

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOSTRUMDA LÖKOSİT SAYIMI VE LÖKOSİT ALT
GRUPLARI İLE PRENATAL, NATAL VE KLİNİK RİSK
FAKTÖRLERİNİN İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. S. ELİF ÖZYAZICI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. CANAN TÜRKYILMAZ**

**ANKARA
2010**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KOLOSTRUMDA LÖKOSİT SAYIMI VE LÖKOSİT ALT
GRUPLARI İLE PRENATAL, NATAL VE KLİNİK RİSK
FAKTÖRLERİNİN İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. S. ELİF ÖZYAZICI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. CANAN TÜRKYILMAZ**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE- 01/2009-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
2010**

İÇİNDEKİLER:

Şekil ve tablo dizini

Kısaltmalar

İçindekiler

1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Geçmişten Günümüze Anne sütü ile Beslenme.....	3
2.2. Laktasyon.....	6
2.3. Anne Sütünün Yapısı.....	7
2.3.1. Anne sütü proteinlerinin özellikleri.....	8
2.3.2. Anne sütünün lipidlerinin özellikleri.....	11
2.3.3 Anne sütünün karbonhidratlarının özellikleri.....	12
2.3.4 Anne sütünün minerallerinin özellikleri.....	13
2.4. Yenidoğanın Bağışıklık Sisteminin Özellikleri.....	14
2.5. Anne Sütünün Koruyucu İçeriği.....	15
2.5.1 İmmünglobulinler.....	15
2.5.2 Laktoferrin.....	19
2.5.3α-laktoalbumin.....	19
2.5.4 Karbonhidratlar.....	20
2.5.5 Sitokinler.....	21
2.5.6. Anne sütü hücreleri.....	22
2.6. Anne sütü ile Beslenmenin İmmünolojik ve Enfeksiyonlara Karşı Etkileri...	23

2.7. Anne Sütü Hücrelerinin Özellikleri.....	27
2.8. İnsan Lökosit Antijenlerinin Sınıflandırılması.....	33
2.9. Akım Sitometrik Analiz.....	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1. Toplam Hücre Sayısı Ölçümü.....	36
3.2. Akım Sitometrik inceleme.....	36
3.3 İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	40
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇLAR.....	67
7. KAYNAKLAR.....	68
8. ÖZET.....	80
9. SUMMARY.....	82
10. EKLER.....	84
11. ÖZGEÇMİŞ.....	89
ŞEKİL DİZİNİ	

Şekil No, Başlık:

1. Bağırsak meme bağlantısı ve sIgA'nın anne sütünden salgılanması.....	17
2. Wright ile boyanan kolostrum yaymasının ışık mikroskopunda görünümü.....	38
3. Kolostrum örneğinin akım sitometrik yöntemdeki histogramı.....	39
4. Kolostrum örneklerinin hücre sayısının alım zamanına göre karşılaştırılması...	42

5.Kolostrum örneklerinin CD14 yüzdesinin alım zamanına göre karşılaştırılması	43
6.Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen toplam hücre sayısının korelasyon grafiği.....	44
7. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen CD3 yüzdesinin korelasyon grafiği.....	44
8. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen CD4 yüzdesinin korelasyon grafiği.....	45
9. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen CD14 yüzdesinin korelasyon grafiği.....	45
10.Annenin gebeliğinin sonlanma zamanı ile anne sütünde ölçülen makrofaj yüzdesinin korelasyon grafiği.....	47
11. Annenin gebeliğinin sonlanma zamanı ile anne sütünde ölçülen CD16-56 yüzdesinin korelasyon grafiği.....	47
12.Multipar ve primipar annelerin CD45RO yüzdeleri karşılaştırılması.....	50
13.Multipar ve primipar annelerin CD13 yüzdeleri karşılaştırılması.....	51
14.İlaç kullanan ve kullanmayan annelerin toplam hücre sayısı.....	52
15.Sigara kullanan annelerin kolostrum CD16-56 yüzdelerinin karşılaştırılması.....	53
16.2500 gram altında ve üstünde bebeğe sahip olan annelerin CD45RO yüzdesinin karşılaştırılması.....	54

17.2500 gram altında ve üstünde bebeğe sahip olan annelerin yüzdesinin CD16-56 yüzdesinin karşılaştırılması.....	55
18.Yatan bebeğe sahip olan ve olmayan annelerin kolostrum örneklerinde nötrofil yüzdelерinin karşılaştırılması.....	56
19. Yatan bebeğe sahip olan ve olmayan annelerin kolostrum örneklerinde makrofaj yüzdelерinin karşılaştırılması.....	56

TABLO DİZİNİ

Tablo No, Başlık:

1.CD Grupları.....	33
2.Kolostrum lökositlerinin akım sitometrik yöntem ile saptanan yüzey belirteçlerinin % dağılımı.....	41
3. Kolostrumdaki beyaz küre lökosit sayı ve yüzdeleri	41
4.Prematüre doğum yapan ve yapmayan annelerin kolostrum hücre sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelерinin karşılaştırılması.....	46
5. Farklı VKİ olan anne gruplarının kolostrumdaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelерinin karşılaştırılması.....	48

6. Sezaryan ve NSVY ile doğum yapmış annelerin kolostrumundaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması.....	49
7. Gebeliği tekil veya çoğul olan annelerin kolostrumundaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması.....	49
8. Primipar ve multipar annelerin kolostrumdaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması.....	51
9. Gebelikte ilaç kullanan ve kullanmayan annelerin kolostrumdaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması.....	53

Kısaltmalar

AOM.....	Akut Otitis Media
sIgA.....	Salgısal İmmünglobulin
NEK.....	Nekrotizanentero Kolite
AAP.....	Amerikan Pediatri Akademisi
UNİCEF.....	Birleşmiş Milletler Çocuk Fonu
TNSA.....	Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması
Na.....	Sodyum
K.....	Potasyum
Ca.....	Kalsiyum
P.....	Fosfor
Cl	Klor
Fe.....	Demir
Mg.....	Magnezyum
Zn.....	Çinko
NPN.....	Protein Olmayan Nitrojen
<i>EPEC.....</i>	<i>Enteropathogenic Escherichia coli</i>
Ig.....	İmmünglobulin
DHA.....	Dokosaheksanoik
Asit	
AA.....	Araşidonik
Asit	
sCD14.....	Suda çözölen CD14
MALT.....	Mukoza ile ilişkili lenfoid doku
OPV.....	Oral Polio virüsü aşısı

TNF- α	Tümör nekroz faktör- α
IL.....	İnterlökin
HAMLET.....	Human α -lactoalbumin made lethal to tumor
TGF- β	Transforming Growth Faktör- β
INF- γ	İnterferon- γ
NK.....	Doğal öldürücü
DM.....	Diyabetes Mellitus
GDM.....	Gestasyonel Diyabetes Mellitus
VKİ.....	Vücut Kitle İndeksi
NSVY.....	Normal Spontan Vajinal Yol

1. GİRİŞ

Anne sütü, vitamin, mineral, karbonhidrat, yağ, protein, enzim ve canlı hücreler içeren benzersiz bir sıvıdır. Beslenmeyi sağlayıcı özelliklerinin yanında immünolojik, psikolojik ve ekonomik faydaları da vardır. Hasta ve prematüre yenidoğanlar dahil olmak üzere tüm bebeklerin beslenmesinde ilk seçenek anne sütüdür (1, 2, 3).

Anne sütünün bağışıklık sistemini destekleyici ve enfeksiyonlardan koruyucu içeriği, yılda bir milyon çocuğun ölmesini önleyen, ucuz, güvenilir, ağız yolu ile alınabilen ve soğuk zincir gerektirmeyen bir aşı gibidir. Anne sütünün sepsis, akut otitis media (AOM), ishal, solunum yolu hastalıklarına karşı koruyucu etkisi çalışmalarda gösterilmiştir (2). Bağışıklık sisteminin gelişimi fetal hayatta başlar ve doğumdan sonraki birkaç yıl boyunca devam eder. Yenidoğan döneminde pek çok savunma hücresinin fonksiyon ve sayıları yeterli değildir. Makrofaj ve nötrofillerin fagositik kapasiteleri zayıf iken; lenfositlerin sayıları kısıtlıdır. Antijen ile karşılaşma az olduğundan bağışıklık sisteminin deneyimi yetersizdir ve sindirim sistemi, deri gibi ilk savunma noktaları tam olarak gelişmemiştir. Yenidoğanların, bağışıklık sistemlerini yapılandırırken annelerinin yardımına ihtiyaçları vardır. Bu yardım anne tarafından fetal dönemde plasenta, doğum sonrasında ise anne sütü ile sağlanmaktadır (4). Anne sütü içerisinde bulundurduğu salgısal immünglobulin (sIgA), laktoferrin, lizozim, oligosakkaritler, makrofajlar ile bebeğe, enfeksiyonlara açık olduğu yenidoğan döneminde pasif koruma sağlar. Ayrıca lenfositler başta olmak üzere anne sütü hücreleri, annenin kazanmış olduğu bağışıklık yanıtı deneyimlerinin, bebeğe

geçmesini sağlayarak bebeğin bağışıklık sisteminin gelişimine ve olgunlaşmasına yardımcı olurlar (5). Anne sütünün bu özellikleri prematüre doğan bebekler için daha da önemlidir. Anne sütü ile beslenen çok küçük doğum ağırlıklı bebeklerin, nekrozitanentero kolite (NEK), sepsise, menenjitte yakalanma oranları sadece mama ile beslenen bebeklere göre çok daha azdır (6).

Anne sütünün koruyucu özellikleri, birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. Bu özelliklerden biri de anne sütünde bulunan hücrelerdir. Bebek tarafından emzirme yolu ile yaklaşık olarak iki milyar hücre ağızdan alınır. Anne sütü hücrelerinin ~% 90'ı makrofaj ve nötrofillerden, %5-10'u ise lenfositlerden oluşturulur. Anne sütündeki makrofajlar aktif fagositik hücreler iken, nötrofillerin fagositik yetenekleri periferik kan hücrelerine göre azalmıştır. Süt makrofajlarının, sitoplazmalarındaki granüller ile sIgA'yı taşıdığı ve pek çok ajana karşı yenidoğanı koruduğu bilinmektedir (7, 8). Anne sütünün toplam lenfositlerinin ~% 80'ini T lenfositler oluştururken, % 4-6'sını B lenfositler oluşturur. Anne sütündeki T lenfositler CD4 yardımcı (helper) ve CD8 sitotoksik/baskılayıcı (Cytotoxic/suppressor) hücrelerinin ikisini birden içermektedir (9).

Bağışıklık sistemi ilaçlar, geçirilen hastalıklar, sigara kullanımı, diyet ve duygu durumu gibi birçok durumdan etkilenmektedir. Anne sütünün hücre içeriği annenin bağışıklık sisteminden köken almaktadır ve anne ile ilgili özelliklerden etkilendiği düşünülmektedir (2). Anne sütünün hücre içeriğinin ve lenfosit alt gruplarının laktasyon zamanı, multiparite, gebelik haftası ile sigara ve alkol kullanımından etkilendiğini gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu

Çalışmalardan birinde, zamanından önce doğum yapan annelerin sütlerinin hücre sayısı ve lenfosit alt grup değeri, zamanında doğum yapan annelerin sütlerine göre yüksek bulunmuştur (10). Başka bir çalışmada ise alkol ve sigara kullanımının, anne sütünün koruyucu özelliklerine etkisini araştırılmış ve alkol kullanan annelerin sütlerindeki hücre sayısının ve nötrofil yüzdesinin yüksek olduğu saptanmıştır (11). Bir diğer araştırmacı ise anne sütündeki makrofaj-nötrofil oranını ile gebelik sayısı arasında pozitif yönde ilişki saplamıştır (12).

Anne sütünün yağ, protein, karbonhidrat, vitamin-mineral içeriğinin prenatal ve natal özelliklere göre değişimini inceleyen çok sayıda çalışma varken, bu faktörlerin hücre içeriğine etkisini inceleyen çalışmalara az rastlanmaktadır (6). Biz alışmamızda, prematüre ve zamanında doğan yenidoğanların anne sütlerinin canlı hücre içeriğini, lökosit alt gruplarını ve bu değerlerin perinatal, natal ve klinik risk faktörleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Geçmişten Günümüze Anne sütü ile Beslenme

Emzirme davranışı anne ile bebeği arasında eşsiz bir bağ oluşturmaktadır. Anne sütü, maliyet gerektirmeden bebeğin büyüme ve gelişimi için gerekli tüm besin maddelerini sağlamaktadır (13). Bu özellikleri ile iki milyon yıldır yeryüzünde yaşayan insanların bebekleri için vazgeçilemeyen bir besin kaynağı olmuştur.

M.Ö. 1550 yılında yazılan Tıp ansiklopedisi Ebers Papirüs'ünde bebekleri beslemenin tek yolunun anne sütü ile beslenme olduğu anlatılmaktadır (14). İbn-i Sina, ünlü eseri El-kanun Fi't-Tıb (Tıbbın Kanunu)'da anne sütünün bebeğin büyümesi ve gelişimi için en uygun besin olduğunu ve iki yıl boyunca verilmesi gerektiğini belirtmiştir (15).

Fakat Avrupa'da endüstri devriminin olması ile birlikte emzirmeye ilgi azalmış, bebeklere hayvan sütleri ve bebek mamaları verilmeye başlanmıştır. O yıllarda pek çok çocuk hekimi inek sütünün savunucusu olmuştur. Yapılan hatalar 1978 yılında Amerikan Pediatri Akademisi'nin (AAP) yapılan önerileriyle düzeltilmiş ve bugünkü görüşlerimizin temeli atılmıştır (15).

1 Ağustos 1990 tarihinde İtalya'da "İnnocenti Bildirge"si kabul edilmiştir. Bu bildirgede ve AAP, Dünya Sağlık Örgütü, Birleşmiş Milletler Çocuk Fonu (UNİCEF) gibi birçok sağlık kuruluşunun hepsi tarafından, bebeklerin yaşamının ilk 6 ayı içinde sadece anne sütü ile beslenmesi önerisi kabul edilmiştir (1, 3). Yaşamın ilk altı ayından sonra değişen beslenme ihtiyacını karşılamak için

emzirmeyle birlikte kademeli olarak katı gıdalara geçilmesi ve en az 2 yaşına kadar emzirmeye devam edilmesi önerilmektedir (1, 2, 3).

Ülkemizde, emzirme geleneksel bir olaydır ve annelerin çoğu, bebeğini emzirmektedir. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması (TNSA) 2008 verilerine göre emzirme Türkiye’de oldukça yaygındır; tüm çocukların % 97’si değişen sürelerde emzirilmiştir. Doğumdan sonraki ilk aylarda hemen her bebek anne sütü ile beslenmektedir. Fakat ilerleyen aylarda sadece anne sütü ile beslenme oranı hızla düşerek altı ayın altındaki bebeklerde % 22’ye kadar geriler. Oranlar 2003 yılının verileri ile karşılaştırıldığında sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin oranının yükseldiği ve beslenme süresinin uzadığı görülmektedir. Ancak, Türkiye’de ek gıdaya başlama yaşı halen çok küçüktür (16). Ünsal ve arkadaşlarının 5003 anneyi içeren araştırmalarında da benzer sonuçlar bulunmuştur (17).

Bu sonuçlara göre annenin bebeği emzirmesi, ülkemizde yaygın bir uygulama olmasına rağmen sadece anne sütü ile beslenme ve emzirmenin desteklenmesi hala yeterli değildir. Bunun nedenleri sezeryan doğumların fazla olması, doğumdan sonra bebeğin emzirilmesine geç başlaması, ek besinlere erken geçilmesi, emzik veya biberon kullanma alışkanlığı, annelere verilen emzirme desteğinin yetersizliği olarak sıralanabilir. Emzirmenin başarılı bir şekilde başlatılması ve devam ettirilebilmesi için doğum öncesi ve sonrasında emzirme danışmanlığı hizmetleri verilmesi ve çevreden gelecek olumsuz sosyal etkilerin engellenmesi gerektiği unutulmamalıdır (17).

2.2. Laktasyon

Süt üretimi meydana gelen bir memede, meme bezleri bir ağ gibidir. Epitel hücreleri dallanarak süt kanallarını oluşturur. Bu kanalların ucunda süt üretiminin yapıldığı alveoler hücreler kümelenmiş halde bulunur. Süt kanallarının ve alveolar hücrelerin çevresini myoepitelyal hücreler sarmaktadır (18).

Meme hücrelerinin süt oluşumu için gelişimi gebelik boyunca mamogenez ve laktogenez olmak üzere iki ayrı aşamada gerçekleşir. Mamogenez gebeliğin ilk trimestrında başlar ve süt kanallarında çoğalma ve alveoller hücrelerin şekil ve boyutlarında değişiklikler oluşur (19).

Gebeliğin 2. trimestrında meme bezlerinde süt yapılmasına yönelik değişiklikler olmaya başlar ve buna laktogenez fazı denir (18). Laktogenez fazının başlama aşamasında gen ekspresyonundaki farklılaşma ile birlikte alveoler hücrelerinin yapısı ve fonksiyonu süt salgılayacak şekilde değişir. Bu aşamaya "laktogenesis I" denir. Bu fazda bazı alveoler hücreleri laktoz, kazein ve α -laktoalbumin sentezleyebilmektedir. Bu faz boyunca süt salgılanmasını engelleyen en önemli hormonun progesteron olduğu bilinmektedir (20).

Doğum sonrasında plesentanın ayrılması ile progesteron, östrojen ve insan plasental laktojen seviyelerinin düşer, prolaktin seviyesi yükselerek "laktogenesis II" evresi başlar (18). Bu evrede alveoler hücreler arasındaki "tight junctionlar" kapanarak süt içeriğinde değişiklikler meydana gelir. Sodyum ve klor konsantrasyonu düşerken, laktoz konsantrasyonu artar. Erken laktasyon döneminde laktoferrin, sIgA, oligosakkarit konsantrasyonları yüksektir. Doğumdan sonraki 36 ile 96. saatler arasında süt volümünde artış meydana gelir

(18, 20). Laktogenesis II fazından sonra süt sentezi için temel kontrol mekanizması, memeden emilen süt miktarıdır. Bu aşmaya ise Laktogenesis III veya galaktopoez denir (18)

Sütün memeden uzaklaştırılması ile süt üretilmeye ve salgılanmaya devam eder. Bebeğin emmesi ile oksitosin ve prolaktin düzeyi artar. Prolaktin süt salgısını tetikler, oksitosin ise myoepitel hücrelerinin kasılmasını sağlayarak alveollerden süt kanallarına süt boşalmasını başlatır (18, 20).

2.3. Anne Sütünün Yapısı

Anne sütü, her türün kendi gereksinimlerine göre besin öğelerini uygun miktarda içeren ve biyolojik yararlılığı yüksek olan fizyolojik bir besindir. Anne sütü yalnız protein, karbonhidrat ve yağların karışımı olarak düşünülmemelidir (21). Besin maddelerini aktarma kapasitesinin yanında, bağışıklık sisteminin gelişmesini sağlar ve zararlı ajanları da yok edebilme kabiliyetine sahiptir. Anne sütü, kan gibi içinde çok sayıda bileşen bulunan canlı bir dokuya benzemektedir. Bu özelliği ile bazı kaynaklarda "beyaz kan" olarak da tanımlanmaktadır (14, 22). Anne sütü, su ve suyun içinde eriyen bileşenlerin olduğu sıvı kısım (%87), kazein moleküllerinin bulunduğu kolloid kısım, yağ globülleri (%4) ve canlı hücreler olmak üzere dört ayrı kısımdan oluşmuştur (21, 23). Bu dört ana kısımda, laktoz, yağ, protein, alfa-laktalbumin, beta-laktoglobulin, albumin gibi besleyici bileşikler; sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca), fosfor (P), klor (Cl), demir (Fe), magnezyum (Mg), çinko (Zn), bakır, selenyum gibi mineral ve eser

elementler; azotlu bileşikler, vitaminler, hormonlar, enzimler; immünolojik olarak aktif hücreler bulunmaktadır (21).

Bebeğin fizyolojik gereksinimlerini karşılayacak şekilde anne sütünün içeriğinde laktasyon boyunca değişiklikler meydana gelir. Bu değişikliklere göre laktasyon üç döneme ayrılmıştır. Doğumdan sonraki ilk 5 gündeki anne sütü "kolostrum", ikinci 5 gündeki süt "geçiş sütü" ve sonraki sütler ise olgun süt olarak adlandırılmalıdır (24). Kolostrum ve olgun süt içerikleri kendilerine özeldir. Kolostrum sarı renkli, yapışkan kıvamda bebeğin ilk günlerdeki besin ihtiyacını karşılayan, bağışıklık elemanları açısından zengin olan anne sütüdür. Dansitesi ve mililitresindeki enerji miktarı olgun süte göre daha düşüktür. Olgun süte göre yüksek miktarda protein, Na, Cl, Fe, A, C, E vitaminleri içerirken; laktoz, P, K ve Ca açısından olgun süte göre daha fakirdir (25, 26, 27).

2.3.1. Anne sütü proteinlerinin özellikleri

Anne sütü proteinleri besin maddesi olarak, bir bebeğin hızlı büyümesi için gerekli olan aminoasitlerin kaynağıdır. Bunun yanında pek çok biyolojik görevi de vardır. Bulundurduğu enzimler ve taşıyıcı yapılar sayesinde besinlerin sindirilmesine ve emilimine yardımcı olur. Başta laktoferrin ve s IgA olmak üzere süt proteinleri, bebeğin tam gelişmemiş savunma sistemine yardımcı olur (22, 28).

İnsan sütündeki protein oranı ölçülenden daha fazladır. Çünkü yüksek oranda protein olmayan nitrojen (NPN) içeriği bulunmaktadır. Son zamanlarda NPN içeriği ölçülebilir hale gelmiştir. Anne sütündeki gerçek protein değeri [(total nitrojen –protein olmayan nitrojen)x6,25] hesaplandığında kolostrumda 14-16

g/L, laktasyonun 3-4 ayları arasında 8-10 g/L ve altı aydan sonra 7-8 g/L olarak bulunmuştur (28). NPN, anne sütünün nitrojen içeriğinin % 20-25' ini oluşturmaktadır. NPN, serbest aminoasit, karnitin, taurin, aminoasit şekerler ve nükleik asitten oluşmaktadır (22).

Anne sütündeki proteinler müsin, kazein ve whey proteini olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Müsin, sütte bulunan yağ globüllerinin çevresini saran proteinler tarafından oluşturulur. Anne sütü proteinlerinin küçük bir kısmını meydana getirmektedir (28). Kazein, sütün yüksek devirde santrüfjü sonrasında veya düşük pH ile karşılaştığında ayrılan kısımdır. Sütün geriye kalan sulu kısmına whey denir. Bu kısımda temel süt proteinlerinin yanında (α laktoalbumin, laktoferrin, sIgA), üre, iyonlar, süt şekerleri ve suda eriyen pek çok süt içeriği bulunmaktadır (23).

