sekresyonu
sIg	: Salgısal immünoglobulin A
SLCO1B1	: Taşıyıcı organik anyon transport proteini
SPSS	: Statistical Package for Social Science
sT4	: Serbest tiroksin
STB	: Serum total bilirubin
T4	: Tiroksin
TFT	: Tiroid fonksiyon testleri
TGF	: Transforming growth faktor
TNF	: Tümör nekrotizan faktör
TNFR1/2	: Tümör nekroz faktör reseptör 1 ve tümör nekroz faktör reseptör 2
TSH	: Tiroid stimulan hormon
TT4	: Total tiroksin
UGT	: Üridin difosfoglukuronil transferaz
UGT1A1	: Üridin difosfoglukuronil transferaz A1 izoformu
UNICEF	: Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu/The United Nations Children's Fund

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Yenidoğanlarda başlıca hiperbilirübinemi nedenleri.....	8
Tablo 2: Uzamış direkt hiperbilirübinemi nedenleri.....	10
Tablo 3: Uzamış indirekt hiperbilirübinemi nedenleri	11
Tablo 4: Bebeklerin demografik özellikleri	39
Tablo 5: Bebeklerin hastaneye başvuru günleri ve bilirübin değerleri	40
Tablo 6: Annelere ait demografik özellikler	41
Tablo 7: Anne sütü IL-1 beta, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-alfa konsantrasyonları .	42

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Bilirubin metabolizması.....	5
Şekil 2: Anne sütü standart IL-1 beta konsantrasyon eğrisi.....	43
Şekil 3: Anne sütü IL-1 beta seviyeleri.....	43
Şekil 4: Anne sütü standart IL-6 konsantrasyon eğrisi	44
Şekil 5: Anne sütü IL-6 seviyeleri	44
Şekil 6: Anne sütü standart IL-8 konsantrasyon eğrisi	45
Şekil 7: Anne sütü IL-8 seviyeleri	45
Şekil 8: Anne sütü standart IL-10 konsantrasyon eğrisi	46
Şekil 9: Anne sütü IL-10 seviyeleri	46
Şekil 10: Anne sütü standart TNF-alfa konsantrasyon eğrisi.....	47
Şekil 11: Anne sütü TNF-alfa seviyeleri.....	47

1.GİRİŞ

Uzamış sarılık, miadında doğmuş bebeklerde, 15. günden sonra klinik sarılığın gözlenmesidir. Olası nedenler; anne sütü, hipotiroidi, üriner enfeksiyonlar ve pylor stenozudur. Uzamış sarılığın en sık nedeni anne sütü olup; anne sütü sarılığı tanısı, diğer nedenlerin dışlanması ile konabilmektedir. Bununla birlikte vakaların çoğunda neden belirlenemez.

Erken anne sütü sarılığında (Breastfeeding=Emzirme sarılığı); kalori eksikliği, bilirübinin hepatik atılımının azalması ve intestinal emiliminin artması söz konusu iken; geç anne sütü sarılığında (Uzamış sarılık=Anne sütü sarılığı); anne sütünde bulunan steroidler, nükleotidler, metal iyonların ve henüz tanımlanmamış başka maddelerin UGT enzimini ya da bilirübin emilimini etkileyerek sarılığa neden oldukları düşünülmektedir.

Ancak, geç anne sütü sarılığının nedeni tam anlaşılamamıştır. Anne sütü alan infantlarda formula mama ile beslenenlere göre bilirübin seviyeleri daha yüksektir. Anne sütü içeriğindeki bazı maddelerin bilirübin metabolizmasını etkileyerek veya bilirübin konjugasyonu üzerinden sarılığa neden oldukları düşünülmektedir (1, 2, 3, 4, 5).

Zanardo ve ark., yaşamın ilk haftasında sarılığı olan ve sadece anne sütü alan bebeklerin anne kolostrumundaki IL-1 beta konsantrasyonunun kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler (6). IL-1 beta'nın hepatik uptake, hepatik atılım, konjugasyon ve intestinal absorpsiyon üzerinden sarılığa yol açmış olabilecekleri düşünülmektedir.

Erken anne sütü sarılığındaki bu verilere rağmen, geç anne sütü sarılığının sitokinlerle ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, geç anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne sütü sitokin düzeylerinin sarılıkla olan ilişkisini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

Zamanında doğan bebeklerin yaklaşık %60'ında, prematüre bebeklerin ise %80'inde yaşamın ilk 5 gününde klinik olarak sarılık görülmektedir (7, 8). Yenidoğanların çoğunda sarılık genellikle tedavi gerektirmeden gerilerken; yüksek bilirübin seviyelerinde erken tanı ve tedavinin yapılmadığı durumlarda bilirübin ensefalopatisi (kernikterus) gelişmektedir. Sarılık; deri ve skleraların gözle görülür şekilde sararmasıdır. Bu durum, plazma bilirübin düzeyi 5-7 mg/dl'nin üzerine çıktığında görülür (2, 7). Fizyolojik sarılık, fizyolojik nedenlerle fazla miktarda eritrosit yıkımı sonucunda oluşan bilirübinin, karaciğerin "uptake", konjugasyon ve direkt bilirübini salgılama kapasitesini aşması ile yaşamın ilk günlerinde yetersiz beslenen yenidoğanın enterohepatik dolaşımının artması sonucu meydana gelmektedir. Sarılık, yenidoğan döneminde; hemolitik hastalıklar, metabolik hastalıklar, endokrin bozukluklar, karaciğer hastalıkları ve enfeksiyonlarla ilişkili olabilir (2).

2.1.Bilirübin Metabolizması

Bilirübin metabolizmasındaki ana basamaklar; bilirübinin sentezi, plazmada taşınması, karaciğere alınması, hepatik konjugasyonu, safraya atılması ve barsaktan geri emilmesidir. Bu basamakların herhangi birinde oluşan bir patolojide kan bilirübin seviyesi artarak sarılık oluşmasına neden olmaktadır.

2.1.1.Bilirübin sentezi ve yapısı

Hem, hemoglobinin oksijen taşıyan komponenti olup, katabolizması sonucu bilirübin oluşur (2, 9). Bilirübin metabolizmasının ilk basamağını oluşturan hem'in büyük kısmı (%80-90) yaşlı eritrositlerin parçalanmasıyla, kalanı (%10-20) ise sitokrom, miyoglobin, peroksidazlar ve katalaz gibi doku proteinlerinin degradasyonu ile oluşur (10).

Bilirübin oluşumunda hız kısıtlayıcı basamak, ilk reaksiyon olan hem'in mikrozomal hem oksijenaz (HO) enzimi ile biliverdine dönüştüğü reaksiyondur (9). HO etkisiyle gerçekleşen bu basamakta hemin alfa meten halkası açılır, vücutta tekrar kullanılabilen demir ve solunum yoluyla uzaklaştırılan karbon monoksit (CO)

açığa çıkar (9, 10). Hem'in biliverdine dönüştüğü bu reaksiyon sırasında açığa çıkan demir'in bir kısmı transferrin'e bağlanırken, bir kısmı da yeniden hem sentezine girer. Lipit peroksidasyonda olduğu gibi bazı başka endojen olaylarda da CO oluşursa da, bu miktar çok az olduğundan, CO atılımın ölçülmesi hem yıkımını, dolayısıyla bilirubin sentez düzeyini yansıtmaktadır (7, 9, 10). Bir gram hemoglobinin katabolizmasıyla 34 mg bilirubin (1 mg/dl=17,2 µmol/L bilirubin) oluşur (11, 12). Sağlıklı term yenidoğanlarda günde 6-8 mg/kg/gün (erişkinlerde 3-4 mg/kg/gün) bilirubin yapılır. Hem yıkımı ve bilirubin oluşumunun metabolik yolu Şekil 1'de gösterilmiştir.

2.1.2.Bilirubinün plazmaya taşınması

İndirekt bilirubin suda erimediği için plazmaya transportunda albümin ve alfa fetoprotein (AFP) rol almaktadır. İndirekt bilirubini taşıyan asıl molekül albümindir. Bir gram albümin 8,3 mg bilirubin bağlar. Sekonder bağlanma bölgeleriyle birlikte 3,5 gr albümine sahip bir yenidoğan 58 mg bilirubin bağlayabilir (10).

2.1.3.Bilirubinün karaciğere alınması

İndirekt bilirubinün hepatosit içine alınışı kolaylaştırılmış difüzyon şeklinde olur. İndirekt hiperbilirubinemi bilirubinün hepatik alımı normal iken, plazmaya geri dönüşü artmıştır. Hücre duvarını geçtikten sonra indirekt bilirubin hücre içi proteinlere bağlanır. Bu proteinlerden en önemlisi Y protein olarak bilinen ligandindir. Ligandin miktarı yaşamın ilk günlerinde az olup, zamanla artmaktadır. Fenobarbital gibi bazı ilaçlar hücre içindeki ligandin miktarını artırarak etki etmektedirler (2, 9, 12).

2.1.4.Bilirubinün konjugasyonu

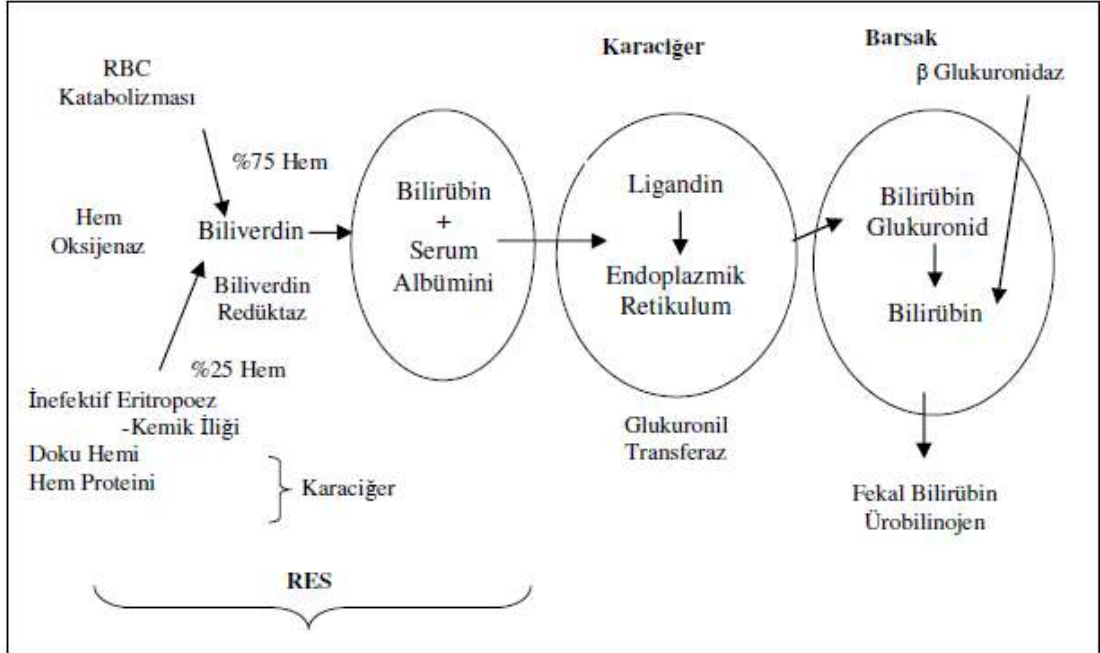
Bilirubin karaciğer hücresine alındıktan sonra üridin difosfolukuronil transferaz (UGT) tarafından glukuronik asit ile konjuge edilerek suda eriyen ve vücuttan atılabilen, mono ve diglukuronidlere çevrilir (2, 9). UGT enzimi konjugasyondan sorumlu olup, endoplazmik retikulumda bulunur. Bu enzim başta karaciğer olmak üzere böbrek, mide, ince barsak, kolon ve deride bulunur. UGT'nin total glukuronidasyon kapasitesi bilirubin yükünün 100 katıdır. Bu nedenle enzim aktivitesi ancak %1'e indiği zaman indirekt bilirubin retansiyonu olur ve sarılığa

neden olur. Bu durumun klinik örnekleri CNS ve yenidoğan döneminde görülen sarılıklardır (2, 8, 10).

2.1.5.Bilirübinin bilier eksresyonu ve intestinal geri emilimi

Direkt bilirübinin bilier konsantrasyonu plazmanın 40 katı kadardır. Bu nedenle kanaliküler boşluğa bilirübin sekresyonu bu konsantrasyon gradientine karşı enerji gerektiren bir işlemdir. Direkt bilirübinin eksresyonu, bilirübin metabolizmasının hız kısıtlayıcı basamağıdır. Klinikte, bilirübin yapımının arttığı durumlarda, eksresyon kapasitesindeki fizyolojik kısıtlanma nedeniyle, orta derecede direkt bilirübin artışı görülebilir. Bağırsağa ulaşan direkt bilirübin geri emilmez. Yenidoğanlarda başlangıçta mukozal bir enzim olarak bulunan ve daha ileri dönemlerde bakterilerce oluşturulan beta glukuronidaz enzimi bulunur (9). Bu enzim sayesinde, bilirübin kolayca geri emilebilen indirekt bilirübin haline çevrilir. Direkt bilirübin, barsak lümenindeki bakteriler tarafından; sterkobilin, sterkobilinojen, ürobilin ve ürobilinojene redükte olur. Ancak, ilk günlerde yenidoğanın barsağının steril olması bu dönüşümü geciktirir. Ayrıca, duodenum ve jejunumun hafif alkali olması nedeniyle bilirübin kolayca hidroliz olmakta ve enterohepatik dolaşımı artmaktadır. Ürobilinojenin büyük bir kısmı karaciğer tarafından atılırken, kalanı idrarla atılır (2, 9, 10).

Şekil 1: Bilirübin metabolizması



2.2.Yenidoğan Sarılığı

Sarılık, kandaki bilirübin düzeyinin artması sonucu deri, göz ve mukozaların sarı renk alması durumudur. Yenidoğan sarılıkları, bilirübin cinsine göre indirekt hiperbilirübinemi (konjuge olmamış bilirübin) ve direkt hiperbilirübinemi (konjuge olmuş) olarak ikiye ayrılır. En sık görülen tip indirekt hiperbilirübinemidir. Yenidoğan sarılıklarının çoğu fizyolojiktir ve tedavi gerektirmez. Ancak, yüksek bilirübin değerlerinin nörotoksik etkileri nedeniyle, bu bebeklere ciddiyle yaklaşılmalıdır (13).

2.2.1.Yenidoğan sarılığının epidemiyolojisi

Fizyolojik sarılıkların süresini ve bilirübin düzeylerini etkileyen çeşitli faktörler söz konusudur (2, 7). Coğrafik dağılım, çeşitli etnik ve ailevi özellikler, gebelik yaşı, anneye verilen ilaçlar, annenin hastalıkları gibi faktörler etkilidir (2, 12).

Genetik, ırk ve ailesel faktörler: Coğrafik dağılım, etnik ve ailevi özellikler yenidoğan sarılığını etkileyen önemli faktörlerdir. Fizyolojik sarılık insidansı farklı

etnik gruplarda değişkenlik göstermekte ve şiddetli sarılık insidansı %6,1-32,7 arasında değişmektedir (2). Asya ırkında fizyolojik sarılık, şiddetli hiperbilirubinemi ve uzamış sarılık daha sık görülmektedir (9, 14). Irklar arasında UGT enzim aktivitesi ve bilirubin metabolizması farklılığı, üridin difosfoglukuronil transferaz A1 izoform (UGT1A1) geninde oluşan polimorfizm farklılığından kaynaklanmaktadır (7). Yapılan çalışmalarda Doğu Asyalılarda UGT enzim geninde oluşan bazı mutasyonların konjugasyonda yetersizliğe yol açtığı bildirilmektedir (2).

Diğer taraftan yenidoğan sarılığının ailesel özelliği olduğu yönünde bazı kanıtlar vardır. Önceki çocuklarında sarılık olan ailelerin daha sonraki çocuklarında bilirubin düzeylerinin üç kat daha yüksek olabileceği bildirilmektedir (2). Yapılan bir çalışmada kardeşlerinde şiddetli sarılık olanlarda serum bilirubin düzeyinin 15 mg/dL'nin üzerinde olma olasılığının, kardeşlerinde şiddetli sarılık olmayanlara oranla 12,5 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (15).

Sarılığın bazı aileler ve ırklarda ağır seyretmesi UGT enzim aktivitesine, bilirubin metabolizmasındaki farklılığa ve UGT1A1 geninde oluşan polimorfizme bağlanmıştır (7).

Maternal nedenler; Diabetik anne bebeklerinde sarılık daha sık görülmekte ve eritropoetin düzeylerinin yüksek olması ve polisitemi nedeniyle bilirubin yapımının artması sorumlu tutulmaktadır. Anne yaşınn ileri olması, doğumda oksitosin, epidural anestezi, forceps ya da vakum kullanımı hiperbilirubinemi riskini artıran nedenlerdir (10).

Bebeğe ait faktörler; Yetersiz kalori alma (90 kal/kg/gün'den az), anne sütü ile beslenme, beslenmenin gecikmesi, erkek cinsiyet, bebeğe verilen sentetik K vitamini, kloral hidrat preparatları, intrauterin transfüzyon, epidural anestezi ve hipervizkosite sarılığı arttıran faktörler olarak sayılabilir (9, 10). Tablo 1'de Yenidoğanlarda başlıca hiperbilirubinemi nedenleri verilmiştir.

2.2.2.Fizyolojik sarılık

Yenidoğanın fizyolojik sarılığı karaciğerin bilirubini tutma, transport ve konjugasyon basamaklarındaki yetersizlik nedeniyle meydana gelmektedir. Doğumda UGT enzim aktivitesi erişkinin %1'i kadar olup, ilk hafta içerisinde giderek artar ve 14. haftada

erişkin değerlerine ulaşır. Yaşamın ilk haftasında yenidoğanların büyük bir çoğunluğunda patolojik olmayan, fizyolojik sarılık gözlenmektedir (10, 12).

Yenidoğanlarda fizyolojik sarılık iki fazda gözlenir. Erken yenidoğan dönemde görülen sarılığa, “*faz 1 fizyolojik sarılık*” denir. Karaciğerde bilirubin yükünün fazla olması ve UGT enzim aktivitesindeki eksiklik faz 1 fizyolojik sarılıktan sorumludur (9). Geç yenidoğan dönemde görülen fizyolojik sarılık ise “*faz 2 fizyolojik sarılık*” olarak tanımlanır. Faz 2 fizyolojik sarılıktan, bilirubin karaciğere alımındaki yetersizlik, aşırı bilirubin yükü, ligandin eksikliği ve enterohepatik dolaşımın artması sorumlu tutulmaktadır (9, 10). Beyaz ve Afrikalı term yenidoğanlarda serum indirekt bilirubin düzeyinin doğumda kord kanında 2 mg/dl, 60-72. saatlerde 5-6 mg/dl, Asyalı bebeklerde ise 72-120. saatlerde 10-14 mg/dl arasında olması fizyolojiktir (9).

Fizyolojik sarılık tanı kriterleri (16):

1. Sarılığın ilk 24-36 saatten sonra başlaması,
2. Total bilirubin artışı hızının günde 5 mg/dl’den az olması,
3. Total bilirubin düzeyinin term bebeklerde 12 mg/dl’yi, preterm bebeklerde 15 mg/dl’yi geçmemesi
4. Direkt bilirubin düzeyinin <2 mg/dl olması,
5. Sarılığın term bebeklerde bir haftadan, preterm bebeklerde 10-14 günden az sürmesidir.

Tablo 1: Yenidoğanlarda başlıca hiperbilirübinemi nedenleri

Bilirubin Üretiminde Artış	Konjugasyon veya Atılım Yetersizliği
● Fizyolojik Sarılık ● Hemolitik Bozukluklar - Rh hemolitik hastalık - ABO uyumsuzluğu - Minör kan grubu uyumsuzluğu ● Polisitemi ● Eritrosit enzim defektleri - G6PDG yetersizliği - Piruvat kinaz yetersizliği - Heksokinaz eksikliği - Konjenital eritropoetik porfiriya - Diğer biyokimyasal defektler ● Eritrosit membran defektleri - Herediter sferositoz - Herediter eliptositoz - İnfanıl piknositoz ● Yenidoğanın travmaya uğraması - Vakum veya forseps uygulaması - Yaygın ekimoz - Sefal hematoma veya subgaleal kanama ● Yenidoğan enfeksiyonları - Üriner enfeksiyon - Sepsis ● Hemoglobinopatiler - Alfa talasemi - Diğer talasemiler ● İlaça bağlı - K vitamini ● Etnik köken - Asya kökenli olma ● Kanama ● Kronik fetal hipoksi ● Diyabetik anne bebeği	● Yetersiz veya zayıf beslenme - Prematürite - Gecikmiş veya yetersiz laktasyon - Yetersiz emzirme - Diğer beslenme bozuklukları ● Enterohepatik sirkülasyonun artması - İntestinal obstrüksiyon - Mekonyum ileusu - Mekonyum tıkaçı - Kistik fibrozis - Hirschsprung hastalığı - Pilon stenozu ● Hormonal bozukluklar - Hipotiroidizm - Hipopitüitarizm ● Bilirubin metabolizma bozuklukları - CNS I ve II - Gilbert hastalığı - Lucey-Driscoll sendromu ● Metabolik Hastalıklar - Galaktozemi - Tirozinemi - Hipermetioninemi

2.2.3.Patolojik sarılık

Fizyolojik sarılık ve anne sütü sarılığı dışındaki tüm nedenler patolojik sarılık olarak adlandırılmaktadır (17). Yenidoğan bebeklerde bilirübinin aşırı üretimi, bilirübinin alımında ya da konjugasyon mekanizmalarındaki kısmi veya tam eksiklik sonucunda meydana gelir (7, 9). Serum total bilirübin (STB) konsantrasyonu term yenidoğanlarda, ilk gün 5 mg/dl'den, ikinci gün 10 mg/dl'den, daha sonraki günlerde 12-15 mg/dl'den fazla olursa patolojik indirekt hiperbilirubinemi olarak kabul edilir (7). STB düzeyi term yenidoğanlarının %6-7'sinde 12,9 mg/dl, %3'ünde 15 mg/dl'in üzerindedir (8).

