

**T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ  
ÇOCUK ONKOLOJİ BİLİM DALI**

**KEMOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA GLUTAMİN  
VE/VEYA GRANÜLOSİT KOLONİ STİMÜLAN FAKTÖR  
UYGULAMALARININ MİYELOSUPRESYON VE RATLARIN  
AĞIRLIKLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YRD. DOÇ. DR. A. AYKAN ÖZGÜVEN**

**PEDİYATRİK ONKOLOJİ YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**TEZ YÖNETİCİSİ**

**PROF. DR. KAMER MUTAFOĞLU**

**İZMİR 2010**



**T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ  
ÇOCUK ONKOLOJİ BİLİM DALI**

**KEMOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA GLUTAMİN  
VE/VEYA GRANÜLOSİT KOLONİ STİMÜLAN FAKTÖR  
UYGULAMALARININ MİYELOSUPRESYON VE RATLARIN  
AĞIRLIKLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**PEDİYATRİK ONKOLOJİ YANDAL UZMANLIK TEZİ**

**YRD. DOÇ. DR. A. AYKAN ÖZGÜVEN**

**TEZ YÖNETİCİSİ**

**PROF. DR. KAMER MUTAFOĞLU**

**İZMİR 2010**

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Tablo Listesi	iii
Şekil Listesi	v
Terimler ve Kısaltmalar	vi
Teşekkür	vii
Türkçe ve İngilizce Özet .....	1
Amaç .....	5
Genel Bilgiler .....	8
Olgular ve Yöntem.....	36
Bulgular .....	41
Tartışma .....	62
Sonuçlar .....	74
Kaynaklar .....	77

## TABLO LİSTESİ

- Tablo 1. Nötropeni ile birlikte olan durumlar
- Tablo 2. Kanıt düzeyine göre nötropeniye yol açan ilaçlar
- Tablo 3. Kemoterapötik İlaçlara Bağlı Miyelosupresyonun Başlama ve Düzelme Zamanları
- Tablo 4. Miyelosupresyon için toksisite derecelendirmesi
- Tablo 5. Nötropenik ateşe neden olan etkenler
- Tablo 6. İfosfamid yan etkilerinin ortaya çıkış süreleri
- Tablo 7. Kontrol grubu ve ifosfamid uygulanan gruptaki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayı ortalamaları
- Tablo 8. Grup 2 ve 3 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları
- Tablo 9. Grup 2 ve 4 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları
- Tablo 10. Grup 2 ve 5 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları
- Tablo 11. Grup 3 ve 4 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Tablo 12. Grup 3 ve 5 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Tablo 13. Grup 4 ve 5 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Tablo 14. Grupların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki lökopeni, nütropeni ve lenfopeni oranları

Tablo 15. Grupların çalışma süresince ölçülen ağırlıklarının ortalamaları ve standart sapmaları.

Tablo 16. Grup 2 ve Grup 3 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri.

Tablo 17. Grup 2 ve Grup 4 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Tablo 18. Grup 2 ve Grup 5 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Tablo 19. Grup 3 ve Grup 4 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Tablo 20. Grup 3 ve Grup 5 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Tablo 21. Grup 4 ve Grup 5 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. G-CSF in yapısı

Şekil 2. Glutaminin kimyasal yapısı ve glutamattan glutamin sentetaz enzimi yoluyla sentezi

Şekil 3. Grup 1 ve 2 deki ratlara uygulanacak protokol

Şekil 4. Grup 3, 4 ve 5 teki ratlara uygulanacak protokol

Şekil 5. Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit sayıları

Şekil 6. Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama nötrofil sayıları

Şekil 7. Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lenfosit sayıları

Şekil 8. Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama monosit sayıları

Şekil 9. Çalışma süresince gruptaki ratların ortalama ağırlıklarındaki değişiklikler

## TERİMLER VE KISALTMALAR

KT	Kemoterapi
NA	Nötropenik Ateş
G-CSF	Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
ANC	Mutlak nötrofil sayısı
RT	Radyoterapi
HL	Hodgkin lenfoma
NHL	Non-hodgkin lenfoma
KHAK	Küçük hücreli akciğer kanseri
ASCO	American Society of Clinical Oncology
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FDA	Food and Drug Administration
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör
TPN	Total parenteral nütrisyon
AML	Akut myeloid lösemi



## TEŞEKKÜR

Eğitim sürem boyunca yetiŐmemde emeği geçen Çocuk Onkoloji Bilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Faik Sarıalioğlu, Prof. Dr. Nur Olgun ve Prof. Dr. Kamer Mutafoğlu başta olmak üzere tüm hocalarıma, tez konumun seğıiminde ve çalıŐmamın yürütülmesinde katkılarını esirgemeyen tez danıŐmanım Prof. Dr. Kamer Mutafoğlu'na, değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Nur Olgun ve Yrd. Doç. Dr. Rüksan Çehreli'ye, DEÜTF Hayvan Laboratuvarı'ndaki çalıŐmalarımda gösterdikleri ilgi ve yardımlardan dolayı Prof. Dr. Osman Yılmaz'a teşekkür ederim.

## 1. ÖZET

### KEMOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA GLUTAMİN VE/VEYA GRANÜLOSİT KOLONİ STİMÜLAN FAKTÖR UYGULAMALARININ MİYELOSUPRESYON VE RATLARIN AĞIRLIKLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Günümüzde kanser tedavisinde uygulanan yoğun kemoterapi rejimleri ağır miyelosupresyona yol açmaktadır. Bu nedenle kemoterapi uygulanan kanser hastaları nötropenik infeksiyonlar başta olmak üzere tedavi ile ilişkili çeşitli komplikasyonların gelişimi açısından risk taşımaktadırlar. Bu deneysel çalışmada tek başına veya granülosit koloni stimulan faktör ile kombine verilen glutaminin, ifosfamid sonrası gelişen miyelosupresyon ve kilo alımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

**Olgular ve Yöntem:** Wistar cinsi, sağlıklı 33 ratla beş grup oluşturuldu. Ratlardan üç kez tam kan sayımı ve periferik yayma yapıldı, ağırlıkları 5 gün aralarla takip edildi. Grup 1: Kontrol grubu sadece standart diyetle beslendi, Grup 2: İfosfamid (125mg/kg), Grup 3: İfosfamid (125mg/kg) ve granülosit koloni stimulan faktör (10µg/kg), Grup 4: İfosfamid (125mg/kg) + glutamin (0,5g/kg), Grup 5: İfosfamid (125mg/kg) + glutamin (0,5g/kg) + granülosit koloni stimulan faktör (10µg/kg) uygulandı. Glutamin, intraperitoneal tek doz ifosfamid öncesi enteral yolla 10 gün, granülosit koloni stimulan faktör kemoterapi sonrası subkutan 8 gün süreyle uygulandı.