Kazein, sütte miçel formunda bulunmaktadır. Miçel yapısını protein alt birimleri ve onlara bağlanmış iyonlar oluşturmaktadır. Anne sütündeki temel alt birim β -kazein, küçük birim isek -kazeindir. Kazein miçelinin yapısındaki temel iyon fosfattır. Kazein bebeğin aminoasit kaynaklarından biridir. Kazeinin yapısındaki fosfat, Fe, bakır, Zn ve Ca bağlayarak bu iyonların emilimlerini sağlar (29, 30). κ -kazein ise, sIgA ile birlikte *Helicobacter Pylori*'nin enfeksiyon yapmasını engeller (31).

Whey proteini; α -laktalbumin, serum albümin, laktoferrin, immunglobinler ve lizozim olmak üzere beş ana parçadan oluşmuştur (14). α -laktoalbumin whey protein parçasını oluşturan temel kısımdır. Karbonhidrat içermez. Besin değeri olarak yüksektir. Esansiyel aminoasitler açısından zengindir. Diğer anne sütü

proteinlerinin aksine sütte bulunan albüminin sentezi meme bezlerinde olmamaktadır. Kan dolaşımında epitel hücrelerinin arasından sızarak endositoz yolu ile süte karışmaktadır. Özellikli bir fizyolojik fonksiyonu yoktur. Aminoasit tedarik etmek için kullanılır (29, 31).

Laktoferrin ilk olarak 1960 yılında Johansson tarafından tanımlanmış kırmızı renkli bir insan sütü proteindir. Yapısı transferrine benzemektedir. Laktoferrin +2 değerlikli serbest demiri bağlar. Böylece demir bağımlı bakterilerin çoğalmasını engeller. Günümüzde yapılan çalışmalarda *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*'nin bağırsak mukozasına yapışmasını engelleyerek enfeksiyon oluşturmalarını engellediği ispatlanmıştır. Laktoferrinin, virüs ve mantar enfeksiyonlarının gelişimini engelleyici etkinliği de bulunmaktadır. Diğer bir fonksiyonu ise bağırsak hücrelerinde laktoferrin bağlayan reseptörleri aktive ederek demir emilimini desteklemesidir (28, 29).

Anne sütünde pek çok immünglobulin (Ig) bulunmaktadır. En fazla bulunan sIgA; immünglobulin A'ya iki adet zincirin bağlanması ile oluşur. Bunlar, bağlanma zinciri (J zinciri) ve salgısal parçadır. Bu molekül parçaları bağırsakta sIgA'nın yıkılmasını engellemektedir. Erken laktasyonda konsantrasyonu ortalama olarak 1-2 g/l, sonrasında ise 0,5g/L dir. Yenidoğanın tam olarak gelişmemiş bağışıklık sistemi, anneden geçen immünglobulin yolu ile desteklenir ve pek çok patojenik mikroorganizmanın invaziv enfeksiyon yapmasını engeller (28, 29).

Whey proteinin parçalarından biri olan lizozim anne sütünde yüksek miktarda bulunmaktadır. Bebeğin savunmasına gram pozitif ve negatif bakteri duvarının bozulmasını sağlayıp bakterileri öldürerek katkıda bulunur (31).

2.3.2. Anne sütünün lipidlerinin özellikleri

Anne sütündeki yağlar bebeğin temel enerji kaynağıdır. Toplam enerji ihtiyacının % 40-50'sini karşılar. Aynı zamanda yağda eriyen vitaminler ve hücre membranlarında kullanılan esansiyel yağ asitleri için de kaynak sağlar (32).

Anne sütünde yağlar globül halinde bulunurlar. Yağ globülünün çekirdeğini trigliseritler oluşturmaktadır ve hidrofobik bir yapıdadırlar. Dış tarafını ise fosfolipid, protein, kolesterol ve enzimlerin oluşturduğu amfipatik bir membran çevirir (32, 33). Anne sütündeki yağ miktarı ortalama 3,8-3,9 g/100 ml kadardır. Anne sütü yağ içeriğinin % 98'ini trigliseritler, sonra sırası ile fosfolipid (% 0,7) ve kolesteroller (% 0,5) izler. Az miktarda serbest yağ asitleri ve mono ve digliserol bulunmaktadır (32).

Laktasyon boyunca yağ içeriği değişkendir. Anne sütündeki lipid içeriği, annenin beslenmesinden, laktasyonun zamanından, doğum sayısından, gün içinde değişik saatlerden, annenin yağ dokusu gibi pek çok durumdan etkilenmektedir. Kolostrumda yağ oranı düşük iken, yağ globüllerinin membranındaki kolesterol ve fosfolipid içeriği yüksektir. Süt olgun hale geçtikçe globüllerdeki fosfolipid ve kolesterol azalırken, trigliserit artar; sütteki yağ globülleri büyür ve sütün içindeki yağ miktarı artar. Başlardaki küçük yağ globülleri sayesinde doğumun ilk günlerinde yağların emilimi kolaylaşır. Prematüre bebeklerin enerji ihtiyacının

daha fazla olması nedeni ile prematüre bebeklerin anne sütünün yağ ve uzun zincirli yağ asitleri miktarı daha fazladır (14,34)

Yağ sindirimi yenidoğanın ilk günlerinde pankreas yeterli derecede gelişmediği için yetersizdir. Yağ globüllerinin boyutları ve trigliseridlerin sterometrik yapısı sindirimi ve yıkımı kolaylaştıracak şekildedir. Sindirim için birkaç adet lipaz ortak çalışmaktadır (33).

Anne sütü dokosaheksanoik asit (DHA) ve araşidonik asit (AA) açısından zengindir. Bu ikisi çocuklarda görme duyusunun ve bilişsel fonksiyonların gelişimini sağlar (35). Yapılan çalışmalarda görsel fonksiyonları anne sütü alan bebeklerin görme fonksiyonunun formül mama alan bebeğe göre daha iyi olduğu gösterilmiştir (36, 37). DHA'nın aynı zamanda prematüre bebeklerde prematüre retinopatisi (ROP) riskini düşürdüğü öne sürülmektedir (14).

Anne sütünün yağları bağışıklık sistemini destekler. Yağ globüllerinin membran bileşenleri; bebeğin bağırsağında, mikroorganizmalara karşı koruma sağlar. Ayrıca yağ globüllerinin yıkımı ile oluşan bileşikler; zarflı virüsleri, bakteri ve protozoonları parçalarlar (33).

2.3.3. Anne sütü karbonhidratlarının özellikleri

Anne sütünde bulunan karbonhidrat bileşimini laktoz, oligosakkaridler, nükleotid şekerler, glikolipid, glikoprotein ve çok az miktarda serbest glukoz oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda anne sütündeki laktoz miktarı ortalama 6,7

g/100 ml olarak bulunmuştur (14,22,38). Karbonhidrat miktarı ve içeriği laktasyon basamaklarına göre değişmektedir. Laktasyonun başında düşük olan laktoz miktarı laktasyon zamanı ilerledikçe yükselmekte; tam tersine oligosakkarit miktarı da laktasyonun başında yüksek iken düşmektedir. Buna karşılık toplam karbonhidrat miktarında süt olgunlaştıkça yükselme olmaktadır (39). Birçok anne sütü bileşiğinin miktarı gebelik süresi kısaldıkça artmakta iken laktoz miktarı azalmaktadır (40). Laktozun yıkılması ile glukoz ve galaktoz meydana gelir. Böylece yenidoğanın, beyin gelişimi için gerekli olan enerji sağlanır. Laktoz, ozmotik etkisi ile süte su çekerek süt volümünü artırır ve sütün solüt yükünü azaltır. Bunlara ek olarak laktozun Ca, manganez ve Mg emilimini artırıcı etkisi de bulunmaktadır (21, 22, 41).

Anne sütündeki oligosakkaritler ilk olarak 1933 yılında tanımlanmıştır. Laktoz ve oligosakkaritler birlikte çalışarak tüm sindirim sistemi boyunca asit pH meydana getirir ve bifidus flora oluşturarak sindirim sistemini enfeksiyonlara karşı korurlar. Oligosakkaritler sindirim, solunum ve üriner sistemlerinin mukoza epitel yüzeyindeki reseptörlere yapışarak patojen ajanların yayılımını engellerler (42).

2.3.4. Anne sütünün minerallerinin özellikleri

Anne sütünün mineral içeriği zengin olmasına karşın, sütün içindeki mineral miktarı pek çok memeli türünün sütünden ve formül mamadan daha düşüktür. Bu durum tam olarak gelişimini tamamlamamış olan yenidoğan böbreğinin solüt yükünü azaltır. Anne sütü minerallerinin, bir diğer özelliği de

biyolojik kullanımlarının yüksek olmasıdır. Bunun sebebi anne sütünün diğer bileşenlerinin minerallerin emilimlerini ve metabolizmalarını güçlendirmesidir (22).

2.4. Yenidoğanın Bağışıklık Sisteminin Özellikleri

Yenidoğanların bağışıklık sistemleri doğdukları zaman tam olarak gelişmiş değildir. Kan dolaşımındaki makrofaj ve nötrofil sayıları erişkinlere göre daha fazla olmasına karşın, enfeksiyon gelişmesi durumunda depoları yeterli değildir. Yenidoğanlarda nötrofil işlevleri de tam olgunlaşmamıştır. Nötrofillerin enfeksiyon gelişen bölgeye göç etmeleri yetersizdir. Opsanizasyonu sağlayan yardımcı yapıların eksikliği (antikorlar ve kompleman sistemi), ürettikleri oksijen radikallerinin zayıflığı gibi sebeplerden dolayı fagositoz yetenekleri de azalmıştır (43). Yenidoğan T hücreleri yeterli miktarda sitokin üretemezler. Düşük sitokin aktivitesi ise antijen ile karşılaşıldığında proliferasyonun sınırlı olmasına sebep olur. Yenidoğan ve bebeklik döneminde B lenfositlerin ürettikleri antikor miktarı da yeterli değildir (44). Örneğin doğal (innate) bağışıklığın bir parçası olan sIgA üretiminin korumayı sağlayacak miktarda olması, ancak doğumdan sonraki birinci ayda olur. Ayrıca doğal bağışıklığın diğer bir parçası suda çözülen CD14 (sCD14) yenidoğan döneminde bağırsak salgılarında az bulunmaktadır (45). Yenidoğan bebeğin bağırsak florası oluşmamış, mide dışarıdan gelecek ajanları durduracak işlevsel olgunlukta değildir. Tüm bunlara ek olarak intrauterin hayatta, bebekler antijenler ile karşılaşma deneyiminin az olduğu bir çevrede büyürler (46). Özetle yenidoğanın intrauterin hayattan ekstrauterin hayata uyum ve bağışıklık

sisteminin gelişmesi sürecinde enfeksiyonlara doğrudan bir yatkınlığı söz konusudur (47) Bu nedenler doğrultusunda dışarıdan gelecek patojenlere karşı yenidoğanın korunmaya ihtiyacı vardır ve anne sütü gereken bu maddelerin tümünü içermektedir (48).

2.5. Anne Sütünün Koruyucu içeriği

Binlerce yıldır emzirme ile sağlıklı bebekler arasındaki ilişki gözlenmiş ve kaydedilmiştir. Anne sütünün koruyucu özellikleri ile ilgili ilk çalışma Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılmıştır. Bu çalışmaya 20.000 anne-bebek çifti alınmış, emzirme ile ishal, solunum yolu enfeksiyonları ve AOM sıklığının azaldığı bulunmuştur (48). Anne sütünün yenidoğanın bağışıklık sistemine yararları ve mikroorganizmalara karşı koruyucu özelliği modern immunolojinin gelişmesi ile birlikte ayrıntılı bir şekilde incelenmeye başlanmıştır (49).

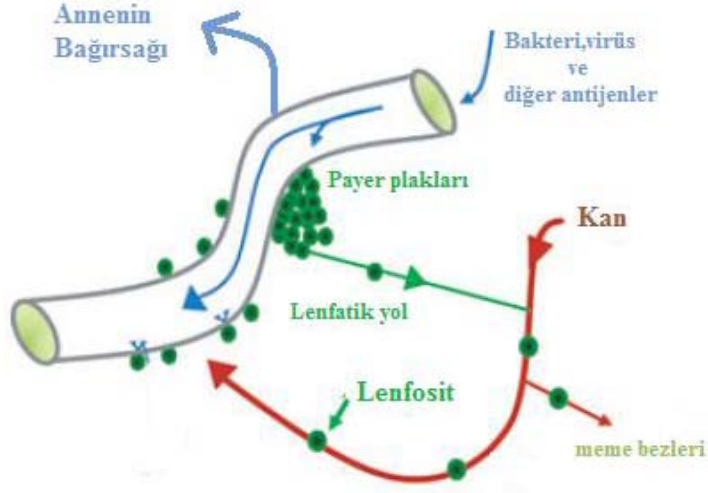
2.5.1. İmmünglobulinler

Sütün en erken tanımlanan koruyucu yapısı immünglobulinlerdir. Sütteki immünglobulinlerin % 80'i sIgA'dır. Bu sebeple temel koruyucu yapı olarak da tanımlanır. Anne sütünde IgA'nın yanında IgG, IgM ve IgD de bulunmaktadır. Anne sütü alan bir bebek, günde yaklaşık olarak 1 g kadar IgA almaktadır. Ağızdan alınan IgA'nın bir kısmı dolaşıma geçerken, geri kalanı bağırsak lümeninde bulunur ve bir kısmı dışkı ile atılır (2). Serumdaki immünglobulinlere göre sIgA, enzimlere ve düşük pH'a karşı daha fazla dirençlidir (50). Sindirim

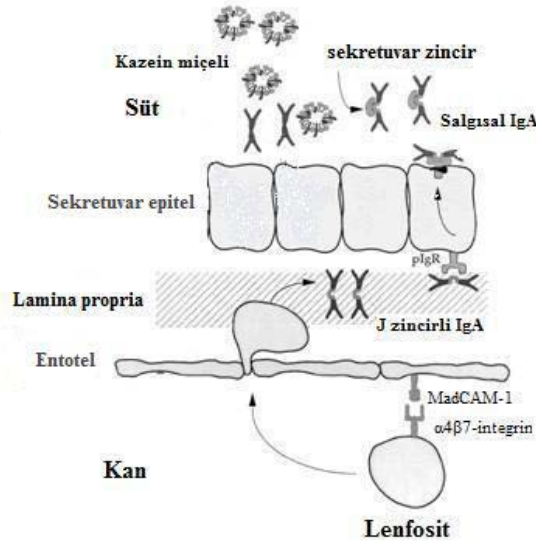
sistemi boyunca IgA işlevi bozulmadan kalmaktadır (2). Anne sütünde sIgA'nın temel kaynağı, annenin bağırsağındaki Payer plaklarındaki B lenfositlerdir (51). Anne bağırsağından geçen antijenler bağırsaktaki Payer plaklarında bulunan M hücreleri tarafından B hücrelerine sunulur. Hamilelik ve laktasyon boyunca değişen hormonlar sayesinde aktive olmuş B hücreleri mukoza ile ilişkili lenfoid dokudan (MALT) meme bezlerine doğru göç ederler (52). Aktive olmuş B lenfositlerinin üzerinde bulunan $\alpha 4\beta 7$ -integrin yüzey belirteci, sekretuar epitelin vasküler epitelyumundaki MadCAM-1 reseptörüne bağlanarak lamina propriaya doğru göç eder. Burada IgA salgılar ve J zinciri takılır. J zinciri takılan IgA, polimerik Ig reseptörü yolu ile epitelin içine girer. Hücrenin apikal kısmına taşınır. Bu sırada IgA'ya salgısal parça takılarak sIgA halini alır ve apikal alandan süte salgılanır (52, 53, 54) (Şekil 1). Böylece bebeğin beslenmesi ile sütteki anne kaynaklı sIgA sayesinde potansiyel mikroorganizmalara karşı koruma oluşur. Buna bağırsak-meme bağlantısı (entero-mammaric link) denir (55).

Anne sütünde bulunan sIgA, bağırsak ve solunum sistemi için patojen olan mikroorganizmalara karşı özgünlük gösterir. Bu antikorlar sütte bulunurken annenin dolaşımında bulunmayabilir. *E. coli*'nin O83 suşu ağızdan hamile kadınlara verilince bu etkene karşı anne sütünde spesifik IgA antikorları saptanırken annenin dolaşımında bu antikorların bulunmadığı gözlenmiştir. Benzer sonuçlar hayvan deneylerinde de bulunmuştur. Bütün bu çalışmalar meme bezinde IgA salgılayan hücrelerin annenin MALT dokusundan köken aldığını işaret etmektedir (2)

A



B



Şekil 1. Bağırsak meme bağlantısı ve sIgA'nın anne sütünden salgılanması

A: Annenin bağırsağında antijen ile karşılaşma sonrasında Ig A salgılayan B lenfositleri dolaşıma geçerek meme bezlerine göç ederler.

B: B lenfosit $\alpha 4 \beta 7$ -integrin adezyon molekülü ile sekreteruar epitelin MadCAM-1 reseptörüne bağlanarak lamina propriaya geçer. Burada olgun B lenfositlerden Ig A salgılanarak J zinciri Ig A'ya bağlanır. J zinciri takılan IgA polimerik Ig reseptörü (pIgR) yolu ile epitelin içine girer ve sekreteruar zincir takılarak sIgA halini alır ve apikal alandan süte salgılanır.

Pek çok çalışmada anne sütünde bulunan IgA'nın doğrudan antimikrobiyal savunmada rol oynadığı gösterilmiştir. Salgısal IgA, mikroorganizmaların epitele yapışmasını engeller, nötralizasyon yaparak FcαRI reseptörü bulunan hücrelerinin fagositoz yapmasını sağlar (46). Özellikle *Enterotoksijenik E. coli* (ETEC), *Vibriokolera*, *Campylobacter*, *Giardia* ve *Shigella*'ya karşı koruyucudur (52). Anne sütü ile beslenen bebeklere oral poliovirüsü aşısı (OPV) verilmiş ve bu bebeklerin aşı cevapları daha düşük olarak bulunmuştur. Bunu anne sütünde bulunan sIgA sağlamaktadır. Salgısal IgA canlı OPV aşısına bağlanarak, nötralize olmasını sağlamaktadır (2). Benzer şekilde bağırsaktaki bazı proteinleri bağlayarak bebeklerde atopi ve alerjik hastalıkların insidansını düşürür (2). Buna karşın *İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsüne* karşı oluşan antikorların bebeği korumadığı gösterilmiştir (46). Ayrıca, sIgA'nın yıkımından sonra oluşan ürünler; bebeğin dokularından IgA salgılanmasını sağlayıp, kompleman sistemini aktif hale getirirler ve sitokin salınmasını artırarak fagositik hücrelerin kemotaksisini sağlar (55).

Anne sütünde IgG ve IgM az miktarda bulunmaktadır. IgG seviyeleri anne serumu ile karşılaştırıldığında oldukça düşük bulunmuştur. Fakat anne serumu ile anne sütündeki IgG alt grupları miktarı farklıdır. Anne sütünde bulunan IgG₂ ve IgG₄ miktarları serumdan daha yüksektir. Böylece yenidoğanda yetersiz olan bu alt gruplar anne sütü tarafından pasif olarak desteklenir. Anne sütünde bulunan IgG, bakteri ve virüslere karşı antikor opsonizasyonunu sağlar. Ayrıca kompleman aktivitesi ve antikor bağımsız sitotoksik yanıtı katılır. Anne sütünde

25 mg/dl IgM bulunmaktadır. Anne sütündeki IgM'in annenin enfeksiyonlarına maruz kalan yenidoğanın korunmasının, başlangıcı olduğu düşünülmektedir (56).

2.5.2. Laktoferrin

Anne sütündeki temel proteinlerden biri olan laktoferrin de yenidoğanları enfeksiyonlara karşı korur. Pek çok çalışmada antimikrobiyal etkileri gösterilmiştir (57). Laktoferrin demiri bağlayarak bakterilerin büyümesini engeller. Ayrıca bakteri, virüs ve mantarlara karşı doğrudan sitotoksik etkisi de bulunmaktadır (58). *E. coli* ile idrar yolu enfeksiyonu oluşturulan farelere ağızdan insan laktoferrini verilmiş ve enfeksiyonu engellediği görülmüştür. Laktoferrin EPEC, *Candida albicans*, *Hemofilus influenza* pek çok mikroorganizmanın çoğalmasını engellerken, bifidus faktörün gelişmesine yardım eder (52). Ayrıca yapılan başka bir hayvan deneyinde; farelerde dekstran sülfat ile kolit oluşturulmuş; bu farelere ağızdan laktoferrin verildiğinde kolitin azaldığı görülmüştür. Bu durum laktoferrinin lökositlerde mRNA seviyesinde tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlekin-6 (IL-6) ve IL-8 sentezini bloke ederek antiinflamatuvar özellik göstermesi ile açıklanmaktadır (58).

2.5.3. α -Laktoalbumin

Sütün başlıca whey proteinlerinden olan α -Laktoalbumin, memede laktoz sentezleyen enzim kompleksinin bir parçasıdır. α -laktoalbumin midedeki asit

ortamda anne sütünde serbest halde bulunan oleik asit ile birleşir. Bu oluşan yeni yapıya tümör hücrelerine karşı öldürücü etkisi olması nedeni ile "human α -lactoalbumin made lethal to tumor" (HAMLET) ismi verilmiştir. HAMLET H3 histonuna bağlanarak DNA sentezini durdurup kromatin ağını bozarak apoptozise yol açar. Hayvan deneylerinde tümör hücrelerini inhibe ettiği görülmüş; insanlarda yapılan klinik çalışmada ise deri papilloması tedavisinde topikal kullanılarak plasebo alan gruba göre etkili olduğu kanıtlanmıştır (48, 59). Biyoaktif bir molekül olan HAMLET anne sütünün doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olup intestinal mukozanın normal gelişimine katkıda bulunmaktadır (53).