Patolojik sarılık kriterleri (7, 8, 9):

1. Sarılığın ilk 24 saatte görülmesi.
2. Kord kanında bilirübinin 5 mg/dl veya daha fazla olması.
3. STB artış hızının, saatte 0,5 mg/dl, günde 5 mg/dl'den fazla olması.
4. STB düzeyinin term bebeklerde beyaz ırkta >12 mg/dl, Asyalı yenidoğanlarda >15 mg/dl, prematüre bebeklerde 10-14 mg/dl'nin üzerinde olması. STB düzeyinin doğum saatine göre >95. persantilin (P) olması.
5. Term yenidoğanlarda sarılığın 14 günden uzun sürmesi.
6. Direkt bilirübin düzeyinin 1,5-2 mg/dl'nin üzerinde yada STB konsantrasyonunun %20'sinden fazla olması.

2.2.4.Uzamış sarılık

Gözle görülebilen sarılık, adolesanlarda 2 mg/dl'nin üzerinde, yenidoğanda ise 5 mg/dl 'nin üzerinde olmasıyla oluşur. Miadında doğmuş bebeklerde, 15. günden sonra klinik sarılığın gözlenmesi uzamış sarılık kabul edilir ve altta yatan ciddi bir patolojinin belirtisi olabilir. Burada yüksek olan bilirübin direkt veya indirekt bilirübin olabilir (18, 19). Bazı kaynaklarda 15. günden sonra bilirübinin 8-10 mg/dl üzerinde olması uzamış sarılık olarak kabul edilmektedir

Uzamış direkt hiperbilirübinemi; Seyrekte olsa direkt hiperbilirübinemi de görülebilir. Sık görülen direkt hiperbilirübinemi nedenleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Bu bebeklere başlıca bilier atrezi ve neonatal hepatit açısından ileri tetkik inceleme yapmak gerekir.

Tablo 2: Uzamış direkt hiperbilirübinemi nedenleri

- Neonatal hepatit sendromları
- Bilier atrezi
- Koledok kisti
- Sepsis
- Konjenital enfeksiyonlar (TORCH)
- Metabolik hastalıklar (Galaktozemi, tirozinozis, alfa-1 antitripsin eksikliği)

Uzamış indirekt hiperbilirübinemi; Matür yenidoğanlarda uzamış sarılığın büyük çoğunluğunu indirekt hiperbilirübinemi, bununda önemli kısmını anne sütü sarılığı oluşturur. Uzamış indirekt hiperbilirübinemi nedenleri Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3: Uzamış indirekt hiperbilirübinemi nedenleri

- Anne sütü sarılığı	- Ekstravasküler kan
- Hemolitik hastalıklar	- Sepsis ve idrar yolu enfeksiyonu
- Konjenital hipotiroidi	- Konjenital enfeksiyonlar (TORCH)
- Pilor stenozu	- Konjenital sifiliz
- CNS I ve II	- Konjenital hipopituitarizm
- Gilbert sendromu	

2.2.5. Anne sütü sarılığı

Sarılığının nedeni bulunamayan, anne sütü ile beslenen term ve sağlıklı bebeklerde formula ile beslenenlere göre çok daha yüksek oranda hiperbilirübinemi görülmektedir. Nedeni, büyük olasılıkla anne sütünün farklı bileşimi kabul edilmiştir. Yapılan bir çalışmada anne sütü ile beslenenlerin %2'sinde, Formula ile beslenenlerin ise %0,3'ünde bilirübin düzeyleri 15 mg/dl üzerinde bulunmuştur (20). Başka bir çalışmada ise anne sütü ile beslenen term yenidoğanlarda şiddetli hiperbilirübinemi riski %6,8 mg/dl bulunmuştur (21). Anne sütü ile beslenen yenidoğanlarda, formula ile beslenen yenidoğanlara göre orta derecede sarılık (STB > 12,9 mg/dl) gelişme riski üç kat, şiddetli sarılık (STB > 15 mg/dl) gelişme riski altı kat fazla bulunmuştur (22).

Erken başlangıçlı (Breastfeeding=Emzirme sarılığı) anne sütü sarılığı; anne sütü ile beslenen bebeklerde yaşamın ilk 2.-4. günlerinde görülen sarılığa erken başlangıçlı anne sütü sarılığı denir. Erken başlangıçlı anne sütü sarılığına; anne

sütünün yetersiz olması nedeniyle (kalori azlığına bağlı enterohepatik dolaşımın artması), anne sütünde bulunan bir maddenin glukuronil transferaz enzimini inhibe etmesi, dehidratasyon sonucu bağırsak motilitesinin azalması ve bilirübinin enterohepatik dolaşımının artması sorumlu tutulmaktadır (2, 7).

Geç başlangıçlı (Uzamış sarılık=Anne sütü sarılığı) anne sütü sarılığı; anne sütü ile beslenen yenidoğanlarda yaşamın 3.-5. gününden sonra başlayan ve üç aya kadar uzayabilen sarılığa anne sütü sarılığı yada geç başlangıçlı anne sütü sarılığı denir (2, 7). Anne sütü ile beslenen bebeklerin yaklaşık %10-30'unda görülmektedir. Yaşamının 5.-6. günlerinden sonra ortaya çıkar, 6.-14. günlerde en yüksek düzeylerine ulaşır. Serum total bilirübin düzeyleri genellikle 12-20 mg/dl arasında olup nadiren 20 mg/dl'nin üzerine çıkar (<%1) ve bilirübin ensefalopatisine neden olabilir (7, 12, 23). Çoğunlukla 2-3 hafta, bazen de üç aya kadar uzayabilmektedir (2).

Anne sütü sarılığının altındaki neden tam anlaşılamamış olup mekanizması hakkında çeşitli hipotezler vardır. Günümüzde en çok kabul edilen teori ise bilirübinin intestinal geri emiliminin artması nedeniyle anne sütü sarılığının ortaya çıktığıdır (2, 3, 4, 5). Araştırmalar anne sütü içinde ya hepatik glukuronil transferazı inhibe eden, yada bilirübinin enterohepatik dolaşımını arttıran bir maddeyi tanımlamaya odaklanmıştır.

Anne sütündeki yüksek lipaz aktivitesinin bağırsakta trigliseridi parçalayarak non esterifiye yağ asitlerini ortaya çıkardığı, enterohepatik dolaşım ile karaciğere gelen bu yağ asitlerinin Y ve Z proteinlerine bağlanarak bilirübin konjugasyonunu inhibe ettiği öne sürülmüştür (24).

Anne sütünde bulunan pregnan-3 alfa, 20 beta-diol adlı bir steroidin UGT'ı inhibe ettiğini belirten ilk çalışmalar daha sonraki bulgularla desteklenmemiştir (25).

Bağırsaktaki bilirübin glukronidlerinin ester bağlarını kırarak indirekt bilirübin oluşturan beta-glukronidaz, gestasyonun 8-12. haftasından itibaren saptanabilmektedir. Fetal hayatta bağırsağa atılan bilirübinin fetal dolaşıma geri emilerek plasentaya geçmesini sağlayan beta-glukronidaz, kolostrumda yüksek düzeyde bulunmakta ve anne sütü sarılığında rol oynadığı düşünülmektedir. Buna

karşın Yiğit ve ark. erken ve geç sarılıkları 4. ve 15. günde anne sütündeki beta-glukuronidaz aktiviteleri ile karşılaştırmış ve 4. günden 15. güne beta-glukuronidaz seviyesinde azalma olduğunu bildirerek başka faktörlerin patogeneizde araştırılmasını önermişlerdir (2, 7, 26).

Anne sütü sarılığının etyolojisinde genetik nedenlerinde rol oynadığı düşünülmektedir. Mauro ve ark. anne sütü ile ilgili uzamış sarılıklı olgularda UGT1A1 geninde hata olduğunu belirlemiş ve anne sütündeki bir veya birkaç içeriğin bu mutasyona sahip bebeklerde uzamış sarılığı tetikleyebileceğini öne sürmüşlerdir (27). Başka bir hipotez ise indirekt bilirübinin karaciğere alımında görevli taşıyıcı organik anyon transport proteininde (SLCO1B1) mutasyon olmasıdır (28).

Zanardo ve ark. yaptıkları çalışmada hayatının ilk haftasında sadece anne sütü ile beslenen sarılıklı yenidoğanların annelerinin sütlerinde sitokin düzeylerini ölçmüşler. Özellikle IL-1 beta düzeylerini belirgin yüksek bulmuşlar. Sitokinler kolestaz, bilirübin uptake, metabolizma ve eksresyon basamaklarına etki ederek sarılığın ortaya çıkmasına neden olabilirler (6).

Anne sütündeki yüksek EGF seviyelerinin uzamış yenidoğan sarılığının bir nedeni olabileceği bildirilmektedir. EGF, doğum sonrası yenidoğanın gastrointestinal sisteminin adaptasyonu için büyüme, proliferasyon ve mutasyonundan sorumludur. Kumral ve ark., uzamış anne sütü sarılığı olan bebeklerin serumlarında ve anne sütlerinde EGF düzeylerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (29). EGF'nin gastrointestinal motiliteyi azalttığı ve bilirübin emilimini arttırdığı bildirilmektedir.

Manganaro ve ark. yaptıkları çalışmada uzamış sarılığı olan yenidoğanlarda AFP seviyelerini yüksek bulmuşlar. Ama bunun kesin önemi bilinmemektedir (30).

Anne sütündeki steroidler, nükleotidler, metal iyonların ve henüz tanımlanmamış başka maddelerin UGT enzimini ya da bilirübin metabolizmasının diğer basamaklarını etkileyerek hiperbilirübinemiye yol açtığı düşünülmektedir. İleri sürülen bir çok hipotez olmasına rağmen sonuç olarak, anne sütü sarılığının mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (6).

2.3. Anne Sütü

İlk 4-5 gün içinde salgılanan anne sütüne kolostrum denir. Daha sonraki süte göre daha az miktarda yağ ve laktoz içerirken; proteinler, özellikle globülinler, sodyum, klor ve A vitamini daha yüksek miktarda bulunmaktadır (31). Laktasyonun 4-5. günü geçici süt oluşmaktadır. Daha sonra protein ve mineraller giderek azalır, yağ ve laktoz ise artmakta ve olgun (matür) süt üretimi başlamaktadır (31). Anne sütündeki protein, karbonhidrat, lipit, mineral ve vitaminler besin içeriğini oluşturmaktadır.

2.3.1. Anne sütündeki proteinler

Kolostrumda protein miktarı 15,8 g/L iken, matür sütteki protein miktarı 8,0-9,0 gr/L'ye düşer (32). Anne sütünde esansiyel aminoasitler, koruyucu faktörler (immunoglobulinler, lizozim, laktoferrin vb), vitamin bağlayıcı proteinler (folat, D vitamini ve B12 vitamini vb bağlayıcı proteinler), hormon bağlayıcı proteinler (tiroksin, kortikosteroid vb bağlayıcı proteinler), enzimler (amilaz, lipaz vb), hormonlar (insülin, EGF, TGF, prolaktin vb) gibi çok sayıda protein yapıda biyoaktif maddeler bulunmaktadır.

Anne sütündeki proteinlerin yaklaşık üçte biri kazein, üçte ikisi ise whey proteininden oluşmaktadır. Whey proteinleri alfa-laktalbumin, laktoferrin, immünoglobülinler, lizozim ve serum albumini olmak üzere beş fraksiyondan oluşmaktadır (33).

Anne sütünde serbest aminoasitler, karnitin, taurin, nükleotidler, nükleik asitler ve poliaminler gibi çok sayıda nonprotein nitrojen komponent bulunmaktadır. Uauy ve arkadaşları lenfoid doku ve intestinal epitel gibi hızlı yenilenen dokularda nükleotid üretilmediğini ve bu nedenle eksojen pürin ve primidin alımı gerektirdiğini göstermişlerdir. Anne sütü bol miktarda nükleotid içermektedir (34, 35).

2.3.2. Anne sütündeki karbonhidratlar

Anne sütündeki karbonhidrat laktozdur, ortalama konsantrasyonu 68 g/L olup toplam kaloringin %38'ini oluşturur (36). Yavaş ve kolay sindirildiğinden kan şekeri çocuğun fizyolojisine uygun olarak düzenler, kalsiyum ve diğer minerallerin emilimine yardımcı olur, barsak bakterileri tarafından laktik aside çevrilerek, dışkıda

istenmeyen mikroorganizmaların üremesini engeller. Laktozun galaktoz komponentinin lipidlerle bileşikleri beyin dokusu gelişimi için çok önemlidir. Anne sütünde çok az miktarda glukoz (0,02 g/L), galaktoz ve bazı kompleks karbonhidratlar da bulunmaktadır (33).

Bazı oligosakkaritler patojenlerin epitele bağlanmasını inhibe eder ve bifidus faktör ile bağırsaklarda bifidobakterilerin üremesini sağlar (37).

2.3.3. Anne sütündeki lipitler

Anne sütündeki miktarı 30-50 gr/L olan yağların %98'i trigliseritten oluşur, total kalenin %45-55'ini oluşturmaktadır. Anne sütü esansiyel yağ asitlerinden, özellikle linoik ve linoleik asit yönünden zengindir (38). Kolostrumda daha fazla olmak üzere; anne sütünün çoklu doymamış yağ asitlerden zengin olması beyin gelişimi, myelinizasyon, retinal işlevler ve hücre proliferasyonunun normal olmasını sağlar. Sütün içerdiği yağ miktarı, insandan insana, laktasyonun zamanına göre değişkenlik gösterir. Bebek beslenmesi süresince 2 tip süt salgılanır. Emzirmede ilk gelen süt (fore milk-ön süt) yağdan fakir, laktozdan zengin sulu süttür. Bu sütün özelliği öncelikle çocuktaki dehidratasyonu ve hipoglisemiye önlemesidir. Beslenme süresi uzadıkça sütün yağ içerdiği 3 kat, proteini ise 1,3 kat artış gösterir ve emzirmenin sonuna doğru salgılanan ve yağdan zengin olan sütü (hind milk) alan çocuk doygunluk hissederek memeyi bırakır.

2.3.4. Anne sütündeki vitaminler

Anne sütündeki vitaminler annenin beslenme durumundan etkilenmektedir. Annenin vitamin defisiti varsa, vitamin alımını takiben sütte vitamin miktarı artar ancak annenin vitamin düzeyi normale vitamin alımıyla sütte belirgin artış gözlenmez (36). Normal beslenen bir annenin sütü K ve D vitaminleri hariç tüm vitaminleri yeterli düzeyde içermektedir (38). Anne sütündeki A vitamini annenin diyetle alımından etkilenmektedir ve konsantrasyonu 200-600 mg/L arasında değişmektedir (39). Plazma retinol bağlayıcı protein konsantrasyonu erken laktasyon döneminde yükselirken, sütün A vitamini içeriğine paralel olarak azalmaktadır. Anne sütü çeşitli karotenoidler (alfa karoten, beta karoten, lutein, kriptoksantin, likopin) ve retinol (erken sütte 2 mg/L ve matür sütte 0,2-0,4 mg/L) içermektedir (40).

Anne sütünde D vitamini ve metabolitleri 0,1-1,0 g/L arasında bulunur. Yenidoğanda hepatik hidroksilaz aktivitesi gelişmemiştir. Anne sütünde D vitamininin 25-OH formunda olması bebeğin fizyolojik durumuna uygunluk gösterir. Bununla birlikte anne sütünde 22 İU/L D vitamini vardır ve bu miktar çocuğun gereksinimi olan 400 İU/L'den (veya 10 mg kolekalsiferolden) oldukça azdır, destek yapılması gereklidir (40).

Anne sütündeki K vitamini konsantrasyonu 1-9 g/L arasında değişebilirken daha çok 2-3 g/L olarak saptanır. Transplasental geçişi az olduğundan infant depoları düşük olarak doğar. Anneye 5-20 mg/dl K vitamini desteği, sütünde ve infant plazma K vitamini düzeyinde artışa sebep olur (41).

Anne sütündeki E vitaminin %83'ü alfa-tokoferoldür. Beta-tokoferol, gama-tokoferol ve zeta-tokoferol çok az miktarlarda bulunur. Tokoferolün kolostrum konsantrasyonu 8 mg/L iken matür sütte 3-4 mg/L'ye düşer (40). Dengeli beslenen annenin matür sütünde C vitamini düzeyi ortalama 100 mg/L'dir. Annenin günlük C vitamini alımı 100 mg/L'den fazlaysa sütteki içeriği değişmez, ancak annenin alımı daha azsa sütteki miktarı azalır. Anne sütündeki C vitamini konsantrasyonu maternal plazma konsantrasyonunun yaklaşık 8-10 katıdır (36). Erken sütte tiamin düzeyi 20 g/L iken, matür sütte 200 g/L'ye yükselir. Riboflavin düzeyi maternal diyetten çok etkilenmekle birlikte erken sütte daha fazla olup matür sütte 400-600 g/l'ye düşer. Niasin ise erken sütte 0,5 mg/L, matür sütte 1,8-2,0 mg/L düzeyinde bulunur. B6 vitamini erken sütte azken, matür sütte 0,09-0,31 mg/L'dir. Anne sütündeki B6 düzeyi maternal serumdan yaklaşık 10 kat fazladır (40). Anne sütündeki B12 vitamini ve folat whey proteinine bağlı bulunur. Matür sütte B12 vitamini düzeyi 0,5-1,0 g/L, folat düzeyi 80-140 g/L, biotin düzeyi ise 5-9 g/L'dir. Anne sütündeki biotin düzeyi maternal plazmanın 20-50 katıdır.

2.3.5. Anne sütündeki minareler

Anne sütünde potasyum, sodyum ve kalsiyum serbest iyonlar olarak, diğer mineraller de kompleks bileşikler halinde bulunurlar. Anne sütündeki minarelerin yoğunluğu bebeğin ihtiyacına göre değişmektedir. Anne sütündeki fosfor 3. haftada 147 mg/L iken, 26. haftada 107 mg/L'ye düşmektedir. Aynı dönemde sütteki kalsiyum 259 mg/L'den 248 mg/L'ye değişirken sütteki magnezyum 290 mg/L'den 330 mg/L'ye

yükselmektedir. İnfant serum kalsiyum, magnezyum ve fosfor konsantrasyonu da buna paralel değişir. İnfanttaki yüksek kalsiyum ve magnezyum, düşük fosfor düzeyi kemik mineralizasyonu için önemlidir (40). Anne sütündeki kalsiyum miktarı, inek sütünün %25'i kadar olsa da, barsak pH'sının asit, yağ emiliminin daha iyi ve fosfor emiliminin daha düşük olması nedeniyle anne sütündeki kalsiyumun %55'i emilmektedir. İnek sütü veya inek sütünden hazırlanan ticari mamalarda bu oran %38'dir.

Anne sütündeki bakır ve demir içeriği zamanla azalıp matür sütte 0,3 mg/L'de stabil kalırken çinko giderek azalır. Çinko düzeyi erken sütte 4 mg/L, 6. ayda 0,1 mg/L ve 1 yılda 0,5 mg/L'dir. Maternal diyet, sütteki çinko konsantrasyonunu etkilememektedir. Anne sütündeki demirin üçte biri lipit fraksiyonla üçte biri aköz fraksiyonla ve %10'u kazeinle ilişkilidir. Aköz fraksiyondaki demirin %20-30'unu laktoferrine bağlıdır. Anne sütündeki demirin emilimi inek sütünün yaklaşık 5 katıdır.

Anne sütüyle beslenen infansta bakır düzeyi sütteki miktarından çok, plazma serüloplazmin konsantrasyonuna bağlıdır ve doğumda düşük düzeydedir (40). Anne sütünde mangan 3-6 g/L civarında bulunur. Selenyum erken sütte 40 g/L, matür sütte 7-33 g/L'dir ve maternal düzeyle yakın ilişkilidir. İyotun sütteki miktarı annenin beslenmesine göre değişiklik gösterir. İyot eksikliği olan bölgelerde anne sütündeki iyot miktarı 15 g/L iken, iyotun yeterli olduğu bölgelerde anne sütünde 150 g/L düzeyindedir (40).

2.3.6. Anne sütünün immünolojik özellikleri

Anne sütünün gastrointestinal ve respiratuar sistem enfeksiyonlarından koruduğuna dair yayınlar 20 yıl öncesine dayanır (42). Anne sütüyle beslenme, infantı patojen mikroorganizmalardan korurken, anne sütünün içerdiği biyoaktif maddeler ile infant immün sisteminin gelişimine yardımcı olur. Anne sütü alan bebeklerde aşıların etkinliğinin arttığı gösterilmiş olup bu da immün sistem modülasyonunun bir göstergesidir (43). Kolostrumun 24 saat, matür sütün ise 6 saat boyunca steril kalması antienfektif özelliğinin bir kanıtıdır (44). Anne sütündeki spesifik ve nonspesifik immünolojik faktörler ile bebeğin enfeksiyon ajanlarına karşı direnci artarken, alerjik reaksiyon riski azalmaktadır. Bir çalışmada anne sütü alan

bebeklerin timuslarının, formül mama alanlara göre 2 kat büyük olduğu saptanmış. Bu da anne sütüyle beslenenlerde immünmodülasyonun olduğu ve formül mamayla beslenenlerde timusun suprese olduğunu düşündürmektedir (45).