**Bulgular:** Kemoterapinin 3. günü gruplar lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları ile sitopeni oranları açısından karşılaştırıldığında enteral glutaminin miyelosupresyon üzerinde olumlu etkisinin olmadığı görüldü. Benzer şekilde kemoterapinin 8. gününde de glutamin lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları üzerinde de olumlu etkisinin olmadığı görüldü. Sekizinci gün sitopeni oranları değerlendirildiğinde de glutaminin kemoterapi sonrası lökopeni, nötropeni ve monositopeni oranları üzerinde olumlu etkisi olmadığı, bununla birlikte glutamin ve ifosfamid alan Grup 4 ün lenfopeni oranının, sadece ifosfamid uygulanan Grup 2 den daha düşük olduğu görüldü.

Ratların çalışma süresince ağırlıkları değerlendirildiğinde glutamin desteği alan Grup 4 ve 5 teki ratların kilo alımının, glutamin almayan diğer gruplardaki ratlara göre daha iyi olduğu, ancak bazı gruplarda glutamin kesildikten sonra bu olumlu etkinin ortadan kalktığı görüldü.

**Sonuç:** Bu çalışmada kemoterapi öncesi verilen glutaminin konvansiyonel kemoterapi sonrası lökosit, nötrofil ve monosit sayıları üzerinde olumlu bir etkisinin olmadığı, granülosit koloni stimulan faktör ile birlikte uygulandığında da sinerjistik bir etki göstermediği görülmüştür. Bununla birlikte çalışmamızda, glutaminin lenfosit sayıları üzerinde olumlu etkisinin olabileceği ancak bunun değerlendirilmesi için daha çok sayıda olgu içeren yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmüştür. Çalışmamızda ayrıca kemoterapi uygulanan hastalara tedavi öncesi dönemde verilen enteral glutaminin kilo alımını arttırabileceği görülmüştür, ancak bu etkinin glutamin kesildikten sonra ortadan kalkması, desteğin kemoterapinin uygulandığı süreçte de devam etmesi gerektiğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Glutamin, kemoterapi, miyelosupresyon, kilo alımı

## 1. SUMMARY

### REVEALING THE EFFECTS OF GLUTAMINE AND/OR GRANULOCYTE STIMULATING FACTOR ON MYELOSUPPRESSION AND WEIGHT GAIN IN RATS EXPOSING CHEMOTHERAPY

**Objectives:** At the present time, administering intensive chemotherapy protocols in cancer management cause severe myelosuppression. So, patients with cancer are risky for the development of several complications related with chemotherapy, such as neutropenic infections. In this experimental study, we investigated the effects of glutamine and/or granulocyte colony stimulating factor on myelosuppression and weight gain in rats exposing ifosfamide

**Materials and methods:** 33 rats were taken into this study. Complete blood counts and differentials of the rats were performed three times and the weight of the rats were measured every five days during the study. Group 1: The rats in the control group were fed with normal diet, Group 2: The rats in this group were fed with normal diet and also taken ifosfamide (125mg/kg), Group 3: The rats in this group were fed with normal diet and also taken ifosfamid (125mg/kg) and granulocyte colony stimulating factor (10µg/kg), Group 4: The rats in this group were fed with normal diet and with glutamine (0,5g/kg) and also taken ifosfamid (125mg/kg), Group 5: The rats in this group were fed with normal diet and with glutamine (0,5g/kg) and also taken ifosfamid (125mg/kg) and granulocyte colony stimulating factor (10µg/kg). Glutamine was given enterally before the administration of ifosfamide for 10 days and granulocyte colony stimulating factor was administered subcutaneously after the chemotherapy for eight days.

**Results:** We could not find any significant positive effect of enteral glutamine, when the groups were compared in terms of the number of leucocyte, neutrophil, lymphocyte and monocyte and the ratio of the cytopenia on the third day of chemotherapy. Similarly there is no significant positive effect of glutamine on the number of leucocyte, neutrophil, lymphocyte and monocyte on the 8th of chemotherapy. When the cytopenia ratios of 8th day of the chemotherapy were evaluated, we could not find any positive effect of glutamine on leucopenia,

neutropenia or monocytopenia ratios but the ratio of lymphopenia was lower in the group supported by glutamine after chemotherapy (group 4) when compared with the group exposing chemotherapy (group 2) alone.

When the weights of the rats evaluated through the study, it was found that the mean weight for rats in the groups which were supported by glutamine before chemotherapy (group 4 and group 5) were higher than those in the other groups. We found that this positive effect of glutamine has disappeared in the group 4 after the cessation of glutamine.

**Conclusion:** In this study, we found that glutamine amino acid which was given before the chemotherapy didn't have any positive effect on the number of leucocytes, neutrophils or monocytes and also we could not find any additive effect between granulocyte colony stimulating factor and glutamine. On the otherhand, glutamine could have a positive effect in the recovery of lymphocytes after chemotherapy, for this reason new studies including higher number of subjects is needed. Additionally, our study showed that enterally glutamine which was given before chemotherapy may accelerate the weight gain. But it seems necessary to continue glutamine support simultaneously with chemotherapy, because of the diminishing of this positive effect after the glutamine cessation.

**Key words:** Glutamine, chemotherapy, myelosuppression, weight

## 2. GİRİŞ VE AMAÇ

Miyelosupresif kemoterapi (KT) alan kanser hastaları nötropenik ateş (NA), invazif infeksiyonların gelişimi ve infeksiyonla ilişkili morbidite ile mortalite açısından risklidirler. Nötropeni ciddi bakteriyel ve fungal infeksiyonların gelişimi için major risk faktörüdür. Diğer yandan günümüzde kullanılan yoğun kemoterapi protokolleri nötrofil fonksiyonlarını da olumsuz yönde etkilenmektedir. Destek tedavi olanaklarının gelişiminden önce nötropenik infeksiyonlar kanser hastalarında en önemli erken mortalite ve morbidite nedeniydi. Günümüzde koloni uyarıcı edici faktörlerle birlikte diğer destek tedavi olanaklarının uygun kullanımı ve febril nötropenide ampirik antibiyotik kombinasyonlarının erken başlanması ile infeksiyonla hasta kaybı büyük oranda azalmıştır.

Granülosit koloni uyarıcı faktörün (G-CSF) granülosit yapımını uyararak KT sonrası nötropeni süresini kısalttığı ve nötropeniye bağlı komplikasyonları azalttığı gösterilmiştir (1). Ancak G-CSF'ün nötropenik infeksiyon sıklığını azaltmasına rağmen tedavi ile ilişkili mortalite oranlarını değiştirmemesi ve G-CSF kullanım maliyetinin yüksek olması nedeniyle immun fonksiyonların düzeltilmesi ve nötropeni süresinin kısaltılması amacıyla ek tedavi yöntemleri araştırılmaktadır (2). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, immun sistem hücrelerinin sayı ve fonksiyonunu arttırmak amacıyla uygulanan özgün besin öğeleri desteğinin kanser hastalarının immun sistemleri üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (3). Bu besin öğeleri immunonutrient olarak adlandırılmaktadır ve en önemlilerinden biri de glutamindir.