2.5.4. Karbonhidratlar

Anne sütü ile beslenen bebekler ile formül mama ile beslenen bebeklerin bağırsak florası karşılaştırıldığında farklılıklar saptanmıştır. Anne sütü ile beslenen bebeklerin florasında *bifidobacter*, *lactobacillus* bakterileri daha fazla bulunurken, mama ile beslenen bebeklerde *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* daha yüksek sayıda bulunur (60). Bağırsak florasının gelişmesinde oligosakkaritlerin önemi büyüktür. Sindirilmeyen oligosakkaritler, mikroflora tarafından enerji ve karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır ve floranın uygun gelişmesi sağlanmaktadır. Aynı zamanda oligosakkaritler patojen bakterilerin bağlandığı karbonhidrat bağlayan reseptörlerin analoglarıdır. Patojen mikroorganizmalardan önce epitele bağlanarak onların bağlanmasını engellerler (61). Anne sütü oligosakkaritlerinin birçok mikroorganizmanın bağlanmasını

engellediği çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin, fucosylated oligosakkariti *Campylobacter jejuni* ve *E. coli* toksinin hücrelere yapışmasını engeller. Glukoprotein yapısında olan lactadherin ise rota virüsü gelişimini önler ve anne sütündeki konsantrasyonu arttıkça semptomların şiddetinin azaldığı görülmüştür (62). Oligosakkaritlerin bağışıklık sistemi üzerinde düzenleyici etkileri olduğunu düşünülmektedir. Fornarini ve ark.'nın yaptığı çalışmada; annelerinin sütünde 90K glikoproteini yüksek olan çocukların solunum yolu enfeksiyonlarını daha az geçirdiği belirlenmiştir. Bunu, sütte bulunan makrofajlardan sitokin üretimini artırıp, o konakçının mukozal alanlarına aktive lenfosit ve monosit göçünü sağlayarak yaptığı düşünülmektedir (63). Diğer yandan selektine benzer yapıdaki süt oligosakkaritleri, lenfositlere selektin yerine bağlanarak hasarlı dokuya aşırı lenfosit göçü olmasını engelleyerek antiinflamatuvar etki oluşturur. Böylece yenidoğan bebeklerin bağırsak dokusu serbest oksijen radikallerinin hasarından korunur. Bu sayede süt oligosakkaritlerinin diğer enfeksiyon karşıtı etkileri ile birlikte NEK gelişimini de engellediği düşünülmektedir (60).

2.5.5.Sitokinler

Son yıllarda yapılan araştırmalarda anne sütünün çok sayıda sitokin içerdiği gösterilmiştir. Her geçen gün sitokinlerin yapıları ve biyolojik görevleri ile ilgili yeni bilgiler bulunmaktadır. Anne sütündeki sitokinler, yenidoğanın tam gelişmemiş sistemlerinin büyümesinde, farklılaşmasında ve düzenlemesinde görev alan önemli bileşenlerdir (2). İnterlökin 1, anne sütünde miktarı belirlenen ilk sitokindir. Süt hücreleri tarafından herhangi bir uyarı olmadan sentezlenir ve

erken sütte yüksek miktarda bulunur. Kolostrumda yüksek miktarda bulunan diğer bir sitokin de TNF- α 'dır. TNF- α süt makrofajları ve meme bezi epiteli tarafından salgılanmaktadır (64). Anne sütündeki IL-1, IL-8 ve TNF- α 'nın fagositik hücreleri aktive ettiği düşünülmektedir. IL-2 ise aktive olan T lenfositlerden salgılanır. T ve B lenfosit klonlarının artmasını, doğal öldürücü (NK) hücrelerinin aktivasyonunu sağlar. Anne sütünde inhibitör etkiye sahip olan IL-10 da bulunmaktadır. Transforming Growth- β Faktör (TGF- β) ile birlikte bağışıklık sisteminin düzenlenmesini ve aşırı reaksiyonların oluşmasını engeller (58). Anne sütünde bulunan kemokinler bağırsaktaki epitel dokusuna lenfositlerin kemotaksisini sağlayarak bebeğin bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmasını arttırmaktadır. Makrofaj uyaran faktör (M-CSF) ve makrofaj-granülosit stimüle edici faktör süt makrofajlarının çoğalması, farklılaşması ve artmasında önemli yere sahiptir. M-CSF makrofajların IL-1 reseptör antogonisti üretimini arttırarak antiinflamatuvar özellik gösterirken interferon- γ (INF- γ) sütteki lenfositleri aktive eder (2).

2.5.6. Anne sütü hücreleri

Emzirme yolu ile yaklaşık olarak iki milyara yakın hücre ağızdan alınır. Bu hücrelerin % 90'ı fagositik hücrelerden oluşur. Bu hücrelerin aktif olup, fagositoz yapabildikleri gösterilmiştir. Ayrıca makrofajlar antijenleri tanıyıp sunabilme kabiliyetine sahiptirler. Geriye kalan % 10'luk kısmı süt lenfositleri oluşturur. Lenfositler, anneden bebeğe immünolojik bilgileri aktaran bir geçiş yolu olarak düşünülmektedir. Anne sütünde bulunan T lenfositler de yenidoğanın kanında bulunan T lenfositlerinden farklı olarak CD45RO ve CD40L yüzey

belirleyicileri daha fazla bulunur (2, 45, 58). CD40L yüzey belirteci, T lenfositin B lenfositine bağlanarak immünoglobulin üretimini sağlar. CD40L'nin karşı reseptörü CD40 ise bebeğin ve erişkinin B lenfositlerinde bulunur (65). Anne sütündeki lökositlerin bir diğer görevi de, salgıladıkları sitokinler yolu ile bağışıklık sistemini düzenleyici görev yapmasıdır (66). Örneğin TGF- β bağırsakta inflamatuvar yanıtı azaltarak allerji gelişimini engellerken, bağırsakta IgA yapımını artırarak koruyucu etki gösterir (67). Sone ve ark.'nın yaptığı çalışmada *Respiratuvar Sinsityal Virüs* (RSV) ile karşılaşan annelerin süt makrofajlarının proinflamatuvar sitokinlerin yapımını artırdığı görülmüştür. Bu durum anne sütü hücrelerinin bebeğin deneyimsiz bağışıklık sistemine yardımcı olması şeklinde açıklanabilir (68).

2.6. Anne Sütü ile Beslenmenin İmmünolojik ve Enfeksiyonlara Karşı Avantajları

Pek çok araştırmacı, anne sütü bileşiklerinin bebeğin bağışıklık yanıtını arttırdığını göstermiştir. Jeppesen ve ark. anne sütü ve mama ile beslenen bebeklerin timus boyutlarını değerlendirdikleri çalışmalarında, anne sütü alan bebeklerin timus boyutlarının, CD8 hücre sayıları ile orantılı olarak daha yüksek saptamışlardır (69). Anne sütü ile beslenen bebeklerin *H. influenza tip B*, tetanoz ve difteri aşlarına verdikleri bağışıklık yanıtının, mama ile beslenen bebeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (70).

Anne sütü, koruyucu ve bağışıklık sistemini geliştirici içeriği sayesinde başta enfeksiyon hastalıkları olmak üzere pek çok hastalığa karşı koruyucu özellik göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelerde yüksek olan bebek ölüm oranını düşürmektedir (71). Bahl ve ark. (72) Afrika, Asya ve Latin Amerika'dan 9400 çocuk üzerinde yaptıkları değerlendirmede; anne sütü alamayan çocukların anne sütü alan bebeklere göre ölüm riskinin on; hastaneye yatış riskinin ise üç kat daha yüksek olduğunu bulmuştur. Edmond ve ark.'nın (73) yaptığı çalışmada ise 14.403 yenidoğan değerlendirilmiş; mama ile beslenenlerin mortalite riski dört kat artmakta iken, anne sütüne başlama zamanı geciktikçe mortalite riskinin 2.4 kata kadar arttığı bulunmuştur. Birçok çalışmada anne sütünün yenidoğanı menenjit ve sepsise karşı koruduğu gösterilmiştir (55). Mohandes ve ark. (74) yenidoğan yoğun bakım ünitesinde tedavi görmekte olan 273 bebeğin ilk ayında sepsis insidansını incelemiştir. Doğumdan sonraki ilk on günde sepsis, anne sütü alan bebeklerde % 5, mama ile beslenen bebeklerde % 10; 11-24. gün arasında anne sütü alan bebeklerde % 9, mama ile beslenen bebeklerde % 20; 25-38. gün arasında ise anne sütü ile beslenen bebeklerde görülmez iken mama ile beslenenlerde % 15 olarak bulunmuştur. Anne sütü kullanımı ile sepsis riskinin azaldığı görülmüştür. Ashraf ve ark. (75) 42 sepsisli bebek üzerinde yaptıkları araştırmada benzer sonuçlar bulmuşlardır. Bebek ölümlerinin önemli sebeplerinden biri ishaldir. Anne sütü, içeriğinde bulundurduğu sIgA ve diğer yapılar sayesinde ishal mortalite ve morbiditesini düşürmektedir. Yapılan çalışmalarda anne sütü alanlarda almayanlara göre ishal görülme sıklığı düşük olup, anne sütü kullanım süresi uzadıkça ishal atağı sayısı da azalmaktadır (76,

77). Chantry ark. (78) 2277 bebeğin takipleri sonucunda, ilk altı ay anne sütü kullanımının bebekleri pnomoni ve tekrarlayan AOM'dan koruduğunu bulmuşlardır. Benzer sonuçlar, birçok araştırmacı tarafından da saptanmıştır (79, 80, 81). Anne sütündeki sIgA ve oligosakkaritler sistemik dolaşıma katılarak idrar yoluna geçer ve bebeği idrar yolu enfeksiyonlarına (özellikle *E. coli*) karşı korur. Yapılan vaka kontrollü çalışmalarda anne sütü aldığı süre boyunca idrar yolu enfeksiyonu riskinin düştüğü görülmüştür (5).

Yapılan geniş çaplı ve çok merkezli çalışmalarda anne sütü ile beslenmenin uzun dönemde tümör, allerjik hastalıklar, insülininden bağımsız diyabetes mellitus (DM), Crohn ve ülseratif kolit gibi hastalıklardan koruduğu gösterilmiştir (70).

Zamanında doğan bebeklerin enfeksiyonlardan korunmasında ve bağışıklık sisteminin gelişiminde önemli bir yere sahip olan anne sütü, prematüre bebekler için tahmin edileceği gibi daha da önemli bir yere sahiptir. Bu bebeklerde zamanından önce doğum olması nedeni ile anneden geçen IgG yapısındaki antikorlar daha azdır ve deri, solunum sistemi, sindirim sistemi daha az gelişmiştir. Sindirim sisteminin gelişmesi prenatal yirminci haftadan başlayarak üçüncü trimestrin sonuna kadar devam eder. Eğer doğum zamanından önce olursa mide asidi ve koruyucu mukoza kalınlığı düşük olur. Bu bariyerlerin zayıf olması sebebi ile bağırsaklardan kana patojen mikroorganizmaların geçişi kolaylaşır. Prematüre bebeklerde sepsis, NEK ve menenjit önemli mortalite ve morbilite nedenleridir. Tüm bunlara karşı korunmada anne sütü en iyi yardımcıdır (5).

Furman ve ark. (82) 86 çok düşük doğum ağırlıklı bebekte yaptıkları çalışmada 50 mL/kg/gün'den fazla anne sütü alan bebeklerde sepsis görülme oranının düşük olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde 212 çok düşük doğum ağırlıklı bebekte yapılan çalışmada, anne sütü ile beslenen bebeklerin enfeksiyon görülme yüzdesi % 29,3; mama ile beslenenlerin ki ise % 47,2 olarak bulunmuştur. Her iki grupta en sık enfeksiyon yapan *Staphylococcus epidermidis* olup, mama ile beslenen bebeklerin menenjit ve sepsis görülme oranı, anne sütü alanlara göre yüksek saptanmıştır (83). Doğum ağırlıkları 1000 gram ve gebelik haftaları 28 haftadan küçük bebeklerde yapılan bir çalışmada ise, erken dönemde anne sütü ile tamamen enteral beslenen bebeklerde geç başlangıçlı sepsis gelişimi daha az bulunmuştur (84).

Anne sütünün patojen mikroorganizmaları engelleyici birden fazla özelliği olduğunu bilmekteyiz. İçerdiği maddeler sayesinde bir yandan yararlı bağırsak florası oluştururken, bir yandan da bağırsak epitelinin gelişmesini sağlar. Bunlara ek olarak içerdiği antiinflamatuvar özelliği ile epitel hasarını engeller ve serbest oksijen radikallerinden korur. Tüm bu özellikleri sayesinde yenidoğan bebeklerde gerek klinik, gerekse de hayvan deneyleri ile NEK gelişimini azalttığı kanıtlanmıştır. Dört ayrı meta-analiz çalışmasında anne sütü kullanımının klinik NEK gelişimini üç kat ve kanıtlanmış NEK gelişimini ise dört kat azalttığı bulunmuştur (85). Lucas ve ark. 926 prematüre bebeğin çalışmaya alındığı çok merkezli araştırmalarında, anne sütünün NEK'e karşı koruduğunu, tüm vakalarda NEK insidansını 2.5 kat; cerrahi patoloji veya postmortem değerlendirmede ispatlanan vakalarda ise 6.5 kat düşürdüğünü bulmuşlardır (86). Schanler ve ark.

yaptıkları iki farklı araştırmada, günde 50 mL/kg'dan fazla anne sütü alan çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK, geç sepsis insidansı, geç sepsis atak sayısı ve hastanede yatış süresinin azaldığını göstermişlerdir (87,88).

2.7. Anne Sütü Hücrelerinin Özellikleri

Anne sütünün hücre içeriği birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. İlk olarak 1844 yılında fotoğrafçı ve aynı zamanda biyolog olan Alexander Donne tarafından incelenerek fotoğrafları çekilmiştir. Yüz yıl sonra Goldman ve Smith kolostrumu santrüfj ederek elde ettikleri materyaldeki lökositleri değerlendirmişlerdir (89). Bundan sonra anne sütü hücreleri giderek daha fazla araştırılmaya başlanmıştır. Anne sütünün mililitresinde ortalama olarak 2 ile 4 milyon hücre bulunmaktadır (2, 89, 90). Anne sütünün hücre içeriği laktasyon aşamaları boyunca değişkendir. Hücre sayısı ölçümleri kolostrumda oldukça yüksektir. İlk haftanın sonunda olgun sütteki hücre sayısı mililitrede 100.000'in altına düşer (6, 91, 92). Anne sütündeki hücre sayısı gebelik haftasına göre de değişmektedir. Erken doğum yapan annelerin kolostrumunda, zamanında doğum yapan annenin kolostrumuna göre daha fazla hücre bulunduğu öne sürülmektedir (10, 93). Başka bir çalışmada ise erken doğum yapan annenin sütündeki lökosit sayısı daha az bulunmuş fakat istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (94). Na ve ark.'nın (11) yaptığı çalışmada ise, alkol tüketimi ile sütteki lökosit ve nötrofil sayısının arttığı gösterilmiştir. Çoğu çalışmada anne sütündeki temel

hücrenin makrofaj olduğu belirtilmiştir. Makrofajlara ek olarak nötrofiller, lenfositler ve epitel hücreleri de bulunmaktadır (2, 7, 89, 92)

Pek çok çalışmada anne sütündeki makrofaj oranı laktasyon basamaklarına göre değişmeksizin % 60-90 arasında bulunmuştur (8, 89). Süt makrofajları monosit belirteci olan CD11c (Leu-M5), CD14 (Leu-M3) içermelerine rağmen fenotipik olarak doku makrofajlarına benzerler. Aynı zamanda membran yüzeylerinde HLA DR Class 2 doku antijenlerini bulundurlar (94). Süt makrofajları sitoplazmalarında, lizozim, sIgA granülleri ve yağ globülleri içerir (89, 91). Süt makrofajlarının, kanda bulunan makrofajlara göre hareket kabiliyetlerinin daha yüksek, göç edebilme ve kemotaksis aktivitelerinin ise daha düşük olduğu görülmüştür (94). 24 anne sütü örneği ile yapılan bir çalışmada, prematüre bebeklerin anne sütlerindeki makrofajların daha yüksek fagositik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (95) . Bazı araştırmacılar anne sütündeki makrofajları patojen ajanlara karşı ilk savunma olarak düşünürler. Anne sütündeki makrofajlar aktif fagositik hücrelerdir (96). Üzerlerinde bulunan IgA reseptörlerinin uyarılması sonucu oksidatif patlama meydana gelir ve ürettikleri oksijen radikalleri ile patojen ajanları öldürürler (94). Süt makrofajlarının sitoplazmaların da bulunan IgA, süt IgA içeriğinin % 10'unu oluşturmaktadır. Makrofajlar içerdikleri IgA'ları uyaran olmadan veya fagositozdan sonra ortama bırakırlar (97). Süt makrofajlarının antijen sunma kapasiteleri de bulunmaktadır ve bu sayede T hücrelerinin çoğalması sağlanır. Çalışmalarda, süt makrofajlarının % 20'sinin dış ortamda da antijen sunabildiğini gösterilmiştir (94). Süt makrofajları *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı fagositik etkiye

sahiptir. *Herpes simpleks tip 1* virüsü ile enfekte olan hücrelere antikor-bağımlı hücre-aracılı sitotoksite uygularlar. RSV ile karşılaştıkları zaman proinflamatuvar sitokinleri IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretirler (2). Makrofajlar kompleman, sitokin, lizozim, laktoferin, Epitelyal Büyüme Faktörü, lenfosit baskılayıcı faktörün biyosentez ve salınmasında görevlidirler (91).

Makrofajların dışındaki fagositik hücreler nötrofillerdir. Bazı araştırmalarda, anne sütünde nötrofillerin % 8-28 oranında bildirilmiştir, anne sütünde %40 ile 60 arasında nötrofil bulunduğunu bildiren çalışmalar da vardır (89, 92). Anne sütü, kolostrumdan olgun süt haline geçtikçe nötrofil sayısı giderek azalır (98). Kanda bulunan nötrofillerin görevi; inflamasyon olan bölgeye gidip fagositoz yapmak, salgıladığı enzim ve oksijen radikalleri ile zararlı mikroorganizmaları öldürmektir. Fakat anne sütündeki nötrofillerin fagositik aktivitelerinin ve diğer özelliklerinin kanda bulunan nötrofillere göre çok düşük olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (98, 99, 100). Bu durumun membran özelliklerinin değişmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (100). Aktive nötrofillerden farklı olarak, membranlarında CD11b yüksek iken; düşük oranda L-selektin bulunduğu gösterilmiştir (94). Bu hücrelerin kolostrumdaki görevleri tam olarak belirlenememiştir. Bazı araştırmacılar anne sütündeki nötrofillerin, yenidoğanın savunmasına katkıda bulunmaktan çok annenin memesinin korunmasında görev aldığını düşünmektedir (14). Nötrofillerin laktoferrin ve diğer önemli kemokinlerin salınmasına yol açtığı da bilinmektedir (94).

Anne sütündeki lenfosit oranı % 4 ile % 27 arasında değişmektedir (9, 90, 101). Lenfositlerin yaklaşık olarak % 80'ini T lenfositler oluşturur. Anne

sütündeki T lenfositler CD4 yardımcı (helper) ve CD8 sitotoksik/baskılayıcı (cytotoxic/suppressor) hücrelerinin ikisini birden içermektedir (9, 101). Fenotipik olarak kan hücrelerine benzemekle birlikte bazı farklılıkları vardır. Anne sütünde bulunan CD4 ve CD8 hücrelerinin çoğu, CD45'in immunolojik hafıza ilişkili bir izoformu olan CD45RO'yu bulundurlar (9) Buna ek olarak anne sütündeki T hücrelerinde aktivasyon belirteci olan CD25 ve HLA DR kan lenfositlerine göre daha yüksek oranda bulunmaktadır (2). Pek çok araştırmacı tarafından anne sütündeki lenfositlere farklı mitojen ve antijenler verilmiş ve yanıtları kan lenfositleri ile karşılaştırılmıştır (2). Michael ve ark., yaptıkları çalışmada, anne sütü lenfositlerinin *E. coli*'nin K1 antijenine çoğalarak yanıt verdiklerini, kan lenfositlerinin ise yanıt vermediklerini göstermişlerdir. Ayrıca bunun tam olarak ise *Candida* antijenine karşı anne sütü yanıt vermedikleri ama kan lenfositlerinin çoğalarak yanıt verdikleri gösterilmiştir (90). Bunun yanında T hücre reseptörlerinin (TCR) $\gamma\delta$ alt grubu , anne sütündeki T hücrelerinde kandakilere göre daha fazla bulunmuştur. $\gamma\delta$ TCR bulunan T hücreleri baskın olarak bağırsak bölgesinde bulunmaktadır (102). Bütün bunlar anne sütünde bulunan lenfosit grubunun kandaki lenfositlerden farklı hücre klonundan geldiğini göstermektedir (2, 103).

Richie ve ark.'nın (104) çalışmasında postpartum annelerin süt lenfosit, kan lenfosit aktiviteleri ile postpartum olmayan sağlıklı kadınların kan lenfosit aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, anne sütündeki T lenfositler +4° ve 37° C' de koyun eritrositleri ile yüksek oranda rozet formu oluştururken, diğer iki gruptaki kan T lenfositlerinin rozet formu oluşturma oranlarının düşük olduğu

görülmüştür. Bu da anne sütündeki T hücrelerinin immatür yada aktif olduğunun göstergesi olarak kabul edilmiştir. Aynı araştırmacının yaptığı başka bir araştırmada, anne sütü lenfositlerinde matür T hücrelerinde bulunan CD3 ve immatür T hücrelerinde bulunan CD6 belirteçlerine bakılmış ve anne sütü T hücrelerinde CD3 belirteci saptanırken, CD6 belirteci çok düşük oranda gösterilmiştir. Bu da anne sütündeki T hücrelerin aktif ve matür olduğunu göstermektedir (105). Anne sütündeki T hücrelerinin değişik bakteri ve viral ajanlara karşı yanıtları oldukça iyidir ve INF- γ üretirler (94).

Jain ve ark. (106) anne sütü lökositlerini radyonüklid madde ile işaretleyerek yenidoğan maymunlara vermişlerdir. İşlemden 72 saat sonra kemik iliği, karaciğer ve dalak dokusunda radyoaktivitenin arttığı görülmüştür. Bu durum lökositlerin sindirim sistemini geçerek dolaşıma katıldığının göstergesi olarak yorumlanmıştır. Ayrıca insanlarda, anne T hücrelerinin tüberkülin yanıtının, anne sütü ile beslenen bebeklere geçtiği gözlenmiştir (107). Böylece anneden gelen aktive T hücrelerinin tam olgunlaşmamış olan yenidoğanın T hücrelerinin yeteneklerini arttırıp onların olgunlaşmasını sağladığı savunulmaktadır (94).