İmmünoglobulinler; Anne sütünde bol miktarda IgA ve daha düşük miktarlarda IgM, IgG, IgD ve IgE bulunur (38,46,47). Bu antikorlar bağırsaktan emilerek kana geçer ve tüm mukozalara dağılarak infantı enfeksiyon ajanlarından korur. Sütteki IgA serumdakinden farklıdır. “J” zinciri ile “Sc” sekretuar komponenti birleşerek Salgısal IgA’yı (SIgA) oluşturur. Böylece enzim ve pH değişikliklerine dayanıklı hale gelir (38,44,46,48). SIgA total IgA’nın %90’ıdır ve kolostrumda düzeyi 1-2gr/L iken, matür sütte 0,5 gr/L’ye düşer (49).

Annenin bağırsak ve solunum yollarındaki patojen mikroorganizmalara karşı oluşturduğu antikorlar süt ile çocuğa aktarılarak çocuğu etrafındaki enfeksiyon etkenlerinden korumaktadır, buna immünolojik eksen denir (49, 50).

Bir çalışmada anne sütünün lipit fraksiyonunda alfavirüs, flavivirüs ve herpesvirüse karşı, başka bir çalışmada ise polio, coxsackie A9, B3, B5, Echo tip 6 ve 9 virüslere karşı antikor saptanmıştır (47, 51). Anne sütünde bol miktarda C.tetani, C.diphtheriae, S. Pneumoniae, E. coli, salmonella ve shigellaya karşı antikor, stafilolizin ve streptolizin bulunmaktadır (33, 52). Yapılan çalışmalarda anne sütü ile beslenmenin 2-5 aylar arasında tekrarlayan Haemophilus influenzae tip b enfeksiyonlarından koruduğu gösterilmiştir (53, 54). Anne sütünün ilk 2 yıl tekrarlayan Streptococcus pneumoniae enfeksiyonlarından da koruduğu saptanmıştır (55). Ayrıca anne sütünün E. coli ve vibrio cholerae toksinlerini inhibe ettiği, G. lamblia ve E. histolitica’yı öldürdüğü gösterilmiştir (47, 56).

Laktoferrin; Laktoferrin 79 kDa ağırlığında, 692 aminoasitten oluşan tek zincir glikoproteindir, demir bağlayıcı globüler iki kıvrımı vardır(57). Bakterisidal, antiviral, antienflamatuar ve sitokin fonksiyon modülatörü olan laktoferrinin inek sütündeki düzeyi 0,2 gr/L iken kolostrumda 0,5-1,0 gr/L’dir(38). İmmünoglobulin ve diğer koruyucu proteinlerle sinerjistik olarak lokal, salgısal immün sistem içinde rol almaktadır.

Birçok mikroorganizma büyüme ve gelişmeleri için demire ihtiyaç gösterir ve laktoferrin demir kullanımını engelleyerek bakterilerin büyümesini baskılamaktadır. Laktoferrin özellikle *E. coli*, streptococ ve *C. albicans*'a karşı olmak üzere bakteristatik etkilidir (58, 59, 60). Özellikle gram negatif bakterilerden yüksek oranda demire ihtiyacı olanlara (örneğin koliform bakteriler); mastitin major patojeni ve bazı gram pozitif mikroorganizmalara antimikrobiyal etki göstermektedir. Streptococ ve *Vibrio cholerae*'ya karşı demir kullanımını engellemeden bağımsız olarak bakterisidal etkinliği vardır. Enterik demirin emilimini sağlar, bu nedenle yaşamları için demire ihtiyaç gösteren enteropatojenik *E. coli*'nin oluşturduğu enfeksiyonları önlemektedir (61).

Laktoferrinin parsiyal gastrik hidrolizi ile herpes simpleks virus, sitomegalovirüs ve HIV enfeksiyonlarına karşı antiviral etkinliği artmaktadır. Laktoferrinin immün modülatör etkisi ile monositlerden IL-1, IL-2, IL-6 ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) ve makrofajlardan prostaglandin E2 salınımı azalmaktadır. Bu etki hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanmasıyla oluşmaktadır (62). Laktoferrin ayrıca natural killer (NK) hücrelerini aktive eder, kompleman aktivasyonu ve koagülasyon üzerine etkilidir.

Enterochelin mikroorganizmaların üremesi için gerekli demiri sağlayan demir bağlayıcısıdır. Laktoferrinin etkisi; enterochelin sentezini inhibe eden bikarbonat, IgA ve diğer antikorlar tarafından artırılır (31, 47, 63, 64).

Laktoferrin demiri bağlayarak demir aracılı süperoksit ve hidrojen peroksit (H₂O₂)'den hidroksil radikallarının oluşmasını, lipopolisakkarit aracılı nötrofil aktivasyonunu ve endotoksin aracılı sitokin salınımını inhibe ettiğinden antienflamatuar etkilidir (65, 66, 67).

Sonuç olarak laktoferrin intestinal gelişimi ve hasar sonrası iyileşmeyi attırması, probiyotik intestinal bakterilerin gelişmesini sağlaması nedeniyle intestinal enfeksiyon ve allerji gelişimini azaltmaktadır (57).

Lizozim; Lizozim 14,4 kDa büyüklüğünde, 130 aminoasit içeren bir glikoproteindir (57). C-lizozim ve g-lizozim olmak üzere iki tipi vardır. İnek sütünde her iki tip bulunurken anne sütünde sadece c-lizozim vardır. Lizozim bakteri hücre duvarındaki

peptidoglikanın iki bileşeni arasındaki glikosidik bağı parçalayarak bakterileri öldürür. Kolostrumda lizozim çok yüksektir, ilk bir yıl, anne sütündeki düzeyi 0,1 gr/L civarındadır. Lizozim aynı zamanda hasar gören dokuya nötrofillerin göçünü sınırlandırarak antienflamatuar etki göstermektedir (61).

Lizozim fonksiyonları laktoferrin ve IgA ile ilişkilidir. Lizozim *E. coli*'nin sIgA tarafından inaktive edilmesinde rol oynamaktadır (31, 46). İn vitro çalışmalarda lizozimin *E. coli* ve salmonellaya bakterisid etkisi gösterilmiştir (59). Lizozim sütte düşük düzeyde bulunan askorbat ve peroksit ile birlikte salmonellaya lizis etkisi göstermektedir.

Laktoperoksidaz; Peroksidaz enzimleri oksidatif mekanizmalarla bakterileri öldürmektedir. Laktoperoksidaz anne sütündeki immünoglobulin dışı koruyucu proteindir, meme bezinde mikrobiyal invazyonu da önlemektedir. İnek sütüyle karşılaştırıldığında anne sütü daha yüksek laktoferrin ve lizozim içerirken laktoperoksidaz aktivitesi 20 kat daha düşüktür (68).

Laktoperoksidaz hidrojen peroksidaz ve tiyosiyanat ile reaksiyona girerek streptokok enfeksiyonlarından korumaktadır (46, 69). Ayrıca laktoperoksidazın *P.aeruginosa*, *E. coli* ve *S. typhimurium*'a da etkilidir (70).

İmmün Hücreler; Anne sütünde polimorfonükleer lökositler, T ve B lenfositler, makrofajlar ve köpüklü makrofajlar bulunmaktadır. Bu hücreler direk fagositoz, interferon sekresyonu ve spesifik IgA üreterek enfeksiyondan korunmada rol oynarlar (46, 71, 72, 73).

Özellikle kolostrumda bol miktarda lökosit vardır, bunların çoğu nötrofildir. İnfant intestinal sisteminde nötrofiller fagosit fonksiyonu görmeye devam ederler. Anne sütünde ikinci sıklıkta makrofajlar bulunur ve kolostrumdaki lökositlerin %40'dır. Anne sütündeki nötrofillerden daha aktiftirler ve lizozim üretirler. Anne sütündeki lökositlerin %10'u lenfositlerdir. Bu lenfositlerin %20'si antikör üreten B lenfositler iken, %80'i T lenfositlerdir ve enfekte hücreleri öldürme, immün sistemin diğer komponentlerinin migrasyonunu sağlayan sitokin salgılama fonksiyonları vardır. Anne sütündeki lenfositler *E. coli* enfeksiyonlarında çoğalmaktadır (74).

Hayvan deneylerinde anne sütünde bol miktarda bulunan lökositlerin hayvan intestinal epiteline 60 saat olarak bağlı kaldığı ve oradan emilerek kana karıştığı, karaciğer ve dalağa migrasyon yaptığı gösterilmiştir (75).

Diğer Antienfektif Faktörler; Anne sütünde *Lactobacillus bifidus*'un gelişimi için gerekli olan growt faktör bulunduğundan anne sütüyle beslenen çocukların kolonlarında bol miktarda *L.Bifidus* bulunmaktadır (63, 76, 77, 78). Laktobasiller asetik asit ve laktik asit salgılar ve bebeğin bağırsağında bunlar birikerek asetat buferi oluşur, pH düşer ve patojen gram (-) bakteri ve mantarların üremesi inhibe olur (46).

Anne sütündeki kazein *H. pylori*'nin gastrik mukoza hücrelerine, *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae*'nin solunum yolu epitel hücrelerine tutunmasını inhibe etmektedir. Anne sütü, özellikle kolostrum bol miktarda oligosakkarit içermektedir. Bu oligosakkaritler konak hücre yüzeyindeki reseptörlerle benzerlik gösterir, bakteriyel adezyonun inhibisyonu yoluyla enfeksiyonlara, özellikle üriner sistem enfeksiyonlarına karşı koruyucu etki göstermektedir. Anne sütündeki oligosakkaritler farinks ve yanak epitel hücrelerine *Streptococcus pneumoniae*'nin adezyonunu engellemektedir (79). Anne sütündeki glikokonjugatlar ve oligosakkaritlerin konsantrasyonu 1,5 g/dl'dir. Bu grupta yer alan müsin *E. coli*'nin bukkal epitele adezyonunu önler ve rotavirüs enfeksiyonundan korur (80).

Anne sütü yağ globülleri infantı enfeksiyonlardan korur. Bu koruma membran glikokonjugatlarının bakteriyel ve viral ligant gibi davranması ve bunların sindirim ürünleri olan trigliseritler, serbest yağ asitleri ve monogliseritlerin virüs, bakteri ve protozoonlar üzerine litik etkili olmasından kaynaklanmaktadır (68, 81).

Fibronektin spesifik antikoru bulunmayan mikroorganizmaların fagositler tarafından fagositozunu artırır. Salgısal IgA gibi fibronektin de inflamasyonu azaltır, inflamasyon nedeniyle hasarlanmış dokuların tamirine yardımcı olur (80).

Anne sütü çok miktarda ksantin oksidaz içermektedir. Ksantin oksidaz ve nitritler birlikte infant gastrointestinal sisteminde nitrik oksit oluşumuna yol açar, oluşan nitrik oksitin *Enterobactericia*, *E. coli* ve *Salmonella enteritidis*'in metabolizmasını

baskıladığı gösterilmiştir (82). Nükleotidler hasar sonrası intestinal onarımı ve bazı aşılarla immün yanıtı artırır. Bazı nükleotidler *Lactobacillus bifidus*'un üremesini artırır ve patojenlerin üremesini inhibe ederler.

2.3.7. Anne sütü sitokinleri

Sitokinler hücre matürasyonu, diferansiasyonu, inflamasyon, immünite ve doku tamirinde rol oynayan; düşük molekül ağırlıklı glikoproteinlerdir, spesifik hücre reseptörüne bağlanarak otokrin ve parakrin etki gösterirler (83). Bu nedenle sitokinler plazmada çok az miktarlardadır (84). Kaynağı lenfosit, granülosit, monosit ve mast hücresi gibi inflamatuvar hücreler olabileceği gibi, epitel, fibroblast ve endotel gibi doku hücreleri de olabilir. Fonksiyonlarına göre IL'ler, koloni stimüle edici faktörler (CSF), interferonlar (IFN), tümör nekroze edici faktörler (TNF), büyüme faktörleri (GF) ve kemokinler olarak alt gruplara ayrılırlar (85, 86).

Günümüzde anne sütünün çok sayıda sitokin içerdiği bilinmektedir (87). Erken dönemde sütte bol miktarda sitokin vardır ve neonatal dönemdeki immatür organ sistemlerinin gelişimi açısından önemli bir biyoaktif komponentlerdir (88). Çeşitli çalışmalarda anne sütündeki lenfositlerden bol miktarda interferon üretildiği gösterilmiştir (87, 89).

Anne sütünde immünomodülatör etkiye sahip 10 klasik sitokin vardır (87):

1. IL-1 beta
2. IL-6
3. IL-8
4. IL-10
5. CSF-M
6. CSF-G
7. TGF-alfa
8. TGF-beta 2

9. TNF-alfa

10. IFN-gama

Anne sütündeki sitokinlerin sindirim enzimleriyle sindirilmeleri nedeniyle etkili olup olmayacağı tartışma konusudur. Fakat sitokinler mideye ulaşmadan önce geniş bir sindirim sistemi mukoza yüzeyiyle karşılaşmaktadır. Pepsin üretimi hayatın ilk bir haftasında gecikmektedir ve sütte çok sayıda antiproteaz bulunmaktadır (87). Ayrıca doğumdan sonraki ilk bir haftada bağırsaklarda geçirgenlik artmıştır ve sitokinlerin bol bulunduğu bu dönemde mukozaya pasajını ve distal organlara geçişini kolaylaştırmaktadır (90, 91).

Yenidoğan bebeğin bağışıklık sistemi hem transplasental hem de emzirme ile geçen maternal immüniteden etkilenir (92). Taze anne sütü; infeksiyöz ajanlar ve çevresel antijenlere karşı spesifik veya nonspesifik savunma mekanizmaları üreten komponentler içerir. Bir dizi epidemiyolojik çalışma emzirmenin, gastrointestinal ve respiratuar traktı etkileyerek infantil enfeksiyonları önlediğini gösterilmiştir (33). Yeni klinik ve deneysel çalışmalar anne sütünün infanti sadece pasif olarak korumadığını, aynı zamanda direk olarak alıcı infantta immünolojik gelişimi düzenlediğini göstermiştir. Emzirilen bebeklerde emzirmenin sonlandırılmasından uzun süre sonrasında bile allerjik hastalıklar, crohn, ülseratif kolit, insülin bağımlı diyabet, bazı lenfomalar gibi otoimmün veya disregüle immünitenin neden olduğu hastalıkların insidansında azalma gösterilmiştir (93, 94, 95, 96). Aynı zamanda anne sütü içerisinde hormonlar, büyüme faktörleri, sitokinler gibi immünolojik biyoaktif maddeler tanımlanmıştır (68, 97). Anne sütünde varolan bu biyoaktif maddelerin etkileşimleri ve paylaştıkları ortak özellikler yeni yeni keşfedilmektedir (98).

Virüs bakteri gibi yabancı organizmalara karşı savunma, doğuştan ve edinsel spesifik immünite ile alakalıdır. Doğal ve spesifik immünitenin efektör evreleri büyük ölçüde sitokinler olarak bilinen protein yapıdaki hormonlar ile ilişkilidir. Bu moleküller otokrin ve parakrin olarak birçok farklı hücre tipine etkilidirler. Sitokinler immün sistemin yönetim ve gelişim fonksiyonları üzerine etkilidirler. İmmün cevapla ilgili inflammatuar yanıtı regüle ederler (99).

Anne sütünün pasif protektif etkisi; alıcının mukozal ve sistemik immün yanıtını güçlendirici etkisi içerisinde bulunan antimikrobiyal, antiinflamatuvar, immünmodulatuvar aktiviteye bağlıdır (68). Son 10 yılda anne sütü içinde birçok sitokin bulunmuştur ve onların orijini, yapısı ve fonksiyonu hakkında yeni ilginç bilgiler edinilmektedir. Anne sütünün sitokin benzeri biyolojik aktivitesi, anne sütünde sitokinlerin olduğunun ilk göstergesidir. B hücrelerinin büyümesi, farklılaşması ve immünoglobulin üretimi, anne sütünde bulunan ilk aktivitelerdir. Bu durum sitokinlerin varlığını desteklemiştir (100, 101, 102). Diğer aktiviteler (örn; timosit proliferasyonun artması, T hücrelerin IL-2 üretiminin azaltılması, Ig E üretiminin baskılanması) de anne sütündeki immünmodulatuvar mediatörlerin varlığı ile ilişkilidir (103, 104, 105).

Süt örneklerinin aselüler fraksiyonunda bu sitokinlerin analizi enzim bağlı immünosorbent assay, radioimmünoassay veya kantitatif biyoassay'ler ile analiz edilir. IL-1 muhtemelen insan sütünde kantitatif olarak gösterilen ilk sitokindir (106). IL-1 beta sağlıklı emziren annelerin kolostrumlarında ve erken süt örneklerinde bulunmuştur. Süt hücrelerinin spontan olarak IL-1 ürettiği bulunmuş olup bu durum onların aktif olduğunu gösterir. Daha sonra erken süt örneklerinde, TNF'nin yüksek konsantrasyonları gösterilmiştir (107). Biyolojik sıvılarda TNF-alfanın trimerik formu bulunduğundan anne sütündeki sitokinlerin diğer moleküllerle ya da solubl reseptörlerle bağlı olduğu düşünülmektedir (108). Sütteki TNF-alfa muhtemelen süt makrofajları ve meme epitelden sekrete edilmektedir (107, 109, 110). IL-6 anne sütünde spesifik bioassay ile ilk keşfedilen sitokindir (111). Bu çalışmalarda, alınan süt örneklerine IL-6'ya karşı nötralizan antikor ilave edilmiş daha sonra immünoassay yöntemi ile sütteki IL-6 gösterilmiştir. Kolostrumdaki IL-6 stimüle mononükleer hücrelerden Ig A üretimi inhibe eder, bu da IL-6'nın meme glandında Ig A üretimi ile yakın ilişkili olduğunu öne sürmektedir (110, 112, 113). TNF-alfaya benzer şekilde IL-6'nın insan sütünde yüksek moleküler fraksiyonda olduğu görülmektedir (112). Sütte IL-6'nın kendi reseptörüyle ilişkisi henüz çalışılmamıştır. Ancak meme epitelinden IL-6 reseptör sekresyonu ve sütteki sekrete edilmiş formu, anne sütündeki sitokin yüksek molekül ağırlığını açıklayabilir (108, 110). Süt hücrelerinde ve meme gland epitelinde IL-6'nın mRNA'sının gösterilmesi, meme epitel hücrelerinde ve lipopolisakkarit (LPS) ile stimüle süt hücrelerinde IL-6'nın

gösterilmesi bu sitokinin major kaynağının hem süt mononükleer hücreleri hem de meme glandının olduğunu göstermektedir (109, 110, 114). Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar, anahtar bir immünoregülatuar ve antiinflamatuvar sitokin olan IL-10'un, laktasyonun ilk 80 saatinde anne sütünde çok yüksek konsantrasyonlarda olduğu göstermiştir (115, 116). IL-10 sütün sadece sulu kısmında bulunmaz aynı zamanda yağ katmanında da bulunur. IL-10'un biyoaktif özellikleri şu bulgularla doğrulanmıştır. Anne sütü örneği kan lenfosit proliferasyonunu inhibe etmektedir ve bu durum anti IL-10 antikor tedavisi ile büyük ölçüde gerilemektedir. IL-10 mRNA'sı, kültüre edilmiş insan meme epitel hücresinde bulunmuştur. Buda sütteki apokrin sekresyonun bu molekülün olası bir kaynağı olabileceğini öne sürmektedir (98). IFN-gama anne sütünde yeterli konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Stimüle süt lenfositleri tek-hücre evresinde lokalizedir, onun biyoaktivitesi ve süt T hücrelerinin spesifik alt tipleri ile ilişkisi henüz tesbit edilememiştir. Ancak, IFN-alfa ve beta anne sütü örneklerinde tanımlama düzeyinin altındaki seviyelerde bulunmuştur (109, 110, 113, 117). CSF'ler yüksek oranda spesifik protein faktörlerdir. Hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunu hematopoez sürecinde regüle ederler. Son zamanlarda anne sütünde sıkça gösterilmişlerdir. Sütteki koloni-stimulan aktivite yaklaşık 15 yıl önce gösterilmesine rağmen, G-CSF, M-CSF ve GM-CSF son yıllarda anne sütünde spesifik olarak tanımlanmış ve ölçülmüştür (118, 119, 120, 121). Kadın seks hormonlarının düzenleyici aktivitesi altında; sütteki M-CSF konsantrasyonu serumdakinin neredeyse 10-100 katı kadar yüksektir, duktusların epitelial hücrelerinden ve meme glandının alveollerinde üretilir (120).

Kemokinler küçük kemotaktik sitokinlerin yeni bir sınıfıdır. Farklı hedef hücre selektiviteleri vardır. Lökositleri aktive edebilirler ve bu durumda inflamasyonun potent mediatörleri olarak rol alırlar (122). IL-8 ve growth-related peptide-alfa nötrofiller için başlıca kemotaktik faktörlerdir. Kemokinler en iyi karakterize edilmiş histamin salıcı faktör olan MCP-1 içerirler. MIP-1 alfa ve RANTES monosit, bazofil ve eozinofiller için kemotaktiktir ancak nötrofiller üzerine etkileri yoktur (123). IL-8 konsantrasyonu ilk önce küçük bir grup süt örneğinde Basolo ve ark. tarafından sonra Palkowetz ve ark. tarafından tanımlanmıştır (110, 124). Her iki grup da meme epitelinden IL-8 ekspresyonu ve sekresyonunu tanımlamış ancak süt hücrelerinin de bu kemokini üretmede iyi olduğunu

göstermiştir (109, 114). Growth-related peptide-alfa ile MCP-1 ve RANTES son yıllarda anne sütünde bulunmuştur. Süt çalışmalarında MCP-1 ekspresyonu ve daha az oranda RANTES mRNA ekspresyonu olduğu doğrulanmıştır (114).