Glutamin öncelikle kas dokusunda olmak üzere birçok dokuda belli koşullara bağlı olarak sentezlenen ve bağıışıklığı arttırıcı etkisi olan bir aminoasittir (4, 5). Lenfosit, enterosit ve fibroblast gibi hızlı bölünen hücreler için önemli bir amino asit olup, lenfosit proliferasyonu ve fonksiyonlarında önemli rol aldığı, makrofaj ve nötrofillerde reaktif oksijen metabolitlerinin üretimi yanısıra, nötrofillerin fagositoz yeteneklerini arttırdığı gösterilmiştir (4). Glutaminin vücuttaki sentezi enfeksiyon gibi katabolik stres durumlarda gereksinimi karşılayamamakta, katabolik streste intrasellüler glutamin düzeyleri belirgin olarak düşmekte ve glutamin vücutta esansiyel hale gelmektedir (4, 6, 7, 8). Çeşitli stres koşullarında uygulanan glutamin desteğinin B ve T lenfosit popülasyonlarını koruduğu gösterilmiştir.

Yapılan klinik çalışmalarda yanık, postoperatif dönem ve yenidoğan sepsisinde glutamin uygulanması ile lenfosit sayılarının arttığı, nötrofil ve monosit fonksiyonlarının düzeldiğine dair sonuçlar bildirilmiştir (9, 6, 10).

Konvansiyonel dozda KT uygulanan hastalarda bulantı, iştahsızlık, mukozit gibi sorunlar ve primer hastalığın neden olduğu katabolik stres gıda alımını azaltmakta ve hastaların bir kısmına enteral yada parenteral nutrisyon desteği gerekmektedir (11, 12). Ayrıca maliyn neoplasmlarda salınan doku nekroz faktörünün serum glutamin düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir (13).

Lin ve ark. ları (3) KT uygulanan ratları, glutaminin öncülü olan glutamattan zengin diyet ile beslediklerinde, immun yanıtta diyetdeki glutamat miktarı ile orantılı olarak artış saptamışlardır. Yüksek doz KT ve kök hücre nakli uygulanan hastalarda yapılan randomize çalışmalarda, parenteral glutamin desteği alan hastalarda lenfosit sayısı ve CD4/CD8 oranlarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (6). Glutamin desteğinin konvansiyonel dozlarda KT uygulanan hastalarda immün sistem ve tedaviye ikincil miyelosupresyon üzerindeki etkisini araştıran iki çalışmanın sonuçları ise çelişkilidir; Zaanen ve ark. nın (11) hematolojik maliyn hastalık tanısı ile konvansiyonel KT uygulanan hastalarında glutamin desteğinin, miyelosupresyon üzerinde herhangi bir olumlu etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Buna karşılık Scheid ve ark.'nın (14) çalışmasında, akut miyeloid lösemi tanısı ile KT uygulanan hastalarda, glutamin alan grupta nötropeni süresi daha kısa bulunmuştur.

Glutaminin kanser hastalarında nitrojen retansiyonunu arttırdığı, kemoterapiye bağlı ishal ve mukozit gibi gastrointestinal sistem yan etkilerin şiddet ve süresini azaltabileceği gösterilmiştir (15, 16). Ancak glutaminin kemoterapi uygulaması sonrasında ortaya çıkan kilo kaybı üzerine olan etkisi konusunda yapılmış az sayıda çalışma olup sonuçlar çelişkilidir. Lin ve ark. larının (3) çalışmasında 20mg/kg metotreksat uygulanan ratlar farklı oranlarda glutamat içeren diyet ile beslenmişler, ancak diyeti glutamat içermeyen kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada KT sonrası gıda ve kilo alımı açısından fark saptanmamıştır. Van Zaanen ve ark. larının (11) hematolojik maliyn hastalığı nedeniyle yoğun KT verilen hastalarda yaptıkları prospektif çift kör çalışmada, total

parenteral nutrisyon sıvısına glutamin (26g/gün) eklenen grupta KT siklusu başına kilo alımının kontrol grubuna oranla belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak glutaminin KT alan hastalarda görülen miyelosupresyon ve kilo alımı üzerindeki etkisi konusunda yeterli çalışma yoktur. Ayrıca İngilizce literatürde glutaminin KT ye sekonder miyelosupresyon üzerindeki etkisini araştıran hayvan çalışmasında yoktur. Bu nedenle, çocukluk çağı solid tümörlerinin tedavisinde sık olarak kullandığımız, uzun süreli miyelosupresyona ve yüksek oranda emetojenik olduğu için iştahsızlığa da neden olan ifosfamid ile hayvanda miyelosupresyon modeli oluşturularak, glutaminin miyelosupresyon ve KT sonrası kilo alımı üzerindeki etkisini araştırmak istedik.

Planladığımız bu çalışmada, intravenöz ifosfamid uygulanarak miyelosupresyon yaratılacak ratlara glutamin ve/veya G-CSF uygulanarak:

1. Kemoterapi öncesi enteral yolla verilen glutaminin, ifosfamide bağlı miyelosupresyonun derinliği (lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları ile lökopeni, nütropeni, lenfopeni ve monositopeni oranları) üzerindeki etkisinin araştırılması,
2. Kemoterapi öncesi enteral yolla verilen glutaminin, G-CSF ile birlikte verildiğinde ifosfamide bağlı miyelosupresyonun derinliğinin azalmasında additif etkisinin olup olmadığının araştırılması,
3. Kemoterapi öncesi enteral yolla verilen glutaminin, konvansiyonel dozda ifosfamid sonrası ratların ağırlıkları üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.



### 3. GENEL BİLGİLER

Solid tümörler ve lenfoproliferatif maliyn hastalıklar nedeniyle antineoplastik KT alan hastalar tedavi ile ilişkili çeşitli komplikasyonların gelişimi açısından risk taşırlar. Kanser tedavisinde kullanılmakta olan KT rejimleri tümör hücrelerinin üzerinde sitotoksik etki göstermelerinin yanında, öncelikle hızla bölünen mukoza ve kemik iliği hücreleri gibi sağlam dokuya ait hücreleri de etkilemekte ve sonuçta istenmeyen yan etkilere, ciddi komplikasyonlara, hatta hastanın kaybına yol açabilmektedir.

Kemoterapiye bağlı mielosupresyon kemik iliğindeki her üç hücre serisini, myeloid, eritroid ve megakaryositer, etkiler. Günümüzde kanser tedavisinde uygulanan yoğun KT rejimleri ağır mielosupresyona yol açmakta ve hastaların nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları uzun süre çok düşük düzeylerde seyretmektedir (17). Nötropeni infeksiyon gelişimine neden olmakta, dolayısıyla tedavi gecikmesi ve maliyet artışına yol açmaktadır. 1966 yılında Bodey ve ark. ları (18) nötrofil sayısının <1000/ml olması durumunda infeksiyon riskinin arttığını, bu sayı <500/ml indiğinde risk artışının iyice belirginleştiğini göstermişlerdir. Kanser hastalarında nötropenik infeksiyonlar destek tedavi olanaklarının gelişiminden önce en önemli erken mortalite ve morbidite nedeniydi. Günümüzde erken dönemde ampirik antibiyotik tedavilerinin başlanması ve destek tedavi olanaklarının gelişmesi ile bu konuda büyük ilerleme kaydedilmesine rağmen NA ve invazif infeksiyonlar kanser hastalarında halen yaşam kalitesini, mortalite oranlarını ve tedavi maliyetini etkilemektedir (19, 20).