Anne sütünün toplam lenfosit sayısının % 4-6'sını B lenfositler oluşturur. Sütte bulunan B lenfositlerin periferik kandan farklı olarak yüksek oranda adezyon molekülü taşıdıkları ve aktive hücreler (CD38+) olduğu gösterilmiştir (108). Kolostrum bulunan B lenfositler antikor sentezi yaparak *E. coli*'yi doğrudan etkilerler (109) Hayvan çalışmalarında meme dokusuna B lenfositlerin mukoza ile MALT'tan göç ettiği bulunmuştur (2, 94)

Anne sütünde miktarı tam olarak bilinmese de çok az oranda doğal NK bulunur (94). Sütte bulunan NK hücrelerinin belirli bakterilere ve virüs ile enfekte hücrelere karşı sitotoksik etkisinin, periferik kan hücreleri ile karşılaştırıldığında oldukça az olduğu görülmüştür (2)

Anne sütündeki bağışıklık sistemi hücrelerinin, çoğu işlevleri bilinmekle birlikte, bebeği lokal ve sistemik olarak nasıl koruduğu tam olarak aydınlatılmış değildir. Süt lökositleri sindirim sistemi boyunca canlı kalabilirler. Değişken pH, sıcaklık ve sindirime dirençlidirler. Bazı araştırmacılar deneysel hayvan modellerinde lökositlerin bağırsak epiteline yapıştığını ve dolaşıma geçtiğini göstermiştir. Ayrıca insan yenidoğan bağırsağı transfer edilen farelerde de süt hücrelerinin bağırsak duvarını aşabildiği görülmüştür (56).

Anne sütünde eozinofiller ve bazofiller çok nadir olarak bulunmaktadır. Bu iki hücre grubunun, özellikle allerjik ve periferik kanda eozinofilisi olan annelerin sütlerinde bulunduğu bilinmektedir (110).

Anne sütünde bağışıklık hücreleri ile birlikte epitel hücreleri de bulunmaktadır. Sütte bulunan başlıca epitel hücresi laktositlerdir ve çok az miktarda da duktal hücreler bulunur. Anne sütündeki laktositlerin bebeğe faydaları tam olarak bilinmese de işlevsel olarak aktif oldukları gösterilmiştir. Son yıllarda anne sütünde bulunduğu gösterilen diğer bir hücre grubu ise kök hücrelerdir. Bu hücrelerin doku yenilenmesine ve meme bezinin biyolojisi üzerine etkileri ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (111).

2.8. İnsan Lökosit Antijenlerinin Sınıflandırılması

İnsan lökosit yüzey antijen sınıflaması ilk olarak 1985 yılında Paris de uluslararası bir toplantı düzenlenerek yapılmış ve ‘clusters of differentiation’ (CD) terminoloji kullanılmaya başlanmıştır. CD numaralandırma işlemi için belirlenmiş monoklonal antikorlar kullanılır. Bu antikorların kümelenmelerini ölçmek için üç ana teknik kullanılır. Bunlar immunflorasan, biyokimyasal analiz ve immunohistolojik yöntemidir. Tanımlanmış yetmiş sekiz CD grubu vardır. Başlıcaları Tablo 1’de gösterilmiştir (112).

Tablo 1. CD Grupları

CD No	Hücre dağılımı
CD1	Kortikal timositler, langerhans hücreleri
CD2	Aktive T lenfosit
CD3	T lenfosit
CD4	Yardımcı T lenfosit
CD8	Sitotoksik T lenfosit
CD14	Monosit
CD16	Doğal öldürücü hücre
CD19	B lenfosit
CD45	Ortak lökoist antijeni
CD45RO	İmmun hafıza ile ilişkili T lenfositlerde
CD56	Doğal öldürücü hücre

2.9 Akım sitometrisi

Akım sitometrisindeki analizler için hücrelerin sıvı içerisinde süspansiyon halinde bulunması gerektiğinden kan hücreleri, akım sitometride en çok incelenen hücreler olmuşlardır. Kan dışındaki örneklerde çalışıldığında hücre süspansiyonu hazırlanarak akım sitometrik analizlerde kullanılmaktadır. Hücreler, yüzeylerindeki veya hücre içindeki proteinlere özgün antikorlarla inkübe edilerek

antijenlere bağlanmaları sağlanır. Her spesifik antikor FITC, PE, PerCP gibi floresan boyalarla işaretlenmiştir. Böylece belirli antijene sahip hücrelerin lazer ışını ile karşılaştığında verdiği floresan sinyalleri değerlendirilerek o hücrelerin hangi spesifik antijeni taşıdığı belirlenebilir. Akım sitometrik incelemede farklı işaretlenen hücreler basınç altında “flow cell” denilen kısımdan geçerler ve buradan lazer ışınına maruz kalırlar. Hücrelerin üzerine bağlanan monoklonal antikorlar lazer ışınını emerek ederek üzerlerindeki florokromun özelliğine göre farklı dalga boylarında ışın saçarlar, her hücreden saçılan ışınlar çoklu dedektörler yardımı ile her hücre için ayrı ayrı belirlenir ve bu bilgiler bilgisayar ortamına aktarılır. Florokromların saçtığı ışınlar yanı sıra, hücreye çarpıp ileri doğru saçılan ve hücrenin büyüklüğü ile ilgili olan lazer ışınları (FSC) hücreden 90 derece açıyla yana saçılan ve hücrenin granülaritesi ve kompleks yapısı ile ilgili olan ışınlarla (SSC) ilgili veriler de aktarılmalıdır. Her hücre ile ilgili depolanan tüm bilgiler, analiz için hazırlanmış programlar yardımı birçok parametreyi bir arada değerlendirecek şekilde analiz eder (113).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, 1.10.2009 ve 31.3.2010 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde doğum yapan anneler ve bebekleri dahil edilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce etik kurul onayı (17 11 2008- 377 sayılı karar) alınarak; annelere sözlü ve yazılı olarak çalışma hakkında bilgi verilip, imza ile onam alınmıştır. Çalışmamız, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (proje numarası 01/2009-18) desteklenmiştir.

Çalışmaya alınan annelerin yaşı, vücut kitle indeksi (VKİ), doğum sayısı, gebelik haftası, doğum şekli, çoğul gebelik varlığı, gebelik döneminde sigara, alkol, ilaç kullanımları ve hastalık geçirme öyküleri prenatal ve natal risk faktörü kaydedilmiştir. Otuzyedinci gebelik haftasının öncesinde olan doğumlar prematüre, otuzyedinci ve üzerinde gebelik haftasında olan doğumlar zamanında doğum olarak sınıflandırılmıştır. Anne sütü örnekleri; prematüre doğum yapmış 28 ve zamanında doğum yapmış 46 olmak üzere toplam 74 anneden alınmıştır.

Çalışmaya katılan annelerin bebeklerinin, hastaneye yatması, 2500 g'dan küçük olması, enfeksiyon geçirmesi, NEK olması, antibiyotik kullanımı ve süresi klinik risk faktörü olarak kaydedildi. Çoğul gebeliklerde ise bebeklerin en az birinde bu durumların varlığı klinik risk faktörü olarak belirlenmiştir.

Annelerin süt örnekleri, doğumdan sonraki ilk 5 gün içinde, sabah 9:00-11:00 saatleri arasında elektrikli süt sağma pompası (Medela™) ile 10 dakika sağılarak ~ 10 ml olacak şekilde polipropilen tüplere alınmıştır. Tüplere alınan süt örnekleri, hemen ikiye ayrılmıştır. Birinci örnekten, toplam hücre sayısı ve yayma,

ikinci örnekten flow sitometrik analiz yapıldı. mastit öyküsü olan annelerin kolostrum örnekleri çalışma dışında bırakılmıştır.

3.1.Toplam Hücre Sayısı Ölçümü

Toplam hücre sayımı için ayrılan süt örneği 400 g 'de 20 dakika santrüfjü edilmiştir. Santrüfjü sonrasında üstte kalan yağ tabakası ayrılmıştır. Yağ tabakasının ayrılmasından sonra kalan süt örneğinde toplam hücre sayısı "Gazi Üniversitesi Hastanesi Hemotoloji Laboratuvarı"nda otomatik hücre sayıcısı (Coulter LH 780 Analyzer BD) ile sayılmıştır. Aynı süt örneğinden lama yayma yapılarak Wright boyası ile boyanmıştır (Şekil 2).

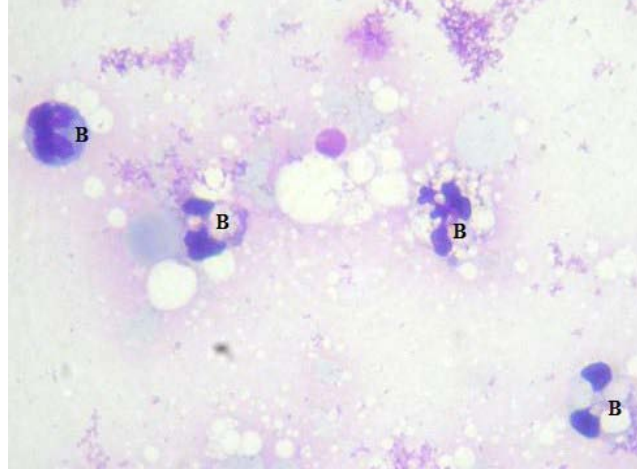
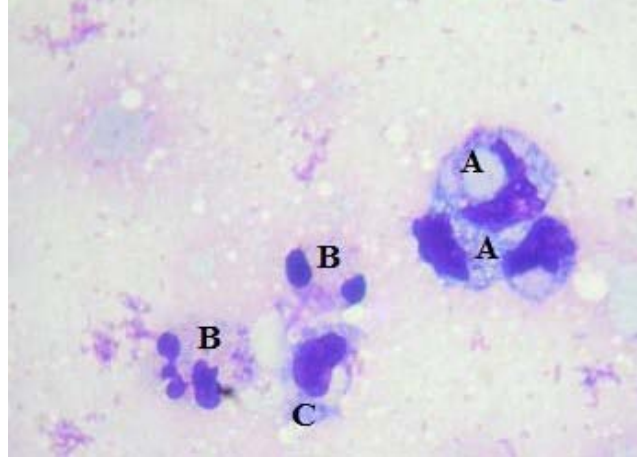
3.2. Akım Sitometrik İnceleme

Akım sitometrik inceleme için ayrılan süt örnekleri "Gazi Üniversitesi Hastanesi Erişkin Hemotoloji Flow Sitometri Laboratuvarı"nda +4 °C'de 400 g 'de 20 dakika santrüfjü edildi. Santrüfjü sonrasında üstte kalan yağ tabası ayrılmıştır. Kalan canlı hücre içeriği, Hank's Balanced Salt solüsyonu karıştırıldı +4 °C'de 400 g ile 15 dakika santrifjü edilerek yıkanmıştır. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra hücre yıkama tamponu (BD Cell Wash Buffer) hücrelerin konsantrasyonu 1×10^7 olacak şekilde eklenmiştir. Konsantre edilmiş hücre solüsyonundan 100 µl alınarak, üzerine çalışacak antikorlardan (CD45, CD14, CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19, CD45RO) 20 µl konulmuştur. Antikor işaretli hücreler

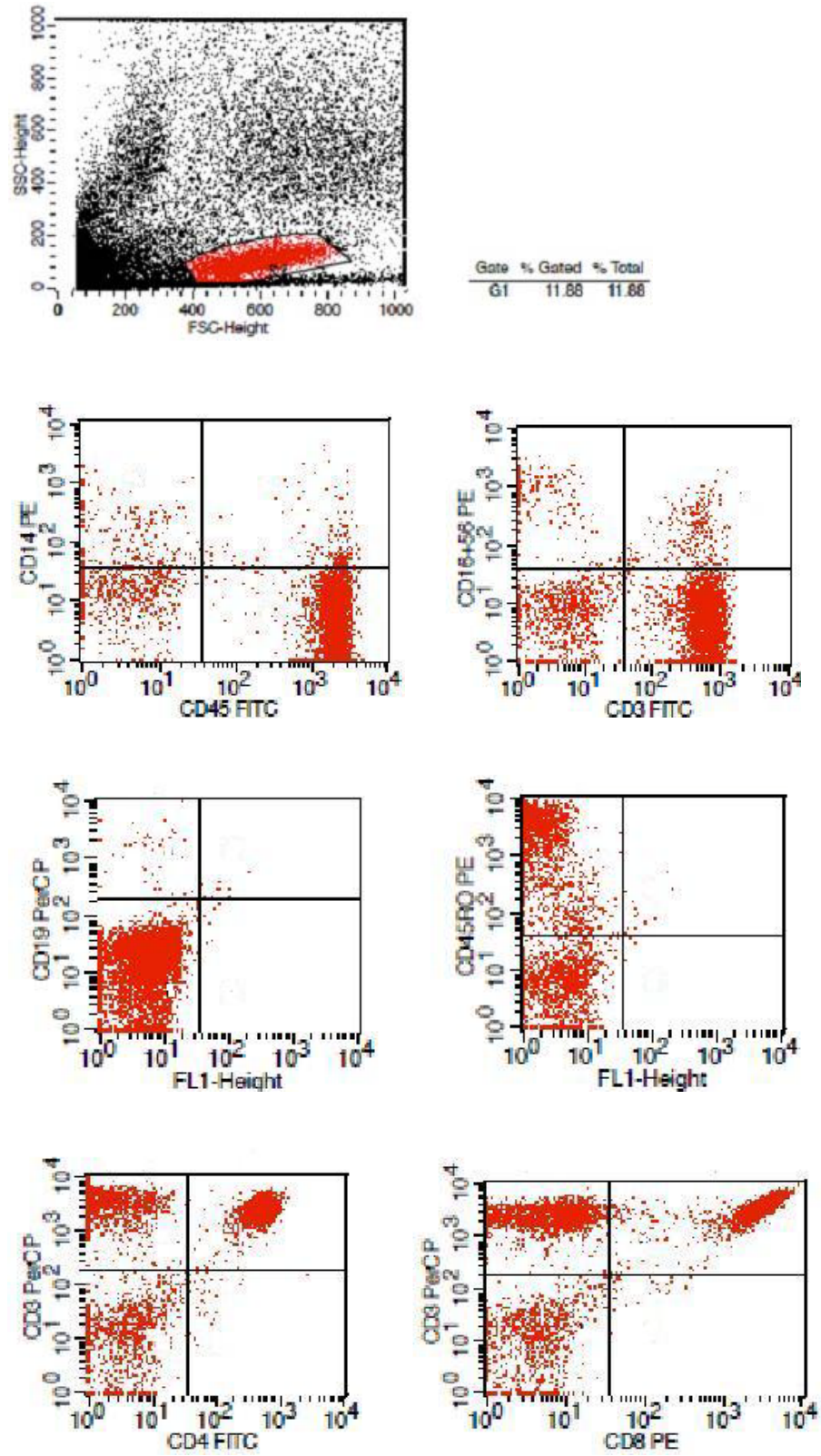
karanlıkta 15 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitince hücreler çalkalanarak homojen hale gelmesi sağlandıktan sonra en az 10.000 hücre sayılarak üç renkli akım sitometri cihazında (FACSCalibur Becton Dickinson TM Flow Cytometer) çalışıldı ve BD Cellquestpro software ile analiz edildi (Şekil 3).

3.3. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler SPSS 12 paket programı yardımı ile değerlendirilmiştir. Ortanca değerler farkının önemliliği; bağımsız grup sayısı iki olduğunda Mann Whitney U testiyle, ikiden fazla grup arasındaki farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle değerlendirildi. Değişkenler arasındaki ilişkiye Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı farklılığın olmadığı belirtilmiştir



Şekil 2. Wright ile boyanan kolostrum yaymasında ışık mikroskobu ile x100'lük büyütmede makrofajlar (A), nötrofiller (B) ve lenfositelerin (C) görünümü



Şekil 3. Kolostrum örneğinin akım sitometrik yöntemdeki histogramı

4. BULGULAR

Bu çalışmaya, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde doğum yapan, doğum sonrası ilk 5 günü içinde olan toplam 74 anne katılmıştır. Annelerin yaşları 19 - 41 arasında olup, ortalama yaşları $29,3 \pm 4,5$ /yıl bulunmuştur.

Annelerin 31'i primipar iken 43'ü multipardı, 64'ü sezaryen (C/S) ile, 10'u normal spontan vajinal yolla (NSVY) doğum yapmıştı. Annelerin 15'inde çoğul gebelik saptandı, 7'inde gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) veya DM, 2'inde preeklampsi ve 6'ında tiroid hastalığı vardı. Dört anne gebeliklerinin son üç ayı içinde enfeksiyon geçirmişti. Annelerden 20'si doğumdan önce, demir ve vitamin haricinde, bir ilaç (antibiyotik, düşük molekül ağırlıklı heparin, aspirin, antiepileptik, magnezyum, steroid, insülin vb.) kullanmıştı. İlaç kullananlardan 7'i antibiyotik tedavisi almıştı ve bunların 5'inde erken membran rüptürü (EMR) sebebi ile antibiyotik tedavisi uygulanmıştı. Dört anne ise gebelikte sigara kullandığını belirtmişti.

Çalışmaya katılan annelerin gebelik süreleri, 29 hafta 6 gün ile 41 hafta arasında değişmektedir. Gebelik haftası 37'nin altında doğum yapan 28 annenin gebelik haftası ortalaması $34,6 \pm 2,0$ / hafta idi. Gebelik haftası 37 ve üstünde doğum yapan 46 annenin gebelik haftası ortalama $39,2 \pm 1,0$ /hafta idi. Anne sütleri ortalama olarak laktasyonun 49. saatinde alınmıştı. Otuzdört annenin bebeği yenidoğan servisimize herhangi bir sebeple yatırılarak tetkik ve tedavi edildi.

74 kolostrum örneğinin lökosit sayı ortalaması 7830 ± 6698 / μ l idi. Wright ile boyanan anne sütü yaymalarının ışık mikroskopu ile değerlendirilmesinde % $38,0 \pm 18,3$ makrofaj, % $49,0 \pm 18,4$ nötrofil, $12,0 \pm 10,4$ lökosit saptandı. Kolostrum

lökositlerinin akım sitometrik yöntem ile saptanan yüzey belirteçlerinin yüzdeleri; CD14 $23,7\pm22,5$; CD3 $20,4\pm16,2$; CD19 $2,4\pm2,0$; CD4 ortalama $11,3\pm8,8$; CD8 $10,6\pm8,8$; CD16-56 $4,8\pm2,9$ idi. CD4/CD8 oranının ortalaması $1,3\pm0,8$ bulundu (Tablo 2, Tablo 3).

Tablo2. Kolostrum lökositlerinin akım sitometrik yöntem ile saptanan yüzey belirteçlerinin % dağılımı (n=74)

	Yüzde$\pm$SD
CD14	23,70 $\pm$ 22,5 (3-97)
CD3	20,40 $\pm$ 16,2 (1-76,9)
CD4	11,30 $\pm$ 8,8 (0-38,1)
CD8	10,60 $\pm$ 8,8 (0,3-36,7)
CD19	2,40 $\pm$ 2 (0,2-9,7)
CD16-56	4,80 $\pm$ 2,9 (0,4-13,2)
CD45RO	24,90 $\pm$ 17 (2,2-71,3)
CD4/CD8	1,30 $\pm$ 0,8 (0-6,8)

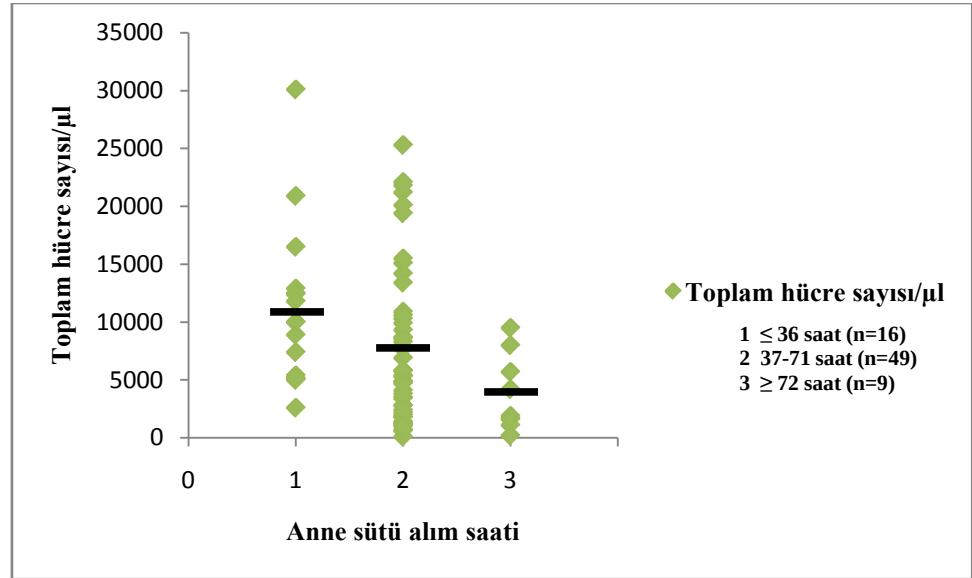
SD, Standart deviasyon

Tablo 3. Kolostrumdaki lökosit sayı ve yüzdeleri (n=74)

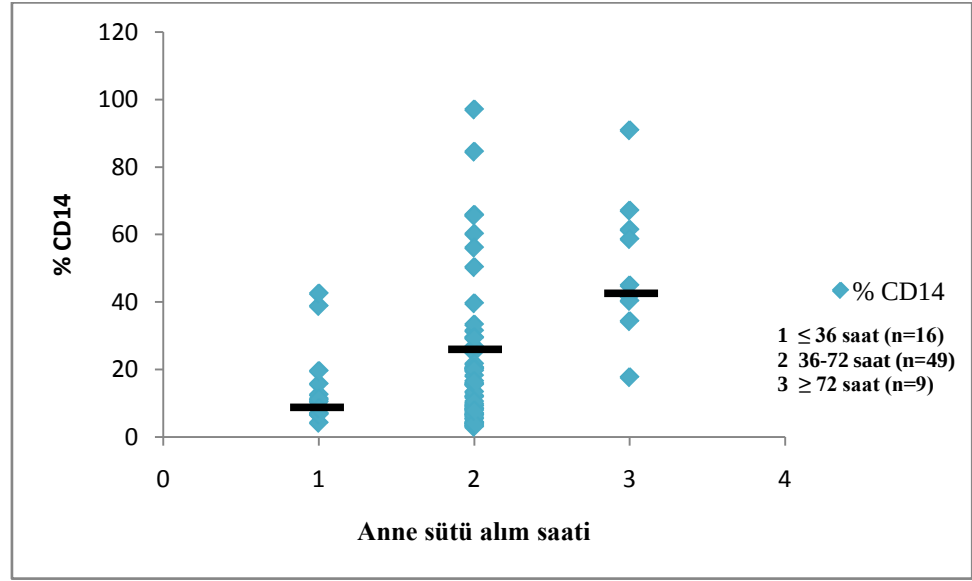
	Miktar$\pm$SD
Toplam hücre sayısı/μl	7830 $\pm$ 6698 (100-30100)
Makrofaj (%)	38,3 $\pm$ 18,3 (4-78)
Nötrofil (%)	49,3 $\pm$ 18,4 (15-92)
Lenfosit (%)	12 $\pm$ 10,4 (2-58)

SD, Standart deviasyon

Çalışmamızda anne sütünün alım saati ortalaması $49,6 \pm 19,1$ saat olup alım saatine göre 36. saat ve altında, 37-71. saatler arasında ve 72. saat ve üstünde olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Anne sütünün alım saati ilk 36 saat içinde olan grubun toplam hücre sayısı diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (şekil 4). CD14 yüzdesi ise alım saati 72 saat ve üstünde olan grup da, diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$) (şekil 5) Gruplar arasında sütte çalışılan diğer parametreler arasında istatistiksel olarak fark yoktur.