Yenidoğan hücrelerinde; erişkin T hücreleri ve diğer selüler kaynaklara kıyasla birçok sitokinün üretimi, onların mRNA'larının ekspresyonu hafif (TNF-alfa), orta (GM-CSF) veya belirgin (IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, IL-10, IFN-gama) olarak azalmıştır (125, 126, 127, 128). Sitokin yetmezliği diğer sistemlere de yansiyabilir. Yenidoğanın poliksakkarid aşılara ya da streptokok gibi kapsüllü bakterilere karşı zayıf antikor yanıtına sebep olabilir (129). İn vitro anti-CD2 yada anti-CD3 antikor stimülasyonuna erişkin T hücreleri yanıt verirken neonatal T hücreleri proliferasyon olamazlar (130). Ayrıca, azalmış CSF üretiminin yenidoğanda immatür myeloproliferatif yanıt ve efektör nötrofillerde fonksiyon defektlerine yol açtığına dair güçlü klinik ve deneysel kanıtlar vardır (126, 127, 128).

Anne sütünde var olan sitokinler respiratuar ve gastrointesinal sistemin üst kısımlarında mukozal lenfoid dokularla potansiyel olarak etkileşirler. Bugüne kadar solunum ve gastrointestinal mukozadaki epitel hücrelerinde sitokinler için spesifik reseptörlerin ekspresyonu zayıf bir şekilde araştırılmıştır (98). Neonatal periyotta sitokinlerin intakt ya da hasarlı mukozal bariyerlerden pasif geçisi aydınlatılamamıştır. Sitokinlerin orta ve alt gastrointestinal traktta geçişini gösterir kanıtlar mevcuttur. Örneğin, IL-1 ve IL-8 gibi sitokinler kısmen sindirim sürecine karşı dirençlidir. Anne sütündeki diğer immünmodulatorler başka dokulara dağılıp sindirimden korunurlar (98). Ayrıca, insan sütü proteolizle mücadele eden antiproteazlar ve yenidoğanda tam olarak gelişmemiş bazı sindirim ajanları içerir (87). Böylece; yenidoğanda gelişimsel olarak gecikmiş sitokinler gibi biyolojik fonksiyonlu ajanların üretimi, anne sütünün içeriği ile raplase edilmiş olur (98).

IL-6 ve TNF-alfa gibi sitokinler meme glandının gelişimi ve fonksiyonunu yönetmektedir (131). Diğerleri (örn; IL-1 ve IFN-gama) ise meme glandından savunma ajanlarının, sIgA'nın ve başka sitokinlerin üretimini etkilemektedir (98). Nötrofillerin potent aktivatörleri olan kemokinler anne sütünde bulunurlar. İntestinal intraepitelyal lenfosit kemotaktik aktivitesine sahiptirler. Bakteriyel enfeksiyonlara karşı konak savunmasında önemli role sahiptirler (132, 133). Son zamanlarda

bulunan kemokinler; RANTES, MIP-1a ve MIP-1b ise, CD8+ T lenfositlerden salınan major HIV-suppresif faktördür. Bu durum emzirmeyle bulaşan HIV virüsüne karşı bu molekülün koruyucu olabileceği sorusunu kuvvetlendirmektedir (134).

M-CSF ve GM-CSF gibi koloni stimulan faktörler süt makrofajlarının proliferasyonu, diferansiyasyonu ve yaşayabilmesi için önemli role sahiptirler. M-CSF'den türemiş makrofajlar, viral enfeksiyonlara GM-CSF'den türeyenlere göre nispeten daha dirençlidir (135). Dahası M-CSF, makrofajları IL-1 reseptör antagonisti ve anti-inflamatuar üretimi için indüklemektedir (108, 136). Farelerde IL-10 geninin hedeflenerek bozulması sonucu süttten kesme zamanında yaygın bir enterolokit tablosunun geliştiği görülmüş ve bu durumun parenteral olarak verilen IL-10 ile önlendiği gösterilmiş. Anne sütünde bu sitokinin varlığı alıcının intestinal bariyerinin dengesinde ve yabancı ajanlara karşı anormal immün yanıtın regülasyonunda kritik rol oynadığını desteklemektedir (137).

İlaçlar, hormonlar ve proinflamatuar sitokinlerin kolestatik hasar ve bilier obstrüksiyon yaparak hepatik uptake ve atılım fonksiyonlarını bozduğu ve bu değişikliklerin kolestaz ve sarılığa yol açabileceği öne sürülmüştür (138, 139, 140, 141). Özellikle, bilier obstrüksiyonlu ve sarılıklı hastalarda IL-8 ve IL-10'un üretimi artmıştır (142, 143). IL-1 beta ve IL-6 gibi sitokinlerin kolestatik etkisinin hepatik uptake, metabolizma, safra tuzlarının ve organik anyon olan bilirubin gibi safra dışı tuzların bilier ekskresyonuna aracılık eden genlerin baskılanmasından kaynaklandığına inanılmaktadır (144, 145). Ek olarak IL-1 alfa, IL-6 ve TNF alfanın doz bağımlı olarak glukuronidasyon aktivitelerini azalttığı bulunmuştur (144, 145, 146). Sitokinlerin intestinal absorpsiyonda kritik rol aldıklarının bilinmesine rağmen, moleküler temelleri halen tam olarak anlaşılamamıştır. Anne sütündeki bol sitokin içeriğinin GIS maturasyon ve absorpsiyon kapasitesini etkilemesi mümkündür.

IL-1 beta; IL-1 aktive edilmiş mononükleer fagositlerden, dokuda bulunan monosit , makrofaj, lenfosit, nötrofil ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. Bununla beraber keratinositler, endotelial hücreler de dahil olmak üzere uygun şekilde uyarıldıklarında birçok farklı hücreden de sentezlenebileceği rapor edilmiştir. Son yıllarda IL-1 salınımını tetikleyen çok sayıda ajan bulunmuştur, bunlar antijenler,

lenfokinler, çeşitli enflamatuar ajanlar, mikroorganizmalar ve onların ürünleri olarak sıralanabilir (147).

Birbirleriyle agonist etkili IL-1 alfa ve IL-1 beta olmak üzere iki ana izoformu bulunur. IL-1 alfa predominant olarak membrana bağlı iken IL-1 beta salınımı yapılan primer izoformdur. IL-1 alfa ve IL-1 beta aminoasit düzeyinde sadece %27 oranında benzerlik göstermelerine rağmen ortak biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. IL-1 beta, IL-1 alfa'dan 10-50 kat daha yüksek düzeyde sentezlenir ve pro-inflamatuar özellikleri daha güçlüdür (147).

Hedef hücreleri üzerinde interlekin 1 reseptör 1 ve 2 (IL-1R1 ve IL-1R2) olmak üzere iki IL-1 reseptörü bulunmaktadır (148). IL-1R1, IL-1'e bağlanılarak verilen cevapların çoğunluğuna aracılık ederken, IL-1R2 genellikle aldatıcı reseptör olarak işlem görmektedir (149). Fakat bazı çalışmalarda, IL-1R2'nin hücrel aktiviteyi yönlendirdiği ve enflamasyon bölgesinde IL-1 in endojenöz inhibitörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir (149). Multifonksiyonel bir sitokin olan IL-1'in biyolojik etkilerinden bazıları; enflamatuar hücrelerin enfeksiyon alanına girişini sağlamak, kemik rezorbsiyonunu düzenlemek, monosit ve fibroblastlardan salgılanan eikosanoidleri stimüle etmek, ekstrasellüler matriks proteinlerini yıkan matriks metalloproteinazlarının salınımını stimüle etmek ve immun cevabın birçok aşamasına katılmak olarak sayılabilir (148, 149).

IL-1, nötrofil ve monositik hücreler üzerindeki kompleman, Fc reseptörleri, fibroblast ve lökositlerdeki adezyon moleküllerini arttırmaktadır. Böylece iltihabi bölgeye hücrelerin göçünü ve tutunmasını etkileyerek iltihabi infiltratın oluşmasını sağlar. IL-1'in ayrıca konak immün sisteminin modülasyonunda da önemli rolü vardır. T hücre proliferasyonunu stimüle eder, T lenfositlerinden lenfokin sentezini artırır, B hücrelerinden antikor üretimini artırır ve interferon sentezini indükler (150). IL-1, kendi etkisini güçlendirmek için bir çok başka hücreden IL-1 salınımını tetikler. Ayrıca IL-1 diğer sitokinlerin sentezini de arttırmaktadır.

Tümör Nekrotizan Faktör (TNF); İlk olarak LPS ile tedavi edilen hayvanların serumunda bir tümör nekroz mediatörü olarak tanımlanmıştır. Tümör inhibisyonu yapan ve endotoksinlerin uygulanması sonrası nekroza yol açan bir materyali

tanımlamak için bu isim verilmiştir. TNF- alfa ve lenfotoksin- alfa olarak da bilinen TNF- beta olmak üzere iki alt grubu vardır. TNF'nin yapısal olarak benzer iki ayrı hücre yüzey reseptörü vardır; tümör nekroz faktör reseptör 1 ve tümör nekroz faktör reseptör 2 (TNFR1 ve TNFR2) (151). Bu iki reseptörün farklı sitoplazmik etki alanları vardır bu yüzden farklı sinyal yollarını aktive ederler. Enflamatuar etkilerin çoğunluğu TNFR1 e bağlıdır, TNFR2 ise TNF stimülasyonuna hassasiyeti artırır ve TNFR1 tarafından verilen cevabı geliştirir (152). TNF durağan makrofajlar tarafından üretilmez veya depolanmaz, LPS ile stimülasyon sonrası üretilir veya salınır. Çok sayıda hücreden salındığı gibi yine çok sayıda hücreyi etkileyebilmektedir. Genel olarak biyolojik etkileri şunlardır; fibroblastları uyarak kollejenaz salınması için uyarır, vasküler permeabiliteyi artırır, IL-1 alfa ve beta, IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ve matriksmetalloproteinazların (MMP) salınımını indükler, adezyon moleküllerinin üretimini artırır (153).

IL-6; IL-6 moleküler çalışmalarla IFN-beta2 , beta hücre uyarıcı faktör 2 (BSF-2), hibridoma/plazmositom büyüme faktörü (HPGF veya IL-HP 1), hepatosit uyarıcı faktör (HSF), monosit-granülasit indükleyici tip 2 (MGI-2), sitotoksik T-hücre farklılaştıran faktör olarak bilinen maddelerin IL-6 ile aynı olduğu gösterilmiştir (154, 155). Multifonksiyonel bir sitokin olan IL-6'nın matür formunun moleküler ağırlığı 22000-30000 kDa arasında değişir, 184 aminoasitten oluşur (156). IL-6 geni 7. kromozom üzerindedir. Mononükleer fagositik hücreler IL-6'nın en önemli kaynağıdır. IL-6 aynı zamanda fibroblastlar, endotel hücreleri, B ve T lenfositler,

hepatositler, keratinositler, glial hücreler ve kemik iliği stroma hücreleri tarafından da sentezlenir (155). IL-6, immun yanıtı, akut faz reaksiyonlarını ve hematopoezi regüle ederek konağın savunma mekanizmasında önemli bir rol oynar (156, 157, 158). TNF, IL-1, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), IFN-beta gibi sitokinler, antijenler, mitojenler ve bakteriyel endotoksinler (lipopolisakkarit) farklı hücre tiplerinde IL-6 oluşumunu uyarır. Ayrıca virüsler ve fibroblastlar beyin omurilik sıvısındaki (BOS) IL-6 yapımını indükler. Human immunodeficiency virus (HIV), monositlerde IL-6 yapımını uyarır. Glukokortikoidler ise IL-6 gen ekspresyonunu negatif yönde etkiler (155). IL-4 ve IL-13 IL-6 sentezini inhibe eder (159).

Aktive olmuş B hücre dizisinin Ig salgılayabilmesini sağlar, ancak B hücrelerinin büyüme ve çoğalmasında etkili olmamaktadır. Aktive olmamış T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalmasında IL-1 ile TNF'ye yardımcı bir faktördür. IL-6, uyarılmış T hücreleri ve timositlerde hem IL-2 üretimini arttırarak hem de IL-2 reseptörlerini aktive ederek, bazen de bu yoldan bağımsız olarak T lenfositlerin büyüme, çoğalma ve farklılaşmasında rol oynar. Bu özellikleriyle IL-6 hem humoral hem de hücrel konak savunmasında önemli bir mediatördür (154, 155). TNF ile IL-1 ve IL-6 antitümöral etki yapar (159).

IL-6 hematopoetik sistem hücrelerini Go fazında iken aktive etmektedir (154). Aynı zamanda bir nötrofil aktivatörüdür ve diğer sitokinlerle kemik iliği kök hücre matürasyonunu destekler (159). Örneğin, multipotent progenitörlerin IL-3'e olan eğilimini arttırarak multipotent kök hücre kolonilerinin oluşumunu hızlandırır. Trombopoetik faktör olarak IL-6, megakaryositlerin olgunlaşmasını uyarır.

Akut faz cevabı, inflamasyona ve doku zararına karşı sistemik bir reaksiyondur. Hepatositlerden akut faz proteinlerinin sentezi IL-6, IL-1 ve TNF gibi bazı sitokinler tarafından düzenlenir. Her üç sitokin aktive monositlerden koordine olarak salınabilir ve biri diğerini etkileyebilir. Örneğin, IL-1 veya TNF IL-6'nın, TNF IL-1'in, IL-1 kendisinin salınımını etkileyebilir. IL-6 ise IL-1 ve TNF'nin yapımını etkilemez, ancak aktive makrofajlardan salınımlarını suprese eder. Bu üç sitokin kan yoluyla uzak bölgelere giderek akut faz cevabını oluşturur (160, 161). IL-6 hepatik protein sentezinin, dolayısıyla da CRP'nin major indükleyicisidir (162). IL-6 fibrinojen, alfa-1 asit glikoprotein, alfa-1 antitripsin, haptogloblin, alfa-1 kimotripsin, C3, serum amiloid A ve CRP'nin yapımını uyarırken, prealbumin, albumin ve transferrin gibi proteinlerin yapımını engeller (160,161). Akut faz proteinlerine ait genlerin düzenlenmesinde sitokinler, kortikosteroidlere gereksinim duyarlar (161). IL-6 inflamatuvar cevabın önemli bir mediatörüdür. Enfeksiyon etkeni mikroorganizmalar ve onların ürünlerine karşı konak savunmasında yer alan hücrelerce ve hasar gören dokular tarafından salgılanır. Sepsis ve özellikle gram (-) bakterilerin yaptığı septik şokta IL-6 ve TNF alfa seviyeleri yüksek bulunmuştur (163, 164). Bakteriyel menenjitlerde de BOS'ta ve kanda IL-6 konsantrasyonu yükselmiştir (165, 166). HIV enfeksiyonunda da monositlerden IL-6 salındığı

gösterilmiştir. Enfeksiyon sırasında bazı sitokinler birbirini etkiler. IL-1 ve TNF direkt olarak IL-6 genine etki ederek IL-6 yapılmasını artırır (166). IL-6'nın antiviral aktivitesi olmakla birlikte interferonlarla major histocompatibility kompleks 1 (MHC I) sınıfı antijenlerin yapımını uyarır (159).

IL-8; Son yıllarda lökositler ve fibroblastlar için kemotaktik aktivitesi olan yeni bir sitokin ailesi tanımlanmıştır. Bu kemotaktik sitokinler kemokinler olarak adlandırılmış olup moleküler ağırlıkları 8000 ile 16000 arasında değişir. % 20-50 aminoasit dizisi ile birbirlerine benzerler. IL-8' de bu kemokin ailesinin bir üyesidir (167). Kemokinler çeşitli hücreler tarafından üretilirler. Bu hücreler aktive monosit-makrofaj ve endotel hücreleridirler ve çeşitli hücre tipi kombinasyonları için kemotaktiktirler. Miktar olarak oldukça fazla üretilirler. Bu proteinler için henüz tek tip bir isimlendirme sistemi oluşturulamamıştır, yaptıkları işe yönelik isim alırlar (168). IL-8' in kaynağı monositler, makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleridir. Kemokinler hedef hücrelerin dominant olarak büyümelerinden ziyade fonksiyonlarını etkiler. Doku yaralanması ve inflamasyonu olan yerlere spesifik tipte hücrelerin göçünde önemli rol oynar (167). IL-8 'in hedef hücreleri ise nötrofillerle T hücreleridir. Nötrofillerin mobilizasyonunu, aktivasyonunu ve degranulasyonunu sağlar, angiogenezde rolü vardır (168).

Lökositlerin kemokin gradyanına hassasiyeti yüzeylerindeki kemokin reseptörleri sayesinde. IL-8 lökositlerin vasküler endotele stabil olarak bağlanması için adezyonunda rol oynar. İkincil olarak enfeksiyon alanında konsantrasyon artışı sayesinde nötrofillerin migrasyonunda gradyan sağlar. Bu gradyan enfekte bölgedeki ekstraselüller matriksin proteoglikan molekülleriyle ve endotel hücre yüzeyine kemokinlerin bağlanması ile oluşur. Kemokinler katı bir yüzey üzerinde immobilize olurlar ve lökositler buraya göç edebilir (168). Kemokinlerin ekspresyonunu indükleyen ajanlar; lipopolisakkarid gibi makrofaj aktivatörleri, poliklonal mitojenler ve T hücrelerini aktive eden antijenler ile platelet aktivasyonu indükleyicileridir. IL-1, IL-2, IFN gama, TNF ve PDGF gibi proinflamatuvar sitokinler de potent olarak çeşitli kemokinleri etkilerler. Kemokinlerin birbirlerini indükleyici etkisi sınırlıdır ancak bazı durumlarda diğer mediatörleri indükleyebilirler. Grup olarak kemokinler inflamasyon bölgesine her tip lökosit selektif olarak çekebilir. Bunu bağlanma

aktivitesini indükleyerek ve lökosit integrinlerinin yüzeyde ekspresyonuyla yaparak endotele bağlanmayı ve dokuya invazyonu sağlarlar. Bu yolla örneğin IL-8 nötrofillerin endotele bağlanmasını sağlar. Endotel hücreleri tarafından kemokin sekresyonu lökosit migrasyonunu damar duvarı boyunca artırır ve kemokin gradyanı dokuya migrasyonu yönetir. IL-8 ve tüm bilinen kemokinler glikozaminoglikanlara sıkıca bağlanırlar ki bu glikozaminoglikanlar ekstraselüler matrikste ve endotel yüzeyinde bulunarak sekrete edilen kemokinlerin bölgesel olarak depolandığını gösteren bir mekanizma gibidir. Yüksek konsantrasyonlarda kemokinler aynı zamanda hücresel efektör fonksiyonları da aktive ederler, örneğin degranulasyon ve metabolik parçalanma nötrofillerde IL-8 tarafından, monositlerde monosit kemotaktik protein 1 (MCP-1), eozinofillerde ise aktivasyonu düzenlenmiş normal T ekspresyonu ve sekresyonu (RANTES) veya makrofaj inflamatuvar protein 1 alfa (MIP-1alfa) tarafından tetiklenir (167). Antijen ile aktive edilmiş T hücreleri, endotel hücrelerinden IL-8 ve MCP-1 salgılanmasına yol açar. Bu sekrete edilen kemokinler endotel hücre yüzeyinde heparan sülfat glikozaminoglikanlara bağlanırlar, endotel hücre adezyon molekülüne bağlanmış lökositlerle temas ederler ve kemokinler lökositlerin ekstrasvazasyonuna yol açarlar (169).

Primer olarak mononükleer fagositlerden , endotelyal ve epitelyal hücrelerden kaynaklanan IL-8, aynı zamanda T hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, fibroblastlar, keratinositler, hepatositler ve kondrositlerden de salgılanabilir. IL-8 sentezi lipopolisakkaritler, IL-1, TNF ve virüsler tarafından da aktiveflenebilir. IL-8 nötrofiller için en potent kemotaktiklerden biridir.

Aynı zamanda polimorfonükleer nötrofillerin degranulasyonunu (özellikle solunum yollarında) ve CD11b/CD18 ile endotel hücrelerine adezyonunu sağlar. İnflamatuvar yanıtta diğer kemotaktiklerle karşılaştırıldığında IL-8 daha geç ortaya çıkar. Örneğin lökotrien B4 (LTB4) hücre aktivasyonunda dakikalar içinde ortaya çıkıp, 3 saatte pik yaparken konsantrasyonu azalmaya başladığında IL-8 yeni sentezlenerek sekrete edilir ve salgılanması 24 saat sürer (159). IL-8 ve diğer alfa kemokinler inflamatuvar reaksiyonu ve ağır travması olan hastaların kanında bulunmuş ve inflamasyon bölgesinde; romatoid artritte sinovyal sıvıda, psöriatik deride ve septik şoklu hastaların dolaşımında tesbit edilmiştir. Bu yüzden alfa

kemokinler akut inflamatuvar reaksiyonlarda major rol oynayıcı olarak pyojenik olmamaları ve akut faz reaktanlarını indüklememelerine rağmen görülmektedirler. Farelerde IL-8 reseptör homologu genler taşıyanların bakteriyal enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları gösterilmiştir (167).