Eritrosit sayısındaki düşme sonucu ortaya çıkan anemi halsizliğe yol açarak yaşam kalitesini ve performansı düşürmektedir. Kemoterapi ile ilişkili aneminin ana tedavisi eritrosit süspansiyonu transfüzyonlarının uygulanmasıdır. Ancak bu tedavi uygulamalarında transfüzyonla ilişkili komplikasyonlara ve ciddi mali yüke neden olmaktadır. Rekombinan eritropoetin tedavisi ilk kez 1989 yılında böbrek yetmezlikli hastalarda kullanıma girmiş olan ve erişkin kanser hastalarında KT ile ilişkili aneminin tedavisinde etkinliği gösterilmiş alternatif bir tedavi yöntemidir (17). Ancak kanserli çocuklarda eritropoetin ile anemi tedavisinin, tedavi yanıtı ve genel

sağkalım oranları üzerindeki etkisi henüz açıklık kazanmadığından rutin kullanıma girmemiştir.

Trombositopeni kanama ve transfüzyonla ilişkili komplikasyonlar nedeniyle ciddi morbidite ve hatta mortalitenin yanısıra, önemli ekonomik maliyetlere neden olmaktadır. Trombositopeninin temel tedavisi trombosit transfüzyonları olup, alternatif tedavi stratejileri ise kemoterapötik dozlarının azaltılması ve oprelvekin (21). Oprelvekin rekombinant insan interlökin -11 analogudur ve en önemli etkisi trombosit yapımını uyarmasıdır. Trombosit transfüzyonlarına alternatif olan ilk farmakolojik ajandır, ilk olarak 1998 yılında Food and Drug Administration tarafından nonmyeloid maliynitelere miyelosupressif kemoterapi sonrası ağır trombositopeninin önlenmesinde ve trombosit transfüzyonu ihtiyacının azaltılması amacıyla kullanılması önerilmiştir. Megakaryoblastları ve megakaryosit koloni oluşumunu uyarır sonuçta megakaryosit sayısını artırır (21). Myelosupressif tedavi alan hastalarda trombosit transfüzyonu ihtiyacını azalttığı ancak maliyet etkinlik yönünden olumlu bir etkisi olmadığı gösterilmiştir, bu nedenle kemoterapi doz azaltımının istenmediği veya trombosit transfüzyonlarının uygun olmadığı hasta grubuna uygulanması önerilmiştir (22). Bununla birlikte papilla ödemi ve perisitit gibi yan etkileri nedeniyle çocukluk çağında rutin kullanıma henüz girmemiştir, klinik çalışmalar halen devam etmektedir. İlaç ülkemizde bulunmamaktadır.

### **3.1. Nötropeni**

Nötrofiller kandaki lökositlerin büyük bir kısmını (>%70) oluşturmakta olup, konağın infeksiyonlara karşı savunmasında önemli rol üstlenirler. Nötropeni, periferik kanda dolaşan nötrofillerin sayısında azalma olup, mutlak nötrofil sayısının (ANC) < 1500 hücre/ml olması tanımlanır. Nötropeni azalmış nötrofil üretimi, artmış kullanım, nötrofillerin kompartmanlara kayması veya bu faktörlerin kombinasyonu sonucu ortaya çıkabilir. Nötropenin şiddeti ANC 1000 – 1500 hücre /ml arasında ise hafif, 500-999 hücre/ml arasında orta ve <500 hücre/ml ağır nötropeni olarak değerlendirilir. Bakteriyel infeksiyon riski nötropenin süresi ve ağırlığı ile ilişkilidir ve hayatı tehdit eden gastrointestinal sistem ve alt solunum yolu infeksiyonlarına ve sepsise yol açabilir. Bununla birlikte nötropenik hastalarda

parazitik ve viral infeksiyon riskinde artış yoktur. Nötropeni doğumdan itibaren olduğunda konjenital nötropeni yada çeşitli faktörler nedeniyle sonradan geliştiğinde edinsel nötropeni olarak tanımlanır (23) (Tablo 1). Aşağıda nötropeni ile birlikte olan durumlar görülmektedir, burada ilaçlara bağlı nötropeni ve özellikle kemoterapiye bağlı nötropeni üzerinde durulacaktır.

**Tablo 1.** Nötropeni ile birlikte olan durumlar (23)

<b>Nötropeni Sınıflaması</b>	
<b>Konjenital Nötropeniler</b>	
Siklik nötropeni	Nadir, otozomal dominant geçişli
Ağır konjenital nötropeni	Kostmann sendromu, otozomal dominant veya otozomal resesif
Nötropenin eşlik ettiği konjenital genetik sendromlar	Shwachman sendromu, diskeratozis konjenita, Chediak Higashi sendromu
<b>Edinsel Nötropeniler</b>	
İmmun nötropeni	İzoimmün, primer otoimmün, sekonder otoimmün, infeksiyon hastalıkları, solid tümörler, transplantasyon, lösemi, multipl myeloma
Kronik idiyopatik nötropeni	İnflamatuvar hastalık ile birliktelik
İnfeksiyonla ilişkili nötropeni	Viral, bakteriyal ve parazitik ajanlar,
İlaçla ilişkili nötropeni	Penisilin, aminopirin ve kemoterapötikler gibi çok sayıda ilaç
Beslenme ile ilişkili nötropeni	Folik asit ve B <sub>12</sub> eksikliği

### 3.1.1. İlaçlara Bağlı Nötropeni

İlaca bağlı nötropeni ilk olarak 1931 yılında analjezik piramidene bağlı olarak gelişen bir agranülositoz olgusunda bildirilmiştir. Son dekada ilaçlara bağlı nötropeni oranında belirgin bir artış görülmüştür, bu artış genel olarak tüm ilaçların daha yaygın kullanımının yanında kemoterapötik ajanların kullanımına da bağlıdır. Yaş arttıkça ilaçlara bağlı nötropeni oranında dramatik bir artış görülür, ilaca bağlı nötropeni olgularının %90'ı genç erişkin döneminden sonra daha ileriki yaşlarda

görülmektedir (23). Kanıt düzeyine göre nötropeni yapabilen ilaçlar tablo 2 de gösterilmiştir.

İlaca bağlı immun nötropeni genellikle ani başlangıçlıdır ve bu süre birkaç saat ile 1-2 gün arasında değişir. İlaca bağlı nötropeni gelişiminden immünite sorumlu gibi görünmektedir, bununla birlikte kemik iliğindeki öncüllerin direkt supresyonunun da rolü olduğu gösterilmiştir.