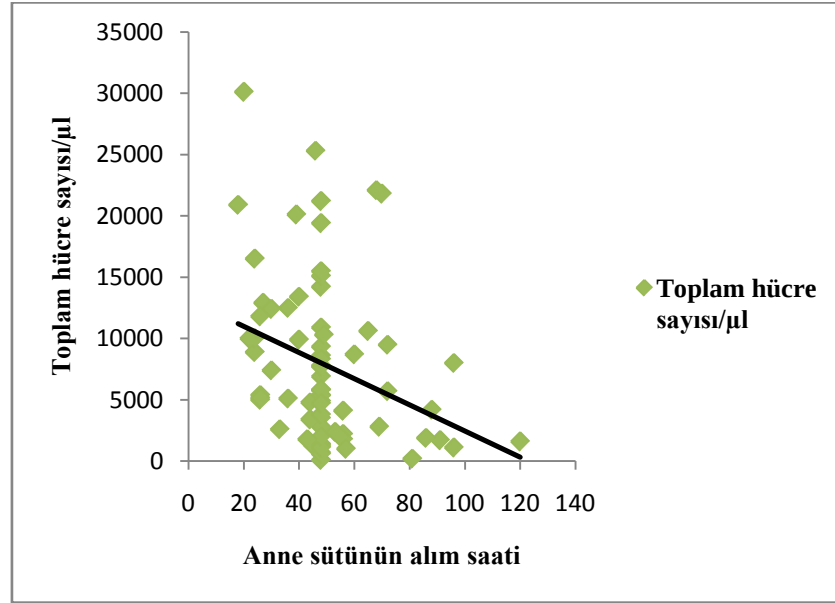


Şekil 4. Kolostrum hücre sayısının alım zamanına göre karşılaştırılması ($p < 0,05$).

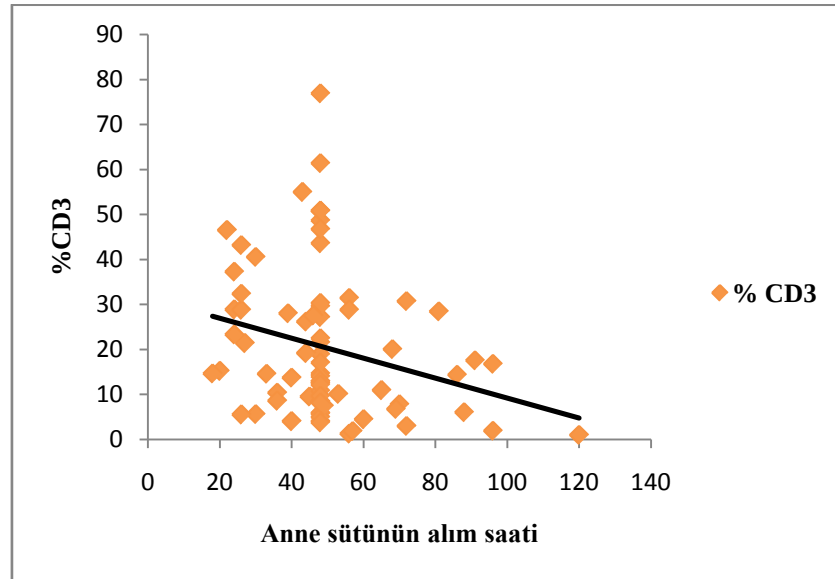


Şekil 5. Kolostrum örneklerinin CD14 yüzdesinin alım zamanına göre karşılaştırılması ($p<0,05$).

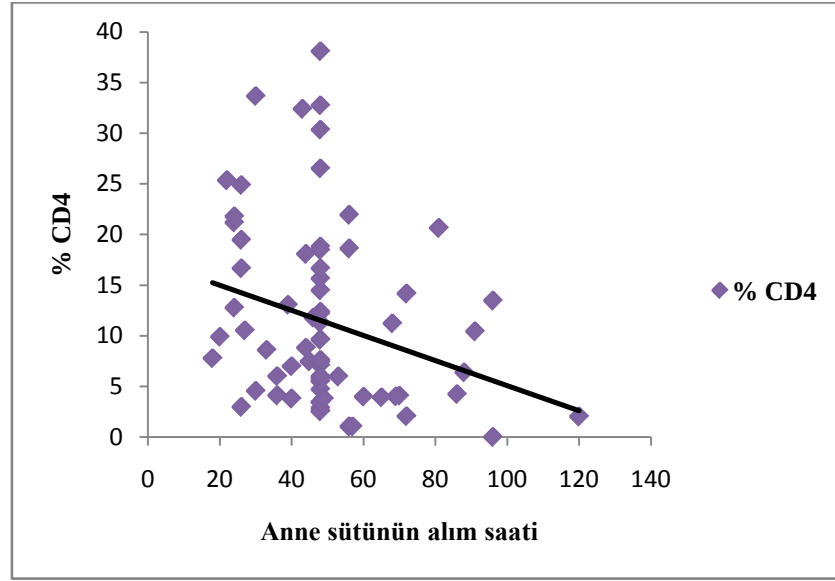
Çalışmamızda anne sütünde çalışılan parametrelerden; CD4, CD3 yüzdesi ve toplam hücre sayısı, alım saatinin artışı ile istatistiksel anlamlı olarak negatif yönde ilişki göstermiştir ($p<0,05$, $r:-0,268$; $p<0,05$, $r:-0,261$; $p<0,05$, $r:-0,305$) (Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8). CD8, CD16-56, CD19 ve CD45RO yüzdeleri ise alım saati ile ilişki göstermemiştir. CD14 yüzdesi ise alım saatinin artışı ile istatistiksel anlamlı olarak pozitif yönde ilişki göstermiştir ($p<0,05$, $r=0,469$) (Şekil 9).



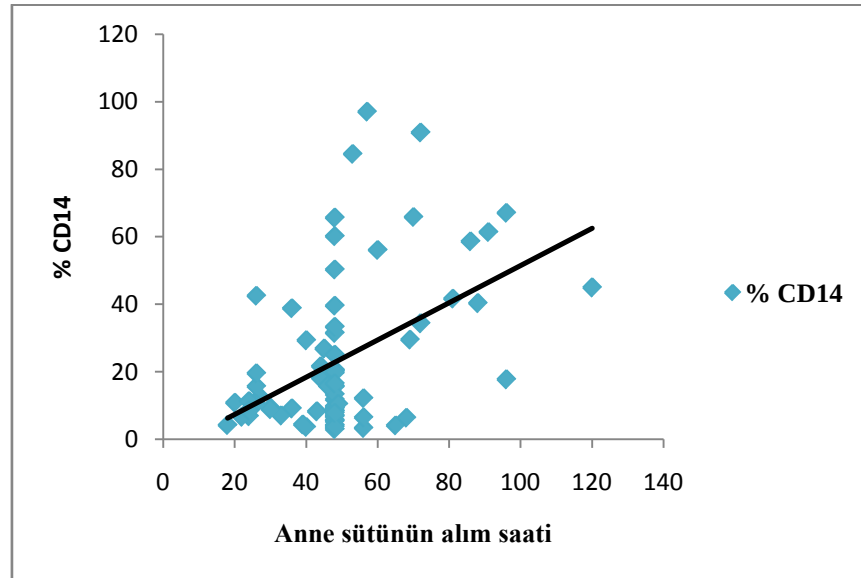
Şekil 6. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen toplam hücre sayısının korelasyon grafiği ($p<0.05$; $r:-0.305$).



Şekil 7. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen CD3 yüzdesinin korelasyon grafiği ($p<0.05$; $r:-0.261$)



Şekil 8. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen CD4 yüzdesinin korelasyon grafiği ($p<0.05$; $r=-0.268$).



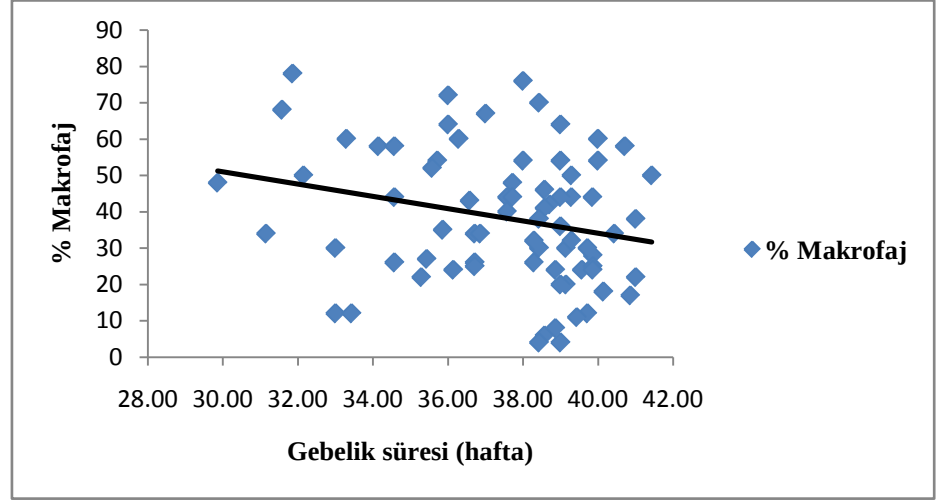
Şekil 9. Anne sütü alım saati ile anne sütünde ölçülen CD14 yüzdesinin korelasyon grafiği ($p<0,05$, $r=0,469$).

Anne sütlerinde çalıştığımız parametreler annelerin zamanında (>37 hafta) ve zamanından önce doğum yapması (≤ 37 hafta) durumuna göre karşılaştırıldıklarında iki grup arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır (Tablo 4). Anne sütü hücre içeriğinden makrofaj yüzdesi gebelik haftasının artışı ile istatistiksel anlamlı olarak negatif yönde ilişki gösterirken($p<0,05$; $r=-0,244$) CD16-56 yüzdesi ile pozitif yönde ilişki bulunmuştur ($p<0,05$, $r=0,264$); diğer çalışılan parametreler gebelik haftasının artması ile ilişki göstermemiştir (Şekil 10, Şekil 11). Erken doğum yapan annelerin kolostrum örnekleri gebelik haftası 33 haftanın altında ve 33-37 hafta arasında olmak üzere ayrıldığında iki grup arasında anne sütü hücre sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdeleri arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

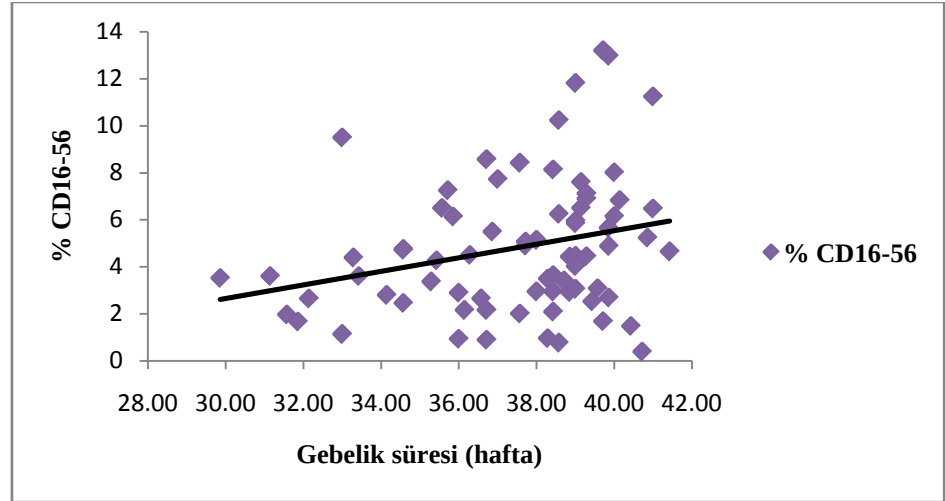
Tablo 4. Prematüre doğum yapan ve yapmayan annelerin kolostrum hücre sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması

	<37 /hafta (n=28)		≥ 37 /hafta (n=46)		p
	Ortalama $\pm$ sd	Ortanca (min-max)	Ortalama $\pm$ sd	Ortanca (min-max)	
CD14 (%)	26,7 $\pm$ 26,3	12,8(3,3-97)	26,7 $\pm$ 26,3	13,7(3-90,9)	>0,05
CD3 (%)	17,4 $\pm$ 15,1	12(1-55)	22,2 $\pm$ 16,7	17(3-76,9)	>0,05
CD4 (%)	9,9 $\pm$ 8,5	7,2(0-32,8)	12,2 $\pm$ 9	9,6(2,-32,8)	>0,05
CD8 (%)	9 $\pm$ 7,5	7(0,3-26,3)	11,5 $\pm$ 9,4	8,2(1,1-36,7)	>0,05
CD19 (%)	2,33 $\pm$ 2,17	1,8(0,2-9,7)	2,37 $\pm$ 1,85	1,8(0,2-9,4)	>0,05
CD16-56 (%)	4 $\pm$ 2,3	3,6(0,9-9,5)	5,3 $\pm$ 3,1	4,9(0,9-9,5)	>0,05
CD45RO (%)	22,8 $\pm$ 16,7	16,7(4,4-77)	26,2 $\pm$ 17,1	19,1(4,4-71)	>0,05
Toplam hücre sayısı/ μ l	7398 $\pm$ 6181	5125(1000- 22100)	8093 $\pm$ 7048	5800(100- 30100)	>0,05
Makrofaj (%)	43,5 $\pm$ 18,6	43,5(12-78)	35,2 $\pm$ 17,5	35(4-76)	>0,05
Nötrofil (%)	44,6 $\pm$ 17,7	44(15-70)	52,2 $\pm$ 18,4	54(16-92)	>0,05
Lenfosit (%)	12 $\pm$ 12,1	8,5(2-16)	11,9 $\pm$ 9,3	10(2-58)	>0,05

SD, Standart deviasyon



Şekil 10. Annenin gebeliğinin sonlanma zamanı ile anne sütünde ölçülen makrofaj yüzdesinin korelasyon grafiği ($p<0,05$; $r=-0,244$).



Şekil 11. Annenin gebeliğinin sonlanma zamanı ile anne sütünde ölçülen CD16-56 yüzdesinin korelasyon grafiği ($p<0,05$, $r=0,264$).

Annenin karakteristik özelliklerinden yaş (25 , 25-34 yaş arası ve 35≤ olmak üzere üç gruba), gebelik sonrasında VKİ kg/m² (<25, 25-30 ve >30 olmak üzere üç gruba) ve doğum şekli (C/S veya NSVY) gruplara ayrıldı. Oluşturulan gruplar arasında anne sütündeki lökosit sayısı, formül ve lökosit yüzey belirteçleri yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 5, Tablo6).

Tablo 5. Farklı VKİ olan anne gruplarının kolostrumdaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması

VKİ kg/m ²	20-24 (n=16)		25-30 (n=44)		>30 n=14		
	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	
CD14(%)	21,3±20	10,3(4,1-65,6)	21,8±20,8	14(3-97)	32,2±29	18,9(3--97)	>0,05
CD3 (%)	22,3±17,6	15 (3,8-55)	20,2±14,1	16,2(1,4-61)	18,8±21,2	10,3(1-76)	>0,05
CD4 (%)	12,7±9,6	9,5 (2,5-32,4)	10,9±7,7	8,7(1,1-33)	11±11,7	6(0-38,1)	>0,05
CD8 (%)	11,8±10,5	6,1 (1,1-35,6)	10,3±7,8	8,4(0,9-36)	10±10,1	6,8(0,3-36)	>0,05
CD19 (%)	2,4±1,6	1,8(0,6-6)	2,33±2,2	1,8(0,2-9,7)	2,2±1,5	2,1(0,5-5,7)	>0,05
CD16-56 (%)	4±2,7	3,6 (0,8-11,8)	5,1±2,8	4,8(1-13,2)	4,9±3,3	4,4(0,4-11)	>0,05
CD45RO (%)	25,9±18	20 (5,1-63,9)	24±15,6	17,8(2,2-65)	26,3±20,6	18,6(4-71)	>0,05
Toplam hücre sayısı/µl	6468±5850	4550(200-19400)	8215±6782	6350(100-25300)	8178±7575	5800(1100-30100)	>0,05
Makrofaj (%)	39,1±17,5	41,5(4-76)	38±18,5	34(4-78)	38,7±19,5	39 (11-88)	>0,05
Nötrofil (%)	49,5±15,9	50 (18-70)	51,1±18,4	53(36-92)	43,4±21	38 (15-84)	>0,05
Lenfosit (%)	9,4±7,9	7(2-28)	10,9±6,2	10(2-30)	18,1±18,8	10 (2-58)	>0,05

VKİ Vucüt Kitle İndeksi, SD Standart Deviasyon

Tablo 6. Sezaryan ve NSVY ile doğum yapmış annelerin kolostrumdaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması

	Sezeryan (n=64)		NSVY (n=10)		P
	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	
CD14 (%)	23,5±21,6	23,5(3-15,6)	24,8±28,8	24,8(3-90,9)	>0,05
CD3 (%)	19,6±15,1	14,5(1-61)	25,1±22,3	20,3(1,2-79)	>0,05
CD4 (%)	11±8,4	7,6(0-33)	13,7±11,6	9,7(1,1-38)	>0,05
CD8 (%)	10,5±8,5	7,8(0,3-36,2)	11,3±10,9	7,7(0,9-36)	>0,05
CD19 (%)	2,48±2,05	1,9(0,2-9,7)	1,55±1,03	1,2(0,7-4)	>0,05
CD16-56 (%)	4,6±27	4,4(0,4-13,2)	5,8±4	4,6(1,7-13)	>0,05
CD45RO (%)	24,4±16,7	17,8(4-65,2)	28±21,2	19,2(2,2-71)	>0,05
Toplam hücre sayısı/µl	7487±6771	5550(100-31100)	10030±6061	10700(1000-20900)	>0,05
Makrofaj (%)	38,5±17,4	38(4-76)	37,6±24,2	33(4-78)	>0,05
Nötrofil (%)	49,4±17,4	51(15-86)	49±25,2	45(20-92)	>0,05
Lenfosit (%)	11,8±9,2	10(2-58)	13,4±16,5	9(2-58)	>0,05

NSVY Normal Spontan Vajinal Yol, SD Standart Deviasyon

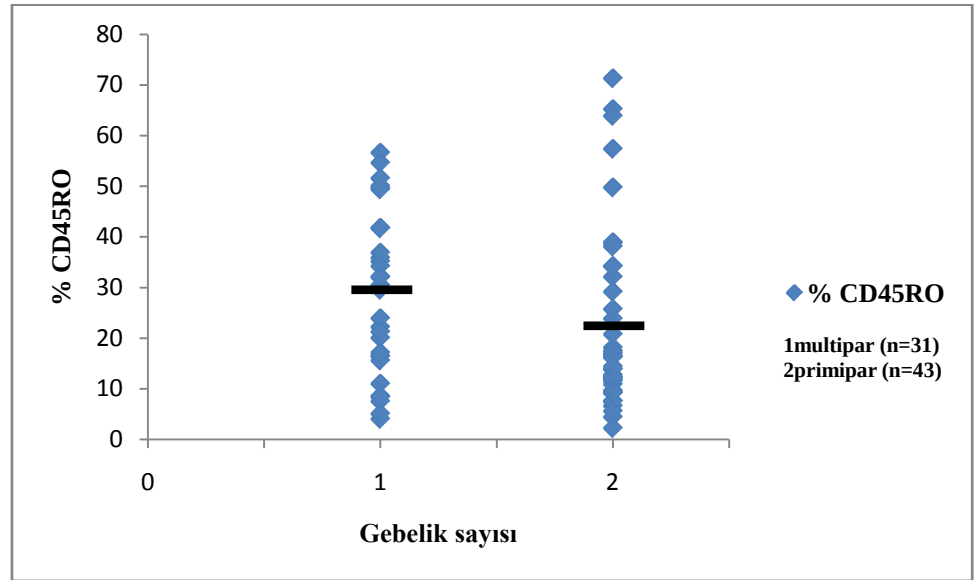
Çalışmamızda, çoğul gebelik olan ve olmayan annelerin kolostrumun örneklerinde lökosit sayısı, formül ve lökosit yüzey belirteç yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Gebeliği tekil veya çoğul olan annelerin kolostrumundaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması

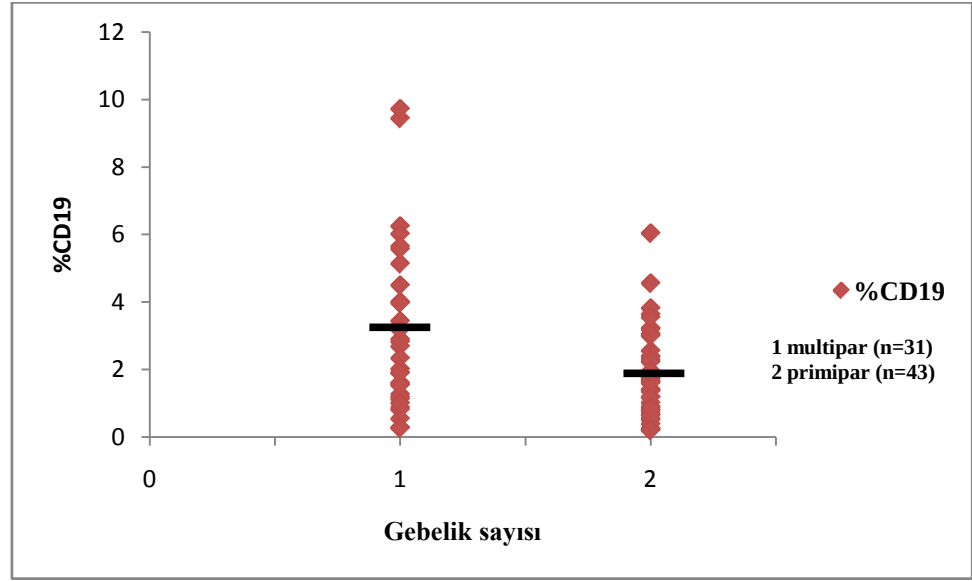
	Çoğul gebelik (n=15)		Tekil gebelik (n=59)		p
	Ortalama ±SD	Ortanca (min-max)	Ortalama ±SD	Ortanca (min-max)	
CD14 (%)	23,5±24,7	13,4(3,7-89)	23,7±22,1	15,7(3-97)	>0,05
CD3 (%)	16,6±12,3	11(4,4-46,7)	21,3±17	15,2(1-76,9)	>0,05
CD4 (%)	9,7±8,1	6(2,97-32,8)	11,7±9	8,8(0-38,1)	>0,05
CD8 (%)	9,2±7,1	5,2(2,69-21)	10,9±9,2	8,3(0,3-36,7)	>0,05
CD19 (%)	2,7±1,7	3(0,22-6)	2,3±2,	1,6(0,2-9,7)	>0,05
CD16-56 (%)	4,2±2,5	3,6(0,6-8,6)	4,9±3	4,5(0,4-13,2)	>0,05
CD45RO (%)	20,9±14,9	14,4(5-57,4)	25,9±17,4	18,2(2,2-71)	>0,05
Toplam hücre sayısı/µl	8350±6040	8350(1700-22100)	7698±6897	5400(100-30100)	>0,05
Makrofaj (%)	42±42,4	40(25-68)	37,4±19,2	36(4-78)	>0,05
Nötrofil (%)	45,2±33,6	47(15-70)	50,4±38,5	50(16-96)	>0,05
Lenfosit (%)	13,3±14,6	9(2-58)	11,6±9,1	10(2-58)	>0,05

SD, Standart deviasyon

Multipar (n=31) ve primipar (n=43) annelerin sütleri karşılaştırıldığında multipar olan annelerin sütlerinde CD45RO ve CD19 yüzdeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$) (şekil 12, şekil 13). Anne sütünde çalışılan diğer parametrelerde iki grup arasında anlamlı farklılık olmadığı görülmektedir ($p>0,05$) (Tablo 8).