IL-10; IL-10 monosit, makrofaj, T lenfosit, dendritik hücreler ve mast hücrelerinden salgılanır (170, 171). IL-10 geniş antiinflamatuvar ve antiallerjik spektrumu olan bir sitokindir. Proinflamatuvar sitokinleri (IL-1 beta, TNF-alfa, IL-6) ve Th2 hücrelerini uyaran IL-4, IL-5'i inhibe eder (170, 172). IL-10 makrofajlarda nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz (COX-2) gibi inflamatuvar enzimlerin sentezini inhibe etmektedir (173, 174). IL-10'nun inflamatuvar sitokinleri inhibe edebilme kapasitesi nedeniyle allerjik hastalıklarda anormal ekspresyonu olur. Ayrıca IL-2 salınımını inhibe ederek CD4+ T lenfositlerin proliferasyonunu inhibe eder ve bu yolla tolerans gelişimini sağlamaktadır. MHC II molekülerinin ekspresyonunu azaltarak mononükleer ve dendritik hücrelerden T hücrelerine allerjen prezentasyonunu bloke eder (175). Hayvan deneylerinde eozinofilik inflamasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkisini IL-5 sentezini ve eozinofilotaktik kemokinlerin (eotaxin ve RANTES gibi) salınımını inhibe ederek, granülosit makrofaj koloni stimulan faktörün (GM-CSF) sekresyonunu inhibe etme yoluyla eozinofil sürveyini azaltarak yapmaktadır (176).

IL-10'un inhibitör etkilerine rağmen B lenfositlerinin proliferasyonunu ve immunoglobulin sentezini uyarmaktadır (177, 178). IL-10 anne sütünde doğumdan sonraki ilk gün yüksek konsantrasyondayken üçüncü günden sonra belirgin olarak düşmektedir (116)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Planı

Bu çalışma, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği Yenidoğan Polikliniğine; Nisan 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında başvuran, zamanında doğan, 15-30 günlük, klinik sarılık dışında herhangi bir sorunu olmayan sağlıklı bebekler ve onların anneleri üzerinde yürütülmüştür. Uzamış sarılık nedeniyle yenidoğan polikliniğine başvuran 40 bebek ve annesi çalışmaya alındı. Bebeklerin uzamış sarılık tetkikleri yapıldı. Geç anne sütü sarılığı düşünülen bebeklerin anne sütü sitokin düzeyleri ölçüldü. Çalışma grubunun verileri, 15-30 günlük, sağlam çocuk muayenesine başvuran, sarılık şikayeti olmayan kontrollerle karşılaştırıldı. Geç anne sütü sarılığı ile anne sütü sitokin düzeylerinin ilişkisi araştırıldı.

Yenidoğan bebeklerin ebeveynlerine çalışma hakkında yazılı bilgi veren bilgilendirilmiş onam formu verildi. Yazılı izinlerinin olduğu bilgilendirilmiş onam formu okutularak imzalatıldı. Tüm gönüllü ve hastaların bilgileri bilgi formuna işlendi. Bebeklerin doğum haftası, doğum şekli, cinsiyeti, doğum ağırlığı, beslenme şekli, sarılık oldu ise kaçınıcı günde başladığı, sarılıklı kardeş öyküsü öğrenildi. Annelerin yaşı, mesleği, eğitim durumu, doğum sayısı, kronik hastalığı (diyabet, hipertansiyon, hipotiroidi vb.) hamilelikte ilaç kullanımı, sigara ve alkol kullanımı, ailede karaciğer hastalığı, anne baba akrabalığı kaydedildi.

Çalışmaya Alınmama Kriterleri:

- 1) Prematüre (<37 hf) veya postmatüre (>42 hf) bebekler
- 2) Doğum ağırlığının 2500 gr altında veya 4000 gr üzerinde olması
- 3) Başvuru anında 15 günlükten küçük veya 30 günden büyük bebekler
- 4) Prenatal veya postnatal sorunu olan bebekler (Asfiksi, sepsis, konjenital anomali gibi)
- 5) Annede diyabet, hipertansiyon, preeklampsi öyküsünün olması
- 6) ABO veya Rh uyuşmazlığının olması
- 7) G6PD enzim eksikliğinin saptanması
- 8) Fototerapi veya kan değişimi uygulanması

- 9) Bebeklerde anemi varlığı
- 10) Direkt coombs testinin pozitif olması
- 11) Suprapubik idrar örneklerinde üreme saptanması
- 12) 15. Günden sonra; TSH>10 IU/ml, total tiroksin (TT4) seviyesinin <6 mcg/dl ya da serbest tiroksin (sT4) seviyesinin <0,9 ng/dl olması
- 13) Ağırlıklı formula meme ile beslenme
- 14) Annenin ilaç tedavisi alıyor olması
- 15) Kardeşinde sarılık öyküsünün olması
- 16) Ailede Gilbert veya Crigler Najjar hastalığı öyküsünün olması

3.2. Total Serum Bilirübinin Ölçümü

Alınan kan örnekleri Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda kolorimetrik ölçüm yöntemi ile Roshe Modüler P cihazında aynı firmanın Bil-T kiti (MannHeim Germany) ile çalışıldı. Kanlar 10 ml'lik jelli biyokimya tüpüne alındıktan sonra 3500 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi.

3.3. Serum Direkt Bilirübinin Ölçümü

Alınan kan örnekleri kolorimetrik ölçüm yöntemi ile Roshe Modüler P cihazında aynı firmanın D- Bil kiti (MannHeim Germany) ile çalışıldı. Kanlar 10 ml'lik jelli biyokimya tüpüne alındıktan sonra 3500 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi.

3.4. Serum TSH Düzeylerinin Ölçümü

Polikliniğe başvuru gününde alınan kan örnekleri elektrokemiluminesans immün Assay (ECLIA) yöntemi ile Roche Elecsys E170 cihazında (Tokyo, Japon) aynı firmanın TSH kiti ile (Roche Diagnostic, MannHeim Germany) çalışıldı.

3.5. Serum Serbest T4 (sT4) Düzeylerinin Ölçümü

Alınan kan örnekleri elektrokemiluminesans immün Assay (ECLIA) yöntemi ile Roche Elecsys E170 cihazında (Tokyo, Japon) aynı firmaya ait FT4 kiti (Roche Diagnostic, MannHeim Germany) ile çalışıldı.

3.6. Serum Total T4 (TT4) Düzeylerinin Ölçümü

Alınan kan örnekleri elektrokemiluminesans immün Assay (ECLIA) yöntemi ile Roche Elecsys E170 cihazında (Tokyo, Japon) aynı firmaya ait TT4 kiti (Roche Diagnostic, MannHeim Germany) ile çalışıldı.

3.7. Serum Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PDH) Enzim Ölçümü

Alınan kan örnekleri Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda enzimatik kinetik ölçümle UV 1601 Shivadzu (Kyoto, Japon) spektrofotometrede Bi Olabo Reagents G6PDH kiti (Mazy, France) ile 340 nm'deki absorbans okutularak, sonuçlar hesaplandı. Kanlar K3 EDTA'lı 2 ml tüpe alınarak çalışıldı. Eksiklik tanısı konan olgularda enzim düzeyi 3 ay sonra kontrol edildi ve düşüklük tespit edilenlerde tanı doğrulandı.

3.8. Hemogram Ölçümü

K3 EDTA'lı tüpe 2 ml kan alınarak Coulter LH 780 Analyzer cihazında tam kan sayımı yöntemi ile ölçüldü.

3.9. Direkt Coombs Testi Ölçümü

K3 EDTA'lı 2 ml Hemogram tüpe kan alınarak Jel Santrifugasyon yöntemi ile Diamed-ID Micro Typing System (DiaMed AG, Switzerland) kiti ile çalışıldı.

3.10. Kan Grubu Bakılması

K3 EDTA'lı 2 ml Hemogram tüpe kan alınarak Jel Santrifugasyon yöntemi ile Diamed-ID Micro Typing System (DiaMed AG, Switzerland) kiti ile çalışıldı.

3.11. Retikülosit ölçümü

K3 EDTA'lı tüpe 2 ml kan alınarak Coulter LH 780 Analyzer cihazında ölçüldü.

3.12. İdrar kültürü bakılması

Steril şartlarda alınan (suprapubik aspirasyon) 0,5-1 ml idrar örneği kanlı agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar besiyerine kantitatif ekim yöntemi ile ekilip etüvde 18-24 saat bekletildi. Ertesi gün üreme açısından değerlendirildi.

3.13. Anne sütünde sitokin düzeylerinin ölçümü

Anne sütleri 09:00 ile 12:00 saatleri arasında alındı. Örnekler yenidoğan polikliniğine başvurusu sırasında emzirmeden 1 saat sonra elle sağılarak en az 5 cc olacak şekilde steril tüplere alındı. Alınan sütler 3500 rpm de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan yağlı kısım atılıp altta kalan sıvı kısım ayrı tüplere alınarak önce -20 derecede donduruldu. Kademeli olarak -70 dereceye kadar dondurulan örnekler çalışılacağı güne kadar saklandı.

Örnekler çalışılacağı zaman oda ısısında kendi kendine çözünmeye bırakıldı. Çalışma sitokin kitlerinin üretici firmasının önerileri doğrultusunda yapıldı. Standart

örnekler serial dilüsyonlarla hazırlandı. IL-1 beta, IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF alfa deteksiyon beadleri hazırlandı. 25 mikrolitre serum örnekleri üzerine 25 mikrolitre bead karışımı ve 50 mikrolitre biotin konjugat karışımı eklendi. Vortekslelendikten sonra 2 saat karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 1 mililitre assay buffer ilave edildi. Karışım santrifüj edilerek yıkandı. 50 mikrolitre streptovidin PE solüsyonu eklendi ve karanlıkta oda ısısında 1 saat inkübe edildi. Sonrasında 2 kez yıkama işlemi yapıldı. Örnekler flowsitometride değerlendirildi. Üretici firma tarafından kullanılan kitin alt deteksiyon limitleri IL-1 beta için 4,2 pg/ml, IL-6 için 1,2 pg/ml, IL-8 için 0,5 pg/ml, IL-10 için 1,9 pg/ml, TNF-alfa için 3,2 pg/ml olarak verildi. Ancak bu değerlerin kullanılan flowsitometrinin tipine, cihazın türü ve kalibrasyonuna göre değişebileceği belirtilmiştir.

Flowsitometri; FS-SS histogramında 4 ve 5 mikrometrelik büyüklükteki beadler görünür şekilde ayarlandı. Her iki bead popülasyonu ayrı ayrı kapılandı. Her bead popülasyonu datası için ayrı ayrı FL-4 ve FL-2 dotplot histogramları kuruldu. Setup bead ve standart beadlerle voltaj ve kompanzasyon ayarları yapıldı. Standart blank ve tüm örnekler flowsitometride değerlendirildi. Örnekler Beckman Coulter Epics XL-MCL (Florida-USA)'de FlowCytomix Human Th1/Th2 11plex Kit (Bender MedSystems, Vienna-Austria) ile çalışıldı. Flowsitometri dataları FlowCytomix pro software (Bender MedSystems, Vienna-Austria) kullanılarak analiz edildi.

3.14. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Science (SPSS) Versiyon 13,0 (SPSS inc, Chicago, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma ve ortanca, kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik yapıdaki değişkenler bakımından grupların karşılaştırılması ve değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile incelendi. Parametrik test varsayımları sağlandığında iki grubun karşılaştırılmasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi (Student T testi), sağlanmadığında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3.15. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam

Çalışma, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul tarafından 16/04/2009 tarihli toplantısında onaylanmıştır (Belge no:2009/05 sayı:10).

4. BULGULAR

Çalışmamızda Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Yenidoğan polikliniğine Nisan 2009-Nisan 2010 tarihleri arasında başvuran, uzamış sarılığı olan 40 yenidoğan ve anneleri, kontrol grubu olarak sağlıklı 40 yenidoğan ve anneleri olmak üzere 80 olgu yer aldı.

Uzamış sarılığı olan gruptaki bebekler ile kontrol grubundaki bebeklerin demografik özellikleri Tablo 4’de gösterildi.

Tablo 4. Bebeklerin demografik özellikleri

		Uzamış sarılık n=40		Kontrol n=40		p
Doğum ağırlığı (kg)		3,318±0,400 (2,580-4,000)		3,178±0,500 (2,510-4,000)		0,166
Ort. Doğum haftası (hafta)		38 (37-40)		38 (37-40)		0,137
		Sayı	%	Sayı	%	
Cinsiyet	Kız	12	30,0	15	37,5	0,636
	Erkek	28	70,0	25	62,5	
Doğum şekli	NSVD	12	30,0	15	37,5	0,636
	Sezaryen	28	70,0	25	62,5	

*Sonuçlar ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak gösterilmiştir.

Çalışmaya alınan bebeklerin demografik özellikleri incelendiğinde, bebeklerin kilosu; uzamış sarılığı olan grupta 3,318±0,400 (2,580-4,000) gr, kontrol grubunda 3,178±0,500 (2,510-4,000) gr idi. Gruplar arasında anlamlı fark yoktu (p=0,166).

Uzamış sarılığı olan bebeklerin 12’si (%30) kız, 28’i (%70) erkek; kontrol grubundaki bebeklerin 15’i (%37,5) kız, 25’i (%62,5) erkekti. Gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu (p=0,636).

Bebeklerin ortalama doğum haftası; uzamış sarılığı olan grupta 38 (37-40) hafta, kontrol grubunda 38 (37-40) hafta idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,137$).

Bebeklerin doğum şekillerine bakıldığında; uzamış sarılığı olan bebeklerin 12'si (%30) normal spontan vajinal doğum (NSVD), 28'i (%70) sezaryen; kontrol grubundaki bebeklerin 15'i (%37,5) NSVD, 25'i (%62,5) sezaryen ile doğmuştu. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,636$).

Uzamış sarılığı olan gruptaki bebekler ile kontrol grubundaki bebeklerin hastaneye başvuru günleri ve total bilirübin değerleri Tablo 5'te gösterildi.

Tablo 5. Bebeklerin hastaneye başvuru günleri ve bilirübin değerleri

	Uzamış sarılık n=40	Kontrol n=40	p
Hastaneye başvuru günü (gün)	23,0±6,9 (16-30)	27,9±1,6 (16-30)	0,077
Total bilirübin değeri (gr/dl)	10,1±2,6 (5,65-14,80)	2,6±1,5 (0,28-4,90)	0,001

*Sonuçlar ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak gösterilmiştir.

Bebeklerin total bilirübin düzeyi; uzamış sarılığı olan grupta 10,17±2,60 (5,65-14,80) mg/dl; kontrol grubunda 2,60±1,53 (0,28-4,90) mg/dl idi. Gruplar arasında belirgin istatistiksel fark vardı ($p=0,001$).

Bebeklerin hastaneye başvuru günü; uzamış sarılığı olan grupta 23,0±6,90 (16-30) gün, kontrol grubunda 27,95±1,60 (16-30) gün idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,077$).

Bebeklerin beslenme şekilleri değerlendirildiğinde; tamama yakını anne sütü ile besleniyordu.

Uzamış sarılığı olan grupta 5 (%12,5), kontrol grubunda 4 (%10) bebekte sarılıklı kardeş öyküsü mevcuttu.

Hasta ve kontrol grubundaki bebeklerin annelerinin demografik özellikleri Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. Annelere ait demografik özellikler

		Uzamış sarılık n=40		Kontrol n=40		p
Yaş (Yıl)		27,78±4,7 (19-39)		27,78±5,2 (19-39)		0,657
		Sayı	%	Sayı	%	
Meslek	Ev hanımı	33	82,5	37	92,5	0,636
	Çalışıyor	7	17,5	3	7,5	
Eğitim düzeyi	Okur yazar değil	0	0	2	5,0	0,005
	İlkokul	16	40,0	19	47,5	
	Ortaokul	8	20,0	12	30,0	
	Lise	8	20,0	7	17,5	
	Üniversite	8	20,0	0	0	
Parite	1	18	45,0	16	40,0	0,023
	2	11	27,5	18	45,0	
	3	10	25,0	2	5,0	
	4 ve üzeri	1	2,5	4	10,0	

*Sonnçlar ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak gösterilmiştir.

Anneler demografik özellikleri açısından incelendi. Çalışmaya alınan bebeklerin annelerinin ortalama yaşı uzamış sarılığı olan grupta 27,78±4,7 (19-39) yıl, kontrol grubunda 27,78±5,2 (19-39) yıl idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu (p=0,657).

Meslek açısından bakıldığında uzamış sarılığı olan gruptaki annelerin 33'ü (%82,5) evhanımı, 7'si (%17,5) çalışıyordu. Kontrol grubundaki annelerin 37'si (%92,5) evhanımı, 3'ü (%7,5) çalışıyordu. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu (p=0,636).

Annelerin eğitim durumlarına bakıldığında, uzamış sarılığı olan gruptaki annelerin %40'ı ilkokul mezunu, %20'si ortaokul mezunu, %20'si lise mezunu, %20'si üniversite mezunu okuryazar olmayan yoktu. Kontrol grubundaki annelerin %47,5'i ilkokul mezunu, %30'u ortaokul mezunu, %17,5'u lise mezunu, %5'i okur yazar değildi. Üniversite mezunu olan yoktu. Gruplar arasında belirgin istatistiksel fark vardı (p=0,005).

Uzamış sarılığı olan gruptaki annelerin %45'inin birinci gebeliği, %27,5'inin ikinci gebeliği, %25'inin üçüncü gebeliği, %2,5'inin dört ve üzerinde idi. Kontrol

grubundaki annelerin %40'ının birinci gebeliği, %45'inin ikinci gebeliği, %5'inin üçüncü gebeliği, %10'unun dört ve üzerinde idi. Gruplar arasında istatistiksel fark vardı (p=0,023).

Hasta ve kontrol grubunda bulunan bebeklerin annelerinin sütlerinde ölçülen sitokin konsantrasyonları Tablo 7'de verilmiştir.

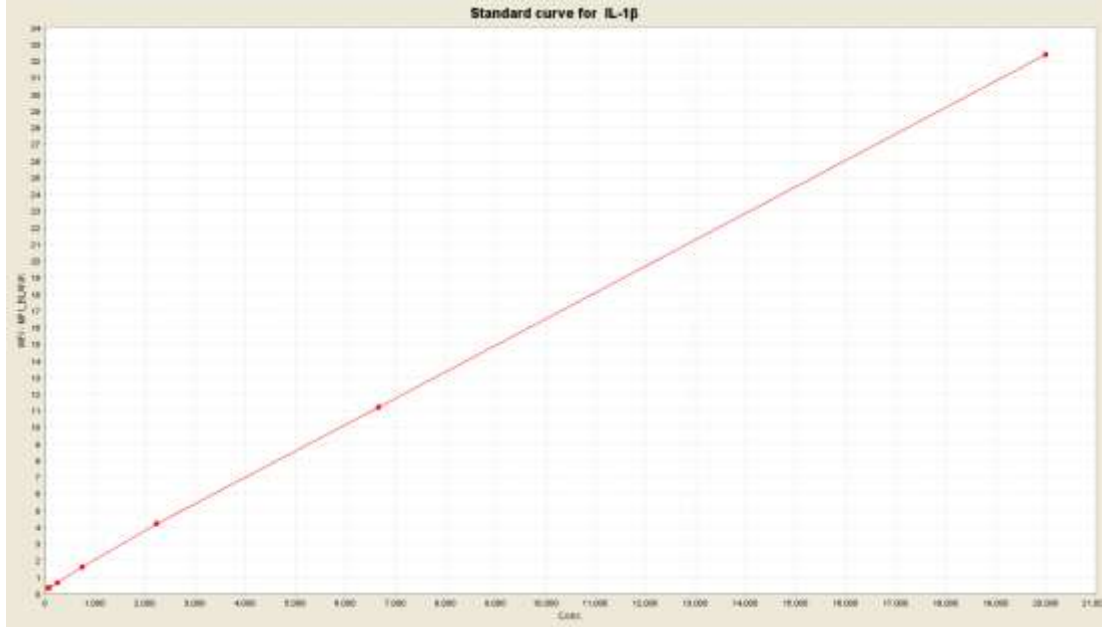
Tablo 7. Anne sütü IL-1 beta, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-alfa konsantrasyonları

	Uzamış sarılık n=40	Kontrol n=40	p
IL-1 beta (pg/ml)	47,96±49,11 (0,01-165,89)	29,86±57,14 (0,01-209,08)	0,013
IL-6 (pg/ml)	12,14±15,63 (0,01-76,61)	8,54±13,26 (0,01-71,49)	0,174
IL-8 (pg/ml)	520,21±990,36 (29,53-5994,45)	491,39±970,84 (13,72-5287,27)	0,285
IL-10 (pg/ml)	32,13±34,37 (0,01-140,29)	29,08±55,25 (0,01-250,07)	0,067
TNF-alfa (pg/ml)	33,65±50,35 (0,01-316,31)	33,20±79,91 (0,01-484,15)	0,053

*Sonuçlar ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) olarak gösterilmiştir.

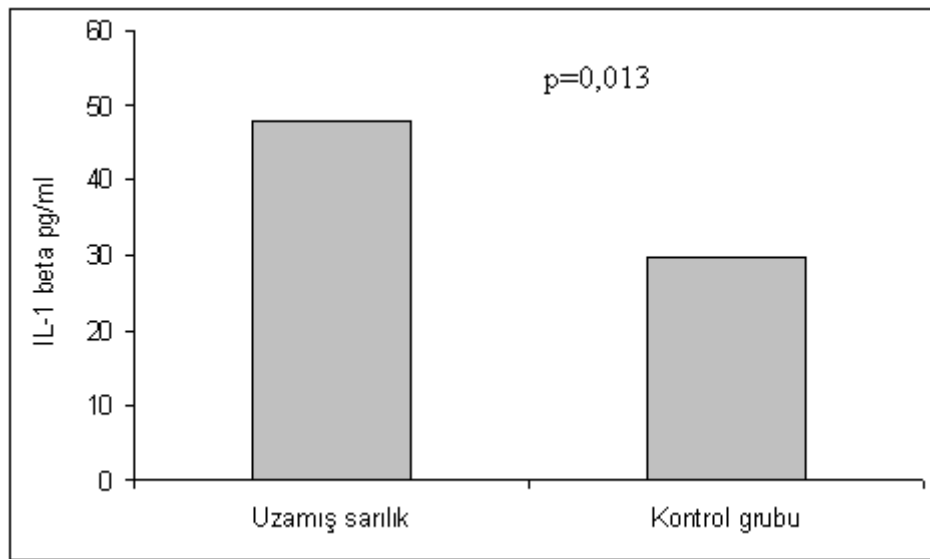
Anne sütlerinde ölçülen sitokin düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi. IL-1 beta seviyesi uzamış sarılığı olan grupta 47,96 pg/ml (0,01-165,89), kontrol grubunda ortalama 29,86 pg/ml (0,01-209,08) idi. Gruplar arasında belirgin istatistiksel fark vardı (p=0,013). Anne sütünde ölçülen IL-1 beta'nın standart konsantrasyon eğrisi Şekil 2'de gösterilmiştir.