İlaca bağlı immun nötropeni gelişiminde çok sayıda mekanizma rol oynayabilir. Bazı ilaçlar haptan olarak davranarak antikor oluşumuna yol açarlar. İlaçların haptan olarak davrandığı durumlarda neden olan ilacın kesilmesi nötropenin bir hafta içinde düzelmesi ile karakterizedir. Haptan olarak davranabilen ilaçlardan en sık karşılaşılanları arasında aminopirin, propiltiyourasil, penisilin ve altın bileşikler gelmektedir (24). Klozapin gibi bazı antipsikotik ilaçların nötrofil apoptozisini hızlandırdığı gösterilmiştir. Apoptozis artışında ilacın metabolizması sonucu ortaya çıkan stabil olmayan metabolitlerin nötrofillere bağlanarak intrasellüler glutatyon depolarını azaltması rol oynamaktadır.

Bazı ilaçlar immun kompleks oluşumuna yol açarak nötrofillere bağlanırlar ve onları yok ederler. Bu mekanizmada ilacın sürekli verilmesi gerekli değildir. Başka bir mekanizma ise nötrofillerin kompleman aracılı lizisidir. Otoimmun nötropeniden farklı olarak antinötrofil antikorlar, kompleman aracılı mekanizma ile nötrofilleri yok ederler. Beta laktam antibiyotiklerin yüksek dozda uygulanması, karbamezepin ve valproik asit gibi bazı antikonvülzan ilaçlar kemik iliğindeki granulosit ve makrofaj öncüllerini inhibe ederler. Tiklopidin, sulfasalazin ve klorpromazinin de kemik iliğindeki miyeloid öncülleri suprese ettiği gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Kanıt düzeyine göre nötropeniye yol açan ilaçlar (30).

İlaç Kategorisi	Düzyey 1 Kanıt*	Düzyey 2 Kanıt**
Analjezik ve NSAİD	Aminopirin, diklofenak, diflunisal, dipiron, ibuprofen	Parasetamol, fenoprofen, naproksen, piroksikam, süлиндak
Antiaritmikler	Dizopramid, prokainamid, kinidin	Amiodaron, apiridin
Antibiyotikler	Ampisilin, karbenisilin, sefotaksim, imipenem, nafsilin, fusidik asit	Amoksisilin-klavunat, sefepim, seftriakson, klaritromisin, mebendazol, nitrofurantoin, INH, trimetoprim-sulfometaksazol, vankomisin
Antikonvülzanlar	Fenitoin	Karbamezepin, lamotrijin
Antineoplastikler	Amigdalin	Flutamid, imatinib, rituximab, nifutamide
Antiromatizmaller	İnflksimab, levamizol	Altın, penisillamin, sulfosalazin
Antitiroid ilaçlar	Propiltiourasil	Karbimazol, metimazol
Kardiyovasküler ilaçlar	Metildopa, spironalakton, ramipril	Kaptopril, mepridil, mesalazin
Gastrointestinal sistem ilaçları	Simetidin, metoklopramid	Famotidin, omeprazol, ranitidin, pirenzepin
Psikotrop ilaçlar	Klorpromazin, klozapin, fluoksetin	Dezipramin, imipramin, olanzepin, tiyoridazin
Diğer ilaçlar	Mebhidrolin	Allopurinol, prednizon, tolbutamid, klorpropamid

\*Düzyey 1 kanıt: Kesin ilişki gösterilmiş en az bir çalışma vardır

\*\*Düzyey 2 kanıt: Olası ilişki gösterilmiş en az bir çalışma vardır, ancak kesin ilişki gösterilmemiştir.

### 3.1.2. Kemoterapiye bağılı nötropeni

Sistemik kemoterapinin en sık karşılaşılan ve en ciddi komplikasyonlarından birisi kemik iliğinin baskılanmasıdır. Kemik iliği baskılanması sonucu ortaya çıkan nötropeni, infeksiyöz komplikasyonlar açısından önemli bir risk faktörü oluşturur. Kemik iliğini yaygın olarak tutan lösemi, multipl myeloma, lenfoma ve metastatik solid tümörler nötropeniye neden olabilirler ve sitotoksik KT sonrası uzayan nötropeni riski bu hastalarda daha da yüksektir. Kemoterapinin ilk kürlerinden sonra ortaya çıkan nötropenin ağırlığı, sonraki kürlerde ortaya çıkacak nötropenin derecesi hakkında fikir vermektedir.

Kemoterapiye bağlı n6tropeni gelişiminde hasta, hastalık ve tedavi ile ilişkili fakt6rler rol oynar. Hasta ile ilişkili en 6nemli fakt6r yaştır (30). Yaşla ilişkili h6cresel değişiklikler nedeniyle yaşlı hastalar KT'nin miyelosupressif etkilerine genç hastalara g6re daha duyarlıdırlar. Yapılan çalışmalarda yaşlı hastaların n6trofillerinin fagositoz yeteneklerinin daha az olduğu ve intrasell6ler 6ld6rme yeteneklerinde fonksiyon bozukluğu olduğu g6sterilmiştir (31). Hasta ile ilişkili diğer risk fakt6rleri ise maln6trisyon, tip 2 diyabet, kronik obstr6ktif akciğer hastalığı veya b6brek disfonksiyonu gibi komorbid durum varlığıdır.

N6tropeni sıklıkla kanser hastalarına verilen sistemik KT'nin miyeloablatif etkisi olarak karşımıza çıkmaktadır, n6tropeni ve n6tropeniye bağlı infeksiy6z komplikasyonlar sitotoksik kanser tedavisinin en sık doz sınırlayıcı yan etkisidir. N6trophenin ağırlığı verilen KT rejiminin yoğunluğu ve ilaçların uygulama biçimleri ile ilişkilidir (32, 33).

Hastalıkla ilişkili fakt6rler değerlendirildiğinde ise hematolojik maliynitelerde n6tropenik komplikasyonların solid t6m6rlere g6re daha y6ksek olduğu bilinmektedir, hematolojik maliynitelerde kemik iliği tutulumu varlığı ve kemoterapi doz yoğunluğunun y6ksek oluşu bunda rol oynamaktadır. Ayrıca ileri evre hastalık ve kontrol edilemeyen maliyn hastalık ta n6tropenik komplikasyonlar açısından risk fakt6r6d6r (33).

Radyoterapi (RT) ile eş zamanlı olarak veya tek başına KT alan t6m maliyniteli hastalar KT'ye sekonder n6tropeni gelişimi açısından risklidirler. Hastalık ile ilişkili fakt6rler ise kemik tutulumu, kanser tipi ve 6nceki tedaviler sonrası anemi veya n6tropeni 6yk6s6d6r.

Tedavi ile ilişkili fakt6rler KT ile eş zamanlı veya 6nceden RT uygulanması 6yk6s6 veya 6nceden yoğun KT verilmesidir. Bazı KT rejimlerinde tedaviyi alan hastaların %40-80 inde ağır n6tropeni gelişme riski vardır.