Şekil 12. Multipar ve primipar annelerin CD45RO yüzdeleri ($p<0,05$).



Şekil 13. Multipar ve primipar annelerin CD19 yüzdeleri ($p < 0,05$).

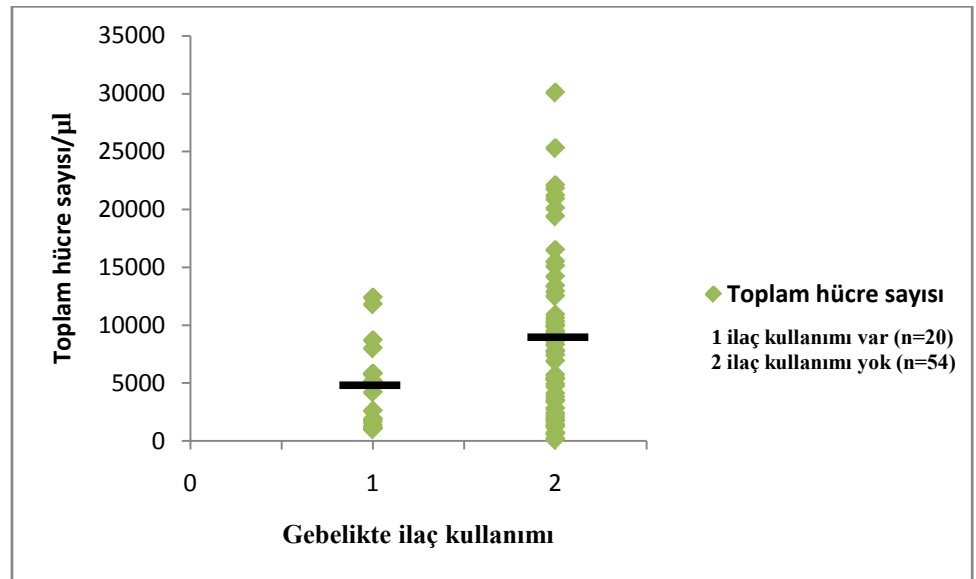
Tablo 8. Primipar ve multipar annelerin kolostrumundaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteç yüzdelerinin karşılaştırılması

	Primipar (n=43)		Multipar (n=31)		p
	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	
CD14 (%)	24±24,6	13,4(3-97)	23,2±19,5	15,8(3,6-67,1)	>0,05
CD3 (%)	18,3±16,6	13,78(1-76,91)	23,3±15,5	22,5(1,9-50,8)	>0,05
CD4 (%)	10,6±9,0	7,5(1-38,1)	12,4±8,7	12,2(0-33,7)	>0,05
CD8 (%)	9,6±8,8	6,6(0,3-36,7)	11,9±8,7	9,6(1,135,6)	>0,05
CD19 (%)	1,8±1,3	*1,64(0,21-6,9)	3,1±2,5	*3,1(0,27-9,7)	0,031
CD16-56 (%)	4,8±3,2	4,39(0,4-13,2)	4,8±2,5	4,51(0,7-12,9)	>0,05
CD45RO (%)	22,1±33,3	*16,1(2,2-71,5)	28,7±43,6	*30(4-56,6)	0,047
Toplam hücre sayısı/μl	7569±6728	5400(200-25300)	8193±6750	7400(100-25300)	>0,05
Makrofaj (%)	40,3±18,5	43(4-78)	35,6±17,8	36(4-76)	>0,05
Nötrofil (%)	47,2±17,6	50(15-76)	47,2±17,6	54(16-92)	>0,05
Lenfosit (%)	11,9±12,2	9(2-58)	11,9±7,4	12(2-28)	>0,05

*p < 0,05 anlamlı kabul edildi SD Standart Deviasyon

Annenin prenatal risklerinden DM veya GDM, tiroid hastalığı ve enfeksiyon öyküsü olan anneler ile olmayan annelerin kolostrum lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteçlerinin yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

İlaç kullanan annelerin kolostrumundaki lökosit sayısı, ilaç kullanmayanlara göre anlamlı olarak düşük iken ($p<0,05$); kolostrumda çalışılan formül ve yüzey belirteçleri yüzdeleri açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 9, Şekil 14). Nidilat, steroid, aspirin ve antibiyotik kullanan annelerin kolostrumun örneklerinde lökosit sayısı, formül ve lökosit yüzey belirteç yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.



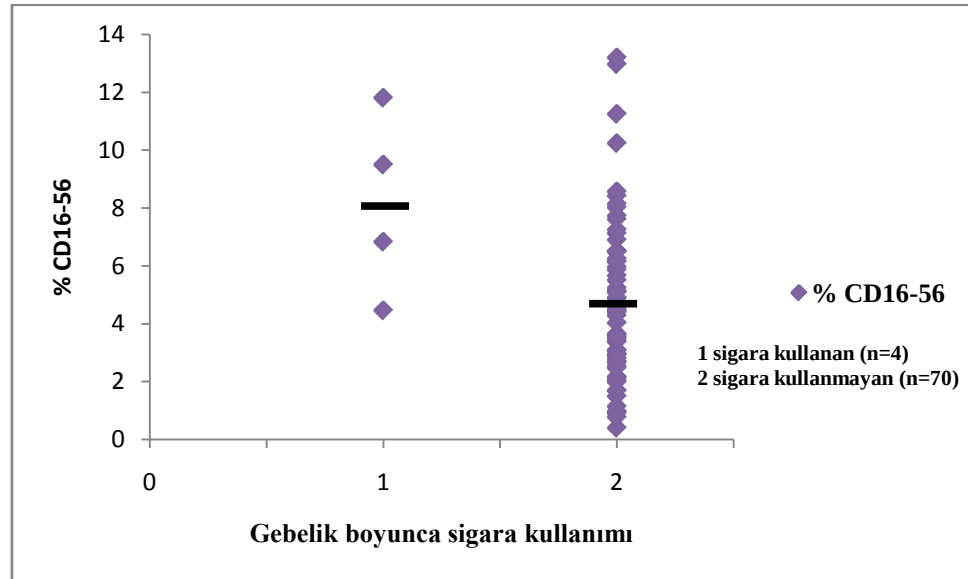
Şekil 14. İlaç kullanan ve kullanmayan annelerin toplam hücre sayısı ($p<0,05$).

Tablo 9. Gebelikte ilaç kullanan ve kullanmayan annelerin kolostrumundaki lökosit sayısı, formül ve yüzey belirteçler yüzdeleinin karşılaştırılması

	İlaç kullanan (n=20)		İlaç kullanmayan (n=54)		p
	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	Ortalama±SD	Ortanca (min-max)	
CD14 (%)	30,1±24,8	19,8(3,8-97)	21,3±21,3	12(3-90,9)	>0,05
CD3 (%)	15,5±12,5	12,4(1-46,7)	22,2±17,1	16,2(1-46,7)	>0,05
CD4 (%)	9,7±8,2	6,9(1,1-38,1)	12±9,1	6,9(0-32,8)	>0,05
CD8 (%)	8,4±6,4	7,4(0,3-)	11,4±9,4	8(1,1-36,7)	>0,05
CD19 (%)	2,35±1,59	2,1(0,7-6,04)	2,35±2,10	1,8(1,4-76,9)	>0,05
CD16-56 (%)	4,5±2,1	3,9(0,9-13,2)	4,5±2,1	4,5(0,4-13)	>0,05
CD45RO (%)	21,6±14,4	16,6(2,2-57,4)	26,1±17,8	16,6(2,2-7,4)	>0,05
Toplam hücre sayısı/µl	4747±3420	*4900(1000-12400)	8972±7259	*7750(100-30100)	0,028
Makrofaj (%)	39,2±17,5	38(12-78)	38±18,7	38(4-76)	>0,05
Nötrofil (%)	48,6±17,6	48,5(15-76)	49,7±18	51(16-92)	>0,05
Lenfosit (%)	13,4±13,2	8,5(2-58)	11,5±9,2	10(2-58)	>0,05

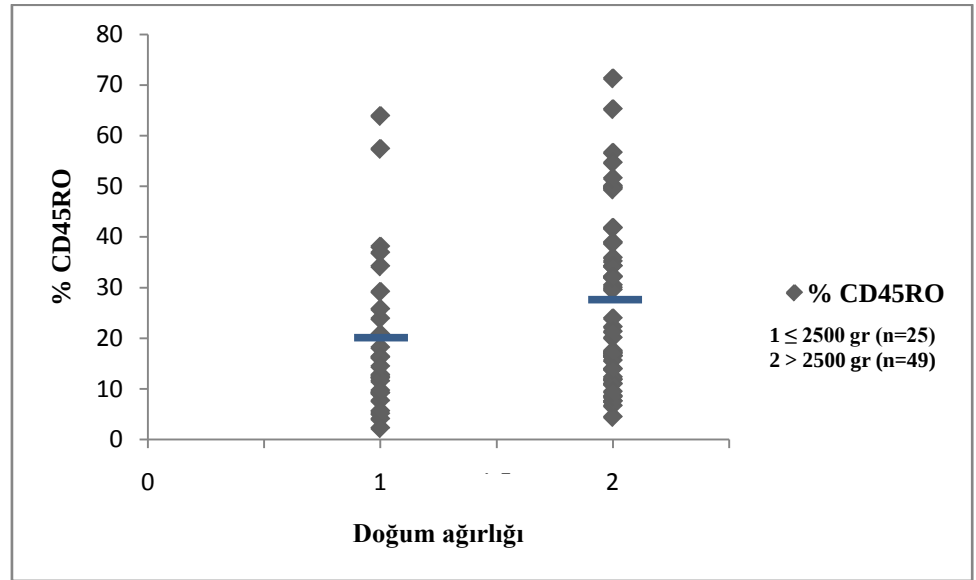
*P<0,05, SD Standart Deviasyon

Sigara kullanan annelerin kolostrumundaki CD16-56 yüzdesi, sigara kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek olarak bulurken ($p<0,05$); kolostrumda çalışılan lökosit sayısı formül ve diğer yüzey belirteçleri yüzdeleri açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p<0,05$)(Şekil15).

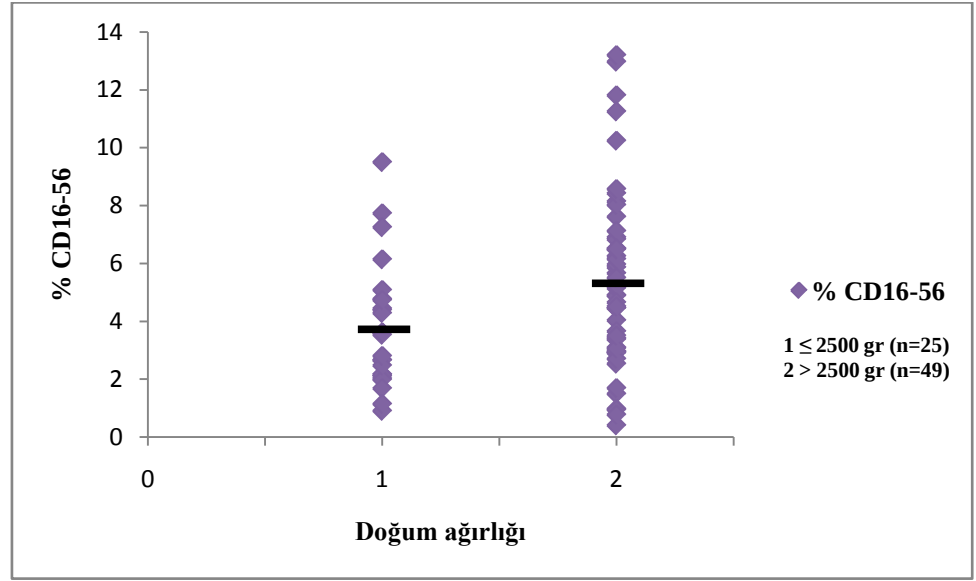


Şekil 15. Sigara kullanan ve kullanmayan annelerin kolostrumCD16-56 yüzdesinin karşılaştırılması ($p<0,05$).

Annenin bebeğinin doğum ağırlığına göre iki grup oluşturulmuş ve en az bir bebeğin 2500 gram ve altında olması risk faktörü olarak alınmıştır. Çalışmamızda 2500 gramın üstünde doğan bebeğe sahip olan annelerin sütünde CD16-56 ve CD45RO yüzdeleri diğer gruba göre anlamlı derecede yüksek görülmektedir ($p<0,05$). Diğer değerler açısından gruplar arasında anlamlı farklılık görülmemektedir ($p>0,05$) (şekil 16, şekil 17).

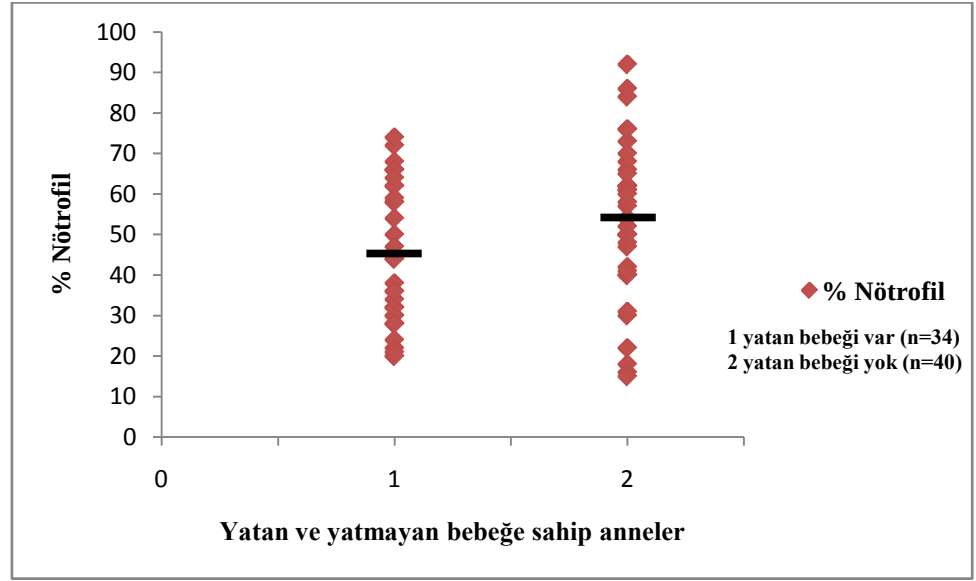


Şekil 16. Doğum ağırlığı 2500 gramın altında bebeği olan ve olmayan annelerin CD45RO yüzdesinin karşılaştırılması ($p<0,05$).

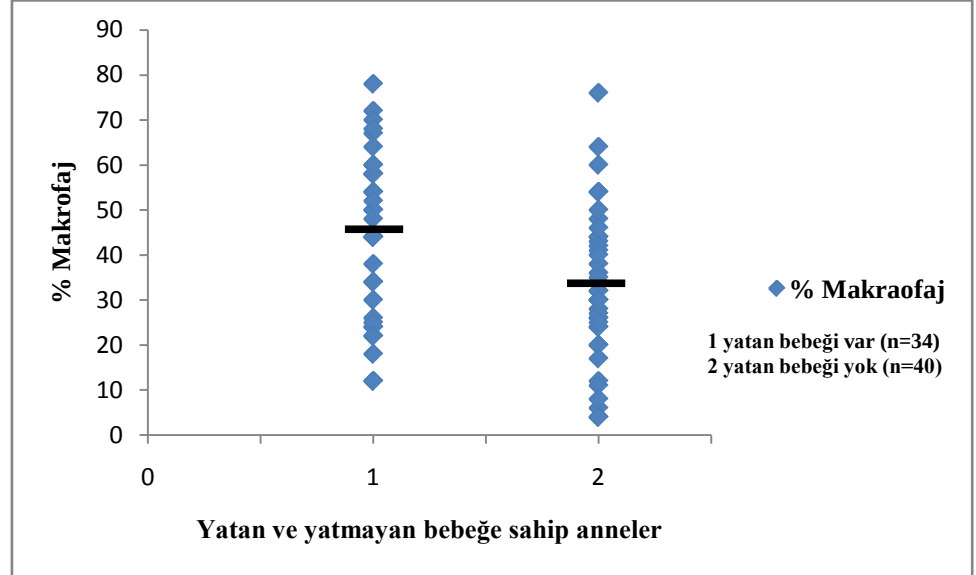


Şekil 17. Doğum ağırlığı 2500 gramın altında bebeği olan ve olmayan annelerin CD16-56 yüzdesinin karşılaştırılması ($p<0,05$).

Annenin bebeğinin herhangi bir sebeple yenidoğan servisine yatması risk faktörü olarak alınmış ve iki grup oluşturulmuştur. Çalışmamızda yenidoğan servisinde yatan bebeğe sahip olan annelerin anne sütündeki makrofaj yüzdesi, yenidoğan servisinde yatan bebeği olmayan annelerin sütüne göre daha istatistiksel olarak yüksek; nötrofillerin yüzdesi ise istatistiksel olarak daha düşük olarak bulunmuştur ($p<0,05$) (şekil 18, şekil 19). Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. Anne sütünde çalışılan parametrelerin annenin bebeğinde antibiyotik kullanımı, kullanım süresi ve enfeksiyon varlığı ile değişmediği saplanmıştır. Tüm olgular içinde kesin NEK tanısı alan hasta sayısı iki olması nedeni ile istatistiksel karşılaştırma yapılamıştır.



Şekil 18. Bebeği hastaneye yatan ve yatmayan annelerin kolostrum örneklerinde nötrofil yüzdelerinin karşılaştırılması ($p<0,05$).



Şekil 19. Bebeği hastaneye yatan ve yatmayan annelerin kolostrum örneklerinde makrofaaj yüzdelerinin karşılaştırılması ($p<0,05$).

5. TARTIŞMA

Anne sütünün hücre içeriğinin ve lenfosit alt gruplarının; laktasyon zamanı, multiparite, gebelik haftası, sigara kullanımı gibi prenatal ve natal risk faktörlerinden etkilendiği düşünülmektedir (10,11,95). Çalışmamızda kolostrum örneklerinde lökosit sayımı ve lökosit alt grupları ile gebelik haftası, parite, laktasyon zamanı, annenin sigara-ilaç kullanımı ve bebeğin hastaneye yatması arasında ilişki olduğu saptandı.

Bağışıklık sisteminin gelişimi ve farklılaşması fetal hayatta başlar ve doğumdan sonra da devam eder. Yenidoğan döneminde savunma hücrelerinin becerileri ve sayıları yeterli değildir. Makrofaj ve nötrofillerin fagositoz yetenekleri zayıf iken; lenfosit sayısı da yetersizdir. Yenidoğanlar, bağışıklık sistemin olgunlaşması sürecinde annenin bağışıklık sistemi tarafından desteklenirler. Anne bunu fetal dönemde plasenta; doğum sonrasında ise anne sütü ile sağlamaktadır. Anne sütü, canlı hücreleri de içeren pek çok faktör ile bebeğin enfeksiyonlara karşı korunmasını ve bağışıklık sisteminin gelişimini sağlar (4).

Anne sütündeki bağışıklık sistemi hücreleri makrofaj, nötrofil ve lenfositlerdir. Kolostrumda hücre içeriği mililitrede ~3 milyondur ve bu lökositlerin çoğunu makrofajlar ile nötrofiller oluşturmaktadır (2, 90, 92,101, 114). Parmely ve ark. (90) doğumdan sonraki ikinci ve yedinci günler arasında 30 süt örneğini inceledikleri çalışmalarında anne sütündeki hücre sayısını $1.3 \times 10^6/\text{ml}$ olarak bulmuşlardır. Egligton ve ark. (101) ise doğumdan sonraki ilk dokuz gün

içinde 20 anne sütü örneğini inceledikleri araştırmalarında hücre sayısını $6.7 \pm 5.2 \times 10^5/\text{ml}$ olarak bulmuşlardır. Her iki çalışmada da baskın olan hücre makrofajlardır. Crago ve ark.'nın (92) 54 kolostrum örneğini inceledikleri çalışmalarında ise hücre sayısı $3,3 \times 10^6/\text{ml}$ iken hücre dağılımı % 30-47 makrofaj, % 40-60 nötrofil idi. Aynı çalışmada günlere göre toplam hücre sayısı ve tiplendirmesinde istatistiksel olarak fark saptanmasa da hücre sayısı ve lenfosit içeriğinin günden güne azalan bir eğilimde olduğu bulunmuştur. Annelerin kolostrum örneklerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda toplam hücre sayısını $7830 \pm 6698/\mu\text{l}$ ($7,8 \times 10^6/\text{ml}$) olarak bulunmuştur. Literatürdeki bulgularla uyumlu bir şekilde çalışmamızda kolostrumdaki hücrelerin % 38'ni makrofaj, % 49 nötrofil olarak saptanmıştır (Tablo 2). Anne sütü lökosit sayısının zamana göre değişimine baktığımızda ise doğumdan sonraki ilk 36 saat içinde anne sütü örneği alınan grubun hücre sayısının 36-72. ve 72 saatin üstünde alınan örneklerle göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptadık. İstatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da 36-72. saatler arasında alınan kolostrum örneklerinin toplam hücre sayısı 72. saat ve üstünde alınan gruba göre daha yüksekti (Şekil 4).