Şekil 2: Anne sütü standart IL-1 beta konsantrasyon eğrisi



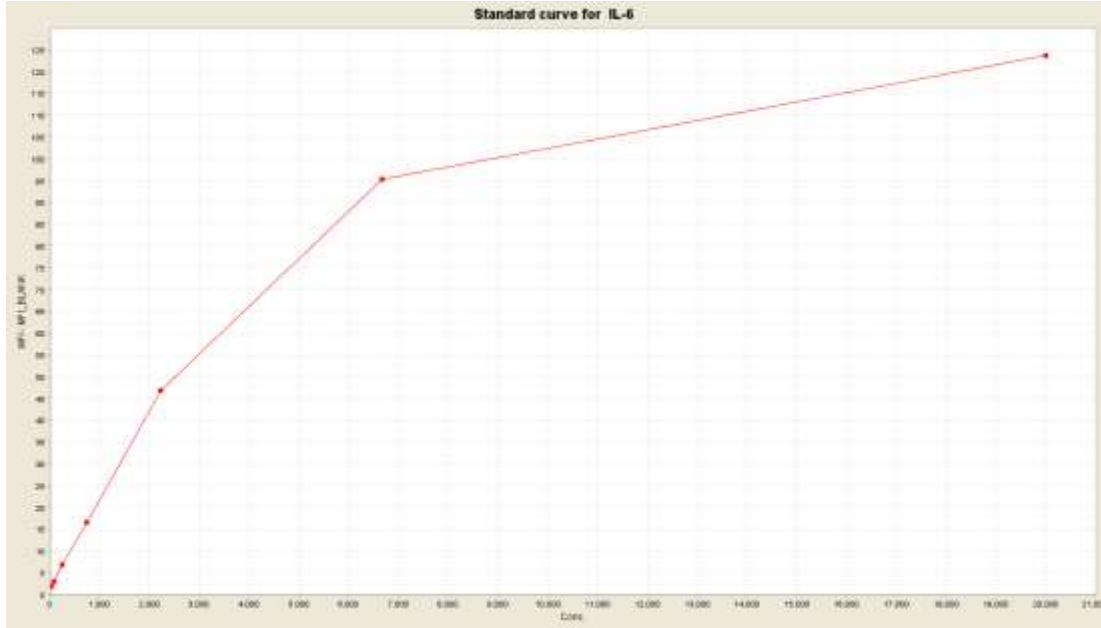
Anne sütü IL-1 beta seviyelerinin ortalama değeri Şekil 3'te gösterilmiştir.

Şekil 3: IL-1 beta seviyeleri



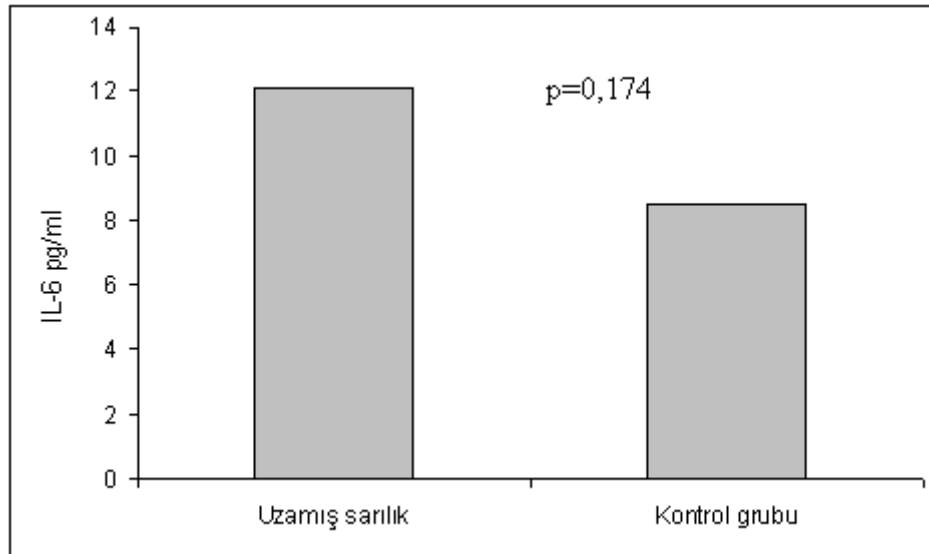
Annelerin sütlerinde ölçülen IL-6 seviyesi uzamış sarılığı olan grupta 12,14 pg/ml (0,01-76,61), kontrol grubunda ortalama 8,54 pg/ml (0,01-71,49) idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,174$). Anne sütünde ölçülen IL-6'nın standart konsantrasyon eğrisi Şekil 4'te gösterilmiştir.

Şekil 4: Anne sütü standart IL-6 konsantrasyon eğrisi



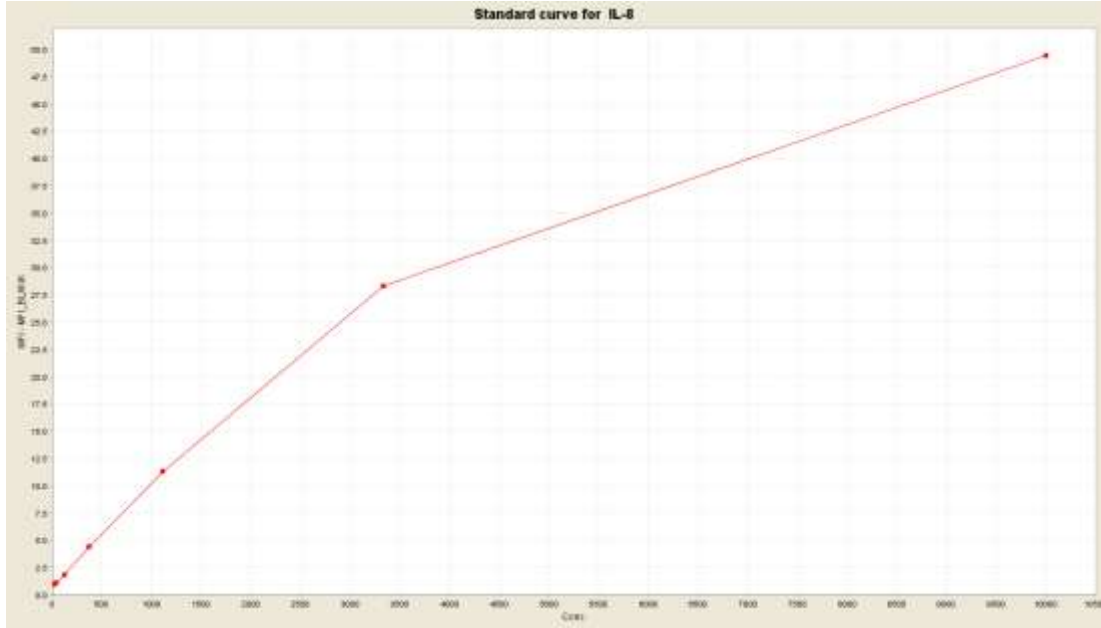
Anne sütü IL-6 seviyelerinin ortalama değerleri Şekil 5'te gösterilmiştir.

Şekil 5: IL-6 seviyeleri



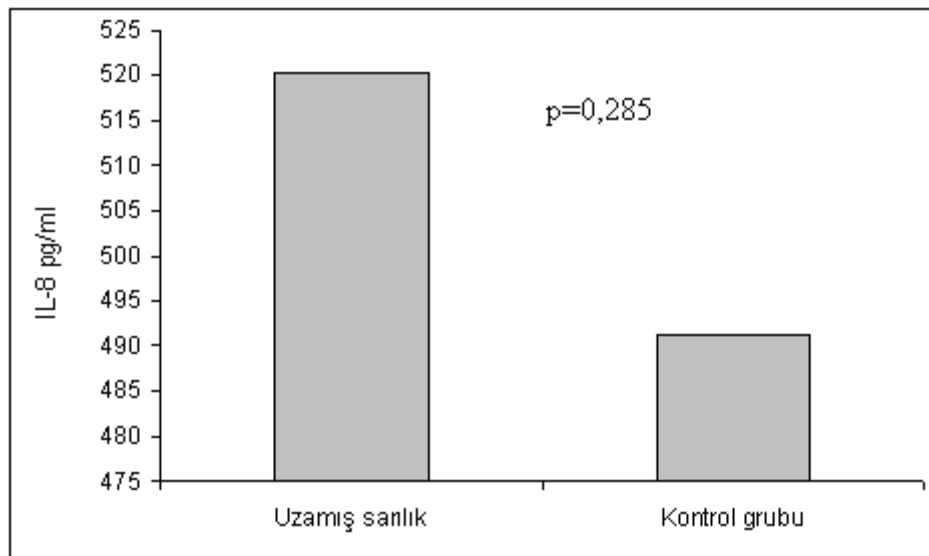
Annelerin sütlerinde ölçülen IL-8 seviyesi uzamış sarılığı olan grupta 520,21 pg/ml (29,53-5994,45), kontrol grubunda ortalama 491,39 pg/ml (13,72-5287,27) idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,285$). Anne sütünde ölçülen IL-8'in standart konsantrasyon eğrisi Şekil 6'da gösterilmiştir.

Şekil 6: Anne sütü standart IL-8 konsantrasyon eğrisi



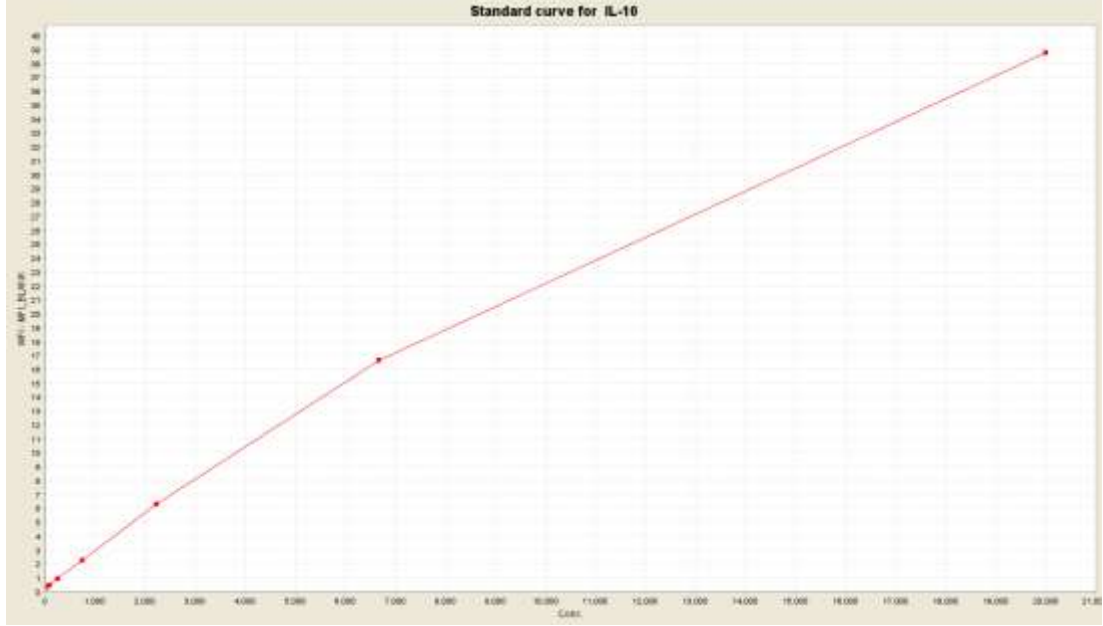
Anne sütü IL-8 seviyelerinin ortalama değerleri Şekil 7'de gösterilmiştir.

Şekil 7: IL-8 seviyeleri



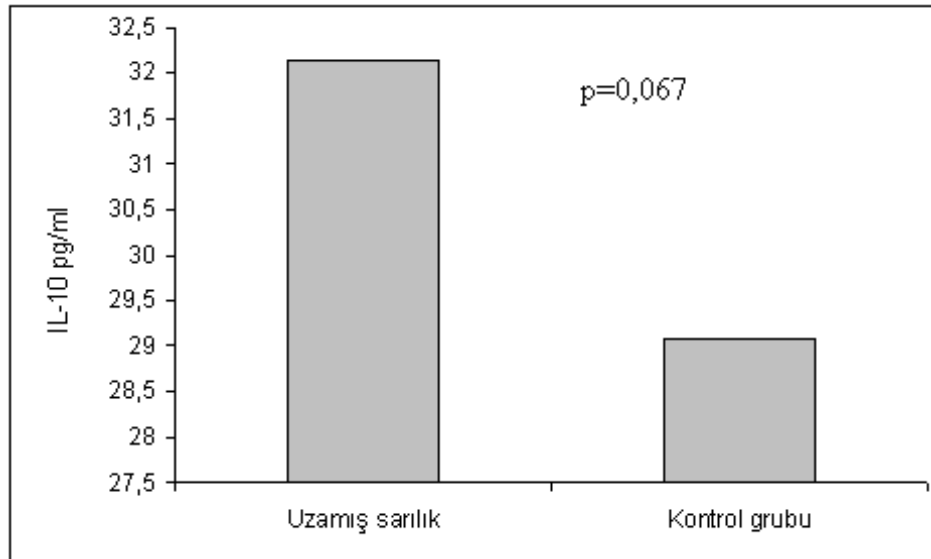
Annelerin sütlerinde ölçülen IL-10 seviyesi uzamış sarılığı olan grupta 32,13 pg/ml (0,01-140,29), kontrol grubunda ortalama 29,08 pg/ml (0,01-250,07) idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,067$). Anne sütünde ölçülen IL-10'un standart konsantrasyon eğrisi Şekil 8'de gösterilmiştir.

Şekil 8: Anne sütü standart IL-10 konsantrasyon eğrisi



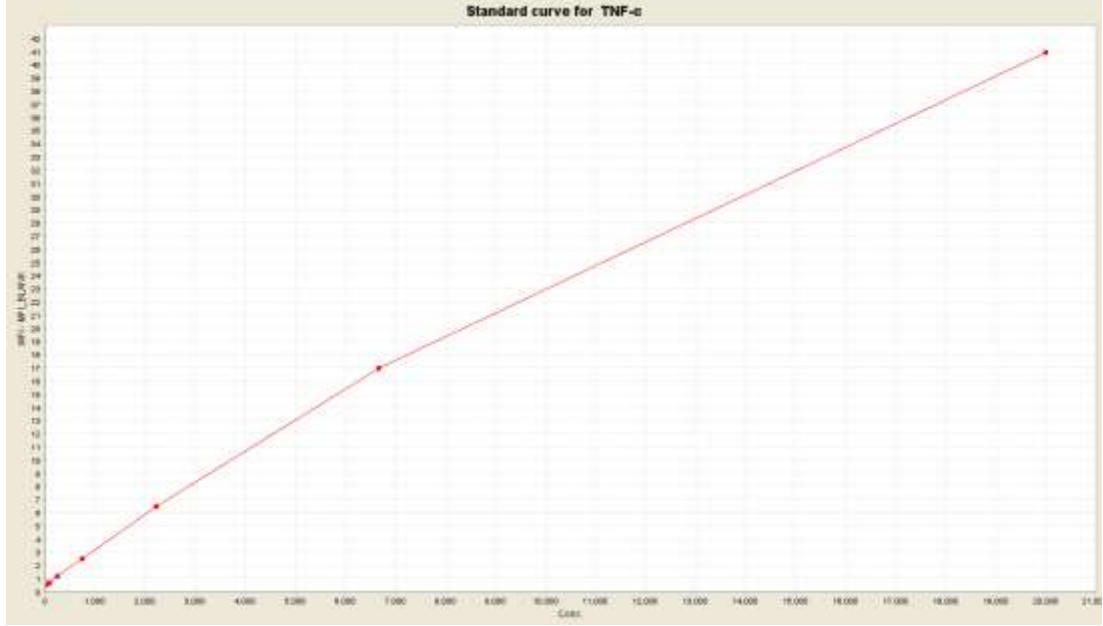
Anne sütü IL-10 seviyelerinin ortalama değerleri Şekil 9'de gösterilmiştir.

Şekil 9: IL-10 seviyeleri



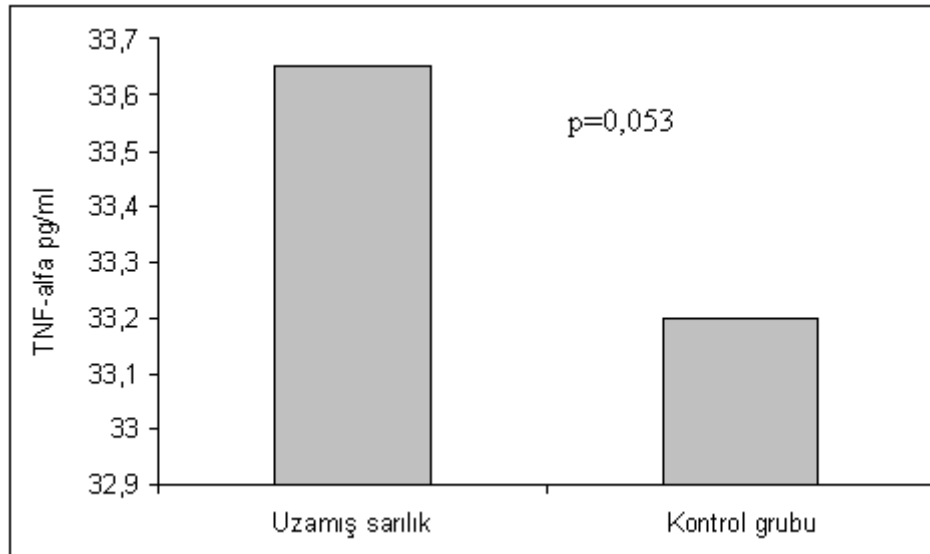
Annelerin sütlerinde ölçülen TNF-alfa seviyesi uzamış sarılığı olan grupta 33,65 pg/ml (0,01-316,31), kontrol grubunda ortalama 33,20 pg/ml (0,01-484,15) idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,053$). Anne sütünde ölçülen TNF-alfa'nın standart konsantrasyon eğrisi Şekil 10'da gösterilmiştir.

Şekil 10: Anne sütü standart TNF-alfa konsantrasyon eğrisi



Anne sütü TNF-alfa seviyelerinin ortalama değerleri Şekil 11'de gösterilmiştir.

Şekil 11: TNF-alfa seviyeleri



5. TARTIŞMA

Uzamış sarılık, miadında doğmuş bebeklerde, 15. günden sonra klinik sarılığın gözlenmesidir. Olası nedenler; anne sütü, hipotiroidi, üriner enfeksiyonlar ve pylor stenozudur. Uzamış sarılığın en sık nedeni anne sütü olup; anne sütü sarılığı tanısı, diğer nedenlerin dışlanması ile konabilmektedir. Bununla birlikte vakaların çoğunda neden belirlenemez.

Erken anne sütü sarılığında (Breastfeeding=Emzirme sarılığı); kalori eksikliği, bilirübinin hepatik atılımının azalması veya intestinal emiliminin artması söz konusu iken; geç anne sütü sarılığında, anne sütünde bulunan steroidler, nükleotidler, metal iyonların ve henüz tanımlanmamış bazı maddelerin UGT enzimini inhibe ederek ya da bilirübin emilimini etkileyerek sarılığa neden oldukları düşünülmektedir (2,7,12,20,23). Ancak, geç anne sütü sarılığının nedeni tam anlaşılamamıştır.

Anne sütü alan bebeklerin bilirübin seviyeleri mama ile beslenenlere göre daha yüksektir. Bu da muhtemelen anne sütü içeriği ile ilişkilidir (179). Anne sütü sarılığı ile ilgili günümüzde en çok kabul edilen görüş; bilirübinin hepatik atılımının azalması veya intestinal emiliminin artmasıdır (1,2,3,4,5).

Araştırmalar, anne sütü içinde UGT enzimini inhibe eden yada bilirübinin enterohepatik dolaşımını arttıran bir maddeyi tanımlamaya odaklanmıştır. Anne sütündeki yüksek lipaz aktivitesinin bağırsakta trigliseridi parçalayarak non esterifiye yağ asitlerini ortaya çıkardığı; enterohepatik dolaşım ile karaciğere gelen bu yağ asitlerinin Y ve Z proteinlerine bağlanarak bilirübin konjugasyonunu inhibe ettiği öne sürülmüştür (24).

Anne sütünde bulunan pregnan-3 alfa, 20 beta-diol adlı bir steroidin, UGT enzimini inhibe ettiğini belirten ilk çalışmalar daha sonraki bulgularla desteklenmemiştir (25).

Bağırsaklardaki konjuge bilirübini parçalayarak serbest bilirübin oluşumunu sağlayan beta-glukuronidaz enzimi, gestasyonun 8-12. haftaları arasında fetusta

saptanabilmektedir. Kolostrumda yüksek düzeyde bulunan beta-glukuronidaz enziminin anne sütü sarılığında rol oynadığı düşünülmüştür. Yiğit ve ark.'nın çalışmasında, anne sütü beta-glukuronidaz aktivitesinin 4. günden 15. güne belirgin azalma göstermesi; patogeneizde başka faktörlerin varlığına dikkat çekmiştir (26).