**Tablo 3.** Kemoterapötik İlaçlara Bağlı Miyelosupresyonun Başlama ve Düzelme Zamanları

<i>İlaç</i>	<b>En düşük lökosit sayısı (gün)</b>	<b>Düzelme zamanı (gün)</b>
<b>A. Uzun süreli ağır miyelosupresyon yapan ilaçlar</b>		
Carmustine (BCNU)	26-30	35-40
Semustine (MeCCNU)	40-50	60-
Sitozin Arabinozid (Ara C)	12-14	22-24
Vinblastin	5-9	14-21
<b>B. Orta süreli miyelosupresyon yapanlar</b>		
Siklofosamid	8-14	18-25
İfosamid	7-14	14-21
6 merkaptopurin	7-14	14-21
Metotreksat	7-14	14-21
Aktinomisin D	15-	22-25
Prokarbazin	25-36	35-50
Adriamisin	6-13	21-24
Dakarbazin	21	28
5-florourasil	7-14	20-30
<b>C. Kısa süreli miyelosupresyon yapanlar veya hiç yapmayanlar</b>		
Vinkristin	4-5	7-
Bleomisin	-	-
L-Asparaginaz	-	-
Sisplatin	-	-

**Tablo 4.** Miyelosupresyon için toksisite derecelendirmesi (36)

<b>Toksisite derecesi</b>	<b>Beyaz küre (ml)</b>	<b>Granülosit (ml)</b>	<b>Trombosit (ml)</b>
0	>4000	>2000	>100
1	3000-3900	1500-1900	75-99
2	2000-2900	1000-1400	50-74
3	1000-1900	500-900	25-49
4	<1000	<500	< 25

Kemoterapiye bağlı n6tropeni kanser hastalarının t6m tedavisini etkileyen 6nemli bir yan etkidir (34). N6tropenik ateşli kanser hastalarının en azından yarısında infeksiyonun klinik bulguları veya gizli infeksiyon olup, n6trofil sayısı <100/ml olan hastaların en azından beşte birinde bakteriyemi gelişir (35).

N6trofil sayısı <1000/ml d6řt6ę6nde, n6tropeninin ağırlığı ve sıklığı ile ilişkili olarak infeksiyonlara eğilim artar (10). N6trofil sayısı <500/ml d6řt6ę6nde infeksiyon riski, sayının <1000/ml olduğundan daha y6ksektir, n6trofil sayısı <100/ml d6řt6ę6nde ise infeksiyon riski daha da artar ve bu hastalarda n6tropeninin başlangıcından sonraki 1 – 4 hafta içinde ciddi infeksiyon gelişmektedir (20). Genel olarak n6trofil sayısı <100/ml olan n6tropenik ateşli hastaların %20 de bakteriyemi saptandığı bildirilmiştir (36). N6trofil sayısındaki d6ř6kl6ęe ek olarak n6tropeninin s6resi de infeksiyon eğilimini belirlemede 6nemlidir. Ağır n6tropeninin uzun s6re devam etmesi (10 g6n s6re ile n6trofil sayısı <500/ml) infeksiyon gelişimi açısından en 6nemli risk fakt6r6d6r.

N6trofil sayısındaki sayısal değişikliklerin yanında, n6trofillerin fagositer fonksiyonları ve immün yanıtta ki diğer eksiklikler de n6tropenik konakta infeksiyona eğilimi arttırır (35). Kemoterapi ile total l6kosit mobilizasyonunun, nitroblue tetrazolium testine yanıtın, fagositozun ve n6trofillerin 6ld6rme yeteneklerinin baskılandığı da g6sterilmiştir (37, 38). Mendonca ve ark. (39), 23 meme karsinomlu hasta ile yaptıkları çalışmada ilk tanıda ve kemoterapi sonrası n6trofillerin L- fenilalanine g6sterdikleri migratuar yanıtı araştırmışlar, kemoterapi sonrası n6trofil migrasyonunda belirgin azalma g6stermişlerdir.

### **3.2. N6tropenik Ateş**

Kemoterapiye bağlı NA sitotoksik tedavinin ilk k6rlerinde de g6r6len ve n6tropeninin s6resi ve derinliği arttıķa sıklığı giderek artan 6nemli bir kanser tedavisi komplikasyonudur (40). N6tropenik hastada ağızdan 6l6len ateşin tek bir kez  $\geq 38,3$  °C olması yada ateşin bir saat s6reyle  $\geq 38$  °C 6zerinde seyretmesi NA kriteri olarak kabul edilmektedir (34). Bir haftadan uzun s6ren n6tropeni d6nemlerinin çoğunda ateş y6kselmekte ve bunların %50-60'ında klinik veya mikrobiyolojik olarak bir infeksiyon d6k6mante edilebilmektedir (41). Enfeksiyon



varlığında infekte bölgeye göç eden ve inflamasyon yanıtını başlatan nötrofillerin yokluğu nedeniyle lokalize infeksiyon bulguları ya minimal olmakta yada hiç ortaya çıkmamaktadır. Bu nedenle NA'li hastaların yarısından fazlasında ateş septiseminin tek bulgusudur (41, 42).

Günümüzde febril nötropeni gelişen maliyniteli hastalarda ampirik antibiyotik kombinasyonlarının erken başlanması ve koloni uyarıcı edici faktörlerle birlikte diğer destek tedavi olanaklarının uygun kullanımı sayesinde infeksiyonlara sekonder hasta kaybı büyük oranda azalmıştır. 1960 lı yıllardan itibaren etkin antibiyotiklerin kullanımı ile gram negatif etkenlere bağlı sepsis sıklığında belirgin azalma görülmekle birlikte mortalite oranları halen %10-30 oranlarındadır (32). 1970 li yılların sonlarına kadar gram negatif aerobik mikroorganizmalar en sık rastlanan patojenlerken, zamanla infeksiyon etkenlerinde bir değişim olmuş ve gram pozitifler daha sık izole edilen etkenler haline gelmişlerdir. Bu değişimde santral venöz kateterlerin zamanla daha yaygın kullanılır olması, yüksek doz kemoterapilere bağlı ağır mukozitlerin sık görülmesi ve kinolonların profilakside kullanılmasının sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Son zamanlarda kullanılan kemoterapi rejimlerinin yoğunluğu ve yüksek doz kemoterapi uygulamaları uzun süreli nötropeniye neden olmaları sonucu da mantarlar ve pneumosistis carini gibi fırsatçı mikroorganizmalar daha sık olarak karşımıza çıkmaktadırlar (43).