Çalışmamızda kolostrum ml'de ortalama hücre sayının literatüre göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebi; anne sütü örneklerimizin diğer çalışmalara göre daha erken zaman aralığında toplanmış olması olabilir. Nitekim süt alım saati ortalamamız 49 saattir. Yani kolostrum örneklerinin çoğunun alım saati laktasyonun ilk 48 saati içindedir. Bunun yanında önceki yapılan çalışmalarda anne sütü hücre sayısı, thoma, neubauer sayma çemberi gibi yöntemler ile mikroskopta sayılmış iken çalışmamızda ise otomatik hücre sayım

cihazı kullanılmıştır. Literatürde otomatik hücre sayım cihazı kullanılarak anne sütünün hücre sayısı değerlendirilen araştırmaya rastlanmamıştır. Sonuçta anne sütü örneklerinin çoğunun doğumdan sonraki ilk 48 saat içinde alınması ve çalışma yöntemlerinin farklı olması çalışmamızda hücre sayısının daha yüksek bulunmasını açıklayabilir. Literatürde laktasyon günü ilerledikçe süt hacminin artarak kolostrum içeriğinin dilue olup olgun süte dönüştüğünü ve dolayısı ile toplam hücre sayısının ve lenfosit yüzdesinin azaldığı bildirilmektedir (2, 6). Çalışmamızda benzer şekilde lökosit sayısı, lenfosit yüzey belirteci olan CD3 ve CD4 pozitif hücreler alım saati arttıkça azalmakta iken, ilginç olarak süt makrofaj yüzey belirteci kabul edilen CD14 pozitif hücre yüzdesi, alım zamanı arttıkça artmaktadır (Şekil 5,6,7,8,9). Araştırmamızda, kolostrum örneklerinin Wright boyanarak bulunan makrofaj yüzdesi ile örnek alım zamanı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmasa da zaman arttıkça makrofaj yüzdesinde doğrusal bir artış eğilimi fark edilmektedir. Bu da anne sütünde hücre sayısı azalsa da bebeğin pasif korunmasına destek olan makrofajların belli bir oranda kaldığını göstermektedir. Literatürde lenfosit yüzey belirteçlerinin zamana göre değişimini inceleyen çalışmaya rastlanmamış ve süt makrofajlarının morfolojik ve fonksiyonel karakteristik özellikleri de net tanımlanmamıştır (8, 89). Çalışmamız bu özelliği ile süt lökosit yüzey belirteçlerinin zamana göre değişimlerini araştıran ilk çalışmadır.

Anne sütündeki diğer bir hücre grubu da lenfositlerdir. Wirt, Keller, Eglinton ve Hawkes yaptıkları çalışmalarda anne sütü ortalama lenfosit yüzdesini, % 4 ile % 25 arasında bildirmişlerdir. (9,101,103,116). Biz de çalışmamızda

kolostrumda lenfosit oranını % 12 olarak saptadık. Anne sütündeki baskın olan lenfosit alt grubu T lenfositlerdir. Farklı yöntemlerle yaptıkları çalışmalarda T lenfositlerin baskın olduğunu göstermişlerdir (9,90,101,105). Bizim çalışmamızda da baskın olan lenfosit grubu CD3 pozitif olan T hücreleri idi (Tablo 2).

Anne sütü hücrelerinin gebelik haftası ile değişimi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (10,93,116). Mathur ve ark.'nın (116) doğumdan sonra ilk dört gün içinde 35 anne sütü örneğini inceledikleri çalışmalarında, prematüre doğum yapan 25 annenin sütünün toplam hücre sayısı $6794/\text{mm}^3$ iken, zamanında doğum yapan 10 annenin sütündeki toplam hücre sayısı $3094/\text{mm}^3$ 'tür. Toplam hücre, nötrofil, lenfosit sayıları prematüre doğan bebeklerin annelerinin sütlerinde daha yüksek bulunmuştur. Jain ve ark.'nın (10) yaptığı başka bir çalışmada ise 40 anne sütü, kolostrum ve geç süt olarak örneklenmiştir. Prematüre doğum yapmış annelerin kolostrum örneklerindeki toplam hücre sayısı $9338/\text{mm}^3$, zamanında doğum yapan annelerin kolostrumunda $5594/\text{mm}^3$; prematüre doğum yapan annelerin olgun sütlerindeki toplam hücre sayısı ise $7235/\text{mm}^3$ iken zamanında doğum yapan annelerin sütlerinin toplam hücre sayısı $4472/\text{mm}^3$ 'dir. Prematüre bebeklerin kolostrum ve olgun sütteki toplam hücre sayısı zamanında doğum yapan annelerin sütlerine göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Dwarkadas ve ark. (93) ise 32. gebelik haftasından daha erken doğum yapan annelerin kolostrum örneklerindeki toplam hücre ve makrofaj sayısını 32-36. gebelik haftasında doğum yapan annelerin kolostrum örneklerine göre daha yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda, 28 prematüre doğum yapan annenin kolosturumunda toplam hücre sayısı $7398/\mu\text{l}$ ($7398/\text{mm}^3$), 46 zamanında doğum

yapan annenin sütünde ise 8093/µl (8093/mm³) olarak bulunmuş olup ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (Tablo 4). Ayrıca çalışmamızda 33 haftadan küçük doğum yapan annelerin kolostrum hücre sayısı ile 33-37 haftalar arasında doğum yapan annelerinki karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun sebebi çalışmamızda çok küçük prematüre bebek sayısının az olması ve grubun gebelik haftası bakımından homojen dağılmamış olması olabilir. Bununla birlikte prematüre doğum yapan annelerin birçoğunun ilaç kullanma öyküsü de mevcuttu. Nitekim çalışmamızda doğumdan önce ilaç kullanım öyküsü olan annelerin toplam hücre sayısı kullanmayanlara göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda, erken doğum yapan annelerin kolostrumundaki hücre sayısını düşüren sebeplerden biri de ilaç kullanımı olarak düşünülebilir.

Çalışmamızda makrofaj yüzdesi ile doğum haftası arasında negatif ilişki bulunmuştur (Şekil 10). Anne sütünde bulunan makrofajlar fagositik yönden aktif hücreler olup, anne sütündeki IgA'nın taşıyıcısıdır. Bununla birlikte *E. coli* başta olmak üzere pek çok patojenik ajana karşı da etkilidirler. Schlesinger ve ark. (95) çalışmalarında prematüre bebekler ile zamanında doğan bebeklerin anne sütlerinin hücre sayılarını birbirine yakın bulmuş, fakat prematüre bebeklerin anne sütünün makrofajlarının fagositik aktivitelerini zamanında doğan bebeklerin anne sütlerine göre daha yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda bulduğumuz anne sütündeki makrofajların gebelik haftası azaldıkça artması; anne sütünün, zamanında doğan bebeklere göre bağışıklık sistemi daha az gelişmiş olan prematüre bebekleri koruma mekanizmasının bir parçası olarak düşünülebilir.

Çalışmamızda hastaneye yatan bebeği olan annelerin kolostrumundaki makrofajların yüzdesi, bebeği hastaneye yatmayan annelerinkine göre anlamlı derecede yüksek saptanırken; nötrofil yüzdesi düşük bulunmuştur. Çalışmamızda hastaneye yatan bebeklerin çoğu erken doğum sebebi ile yatan bebeklerdi; aynı zamanda gebelik haftası azaldıkça sütteki makrofaj oranının arttığını saptamıştık. Hastaneye yatan bebeği olan annelerin sütlerindeki makrofaj ve nötrofil yüzdelerindeki bu farklılık bebeğin hastaneye yatışına neden olan erken doğum gibi prenatal risklerin anne sütü lökosit tiplerinin dağılımını etkilemiş olması ile açıklanabilir.

Çalışmamızda, erken ve zamanında doğum yapan annelerin kolostrum örnekleri arasında lenfosit yüzey belirteç yüzdeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Jain ve ark. (10) zamanında ve zamanından önce doğum yapan 20 annenin süt örneklerini karşılaştırmıştır. İki grup arasında erken doğum yapan annelerin sütlerindeki toplam hücre sayısı, T lenfosit, B lenfosit, CD4 ve CD8 pozitif lenfositlerin mutlak sayısı istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken çalışmamıza benzer şekilde lenfosit alt gruplarının yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Bu annenin özelliklerinden yaş, VKİ, doğum şekli, çoğul gebelik geçirmesinin anne sütünün toplam hücre sayısını ve lökosit alt grup içeriğini etkilemediği bulunmuştur (Tablo 5,6,7). İslam ve ark. (12) Bangladeşli annelerde yaptıkları çalışmada annenin karakteristik özellikleri ile kolostrum IgA, IgM, IgG düzeyleri ve hücrelerini içeren immunolojik parametreler arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Anne sütü hücreleri ile anne yaşı ve VKİ arasında istatistiksel

olarak anlamlı ilişki bulamamış iken anne sütündeki makrofaj-nötrofil ortalama yüzdelarını multipar olan annelerde primipar olan annelere göre daha yüksek saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise multipar ve primipar annelerin kolostrum lökosit formülünde fark yokken; annenin multipar olması durumunda CD45RO ve CD19 yüzdeleri primipar annelere göre yüksek görölmektedir. CD45RO immunolojik hafıza ile ilişkili T hücrelerin, CD19 ise B hücrelerinin yüzey belirteçidir (Tablo8, Şekil 12,13). Anne sütünde bulunan gerek T gerekse de B lenfositler, immunolojik hafıza ile ilişkili yüzey belirteçlerini kan hücrelerine göre daha yüksek oranda taşırlar (9, 108). Böylece bebekte doğumda yetersiz olan immunolojik hafızanın anneden geçen lenfositler sayesinde hızlı bir şekilde gelişmesi sağlanır (6). Çalışmamızda multipar annelerin anne sütünde, CD19 ve CD45RO yüzdelarının yüksek olarak saptanması, annenin bir önceki gebeliğinden kalma bağışıklık sistemi ile ilgili eski deneyimlerini yeni bebeğe geçirmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Alkol ve sigara kullanımı bağışıklık sistemini etkilemektedir. Na ve ark. (11) alkol ve sigara kullanımının anne sütünün koruyucu özellikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Alkol kullanan annelerin sütlerindeki toplam hücre sayısını, nötrofil yüzdesi ve IL-8 seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek bulurken lenfosit alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptamamışlardır. Ayrıca sigara kullanan ve kullanmayan grupların; toplam hücre sayısı, formül yüzdesi ve lenfosit alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sadece IL-8 seviyesi sigara kullananlarda anlamlı yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda alkol kullanımı olan anne bulunmamaktadır.

Fakat sigara kullanan annelerin NK yüzey belirteci olan CD16-56 yüzdesi sigara kullanmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Şekil 15). Bununla birlikte istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sigara kullanan grubun toplam hücre sayısı ve nötrofil yüzdesi de sigara kullanmayan gruba göre yüksektir. Sigarada 5000'nin üstünde kimyasal madde bulunur. Bu maddeler sigara kullanıcılarının pek çok sistemini etkilediği gibi bağışıklık sistemini de etkilemektedir. Örneğin sigara kullanımı beyaz küre sayısını artırırken, nötrofillerin kemotaktik aktivitesini azaltır (117). Sigara kullanımının süt üreten meme bezlerine ve sütün immunolojik özelliklerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Çalışmalarda sigaranın anne sütündeki sitokin seviyelerini değiştirdiği bulunmuştur (118). Çalışmamızda saptadığımız toplam hücre sayısı, CD16-56 ve nötrofil yüzdesi artışı sigaranın oluşturduğu sitokin düzeylerindeki değişikliklere bağlı olabilir. Sigaranın anne sütünün immünolojik özelliklerine etkisini araştıran geniş serilerde araştırmalara ihtiyaç vardır.

Kullanılan ilaçların sistemik etkileri ve anne sütüne geçiş özellikleri bilinmemektedir. Fakat literatürde ilaçların anne sütünün hücre içeriğine etkisini gösteren çalışma yoktur. Çalışmamız ilaç kullanan annelerin kolostrum hücre sayılarının ilaç kullanmayanlara göre düşük olduğunu saptayan ilk çalışmadır (Tablo 9, Şekil 14). Annenin hastalığı kadar hastalık nedeni ile ilaç kullanması da bebek mortalite ve morbiditesi için önemli bir prenatal risktir. Bu riskin anne sütüne yansması da kolostrumdaki hücre içeriğinin azalması şeklinde kendini göstermiş olabilir. Farklı ilaçların sütteki dağılımı ve hücre içeriğine etkilerini inceleyen araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anne sütündeki NK hücrelerinin miktarı azdır ve aktiviteleri hakkında yeterli bilgi yoktur (2,94). Kolostum örneklerimizde NK yüzey belirteci olan CD16-56 yüzdesi ile gebelik haftası arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır (Şekil 11). Aynı zamanda gebelik haftasından bağımsız olarak; bebeklerin doğum ağırlığı anne için risk kabul edildiğinde 2500 gramın altında bebeği olan annelerin sütlerinde de CD16-56, CD45RO yüzdeleri olmayanlara göre düşük bulunmuştur. bunun yanı sıra gebelik haftası azaldıkça süt makrofaj yüzdesi artmaktadır. Bu sonuçlar prematürite, düşük doğum ağırlığı, hastaneye yatış gibi bebeğin enfeksiyon riskinin yüksek olduğu durumlarda, anne sütünün hücre içeriğinin bağışıklık sistemini geliştirme özelliğinden çok enfeksiyondan koruma özelliğinin öne çıkması olarak açıklanabilir. Bu sebeple anne sütü lökosit alt gruplarının oranlarının değişiminin kliniğe yansımalarının hem gebelik haftası hem de postnatal riskler ile ilişkilendiren ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Sonuçta gebelik sayısı, ilaç ve sigara kullanımı gibi anneye ait faktörlerin yanında bebeğin erken doğması, hastaneye yatması, düşük doğum ağırlığına sahip olması gibi faktörler anne sütünün hücre içeriğinin lökosit oranlarında değişikliklere neden olmaktadır. Anne sütü bu özelliği ile aktif, değişken ve kendi içinde dinamik, özgün immunolojik bir sistem olarak düşünülebilir. Bu sayede bebeğin yetersiz ve olgun olmayan bağışıklık sistemine paralel değişen sütün immünolojik içeriği, bebeğin bağışıklık sisteminin eksikliklerini kapatarak gelişmesini sağlıyor olabilir. Ancak anne sütünün hücrelerini de içeren tüm koruyucu yapısı, fonksiyonları, birbirleri ile ilişkisi ve aynı zamanda klinik sonuçları tam aydınlatılamamıştır. Çalışmamız, annenin prenatal, natal ve bebeğin

linik özelliklerinin anne sütü hücre sayısı ve içeriğine etkisini göstererek literatüre katkıda bulunmaktadır. Sonuç olarak anne sütünün hücrelerinin de dahil olduğu immünolojik özelliklerine yönelik bütüncül çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇLAR

1. Annenin birden fazla gebeliği varsa anne sütünün CD45RO ve CD19 yüzde değerleri artmaktadır ($P<0,05$).

2. Annenin ilaç kullanması durumu anne sütündeki toplam hücre sayısını düşürmektedir ($P<0,05$).

3. Annenin sigara kullanımı anne sütündeki CD16-56 yüzdesini yükseltmektedir($P<0,05$).

4. Süt olgunlaştıkça anne sütündeki CD4, CD3 yüzdesi ve toplam hücre sayısı azalmakta iken, CD 14 yüzdesi artmaktadır.

5. Annenin gebeliğinin sonlanma haftası artıkça anne sütünün makrofaj yüzdesi düşerken, CD16-56 yüzdesi artmaktadır.

6. 2500 gramın üstünde doğan bebeğe sahip olan annelerin anne sütlerinde CD16-56 ve CD45RO yüzdeleri daha yüksektir ($P<0,05$).

7. Serviste yatan bebeğe sahip olan annelerin anne sütlerinde makrofaj yüzdesi yüksek iken, nötrofil yüzdesi düşüktür($P<0,05$).

KAYNAKLAR

1. American Academy of Pediatrics Policy Statement. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics* 2005;115(2):496-506.
2. Remington JS, Klein JO, Baker C, Wilson CB. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 6th ed. Philadelphia: Wb. Saunders Company, 2006.
3. UNICEF Innocenti Research Centre. Celebrating the innocent declaration on the protection, promotion and support of Breastfeeding;1990 – 2005
4. Hanson LA, Korotkova M, Lundin S, Håversen L, Silfverdal S, Mattsby-Baltzer I, et al. The transfer of immunity from mother to child. *Ann N Y Acad Sci* 2003;987:199-206.
5. Lawrence R, Pane C. Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2007; 37(1) : 7-36.
6. Lawrence RA, Lawrence RM. Breastfeeding a guide for the Medical profession. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Mossby, 2005.
7. Pittard WB 3rd. Breast milk immunology. A frontier in infant nutrition. *Am J Dis Child* 1979; 133(1) : 83-7.
8. Pitt J. The milk mononuclear phagocyte. *Pediatrics* 1979;64(5 Pt 2 Suppl):745-749.
9. Wirt DP, Adkins LT, Palkowetz KH, Schmalstieg FC, Goldman AS. Activated and memory T lymphocytes in human. *Cytometry* 1992; 13(3) : 282-90.
10. Jain N, Mathur NB, Sharma VK, Dwarkadas AM. Cellular composition including lymphocyte subsets in preterm and full term human colostrum and milk. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80(4) : 395-9.
11. Na HR, Daniels LC, Seelig LL Jr. Preliminary study of how alcohol consumption during pregnancy affects immune components in breast milk and blood of postpartum women. *Alcohol Alcohol* 1997; 32(5) : 581-9.

12. Islam N, Ahmed L, Khan MN, Huque S, Begum A, Yunus AB. İmmune components (IgA, IgM, IgG, immune cell) of colostrum of Bangladeshi mothers. *Pediatr Int* 2006;48(6):543-8.
13. Rautava S, Walker WA. Academy of Breastfeeding Medicine Founder's Lecture 2008: Breastfeeding an extrauterine link between mother and child. *Breastfeed Med* 2009; 4(1) : 3-10.
14. Riordan J. Breastfeeding and human lactation. 3rd ed. USA:Jones and Bartlett Publishers Inc, 2005.
15. Yurdakök M. İnsan ve anne sütü: doğa, kültür ve tarih. *Katkı Pediatri Dergisi* 1991;12:495-509
16. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması, 2008. Ankara, Türkiye: Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü, Devlet Planlama Teşkilatı ve Avrupa Birliği.
17. Ünsal H, Atlıhan F, Özkan H, Targan Ş, Hassoy H. Toplumda anne sütü verme eğilimi ve buna etki eden faktörler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005; 48(3): 226-233.
18. McManaman JL, Neville MC. Mammary physiology and milk secretion. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55(5) : 629–641.
19. Jones E, Spencer SA. The physiology of lactation. *Paediatrics And Child Health* 2007; 17(6) : 244-248.
20. Neville CM, McFadden TB, Forsyth I. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; 7(1) : 49-66.
21. Coşkun T. Anne sütü ile beslenme. *Katkı Pediatri Dergisi* 2003; 25(2) : 163-183.

22. Picciano MF. Human Milk: Nutritional aspects of a dynamic food. *Biol Neonate* 1998; 74(2) : 84-93.
23. McManaman and M. C. Neville. Lactation. Physiology. *Encyclopedia of Human Nutrition*. 2nd ed. Elsevier, 2005;99-106.
24. Kulski JK, Hartmann PE. Changes in Human milk composition during the initiation of lactation. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1981; 59(1) : 101-14.
25. Ahmed L, Nazrul Islam S, Khan MN, Huque S, Ahsan M. Antioxidant micronutrient profile (vitamin E, C, A, copper, zinc, iron) of colostrum: association with maternal characteristics. *J Trop Pediatr* 2004; 50(6) : 357-8.
26. Kent JC. How breastfeeding works. *J Midwifery Womens Health* 2007; 52(6) : 564-70.
27. Darragh A. Human Milk. *Encyclopedia of dairy sciences*. Elsevier, 2004; 1350-1360
28. Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(6) : 1537S-1543S.
29. Lönnerdal B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* 1985; 42(6) : 1299-317.
30. Bexkorovainy A. Human milk and colostrum Proteins: A review. *J Dairy Sci* 1977; 60(7) : 1023-37.
31. Lönnerdal B. Bioactive proteins in human milk: Mechanisms of action. *J Pediatr* 2010;156(2 Suppl):S26-30.
32. Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum Dev* 2001;65 Suppl:S3-S18.

33. German JB, Dillard CJ. Composition, structure and absorption of milk Lipids: a source of energy, fat-Soluble nutrients and bioactive molecules. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2006; 46(1) : 57-92.
34. Picciano MF. Nutrient composition of human milk. *Pediatr Clin North Am*. 2001; 48(1) : 53-67.
35. Caspi A, Williams B, Kim-Cohen J, Craig IW, Milne BJ, Poulton R, et al. Moderation of breastfeeding effects on the IQ by genetic variation in fatty acid metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(47) : 18860-5.
36. Michaelsen KF, Lauritzen L, Jørgensen MH, Mortensen EL. Breast-feeding and brain development. *Scandinavian Journal of Nutrition* 2003; 47(3): 147 -151.
37. SanGiovanni JP, Parra-Cabrera S, Colditz GA, Berkey CS, Dwyer JT. Meta-analysis of dietary essential fatty acids and long-chain polyunsaturated fatty acids as they relate to visual resolution acuity in healthy preterm infants. *Pediatrics* 2000; 105(6) : 1292-8.
38. Yamawaki N, Yamada M, Kan-no T, Kojima T, Kaneko T. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J Trace Elem Med Biol* 2005; 19(2-3) : 171-81.
39. Coppa GV, Gabrielli O, Pierani P, Catassi C, Carlucci A. Changes in carbohydrate composition in human milk over 4 months of lactation. *Pediatrics* 1993; 91(3) : 637-41.
40. Maas YG, Gerritsen J, Hart AA, Hadders-Algra M, Ruijter JM. Development of macronutrient composition of very preterm human milk. *Br J Nutr* 1998; 80(1): 35-40.
41. Ziegler EE, Fomon SJ. Lactose enhances mineral absorption in infancy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983; 2(2) : 288-94.
42. Newburg D, Do the binding properties of oligosaccharides in milk protect human infants from gastrointestinal bacteria? *J Nutr* 1997; 127 (5) : 980S-984S.