Anne sütündeki yüksek EGF seviyelerinin uzamış yenidoğan sarılığının bir nedeni olabileceği bildirilmektedir. EGF, doğum sonrası yenidoğanın gastrointestinal sisteminin adaptasyonu için büyüme, proliferasyon ve mutasyonundan sorumludur. Kumral ve ark.'nın çalışmasında, geç anne sütü sarılığı olan bebeklerin serum ve anne sütlerinde EGF düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (29). EGF'nin gastrointestinal motiliteyi azalttığı ve bilirubin emilimini arttırdığı bildirilmektedir. Manganaro ve ark.'nın çalışmasında, uzamış sarılığı olan bebeklerin AFP değerlerinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Bunun klinik önemi bilinmemektedir (30).

Anne sütü sarılığında, genetik nedenlerin de rol oynadığı düşünülmektedir. Mauro ve ark., anne sütü ile ilgili uzamış sarılıklı olgularda UGT1A1 geninde hata olduğunu belirlemiş; anne sütündeki bir veya birkaç içeriğin bu mutasyona sahip bebeklerde uzamış sarılığı tetikleyebileceğini öne sürmüşlerdir (27). Başka bir görüş ise indirekt bilirubinün karaciğere alımında görevli taşıyıcı organik anyon transport proteininde (SLCO1B1) mutasyon olmasıdır (28).

Yenidoğanların bağışıklık sistemi, hem transplasental hem de emzirme ile geçen maternal immüniteden etkilenir (92). Taze anne sütü, infeksiyöz ajanlar ve çevresel antijenlere karşı spesifik veya nonspesifik savunma mekanizmaları üreten komponentler içermektedir. Emzirmenin, gastrointestinal ve respiratuar sistemi etkileyerek infantil enfeksiyonları önlediği gösterilmiştir (93). Yeni klinik ve deneysel çalışmalar, anne sütünün infantı sadece pasif olarak korumadığını, aynı zamanda direk olarak alıcı infantta immünolojik gelişimi düzenlediğini göstermiştir. Emzirilen bebeklerde emzirmenin sonlandırılmasından uzun süre sonrasında bile allerjik hastalıklar, crohn, ülseratif kolit, insülin bağımlı diyabet, bazı lenfomalar gibi otoimmün veya disregüle immünitenin neden olduğu hastalıkların insidansında azalma gösterilmiştir (93,94,95,96). Özellikle erken dönemde anne sütünün sitokin içeriğinin çok zengin olduğu ve immatür organ sistemlerinin gelişimi açısından bunun önemli olduğu bildirilmektedir (88). Çeşitli çalışmalarda, anne sütündeki

lenfositlerden bol miktarda interferon üretildiği gösterilmiştir (87,89). Anne sütünde immünmodülatör etkiye sahip IL-1 beta, IL-6, IL-8, IL-10, M-CSF, G-CSF, TGF-alfa, TGF-beta 2, TNF-alfa ve IFN-gama varlığı gösterilmiştir (87).

Anne sütünde varolan bu biyoaktif maddelerin etkileşimleri ve paylaştıkları ortak özellikler yeni yeni keşfedilmektedir (98). Doğal ve spesifik immünitinin efektör evreleri büyük ölçüde sitokinler olarak bilinen protein yapıdaki hormonlar ile ilişkilidir. Bu moleküller otokrin ve parakrin olarak birçok farklı hücre tipine etkilidirler. Sitokinler, immün sistemin yönetim ve gelişim fonksiyonları üzerine etkili olup, immün cevapla ilgili inflamatuvar yanıtı regüle etmektedirler (99).

Anne sütünün pasif protektif etkisi; alıcının mukozal ve sistemik immün yanıtını güçlendirici etkisi içerisinde bulunan antimikrobiyal, antiinflamatuvar, immünmodulatuvar aktiviteye bağlıdır (68). Son 10 yılda anne sütü içinde birçok sitokin bulunmuştur ve onların orijini, yapısı ve fonksiyonu hakkında yeni ilginç bilgiler edinilmektedir. B hücrelerinin büyümesi, farklılaşması ve immünoglobulin üretimi, anne sütünde bulunan sitokinlerin varlığını desteklemiştir (100,101,102). Diğer aktiviteler (örn; timosit proliferasyonun artması, T hücrelerin IL-2 üretiminin azaltılması, Ig E üretiminin baskılanması) de anne sütündeki immünmodulatuvar mediatörlerin varlığı ile ilişkilidir (103,104,105).

IL-1 muhtemelen insan sütünde kantitatif olarak gösterilen ilk sitokindir. IL-1 beta sağlıklı emziren annelerin kolostrumlarında ve erken süt örneklerinde bulunmuştur (106). Süt hücrelerinin spontan olarak IL-1 ürettiği bulunmuş olup, bu durum onların aktif olduğunu göstermektedir. Daha sonra erken süt örneklerinde, TNF'nin yüksek konsantrasyonları gösterilmiştir (107). Biyolojik sıvılarda TNF-alfanın trimerik formu bulunduğundan, anne sütündeki sitokinlerin diğer moleküllerle ya da solubl reseptörlerle bağlı olduğu düşünülmektedir (108). Goldman ve ark., sitokinlerin meme gland epitelinden kaynaklanabileceğini göstermişlerdir (87). Sütteki TNF-alfa muhtemelen süt makrofajları ve meme epitelden sekrete edilmektedir (107,109,110). IL-6 anne sütünde spesifik bioassay ile ilk keşfedilen sitokindir (111). Bu çalışmalarda, alınan süt örneklerine IL-6'ya karşı nötralizan antikor ilave edilmiş, daha sonra immünoassay yöntemi ile sütteki IL-6 gösterilmiştir. Kolostrumdaki IL-6 stimüle mononükleer hücrelerden Ig A üretimini

inhibe eder, bu da IL-6'nın meme glandında Ig A üretimi ile yakın ilişkili olduğunu öne sürmektedir (110,112,113). TNF-alfaya benzer şekilde IL-6'nın insan sütünde yüksek moleküler fraksiyonda olduğu görülmektedir (112). Süt hücrelerinde ve meme gland epitelinde IL-6'nın mRNA'sının gösterilmesi, meme epitel hücrelerinde ve LPS ile stimüle süt hücrelerinde IL-6'nın gösterilmesi bu sitokinin major kaynağının hem süt mononükleer hücreleri, hem de meme glandının olduğunu göstermektedir (109,110,114). Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar, anahtar bir immünoregülatuar ve antiinflamatuvar sitokin olan IL-10'un, laktasyonun ilk 80 saatinde anne sütünde çok yüksek konsantrasyonlarda olduğunu göstermiştir (115,116).

Anne sütünde var olan sitokinler, respiratuvar ve gastrointesinal sistemin üst kısımlarında mukozal lenfoid dokularla potansiyel olarak etkileşmektedir. Bugüne kadar solunum ve gastrointestinal mukozadaki epitel hücrelerinde sitokinler için spesifik reseptörlerin ekspresyonu zayıf bir şekilde araştırılmıştır(98). Anne sütündeki sitokinlerin sindirim enzimleriyle sindirilmeleri nedeniyle etkili olup olmayacağı tartışma konusudur. Neonatal dönemde sitokinlerin intakt ya da hasarlı mukozal bariyerlerden pasif geçisi tam aydınlatılamamıştır. Sitokinlerin orta ve alt gastrointestinal sistemden geçişini gösterir kanıtlar mevcuttur. Örneğin, IL-1 ve IL-8 gibi sitokinler kısmen sindirim sürecine karşı dirençlidir. Anne sütündeki diğer immünmodulatorler başka dokulara dağılıp sindirimden korunurlar (98). Ayrıca, insan sütü proteolizle mücadele eden antiproteazlar ve yenidoğanda tam olarak gelişmemiş bazı sindirim ajanları içerir (87). Doğumdan sonraki ilk hafta bağırsak geçirgenliğinin artmış olması da sitokinlerin mukozaya pasajını ve distal organlara geçişini kolaylaştırmaktadır (90,91). Böylece; anne sütü sitokin içeriği, bebeklerin gelişimsel olarak gecikmiş sitokin içeriğini kompanse etmektedir (98).

IL-6 ve TNF-alfa gibi sitokinler meme glandının gelişimi ve fonksiyonunu yönetmektedir (131). Diğerleri (örn; IL-1 ve IFN-gama) ise meme glandından savunma ajanlarının, sIgA'nın ve başka sitokinlerin üretimini etkilemektedir (98).

İlaçlar, hormonlar ve proinflamatuvar sitokinlerin kolestatik hasar ve bilier obstrüksiyon yaparak hepatik uptake ve atılım fonksiyonlarını bozduğu ve bu değişikliklerin kolestaz ve sarılığa yol açabileceği öne sürülmüştür

(138,139,140,141). Özellikle, bilier obstrüksiyonlu ve sarılıklı hastalarda IL-8 ve IL-10'un üretimi artmıştır (142,143). IL-1 beta ve IL-6 gibi sitokinlerin kolestatik etkisinin hepatik uptake, metabolizma, safra tuzlarının ve organik anyon olan bilirubin gibi safra dışı tuzların bilier ekskresyonuna aracılık eden genlerin baskılanmasından kaynaklandığına inanılmaktadır (144,145). Ek olarak IL-1 alfa, IL-6 ve TNF alfanın doz bağımlı olarak glukuronidasyon aktivitelerini azalttığı bulunmuştur (144,145,146). Sitokinlerin intestinal absorpsiyonda kritik rol aldıklarının bilinmesine rağmen, moleküler temelleri halen tam olarak anlaşılamamıştır. Anne sütündeki bol sitokin içeriğinin GIS maturasyonu ve absorpsiyon kapasitesini etkilemesi mümkündür (95).

Yaşamın ilk haftasında sarılığı olan ve sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde yapılan bir çalışmada, anne kolostrumundaki IL-1 beta seviyelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. IL-1 beta'nın; hepatik uptake, hepatik atılım, konjugasyon ve intestinal absorpsiyon üzerinden sarılığa yol açmış olabilecekleri öne sürülmektedir (6).

Erken anne sütü sarılığındaki bu verilere rağmen, geç anne sütü sarılığının sitokinlerle ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, geç anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne sütü sitokin düzeylerinin sarılıkla olan ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Uzamış sarılığı olan bebeklerin anne sütü sitokin düzeyleri 47,96 pg/ml (0,01-165,89), kontrol grubunun 29,86 pg/ml (0,01-209,08) idi. Gruplar arasında belirgin istatistiksel fark vardı ($p=0,013$). IL-6 ($p=0,174$), IL-8 ($p=0,285$), IL-10 ($p=0,067$) ve TNF-alfa ($p=0,053$) seviyeleri arasında ise anlamlı fark saptamadık. Bu durum, anne sütündeki yüksek IL-1 beta değerlerinin uzamış sarılığın bir nedeni olabileceğini düşündürmektedir.

Erken anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne sütlerinde IL-1 beta seviyelerinin yüksek bulunması; benzer sonuçların, uzamış sarılığı olan bebeklerin anne sütlerinde de göstermemiz; "Geç anne sütü sarılığı ayrı bir hastalık mı, yoksa erken anne sütü sarılığın bir devamı mı?" sorusunu da gündeme getirmektedir. Bu

sorunun cevabı; geç anne sütü sarılığı olan bebeklerin anne kolostrumlarındaki sitokin düzeylerinin çalışılması ile verilebilecektir.

Sonuçta, IL-1 beta değerlerinin geç anne sütü sarılığı ile ilişkili olduğu görülmektedir. Geç anne sütü sarılığının, erken anne sütü sarılığının bir devamı olması da olasıdır.

6. KAYNAKLAR

1. Okan F, Köymen G, Cevahir E, Nuhoğlu A. Sağlıklı term yenidoğanlarda hiperbilirubinemi sıklığı ve risk faktörleri. *Türk Klin Der* 2006; 15:144-150
2. Alpay F. Sarılık. In: Türk Neonatoloji Derneği. Yurdakök M, Erdem G, eds. Neonatoloji. Ankara: Alp Ofset, 2004; 559-578.
3. Maisels MJ, Newman TB 1995 Kernicterus in otherwise healthy, breast-fed term newborns. *Pediatrics* 96:730-733
4. Lascari AD 1986 'Early' breast-feeding jaundice. Clinical significance. *J Pediatr* 108:156-158
5. Amato M, Howald H, von Muralt G 1985 Fat content of human milk and breast milk jaundice. *Acta Pediatr Scand* 74:805-806
6. Zanardo V, Golin R, Amato M, Favaro F, Faggian D. Cytokines in Human Colostrum and Neonatal Jaundice. *Pediatr Res* 62: 191-194, 2007.
7. Madan A, MacMahon JR. Neonatal hyperbilirubinemia. In Taeush HW, Ballard RA, Gleason CA, eds. Avery's Diseases of the Newborn. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005:1226-1256.
8. Stoll BJ, Kliegman RM. Digestive System Disorders. In Berhman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics. Philadelphia: Elsevier-Saunders, 2004:583-598.
9. Halamek LP, Stevenson DK. Neonatal jaundice and liver disease, In: Fanaroff AA, Martin RJ (eds). Neonatal Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Newborn. St Louis; Mosby 2002; 1309-1350.
10. Oran O, Gürakan B. Bilirubin metabolizması. In: Özalp , Tunçbilek E, Tuncer M (eds). Katkı Pediatri Dergisi: Yenidoğan Sarılıkları. Takav Yayıncılık Ankara 1995; 16:667-679
11. Sarıcı SU, Serdar MA, Korkmaz A, Erdem G, Oran O, Tekinalp G, Yurdakök M & Yiğit S. Incidence, course, and prediction of hyperbilirubinemia in near-term and term newborns. *Pediatrics* 2004;113:775-780
12. Can G, Çoban A, İnci Z. Yenidoğan Sarılıkları. In: Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri Cilt:1 Nobel İstanbul 2002; 402-420.

13. Alpay F, Öztürk A. Yenidoğan sarılığı. Türkiye Klinikleri J Ped Sp Iss 2(7): 689-697, 2004.
14. Setia S, Villaveces A, Dhillon P, Mueller BA. Neonatal jaundice in Asian, white and mixed-race infants. Arch Pediatr Adolesc Med. 2002; 156:276-279.
15. Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence risk of neonatal hyperbilirubinemia in siblings. AJDC 1988; 142:1065-1069.
16. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. Pediatrics. 2004;114:297-316.
17. Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. *N Eng J Med* 2001; 344:581-590
18. Mishra S, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Jaundice in the newborns. Indian J Pediatr. 2008;75:157-163.
19. Hannam S, McDonnell M, Rennie JM. Investigation of prolonged neonatal jaundice. Acta Paediatr. 2000;89:694-697
20. Huang CS, Chang PF, Huang MJ, Chen ES, Hung KL. Relationship between bilirubin UDP-glucuronosyl transferase 1A1 gene and neonatal hyperbilirubinemia. Pediatr Res 2002; 52:601–605.
21. Gourley GR. Breast-feeding, neonatal jaundice and kernicterus. Semin Neonatol. 2002; 7(2):135-141.
22. Hay MW, Hayward AR, Levin MJ, Sondheimer MJ. In: Thilo EH, Rosenberg AA. Current Pediatric Diagnosis & Treatment. 2003; 82-126.
23. American Academy of Pediatrics, Provisional Committee for Quality Improvement and Subcommittee on Hyperbilirubinemia Practice parameter: management of hyperbilirubinemia in the healthy term newborn. Pediatrics 1994;94:558-565.
24. Freed LM, Moscini D, Hamosh M et al. Breast-milk jaundice revisited: no role for beta-glucuronidase or "unstimulated lipase". Pediatr Res 1987; 21: 267 A.
25. Hamosh. M. Breast milk Jaundice. J Pediatr Gastroenterol Nutr 11:145-149,1990.
26. Yiğit S, Ciliv G, Aygün S, Erdem G. Breast milk beta-glucuronidase in hyperbilirubinemia. Turk J Pediatr 2001; 43(2):118-20.

27. Maruo Y, Nishizawa K, Sato H, Sawa H, Shimada M. Prolonged unconjugated hyperbilirubinemia associated with breast milk and mutations of the bilirubin uridine diphosphateglucuronosyltransferase gene. *Pediatrics* 2000; 106(5):E59.
28. Prashant G. Deshpande, MD, Attending Pediatrician, Department of Pediatrics, Christ Hospital Medical Center and Hope Children's Hospital, Oak Lawn, Illinois; Chairman, Department of Pediatrics, Palos Community Hospital, Palos Heights, Illinois; Assistant Clinical Professor Of Pediatrics, University Of Illinois at Chicago. Updated: Apr 8, 2010
29. Kumral A, Ozkan H, Duman N, Yesilirmak DC, Islek H, Ozalp Y. Breast milk jaundice correlates with high levels of epidermal growth factor. *Pediatr Res.* Aug 2009;66(2):218-21.
30. Manganaro R, Marseglia L, Carmelo M, Giuseppe S, Gargano R, Gernellie M. Serum alpha-fetoprotein (AFP) levels in breastfed infants with prolonged indirect hyperbilirubinemia. 1. *Early Human Development.* 2008;84:487-490.
31. World Health Organization. Infant and young child feeding current issues, *WHO/UNICEF*, Geneva, 1981...D21 Demirbağ B: Çocuk sağlığı ve hast, cilt1, sayfa 6 1985.
32. Bentzen K. Cytokines and natural regulators of cytokines. *Immunol Lett* 1994;43: 111-23.
33. Cunningham AS, Jelliffe DM, Jelliffe EFP. Breast-feeding and health in the 1980. A global epidemiologic review. *J Pediatr*, 1991 118;1:34-37.
34. Uauy R, Quan R, Gil A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: Implications for infant nutrition. *J Nutr*, 1994;124:1436.
35. Cosgrove M. Perinatal and infant nutrition: Nucleotides. *Nutrition*, 1998;14:748.
36. Jensen RG (ed). Handbook of milk composition. *Academic Pres*, 1995 San Diego.
37. Dai D, Nanthkumar NN, Newburg DS. Role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2000;30(suppl):23.
38. Hambreas L. Prioritary milk versus human breast milk in infant feeding. *Pediatr Clin N Amer*, 1977;27:17.

39. Haskell MJ, Brown KH. Maternal vitamin A nutriture and the vitamin A content of human milk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 1999;4:243.
40. Picciano MF. Nutrient composition of human milk. *Pediatr Clin North Am*, 2001;48:1-15.
41. Greer FR. Vitamin K status of lactating mothers and their infants. *Acta Pediatr*, 1999;88:95.
42. Villapando S, Hamosh M. Early and late effects of breast-feeding: Does breast-feeding really matter? *Biol Neonate*, 1998;74:177.
43. Rennels M. Influence of breastfeeding and oral poliovirus vaccine on the immunogenicity and efficacy of rotavirus vaccines. *J Infect Dis*, 1996;174:107-111.
44. Nuhoğlu A. Yenidoğan ve süt çocuklarında beslenme, Trabzon, 1989.
45. Hasselbalch H, Jeppesen DL, Engelman MDM. Decreases thymus size in formula-fed infants. *Acta Pediatr*, 1996;85:1029.
46. Chandra RK. Immunological aspects of human milk. *Nutr Rev*, 1978;36:265.
47. P CH. *Clinical Immunology*, 1996;326-328.
48. Hanson LA, Ahistedz S, Carlson B. New knowledge in human milk immunology. *Acta Ped Scand*, 1978;67:577.
49. Goldman AS, Garza C, Nichols BL, Goldblum RM. Immunologic factors in human milk the first year of lactation. *J Pediatr*, 1982;100:563-567.
50. Fishaut M, Murphy D, Neifetz M, McIntoch K, Orga PL. Bronchomammary axis in the immune response to respiratory syncytial virus. *J Pediatr*, 1981;99:186.
51. Michaels RH. Studies of antiviral factors in human milk and serum. *J Immunol*, 1965;94:262.
52. Goldman AS, Smith CW. Host resistance factors in human milk. *J Pediatr*, 1973;82:1082.
53. Cochi SL, Fleming DW, Hightower AW, Limpakarnjanarat K, Facklam RR, Smith JD, Sikes RK, Broome CV. Primary invasive *Haepphilus influenzae* type b disease: A Populationbased assessment of risk factors. *J Pediatr*, 1986;108:887-896.
54. Istre GR, Conner CS, Broome CV. Risk factors for primary invasive *Haepphilus Influenzae* disease: Increased risk from day care attendance and school-aged household members. *J Pediatr*, 1985;190-195.

55. Gessner BD, Ussery XT, Parkinson AJ, Breiman RF. Risk factors for invasive disease caused by *Streptococcus pneumoniae* among Alaska native children younger than two years of age. *Pediatr Infect Dis J*, 1995;14:123-128.
56. Stoliar OA, Pelley RP, Kaniecki-Green E, Klaus MH, Carpenter CCJ. Secretory IgA against enterotoxins in breast milk. *Lancet*, 1976;1:1258.
57. Hamosh M. Protective functions of proteins and lipids in human milk. *Biol Neonate*, 1999;74:163.
58. Bullen JJ, Rogers HJ, Leigh L. Iron binding protein in milk and resistance to *Escherichia coli* in infants. *Br Med J*, 1972;69.
59. Miller RE. Killing and lysis of gram-negative bacteria through the synergistic effect of hydrogen peroxide, ascorbic acid and lysozyme. *J Bacteriol*, 1969;98:949.
60. Kirkpatrick CH, Gren I, Rich RR, Schade AL. Inhibition of growth of *Candida albicans* by iron-saturated lactoferrin: relation to host defense mechanisms in chronic mucocutaneous candidiasis. *J Infect Dis*, 1970;124:539.
61. Tat'yana GK, Svetlana EB, Dmitry VS. Multiple enzymic activities of human milk lactoferrin. *Eur J Biochem*, 2003;270:3353-61.
62. Miyazawa K, Mantel C, Lu L. Lactoferrin lipopolysaccharide interactions: Effect of Lactoferrin binding to monocyte-macrophage differentiated HL-60 cells. *J Immunol*, 1991;146:723.
63. Bullen CL, Willis AT. Resistance of the breast-fed infant to gastroenteritis. *Br Med J*, 1971;3:338.
64. Welsh JK, Mat JT. Anti-infective properties of breast milk. *J Pediatr*, 1979;94:19.
65. Goldman AS, Chheda S, Garofalo R. Evolution of immunologic function of the mammary gland and the postnatal development of immunity. *Pediatr Res*, 1998;43:155-62.
66. Van Berkel PHC, Geerts MEJ, Van Veen HA. Glycosylated and unglycosylated Human lactoferrins can both bind iron and have identical affinities toward human lysozyme and bacterial lipopolysaccharides but differ in their susceptibility towards tryptic proteolysis. *Biochem J*, 1995;312:107.