NA yaşam kalitesini bozmasının yanında sıklıkla ciddi ve hayatı tehdit edici infeksiyonlara eğilim yaratır (40). Klinik tablonun ciddiyeti nedeniyle NA gelişen hastalar ayrıntılı değerlendirme ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin parenteral uygulanması amacıyla hastanelere yatırılırlar (40). Hastaneye yatırılarak kan ve diğer vücut sıvı kültürlerinin alınması ve ampirik geniş spektrumlu antibiyotik başlanması standart yaklaşımdır (32). Nötropenik hastalarda infeksiyonlar çok hızlı ilerleyebilir ve bu hastalarda klinik bulguların arka planda olması nedeniyle bakteriyel infeksiyonların teşhisi zor olduğundan ateş yüksekliği saptanan nötropenik hastalarda ampirik antibiyotik tedavisi vakit kaybedilmeden hemen başlanır. İnfeksiyonla uyumlu belirti ve bulguları olan nötropenik hastalara ateşleri olmasa da ampirik antibiyotik tedavisi başlanır (35). Nötropenik ateş önemli mortalite ve morbidite sorunu olması yanında aynı zamanda önemli bir maliyete de yol açmaktadır. Amerika'da son zamanlarda yapılan bir çalışmada her yıl 60000

kanserli hastanın nötropenik infeksiyonlar nedeniyle hastaneye yatırıldığı ve tedavi maliyetinin hasta başına 13372 dolar olduğu bildirilmiştir (44). Gülen ve ark. nın (40) 1997 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji AD' da yeni tanı alan 27 kanserli çocuk hastayı bir yıl süre ile izledikleri çalışmada ise kanserli çocuklarda tedavi maliyetlerinin %33'ünün nötropenik infeksiyonlara bağlı olarak ortaya çıktığı görülmüştür. Bu çalışmada nötropenik ateşe bağlı tedavi maliyetleri histopatolojik tanıya göre değerlendirildiğinde en yüksek maliyet atak sayısının fazlalığına bağlı olarak lösemi grubunda en yüksek değere ulaşmakta, hasta başına bir yıllık toplam tedavi maliyeti 14250 Amerikan Doları (USD) olarak hesaplanmıştır, diğer yandan lenfoma grubunda nötropenik infeksiyonlara bağlı yıllık tedavi maliyeti hasta başına 1403 USD, solid tümör grubunda 352 USD olarak hesaplanmıştır. Nötropenik ateş atağı başına maliyetler hesaplandığında ise maliyet lösemili hastalarda 3143 USD, lenfomalı hastalarda 928 USD, solid tümörlü hastalarda ise 983 USD olarak bulunmuştur.

Kemoterapiye bağlı NA ciddi infeksiyonlara neden olmasının yanında sitotoksik tedavinin gecikmesine ve doz azaltımına da yol açarak antikanser tedavinin aksamasına ve tedavi maliyetinin yükselmesine de yol açabilmektedir (34). Kanserli hastalarda NA gelişimi tümör tipi, kemoterapi rejiminde kullanılan ilaçlar, kemoterapi rejiminin doz yoğunluğu, hasta ile ilişkili faktörler, steroid kullanımı, anatomik engellerin bütünlüğünün bozulması, obstrüktif olaylar, total parenteral beslenme, radyoterapi uygulaması gibi çok sayıda faktörle ilişkilidir.

Yaygın uygulanan KT rejimlerinde ilk kez sitotoksik tedavi uygulanan hastalardaki NA sıklığı %25-40 arasında olup, NA görülme riski KT rejiminin yoğunluğuna ve hastaya daha önce KT veya RT uygulanmış olması durumuna göre değişmektedir (41). Lyman ve ark. nın (33) çalışmasında ileri yaş, performans durumunun kötü oluşu, eşlik eden komorbidite varlığı, bazal kan sayımı değerlerinin düşüklüğüne KT doz yoğunluğunun yüksek oluşu NA riskini arttıran faktörler olarak bildirilmiştir.

Ortaya çıkardığı ağır komplikasyonlar nedeniyle öncelikle NA in önlenmesi klinik olarak önem taşımaktadır. Bununla birlikte bu komplikasyonun sıklığını azaltmak için uygulanan stratejiler çok farklıdır. Bugün için NA in önlenmesi ve

komplasyonlarının azaltılması amacıyla kullanılan ajanlar rekombinan G-CSF veya Granülosit makrofaj koloni uyaran faktör (GM-CSF)'dür.

Nötropeni riski olan kanser hastalarında infeksiyonların önlenmesi için profilaktik antibiyotik kullanımı yapılmış olan geniş meta-analizlere rağmen halen bir tartışma konusudur (34). Herbst ve ark. (42) Cochrane veritabanında kayıtlı 1980-2007 yılları arasında yapılmış olan çalışmaları analiz etkilerinde, nötropenik hastalarda, profilaktik antibiyotik kullanımı ya da koloni stimülan faktörleri kullanan hastalardaki nötropenik ateş ve hastane yatış oranlarını karşılaştırmışlar ve arada anlamlı fark bulamamışlardır. Erişkinlerde yapılan bir çalışmada da kemoterapi sonrası profilaktik amaçlı florokinolon kullanan solid tümörlü hastalarda nötropenik ateş ve hastane yatış oranlarının azaldığı gösterilmiştir (47). Çocukluk çağında profilaktik antibiyotik kullanımı ile büyüme faktörlerinin nötropenik ateş sıklığı üzerindeki etkilerini karşılaştıran çalışma yoktur, ancak Castagnola ve ark. nın (48) kanserli çocuklarda profilaktik amoksisilin-klavunat ile plaseboyu karşılaştırdıkları çalışmada antibiyotik kullananlarda %15-17 yarar gösterilmiştir. Bununla beraber profilaktik antibiyotik kullanılan hastalarda dirençli mikroorganizmaların gelişimi ve kolonizasyona bağlı morbidite konusunda yapılmış çalışmalar sınırlıdır (49).

Ağır nötropenik hastalar cilt ve bağırsaktaki endojen florayı oluşturan stafilokoklar ve gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlara eğilimlidirler. Nötropenik hastalarda sık karşılaştığımız bakteriyel etkenler *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. viridans*, *S. faecalis*, Enterobacteriaceae ailesi ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Tablo 5). Mantar infeksiyonlarında sık karşılaşılan etkenler ise *Aspergillus*, *Candida*, *Trichosporon* ve *Fusarium* türleridir.

Nötropenik ateşli hastalarda infeksiyon odağı sıklıkla oral kavite ve müköz membranlardır. Cilt özellikle enjektör ve damar yollarının deri bütünlüğünü bozduğu alanlar infeksiyonun diğer bir sık nedenidir. Bu infeksiyonlar raş, ülserasyon, abse ve yara iyileşmesinde gecikme ile kendilerini gösterirler. Sistemik infeksiyonlar ise akciğer, gastrointestinal kanal ve kanda başlayarak önemli mortalite ve morbidite ile birlikte seyredebilirler.