43. Lawrence R, Pane C. Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2007; 37(1) : 7-36.
44. Hanson LA, Korotkova M. The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection. *Semin Neonatol.* 2002; 7(4) : 275-81.
45. Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr* 2010;156(2 Suppl):S3-7.
46. Chirico G, Marzollo R, Cortinovis S, Fonte C, Gasparoni A. Antiinfective properties of human milk. *J Nutr* 2008; 138(9) : 1801S-1806S.
47. Hanson LA, Korotkova M, Håversen L, Mattsby-Baltzer I, Hahn-Zoric M. Breast-feeding, a complex support system for the offspring. *Pediatr Int* 2002; 44(4) : 347-52.
48. Newburg DS, Walker WA. Protection of the Neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatr Res* 2007; 61(1) : 2-8.
49. Ogra P, Greene H. Human milk and breast feeding: on update on the art. *Pediatr Res* 1982;16: 226-271
50. Hanson LA, Winberg J. Breast milk and defence against infection in the newborn. *Arch Dis Child* 1972; 47(256) : 845-8.
51. Roux ME, McWilliams M, Phillips-Quagliata JM, Weisz-Carrington P, Lamm ME. Origin of IgA-secreting plasma cells in the mammary gland. *J Exp Med* 1977; 146(5) : 1311-22.
52. Hanson LA, Silfverdal SA . The mother's immune system is a balanced threat to the foetus, turning to protection of the neonate. *Acta Paediatrica* 2009;982: 21–228
53. Newburg DS. Innate immunity and human milk. *J Nutr.* 2005; 135(5): 1308-12.

54. Kolb AF. Engineering immunity in the mammary gland. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; 7(2) : 123-34.
55. Hanson LA. Session 1: Feeding and infant development breast-feeding and immune function. *The Procd Nutr Soc* 2007; 66(3) : 384-96.
56. Xanthou M. Immune protection of human milk. *Biol Neonate* 1998; 74(2) : 121-33.
57. Hanson LÅ, Silfverdal S-A , Hahn-Zoric M, L. Håversen, Baltzer IM, Moisei M at al. Immune Function. In: Goldberg G, Prentice A, Prentice A, Filteau S and S Kirsten, editors. *Breast-Feeding: Early influences on later health*. Available from: URL:<http://www.springerlink.com/content/q0u3t12656787514>
58. Bernt KM, Walker WA. Human milk as a carrier of biochemical messages *Acta paediatrica* (Oslo, Norway: 1992) Supplement 1999; 88(430) : 27-41.
59. Gustafsson L, Hallgren O, Mossberg AK, Pettersson J, Fischer W, Aronsson A, et al. HAMLET kills tumor cells by apoptosis: Structure, cellular mechanisms and therapy the *J Nut* 2005; 135(5) : 1299-303.
60. Kunz C, Rudloff S. Potential anti-inflammatory and anti-infectious effects of human milk oligosaccharides. *Adv Exp Med Biol* 2008;606:455-65.
61. Bernt KM, Walker WA. Health promoting aspects of milk oligosaccharides *Acta paediatrica Supp* 1999; 88(430) : 27-41.
62. Newburg DS. Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization . *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30 Suppl 2:S8-17
63. Fornarini B, Iacobelli S, Tinari N, Natoli C, De Martino M, Sabatino G. Human milk 90K (Mac-2 BP): Possible protective effects against acute respiratory infections. *Clinic Exp Immunol* 1999; 115(1) : 91-94.
64. Garofalo R. Cytokines in human milk. *J Pediatr* 2010;156(2 Suppl):S36-40.

65. Bertotto A, Castellucci G, Radicioni M, Bartolucci M, Vaccaro R. CD40 ligand expression on the surface of colostral T cells. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1996; 74(2) : F135-6.
66. Pabst HF. Immunomodulation by breast-feeding. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16(10) : 991-5.
67. Wheeler TT, Hodgkinson AJ, Prosser CG, Davis SR. Immune components of colostrum and milk—A Historical Perspective. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2007; 12(4) : 237-47.
68. Sone S, Tsutsumi H, Takeuchi R, Matsuda K, Imai S. Enhanced cytokine production by milk macrophages following infection with respiratory syncytial virus. *J Leukoc Biol* 1997; 61(5) : 630-6.
69. Jeppesen DL, Hasselbalch H, Lisse IM, Ersbøll AK, Engelmann MD. T-lymphocyte subsets, thymic size and breastfeeding in infancy. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15(2) : 127-32.
70. Jackson KM, Nazar AM. Breastfeeding, the immune response, and long-term health. *J Am Osteopath Assoc* 2006; 106(4) : 203-7.
71. WHO Collaborative Study Team on the Role of Breastfeeding on the Prevention of Infant Mortality. Effect of breastfeeding on infant and child mortality due to infectious diseases in less developed countries: a pooled analysis. *Lancet* 2000; 355(9202) : 451-5.
72. Bahl R, Frost C, Kirkwood BR, Edmond K, Martines J. Infant feeding patterns and risks of death and hospitalization in the first half of infancy: multicentre cohort study. *Bull World Health Organ* 2005; 83(6) : 418-26.
73. Edmond KM, Zandoh C, Quigley MA, Amenga-Etego S, Owusu-Agyei S. Delayed breastfeeding initiation increases risk of neonatal mortality. *Pediatrics* 2006; 117(3) : e380-6.
74. el-Mohandes AE, Picard MB, Simmens SJ, Keiser JF. Use of human milk in the intensive care nursery decreases the incidence of nosocomial sepsis. *J Perinatol* 1997; 17(2) : 130-4.

75. Ashraf RN, Jalil F, Zaman S, Karlberg J, Khan SR, Lindblad BS, et al. Breast feeding and protection against neonatal sepsis in a high risk population. *Arch Dis Child*. 1991;66(4):488-90.
76. Kramer MS, Guo T, Platt RW, Sevkovskaya Z, Dzikovich I. Infant growth and health outcomes associated with 3 compared with 6 mo of exclusive breastfeeding. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(2) : 291-5.
77. Quigley MA, Cumberland P, Cowden JM, Rodrigues LC. How protective is breast feeding against diarrhoeal disease in infants in 1990s England? A case-control study. *Arch Dis Child* 2006; 91(3) : 245-50.
78. Chantry CJ, Howard CR, Auinger P. Full breastfeeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children. *Pediatrics* 2006; 117(2) : 425-32.
79. Aniansson G, Alm B, Andersson B, Håkansson A, Larsson P, Nylén O, et al. A prospective cohort study on breast-feeding and otitis media in Swedish infants. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13(3) : 183-8.
80. Sipilä M, Karma P, Pukander J, Timonen M, Kataja M. The Bayesian approach to the evaluation of risk factors in acute and recurrent acute otitis media. *Acta Otolaryngol* 1988; 106(1-2) : 94-101.
81. Duffy LC, Faden H, Wasielewski R, Wolf J, Krystofik D. Exclusive breastfeeding protects against bacterial colonization and day care exposure to otitis media. *Pediatrics* 1997; 100(4) : E7.
82. Furman L, Taylor G, Minich N, Hack M. The effect of maternal milk on neonatal morbidity of very low-birth-weight infants. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003; 157(1) : 66-71.
83. Hylander MA, Strobino DM, Dhanireddy R. Human milk feedings and infection among very low birth weight infants. *Pediatrics* 1998; 102(3) : E38.
84. Ronnestad A, Abrahamsen TG, Medbo S, Reigstad H, Lossius K. Late-onset septicemia in a Norwegian national cohort of extremely premature infants receiving very early full human milk feeding. *Pediatrics* 2005; 115(3) : e269-76.

85. McGuire W, Anthony MY. Donor human milk versus formula for preventing necrotising enterocolitis in preterm infants: systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88(1) : F11-4.
86. Lucas A, Cole TJ. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *Lancet* 1990; 336(8730) : 1519-23.
87. Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C. Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. *Pediatrics* 1999; 103(6 Pt 1):1150-7.
88. Schanler RJ, Lau C, Hurst NM, Smith EO. Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers' own milk in the feeding of extremely premature infants. *Pediatrics* 2005; 116(2) : 400-6.
89. Smith CW, Goldman AS. The cells of human colostrum. I. In vitro studies of morphology and functions. *Pediatr Res* 1968; 2(2) : 103-9.
90. Parmely MJ, Beer AE, Billingham RE. In vitro studies on the T-Lymphocyte population of human milk. *J Exp Med* 1976; 144(2) : 358-70.
91. Xanthou M. Human milk cells. *Acta Paediatr.* 1997; 86(12) : 1288-90.
92. Crago SS, Prince SJ, Pretlow TG, McGhee JR, Mestecky J. Human Colostral Cells I. Separation and characterization. *Clin Exp Immunol* 1979; 38(3) : 585-597.
93. Dawarkadas AM, Saha K, Mathur NB. A comparative study of cells and anti-microbial. Proteins in colostrum of mothers delivering pre and full-term babies. *J Trop Pediatr* 1991; 37(5) : 214-9.
94. Kirsi-Marjut Järvinen. Human Milk immunology in relation to the development of cow's milk allergy in the breast-fed. Academic Dissertation, Helsinki: University of Helsinki, 2000.
95. Schlesinger L, Muñoz C, Arevalo M, Arredondo S, Mendez G. Functional capacity of colostrum leukocytes from women delivering prematurely. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1989; 8(1) : 89-94.

96. Robinson JE, Harvey BA, Soothill JF. Phagocytosis and killing of bacteria And yeast by human milk cells after opsonisation in aqueous phase of milk. *Br Med J* 1978; 1(6125) : 1443-5.
97. Weaver EA, Goldblum RM, Davis CP, Goldman AS. Enhanced immunoglobulin, a release from human colostral cells during phagocytosis. *Infect Immun* 1981; 34(2) : 498-502.
98. Pickering LK, Cleary TG, Caprioli RM. Inhibition of human polymorphonuclear leukocyte function by components of human colostrum and Mature Milk. *Infect Immun* 1983; 40(1) : 8-15.
99. Buescher ES, McIlheran SM. Polymorphonuclear leukocytes and human colostrum: Effects of in vivo and in vitro exposure. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 17(4) : 424-33.
100. Pickering LK, Cleary TG, Kohl S, Getz S. Polymorphonuclear leukocytes of human colostrum. I. Oxidative metabolism and kinetics of killing of radiolabeled *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1980; 142(5) : 685-93.
101. 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(4) : 306-1.
102. Lindstrand A, Smedman L, Gunnlaugsson G, Troye-Blomberg M. Selective compartmentalization of gammadelta-T lymphocytes in human breastmilk. *Acta Paediatr* 1997; 86(8):890-1.
103. Keller MA, Turner JL, Stratton JA, Miller ME. Breast milk lymphocyte response to K1 antigen of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1980; 27(3) : 903-9
104. Richie ER, Steinmetz KD, Meistrich ML, Ramirez I, Hilliard JK. T lymphocytes in colostrum and peripheral blood differ in their capacity to form thermostable E-rosettes. *J Immunol* 1980; 125(5) : 2344-6.

105. Richie ER, Bass R, Meistrich ML, Dennison DK. Distribution of T lymphocyte subsets in human colostrum. *J Immunol* 1982; 129(3) :1116-9.
106. Jain L, Vidyasagar D, Xanthou M, Ghai V, Shimada S, Blend M. In vivo distribution of human milk leucocytes after ingestion by newborn baboons. *Arch Dis Child* 1989;64(7 Spec No):930-3.
107. Ogra SS, Weintraub D, Ogra PL. Immunologic aspects of human colostrum and milk. III. Fate and absorption of cellular and soluble components in the gastrointestinal tract of the newborn. *J Immunol* 1977; 119(1) : 245-8.
108. Tuaillon E, Valea D, Becquart P, Al Tabaa Y, Meda N, Bollore K, et al. Human milk-derived B cells: a highly activated switched memory cell population primed to secrete antibodies. *J Immunol* 2009; 182(11) : 7155-62.
109. Ahlstedt S, Carlsson B, Hanson LA, Goldblum RM. Antibody production by human colostrum cells. I. Immunoglobulin class, specificity, and quantity. *Scand J Immunol* 1975; 4(5-6) : 535-9.
110. Järvinen K-M, Suomalainen H. Leucocytes in human milk and lymphocyte subset in cow' milk-allergic infants. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:243-254.
111. Piper KM, Berry CA, Cregan MD. The bioactive nature of human breastmilk. *Breastfeed Rev.* 2007; 15(3) : 5-10.
112. Erber W. Human Leucocyte Differentiation Antigens: Review of the CD Nomenclature. *Pathology* 1990;22(2):61-9.
113. Lane A, Swindell A, Bartram S. Introduction to flow cytometry. 4th ed. Cambridge University Press, 2004.
114. Keneey S, Schmalstieg FC, Polkowitz KH, Rudloff E, Le B, Goldman AS. Activated neutrophils and neutrophil activators in human milk: increased expression of L-selectin. *J Leukoc Biol* 1993;54(2):97-104.
115. Hawkes JS, Brayn DL, Gibson RA. Cytokine production by human milk cells and peripheral blood mononuclear cell from the same mothers. *J Clin Immunol* 2002;22(6):338-44.

116. Mathur NB, Dwarkadas AM, Sharma LK, Saha K, Jain N. Anti-infective factors in preterm human colostrum. *Acta Paediatr Scand* 1990;79(11):1039-44.
117. Miller LG, Goldstein G, Murphy M, Ginns LC. Reversible alterations in immunoregulatory T cell in smoking. Analysis by monoclonal antibodies and flow cytometry. *Chest* 1982;82: 526-529.
118. Zanorda V, Nicolussi S, Cavallin S, Trevisanuto D, Barbato A, Faggian D et al. Effect of maternal smoking on breast milk Interleukin-1 α , β -endorphin and leptin concentrations. *Environ Health Perspect* 2005;113(10):1410-3.

8. ÖZET

Kolostrumda Lökosit ve Lökosit Alt Grup Sayımı ile Prenatal, Natal Ve Klinik Risk Faktörlerinin İlişkisi

Anne sütü, vitamin, mineral, karbonhidrat, yağ, protein, enzim ve canlı hücreler içeren benzersiz bir sıvıdır. Hasta ve prematüre yenidoğanlar dahil olmak üzere tüm bebeklerin beslenmesinde ilk seçenek anne sütüdür. Anne sütünün bağışıklık sistemini destekleyici ve enfeksiyonlardan koruyucu içeriği, yılda bir milyon çocuğun ölmesini önleyen, ucuz, güvenilir, ağız yolu ile alınabilen ve soğuk zincir gerektirmeyen bir aşı gibidir. Çalışmalar anne sütünün içinde bulunan hücrelerin, immünglobulinlerin ve diğer faktörlerin bağışıklık sisteminin gelişmesindeki rolünü ve enfeksiyonlardan koruma özelliğini göstermiştir. Anne sütünün yağ, protein, karbonhidrat, vitamin-mineral içeriğinin annenin prenatal ve natal özelliklerine göre değişimini inceleyen çok sayıda çalışma varken, bu faktörlerin hücre içeriğine etkisini inceleyen çalışmalara az rastlanmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, zamanından önce doğum yapan annelerin sütlerinin hücre sayısı ve lenfosit alt grup değeri, zamanında doğum yapan annelerin sütlerine göre yüksek bulunmuştur. Biz çalışmamızda, prematüre ve zamanında doğan yenidoğanların annelerinin sütlerinin canlı hücre içeriğini, lenfosit alt gruplarını ve bu değerlerin perinatal ve klinik risk faktörleri ile ilişkisini araştırdık.

Çalışmamızda kolostrum örneklerinin lökosit sayısını, formül ve lökosit yüzey belirteç yüzdeleri annenin yaşı, gebelik sonrası VKİ ve doğum şekli etkilemez iken; annenin birden fazla gebelik geçirme durumunda anne sütündeki, CD45RO ve CD19 yüzde değerlerini arttığını bulduk. Aynı zamanda annenin ilaç

kullanması anne sütündeki lökosit sayısını azaltırken, annenin sigara kullanımı anne sütündeki CD16-56 yüzdesini yükselmekte idi. Annenin zamanından önce doğum yapması anne sütü lökosit sayısını etkilemez iken, annenin gebelik haftası ve anne sütü makrofaj yüzdesi arasında negatif, CD16-56 yüzdesi arasında pozitif yönde ilişki olduğunu saptadık. Ayrıca süt olgunlaştıkça anne sütündeki CD4, CD3 yüzdesi ve lökosit sayısı azalmakta iken, CD 14 yüzdesi artmakta olduğunu bulduk.

2500 gramın altında bebeğe sahip annelerin, kolostrum örneğinde CD16-56 ve CD45RO yüzdeleri düşük, serviste yatan bebeği olan annenin kolostrumunda ise makrofaj yüzdesinin yüksek, nötrofil yüzdesinin düşük olduğunu bulduk.

Sonuçta anne sütü lökosit sayısı zaman, geçirilen gebelik sayısı ve kullanılan ilaçlardan etkilenirken, lökosit içeriği ise daha çok bebeğin ihtiyaç durumuna göre değişmektedir.

Anahtar kelimeler: Anne sütü, Anne sütü hücreleri, Lökosit yüzey belirteci

9.SUMMARY

The Relationships Between Leucocyte count and Leucocyte Subgroups in colostrum with the Prenatal, Natal Clinical Risk Factors

Human milk is a unique fluid that contains several vitamin, mineral, carbohydrate, lipid, protein, enzyme and cells. First choice for infant nutrition is mother milk including sick and premature neonates. The protective and immunologic properties of human milk make it a cheap, safe oral vaccine which doesn't need cold chain so prevent one billion children deaths in a year. It demonstrated that, cell, immunoglobulins and other factors in human milk have role on improving immune system and preventing infections. Reports are indicated the roles of improving immune system and preventing infections cells, immunoglobulins and other factors in mother milk. Meanwhile there are many reports investigating differences of lipid, protein, carbohydrate, vitamin, mineral contents of human milk regarding to prenatal, natal and the other risk factors. However there are limited studies about the effects of those factors on cellular characteristics of human milk. In our study we investigated the relationships between cellular content and lymphocyte subgroup of human colostrum and perinatal, natal and other clinical risk factors.

In our study leucocyte count, differential count and leucocyte surface marker percentage are not affected with mothers' age, postpartum BMI and delivery type whileas multiparity leads to an increase of CD45RO and CD19 percentage. Concurrently drug using decreases mother milk leucocyte count

however smoking increases CD16-56 percentage. While preterm delivery doesn't affect human milk leucocyte count, there is negative correlation between gestational age and human milk macrophage percentage and positive correlation with CD16-56. Moreover with maturation of human milk CD3, CD4 percentage and leucocyte count decreases but CD14 percentage increases. Mother's whose offsprings' weighted below 2500 gr had lower CD45RO and CD16-56 percentage in their colostrum comparative to those above 2500 gr. In colostrum of mothers who have a sick baby, macrophage percentage is higher but neutrophil percentage is lower. Eventually mother milk leucocyte count is affected by sampling time, parity and maternal drugs consumption.

Keywords: Human milk, Human milk cells, Leucocytes surface marker

10.EKLER

Ek-1

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

İLAÇ DIŞI ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

“Kolostrumda Lökosit Ve Lökosit Alt Grup Sayımı İle Prenatal, Natal Ve Klinik Risk Faktörlerinin İlişkisi” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır. Çocuğunuzun ve kendinizin çalışmaya katılması konusunda karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapıldığını, çocuğunuz ve sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini ve rahatsızlıklarını bilmeniz önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırın ve bu bilgileri ailenizle ve/veya doktorunuzla tartışın. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir.

Bu çalışmanın amacı, erken ve zamanında doğan bebeklerin annelerinin sütündeki canlı hücre sayısını belirlemek, bu sayının emzirme gününe göre değişimini saptamaktır. Anne sütü canlı hücre içeriği ile annenin, gebelik ve doğum sayısı, doğum şekli, yüksek tansiyon, sigara, diyabet, ilaç kullanımı ve erken doğan bebeğin klinik risk faktörlerinin ilişkisini belirlemektir. Çocuğunuzun ve kendinizin bu çalışmada yer alıp almaması tamamen size

bağlıdır. Eğer katılmaya karar vererseniz bu yazılı bilgilendirilmiş olur formu imzalanmak için size verilecektir. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğinizi herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, doktorunuz tarafından sizin için en uygun tedavi planı uygulanacaktır. Aynı şekilde çalışmayı yürüten doktor çalışmaya devam etmenizin sizin için yararlı olmayacağına karar verebilir ve sizi çalışma dışı bırakabilir, bu durumda da sizin için en uygun tedavi seçilecektir. Bu çalışmaya katılması durumunda çocuğunuzun tedavi planında değişiklik yapılmayacaktır.

Anne sütünüz doğumdan sonraki ilk 5 gün içinde bir kez elektrikli pompa yardımı ile sağılarak, steril tüplere konulacaktır. Alınan sütler ilgili laboratuvarlarda çalışılarak anne sütünüzdeki hücre içeriği saptanacaktır. Çocuğunuzdan çalışma için hiç kan alınmayacaktır. Çocuğunuzun ve kendinizin çalışmaya katılmasının riski yoktur. Her durumda göreceğiniz olası bir zarar karşısında sorumlu araştırmacı Doç. Dr. Canan TÜRKYILMAZ ve araştırmacı Dr. S. Elif ÖZYAZICI zararınızı karşılamayı taahhüt etmektedir.

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÜTF Çocuk sağlığı ve hastalıkları Anabilim dalında, Dr. S. Elif ÖZYAZICI tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim). Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr.Elif Özyazıcı 05425271164 – Öveçler 4, cadde 26 sok. 26/18 Ankara’dan arayabileceğimi biliyorum. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, ünvanı:

Ad soyadı, ünvanı:

Adres:

Adres:

Tel:

Tel:

İmza:

İmza:

Ek-2

Çalışmaya katılan Annenin

Adı:

Soyadı:

Hastane dosya numarası:

Doğum yaptığı tarih:

Anne sütünün alım saati:

Boy:

Kilo:

VKI:

Gebelikte kilo alımı:

Yaş:

Gebelik ve doğum sayısı:

Doğum şekli:

Hipertansiyon-preeklampsi varlığı

Troid hastalığı öyküsü:

EMR:

Çoğul gebelik öyküsü:

Sigara:

İlaç öyküsü:

Diyabet öyküsü:

Antenatal steroid kullanımı

Çalışmaya katılan bebeğin

Soyadı:

Doğum Tarihi:

Hastane dosya numarası:

Gebelik haftası:

Doğum ağırlığı:

Cinsiyeti:

Yenidoğan servisine yatış öyküsü:

Yenidoğan servisine yatmış ise

Serviste yatış süresi:

Antibiyotik kullanım süresi:

O₂ kullanım süresi:

Enfeksiyon geçirme durumu:

11. ÖZGEÇMİŞ

Araştırmacı : Dr. S.Elif ÖZYAZICI

Doğum Tarihi: 02.Ağustos.1980

Doğum Yeri: Ankara

Medeni Hali: Bekar

Eğitim Durumu:

2004-2010: G. Ü.T.F. Pediatri Anabilim Dalında, Uzmanlık Eğitimi

1997-2003: Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Trabzon

1994-1997: Ankara Kocatepe Mimar Kemal Lisesi, Ankara

1991-1994: Ankara Kocatepe Mimar Kemal Lisesi, Ankara

1987-1991: Ankara Kocatepe Mimar Kemal İlkokulu, Ankara

Yabancı Dil : İngilizce