67. Hanson LA, Mattsby-Baltzer I, Engbert I. Antiinflammatory capacities of human milk: Lactoferrin and secretory IgA inhibit endotoxin-induced cytokine release. In: Mestecky JC, ed. *Advances in Mucosal Immunity*, New York: Plenum Press, 1995;669.
68. Goldman AS. The immune system of human milk: antimicrobial, antiinflammatory and immunomodulating properties. *Pediatr Infect Dis* 1993;12:664-671.
69. Gotheffors L, Marklund S. Lactoperoxidase activity in human milk and in saliva of the newborn infant. *Infect Immunol*, 1975;11:1210.
70. Bjork L, Rosen CG, Marshall V, Reiter B. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system in milk against pseudomonas and other gram-negative bacteria. *Appl Microbiol*, 1975;30:199.
71. Emödi, Just M. Interferon production by Lymphocytes in human milk. *Scand J Immunol*, 1974;3:157.
72. Goldman AS. Human milk, Leukocytes and immunity. *J Pediatr*, 1977;90:167.
73. Lawton JWM, Shortridge KF. Protective factors in human breast milk and colostrum. *Lancet*, 1977;1:253.
74. Filteau SM. Role of breast-feeding in managing malnutrition and infectious disease. *Proc Nutr Soc*, 2000;59:565-72.
75. Xanthou M. Immune protection of human milk. *Biol Neonate*, 1998;74:121.
76. Gyorgy P, Dhanamitta S: Steers Science: Bifidus factor in human milk. *Science*, 1962;137:338.
77. Jelliffe DB, Jelliffe EFP. Editor: The uniqueness of human milk. *Am J Clin Nutr*, 1971;24:968.
78. Xanthou M, Bines J, Walker WA. Human milk and intestinal host defense in newborns: an update. *Adv Pediatr*, 1995;42:171-208.
79. Giovanni VC, Orazio G, Pierluigi G. Preliminary study of breastfeeding and bacterial adhesion to uroepithelial cells. *Lancet*, 1990;335:569-1.
80. Kelleher SL, Lonnerdal B. Immunological activities associated with milk. *Adv Nutr Res*, 2001;10:39-65.
81. Hamosh M, Peterson JA, Henderson TR. Protective function of human milk: The milk fat globule. *Semin Perinatol*, 1999;23:242.

82. Hancock JT, Salisbury V, Cristina M. Antimicrobial properties of milk: Dependence On presence of xanthine oxidase and nitrite. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002;46:3308-10.
83. Burr ML, Limb ES, Maguire MJ, Amarah L, Eldridge BA, Layzell JC, Merrett TG. Infant feeding, wheezing, and allergy: a prospective study. *Arch Dis Child*, 1993;68:724-8
84. Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, Sporn MB, Fauci AS. Production of transforming growth factor beta by T lymphocytes and Its potential role in the regulation of T cell growth. *K Exp Med* 1986;163(5):1037-1050.
85. Moses HL, Coffey JR RJ, Leof EB, Lyons RM, Keski-Oja J. Transforming growth Factor beta regulation of cell proliferation. *Jour of Cellular physiology Supplement*, 1987;5:17
86. Turato G, Di Stafeno A, Maetrelli P, Mapp CE, Ruggieri MP, Roggeri A, Fabbri LM, Saetta M. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995;152:1262-7.
87. Goldman AS, Chheda S, Garofalo R, Schmalstieg FC. Cytokines in human milk: Properties and potential effects upon the mammary gland and the neonate. *Mammary Gland Biol Neoplasia*, 1996;1:251-8.
88. Oddy W, Halonen M, Martinez F, Lohman I, Stern D, Kurzius-Spencer M, Guerra S, Wright AL. TGF-alfa in human milk is associated with wheeze in infancy. *J Allergy Clin Immunol*, 2003;112:723-8.
89. Bentzen K. Cytokines and natural regulators of cytokines. *immunol Lett*, 1994;43:111-23.
90. Buts JP. Bioactive factors in milk. *Arch Pediatr*, 1998;5:298-306.
91. Goldman AS. Modulation of the gastrointestinal tract of infants by human milk. Interfaces and interactions. An evolutionary perspective. *J Nutr*, 2000;130:426S-31S.
92. Ogra PL, Fishaut M. Human breast milk. In: Remington, Klein, editors. Textbook of infectious diseases of the fetus and newborn infant. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 1990. p. 68-85.
93. Saarinen UM, Kajosaari M. Breastfeeding as prophylaxis against atopic disease: prospective follow-up study until 17 years old. *Lancet* 1995;346:1065-9.

94. Koletzko S, Sherman P, Corey M, Griffiths A, Smith C. Role of infant feeding practices in development of Crohn's disease in childhood. *BMJ* 1989;298:1617-8.
95. Mayer EJ, Hamman RF, Gay EC, Lezotte DC, Savitz DA, Klingensmith GJ. Reduced risk of IDDM among breast fed children. The Colorado IDDM Registry. *Diabetes* 1988;37:1625-32.
96. Davis MK, Savitz DA, Grauford B. Infant feeding in childhood cancer. *Lancet* 1988;2:365-8.
97. Goldman AS, Chheda S, Garofalo R. Spectrum of immunomodulating agents in human milk. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1997. In press.
98. Garofalo R MD, Cytokines in Human Milk, *Journal of Pediatrics* 2010;156:S36 40
99. Arai K, Lee F, Miyajima A, Miyatake S, Arai N, Yokota T. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses. *Ann Rev Biochem* 1990;59:783-836.
100. Pittard BK III. Differentiation of cord blood lymphocytes into IgA-producing cells in response to breast milk stimulatory factor. *Clin Immunol Immunopathol* 1979;13:430-4.
101. Juto P. Human milk stimulates B cell function. *Arch Dis Child* 1985;60: 610-3.
102. Julius MH, Janusz M, Lisowski J. A colostral protein that induces the growth and differentiation of resting B lymphocytes. *J Immunol* 1988; 140:1366-71.
103. Soder O. Isolation of interleukin-1 from human milk. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;83:19-23.
104. Hooton JW, Pabst HF, Spady DW, Paetkau V. Human colostrum contains an activity that inhibits the production of IL-2. *Clin Exp Immunol* 1991;86:520-4.
105. Sarfati M, Vanderbeeken Y, Rubio-Trujillo M. Presence of IgE suppressor factors in human colostrum. *J Immunol* 1986;136:1005-8.
106. Munoz C, Endres S, van der Meer J, Schlesinger L, Arevalo M, Dinarello C. Interleukin-1b in human colostrum. *Res Immunol* 1990; 141:501-13.
107. Rudloff HE, Schmalstieg FC, Mushtaha AA, Palkowetz KH, Liu SK, Goldman AS. Tumor necrosis factor- α in human milk. *Pediatr Res* 1992;31:29-33.
108. Buescher ES, Malinowska I. Soluble receptors and cytokine antagonists in human milk. *Pediatr Res* 1996;40:839-44.

109. Skanse'n-Saphir U, Linfors A, Andersson U. Cytokine production in mononuclear cells of human milk studied at the single-cell level. *Pediatr Res* 1993;34:213-6.
110. Basolo F, Conaldi PG, Fiore L, Calvo S, Toniolo A. Normal breast epithelial cells produce interleukins-6 and 8 together with tumor-necrosis factor: defective IL-6 expression in mammary carcinoma. *Int J Cancer* 1993; 55:926-30.
111. Saito S, Maruyama M, Kato Y, Moriyama I, Ichijo M. Detection of IL-6 in human milk and its involvement in IgA production. *J Reprod Immunol* 1991;20:267-76.
112. Rudloff HE, Schmalstieg FC, Palkowetz KH, Paszkiewicz, Goldman AS. Interleukin-6 in human milk. *J Reprod Immunol* 1993;23:13-20.
113. Bocci V, von Bremen K, Corradeschi F, Franchi F, Luzzi E, Paulesu L. Presence of interferon-g and interleukin-6 in colostrum of normal women. *Lymphokine Cytokine Res* 1993;12:21-4.
114. Srivastava MD, Srivastava A, Brouhard B, Saneto R, Groh-Wargo S, Kubit J. Cytokines in human milk. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996;93:263-87.
115. Howard M, O'Gara H, Ishida R, de Waal Malefyt R, de Vries JE. Biological properties of IL-10. *J Clin Immunol* 1992;4:239-47.
116. Garofalo R, Chheda S, Mei F, Palkowetz KH, Rudloff HE, Schmalstieg FC, et al. Interleukin-10 in human milk. *Pediatr Res* 1995; 37:444-9.
117. Eglinton BA, Robertson DM, Cummins AG. Phenotype of T cells, their soluble receptor levels, and cytokine profile of human breast milk. *Immunol Cell Biol* 1994;72:306-13.
118. Sinha SK, Yunis AA. Isolation of colony stimulating factor from milk. *Biochem Biophys Res Commun* 1983;114:797-803.
119. Gilmore WS, McKelvey-Martin VJ, Rutherford S, Strain JJ, Loane P, Kell M, et al. Human milk contains granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). *Europ J Clin Nutr* 1994;48:222-4.
120. Hara T, Irie K, Saito S, Ichijo M, Yamada M, Yanai N, et al. Identification of macrophage colony-stimulating factor in human milk and mammary epithelial cells. *Pediatr Res* 1995;37:437-43.

121. Gasparoni A, Chirico G, De Amici M, Ravagni- Probizer MF, Ciardelli L, Marchesi ME, et al. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor in human milk. *Eur J Pediatr* 1996;156:69.
122. Oppenheim JJ, Zachariae COC, Mukaida N, Matsushima K. Properties of the novel proinflammatory supergene “intercrine” cytokine family. *Annu Rev Immunol* 1991;9:617-48.
123. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines—CXC and CC chemokines. *Adv Immunol* 1994;55:97-179.
124. Palkowetz KH, Royer CL, Garofalo R, Rudloff HE, Schmalstieg FC, Goldman AS. Production of interleukin-6 and interleukin-8 by human mammary gland epithelial cells. *J Reprod Immunol* 1994;26:57-64.
125. English BK, Burchett SK, English JD, Ammann AJ, Wara DW, Wilson CB. Production of lymphotoxin and tumor necrosis factor by human neonatal mononuclear cells. *Pediatr Res* 1988;24:717-22.
126. Cairo M, Suen Y, Knoppel E, et al. Decreased stimulated GM-CSF production and GM-CSF gene expression but normal numbers of GM-CSF receptors in human term newborns compared to adults. *Pediatr Res* 1991;30:362-7.
127. English BK, Hammond WP, Lewis DB, Brown CB, Wilson CB. Decreased granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production by human neonatal blood mononuclear cells and T cells. *Pediatr Res* 1992;31:211-6.
128. Cairo MS, Suen Y, Knoppel E, Dana R, Park L, Clark S, et al. Decreased G-CSF and IL-3 production and gene expression from mononuclear cells of newborn infants. *Pediatr Res* 1992;31:574-8.
129. Becker ID, Robinson OM, Bazan TS, Lopez-Osuna M, Kretschmer RR. Bactericidal capacity of newborn phagocytes against group B beta-hemolytic streptococci. *Infect Immun* 1981;34:535-9.
130. Wilson CB, Lewis DB, Penix LA. The physiologic immunodeficiency of immaturity. In: Stiehm, editor. *Textbook of immunologic disorders in infants and children*. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 1996. p. 253-95.
131. Basolo F, Fiore L, Fontanini G, Giulio P, Simonetta C, Falcone V, et al. Expression of response to interleukin 6 (IL6) in human mammary tumors. *Cancer Res* 1996;56:3118-22.

132. Keeney SE, Schmalstieg FC, Palkowetz KH, Rudloff E, Le BM, Goldman AS. Activated neutrophils and neutrophil activators in human milk: increased expression of CD11b and decreased expression of L-selectin. *J Leukoc Biol* 1993;54:97-104.
133. Ebert E. IL-8, RANTES, and GRO are chemotactic for intraepithelial lymphocytes (IEL). *Gastroenterology* 1995;109:1154-9.
134. Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1a, and MIP-1b as the major HIVsuppressive factors produced by CD8 + T cells. *Science* 1996;270:1811-4.
135. Falk LA, Vogel SN. Differential production of IFN α /b by CSF-1 and GM-CSF derived macrophages. *J Leukoc Biol* 1990;48:43-9.
136. Arend W, Joslin FG, Massoni RJ. Effects of immune complexes on production by human monocytes of interleukin 1 or an interleukin 1 inhibitor. *J Immunol* 1985;134:1546.
137. Berg DJ, Davidson N, Ku $\ddot{h}$ n R, Mu $\ddot{h}$ ller W, Menon S, Holland G, et al. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4+TH1-like responses. *J Clin Invest* 1996;98:1010-20.
138. Gourley GR, Arend RA 1986 Beta-glucuronidase and hyperbilirubinemia in breast-fed and Formula-fed babies. *Lancet* 1:664-646
139. Gourley GR, Gourly MF, Arend RA, Patla M 1989 The effect of saccharolactone on rat intestinal absorption of bilirubin in the presence of human breast-milk. *Pediatr Res* 25:234-238
140. Alonso EM, Whittington PM, Whittington SH, Rivard WA, Given G 1991 Enterohepatic circulation of monoconjugated bilirubin in rats fed with human milk. *J Pediatr* 118:425-430
141. Trauner M, Wagner M, Fickert P, Zollner G 2005 Molecular regulation of hepatobiliary transport systems: clinical implications for understanding and treating cholestasis. *J Clin Gastroenterol* 39:S111-S124
142. Honsawek S, Chongsrisawatn V, Vejchapitap P, Thawornsuk N, Tangkijvanich P, Poovorawan y 2005 Serum interleukin-8 in children with biliary atresia, relationship with disease stage and biochemical parameters. *Pediatr Surg Int* 21:73-77

143. Kimura F, Miyazaki M, Suwa T, Sugiura T, Shinoda T, Itoh H, Nagakawa K, Ambiru S, Shimizu H, Yoshitome H, 2001 Anti-inflammatory response in patients with obstructive jaundice caused by biliary malignancy. *J Gastroenterol Hepatol* 16:467-472
144. Bolder U, Ton-Nu HT, Schteingart CD, Frick E, Hofmann AF 1997 Hepatocyte transport of bile acids and organic anions in endotoxemic rats. Impaired uptake and secretion. *Gastroenterology* 112:214-225
145. Moseley RH 1997 Sepsis-associated cholestasis. *Gastroenterology* 112:302-306
146. Monshouwer M, Witkamp RF, Nujmeir SM, Van Amsterdam JG, Van Miert AS 1996 Suppression of cytochrome P450- and UDP glucuronosyl transferase dependent enzyme activities by proinflammatory cytokines and possible role of nitric oxide in primary cultures of pig hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 137:237-244
147. Newton RC. The production of human interleukin-1 beta by blood monocytes, *Prog. Biol. Clin. Res.*,1990; 349: 217-228.
148. Dinarello C. Biologic basis for interleukin-1 in disease.*Blood*,1996; 87:2095-2147.
149. McMahan C. Slack J. Mosley B. A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *EMBO J.* 1991; 10:2821-2832.
150. Jelinek DF. and Lipsky PE. Enhancement of human B cell proliferation and differentiation by tumor necrosis factor- α and interleukin-1, *J. Immunol.* 1987;139: 2970-2976.
151. Pfizenmaier K. Wajant H. Grell M. Tumor necrosis factors in 1996. *Cytokine Growth Factor Rev*, 7:271-277.
152. Amar S. Van Dyke E. Eugster H. Schultzen N. Koebel P. Bluethmann H. TNF-induced cutaneous necrosis is mediated by tumor necrosis factor receptor R1. *J Immunol*, 1996; 156:180-186.
153. Wajant H. Pfeffer K. Pfizenmaier K. Scheurich P. Tumor necrosis factors in 1998.*Cytokine Growth Factor Rev*, 9:297-302.
154. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of IL-6. *Immunol Today* 1990; 11: 443-449.
155. Kishimoto T. The biology of IL-6. *Blood* 1989; 74: 1-10.

156. Durum SK, Openheim JJ. Proinflammatory cytokines and immunity. In: Paul WE. *Fundamental Immunology*. 3rd ed. New York Raven Press Ltd 1993; 801-835.
157. Dinarello CA. IL-1 and TNF. In: Lachman PJ, Peters DK, Rosen FS, Walport MJ. *Clinical Aspects of Immunology*. 5th ed. Boston: Blackwell Scientific Publication 1993; 1:267-313.
158. Lau AS. Cytokines in the pathogenesis and treatment of infectious diseases. In: Aranoff SC, Hughes WT, Kohl S, Speck WT, Wald ER. *Advances in Pediatric Infectious Diseases*. Chicago: Mosby Year Book 1994; 211-231.
159. Alam R. Chemokines in cell movement and inflammation. Rosenwasser LJ, Borish L. Cytokines in allergic inflammation. Church MK, Shute JK, Sampson AP. Mast cell-derived mediators. Hirota K, Adolphson CR, Gleich GC. *Biology of eosinophils*. In: Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, Bachner BS, Holgate ST, Simons FER. *Middleton's Allergy*. 6th
160. Castell JV, Gomez MJ. IL-6 is a major regulator of the acute phase protein synthesis in human hepatocytes. *Febs Lett* 1989; 237-242.
161. Richards C, Gauldie J. Cytokine control of acute phase protein expression. John Libbey Euro Text. Paris 1991; 2950.
162. Chiesa C, Signore F, Assuma M, Buffone E, Tramontozzi P, Osborn J, Pacifico L. Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clinical Chemistry*. 2001;47:1016-1022.
163. Girardin EP, Berner ME. Serum TNF in newborns at risk for infections. *J Pediatr* 1990;149: 645-647.
164. Groll AH, Meiser A, Weise M. IL-6 is an early mediator in neonatal sepsis. *The Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 496-498.
165. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bresma R, et al. Increased plasma levels of IL-6 in sepsis. *Blood* 1989; 74: 1704-1710.
166. Rusconi F, Paraizzi F, Garlachi L, et al. IL-6 activity in infants and children with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10: 117-121.
167. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG. *Medical Immunology*. 9th ed. USA: Appleton & Lange 1997; 10:162-164.
168. Parham P. *The Immune System*. London 2000 :Garland Publishing 2000; 216.

169. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Effector mechanisms of T cell mediated immun reactions. In Cellular and molecular Immunology. 3rd ed. USA: WB Saunders Company 1997;13:286.
170. Ho AS, Moore KW. Interleukin-10 and its receptor. *Ther Immunol*, 1994;1:173-85.
171. Ishizuka T, Okayama Y, Kobayashi H, Mori M. Interleukin-10 is localized to and released by human lung mast cells. *Clin Exp Allergy*, 1999;29:1424-32.
172. Staples KJ, Bergmann M, Barnes PJ, Newton R. Stimulus-specific inhibition of IL-5 by cAMP-elevating agents and IL-10 reveals differential mechanisms of action. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000;273:811-5.
173. Cunha FQ, Moncada S, Liew FY. Interleukin-10 inhibits the induction of nitric oxide synthase by interferon-gamma in murine macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992;182:1155-9.
174. Niino H, Otsuka T, Tanabe T, Hara S, Kuga S, Nemoto Y, Tanaka Y, Nakashima H, Kitajima S, Abe M. Inhibition by Interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide-stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood*, 1995;85:3736-45.
175. De Waal Malefyt R, Hanen J, Spits H, et al. Interleukin-10 and viral Interleukin-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression. *J Exp Med*, 1991;174:915-24.
176. Takanashi S, Nonaka R, Xing Z, O'Byrne P, Dolovich J, Jordana M. Interleukin-10 inhibits lipopolysaccharide-induced survival and cytokine production by human peripheral blood eosinophils. *J Exp Med*, 1994;180:711-5.
177. Rousset F, Garcia E, Defrance T, Peronne C, Vezzio N, Hsu DH, Kastelein R, Moore KW, Banchereau J. Interleukin-10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992;89:1890-93.
178. Biere F, Servet-Delprat C, Bridon J-M, Saint-Remy J-M, Banchereau J. Human Interleukin-10 induces naive surface immunoglobulin D⁺ (sIgD⁺) B cells to secrete IgG1 and IgG3. *J Exp Med*, 1994;179:757-62.

179. Newman AJ, Gross S 1963 Hiperbilirubinemia in breast-fed infants. *Pediatrics* 32:995-1001
180. Bertini G, Dani C, Tronchin M, Rubaltelli FF 2001 Is breast-feeding really favoring early neonatal jaundice? *Pediatrics* 107:e41

7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



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

TOPLANTI TARİHİ : 16.04.2009
TOPLANTI NO : 2009/05

KARARLAR :

10- Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığının “Anne Sütü Sitokin Düzeylerinin Uzamış Yenidoğan Sarılığı ile İlişkisi ” konulu başvurusunun Etik Kurallara uygun olduğuna,

Oy Birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

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