**Tablo 5. Nötropenik ateşe neden olan etkenler (36)**

Nötropenik hastalarda infeksiyon etkeni mikroorganizmalar	
<b>Bakteriler</b>	
<b>Sık rastlananlar</b>	<b>Seyrek rastlananlar</b>
<b>Gram-pozitif bakteriler</b> Staphylococcus aureus Koagülaz-negatif stafilokoklar Streptokoklar (alfa-hemolitik ve grup D) Enterokoklar	Corynebacterium spp. Bacillus spp. Clostridium difficile Streptococcus bovis Aeromonas, Pleisiomonas, Salmonella Campylobacter
<b>Gram-negatif bakteriler</b> Escherichia coli Klebsiella spp. Pseudomonas aeruginosa Enterobacter spp.	Capnocytophaga Haemophilus influenzae Pseudomonas spp. (P. aeruginosa dışı) Listeria monocytogenes Acinetobacter spp. Stenotrophomonas maltophilia Mycobacterium spp.
<b>Anaerob bakteriler</b> Peptostreptokoklar Clostridium spp. Bacteroides spp.	
<b>Virüsler</b>	
<b>RNA virüsleri</b>	<b>DNA virüsleri</b>
Influenza Parainfluenza Entero virüsler Kızamık Hepatit A Respiratuar sinsityal virüs	Herpesvirüs grubu Herpes simpleks Herpes zoster Sitömeğalövirüs Epstein-Barr virüs Adenovirüs Papovavirüs Hepatit B
<b>Mantar ve parazitler</b>	
<b>Mantarlar</b>	<b>Parazitler</b>
Candida spp. C. albicans, C. krusei, C. tropicalis, C. glabrata Aspergillus spp. A. fumigatus, A. flavus Cryptococcus neoformans; Histoplasma capsulatum Alternaria, Fusarium, Trichosporon Pneumocystis carinii	Toxoplasma gondii Strongyloides stercoralis

Son üç dekatta NA li olgularda öncelikle gram negatif mikroorganizmaların morbidite ve mortaliteye yol açtığı, zamanla tüm dünyada streptokokkus viridans infeksiyonlarındaki artışa paralel olarak gram pozitif patojenlerin sıklığının arttığı gösterilmiştir (50, 51). Mikrobiyolojik olarak dökümente edilmiş nötropenik infeksiyonların %60-70 ini gram pozitif mikroorganizmalar oluşturmaktadır, ancak son zamanlarda bazı merkezlerde gram negatif infeksiyon sıklığının arttığı gösterilmiştir.

Bazı gram pozitif mikroorganizmalar metisiline rezistan olabilir ve bu etkenler sadece glikopeptidlere ve linezolide duyarlıdırlar. Koagülaz negatif stafilokoklar ve vankomisine dirençli enterokokların neden olduğu infeksiyonlar daha yavaş seyrederken, stafilokok aureus, pnömokok ve streptokokkus viridansların neden olduğu infeksiyonlar fulminan seyirlidir. Gram negatif mikroorganizmalardan pseudomonas auriginosa, eschericia coli ve klebsialla türleri de sık olarak karşımıza çıkan NA etkenleridirler. İnfeksiyon odağı genellikle gastrointestinal sistemdir, nedeni KT'ye bağlı mukoza hasarının fırsatçı mikroorganizmalar için bir giriş kapısı oluşturmasıdır. Benzer şekilde invazif işlemlere bağlı hasarlar da mikroorganizmaların girişi için kapı oluşturmaktadır. Fungal infeksiyonlar karşımıza genellikle süperinfeksiyonlar şeklinde çıkarken, bazı olgularda kandida ve aspergillus türleri primer infeksiyona da yol açabilirler (35). Fırsatçı fungal infeksiyonlarının tedavisindeki zorluklar kanser hastalarındaki tedavi başarısızlığının temel nedenlerindedir (32).

### **3.2.1. Nötropenik ateşin önlenmesi**

Son üç dekada kanser hastalarında nötropeniye bağlı invazif bakteriyel infeksiyonların önlenmesi amacıyla çok sayıda kontrollü randomize çalışma yapılmıştır. Gastrointestinal sistemden emilmeyen ilaçlarla bağırsak dekontaminasyonundan, granülosit transfüzyonlarına dek uzanan farklı stratejiler üzerinde çalışılmış, ancak bu tedavi yöntemleri hasta tarafından iyi tolere edilememeleri, maliyetlerinin yüksek olması yada etkinlik konusunda kanıtların yetersizliği nedeniyle rutin kullanıma girememişlerdir. Bu amaçla bugün kullanılmakta olan iki temel strateji büyüme faktörlerinin kullanılması ve profilaktik antibiyotik verilmesidir (20, 52). Bununla birlikte bu iki yöntemin de etkinlikleri konusunda hala tartışmalar vardır.

### **3.2.2. Büyüme Faktörlerinin Kullanımı**

Koloni uyaran faktörlerin rekombinan yolla üretiminden önce KT'ye bağlı nötropeni sitotoksik ilaçların dozunun azaltılması veya geciktirilmesi yoluyla kontrol ediliyordu. Ancak bu yöntem KT rejimlerinin zamanında uygulanmasını engellemekte ve teorik olarak tedavi yanıtını da azaltabilmektedir. Koloni uyaran

faktörler miyeloid hematopoetik hücrelerin işlevsel aktivitelerini, işlevsel kalma sürelerini, çoğalma ve farklılaşmalarını kontrol eden bir glikoprotein ailesidir (32). Filgrastim ve lenograstim vücutta üretilen G-CSF ün sentetik rekombinan formları olup modern kanser tedavisinin önemli ilaçlarıdır . Filgrastim Eschericia coli hücrelerinde üretilen, 175 amino asitten oluşmuş, 18,8 Kd dalton ağırlığında, non-glikozile bir polipeptid zinciridir. Lenograstim ise Çin Hamsterı over hücrelerinde üretilir, memeli hücreleri tarafından üretildiğinden doğal insan G-CSF den farkı yoktur ve 174 amino asit içerir. Her iki preparat da onkoloji ve hematoloji kliniklerinde KT sonrası nötropeni süresinin kısaltılması, ciddi enfeksiyonların önlenmesi ve daha ağır KT rejimlerinin uygulanabilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda aralarında klinik veya terapötik fark gösterilmemiştir (53, 54, 55). Ratlarda da G-CSF ün subkutan uygulanmasının granülopoezi arttırarak nötrofil sayılarını yükselttiği bildirilmiştir (56, 57).

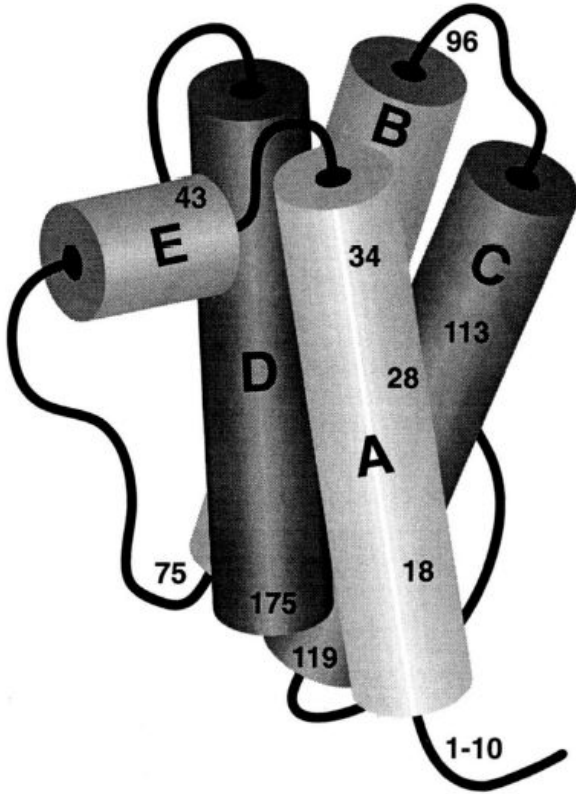
Özellikle filgrastimin nötropeni sonrası ilaç doz azaltımı yerine uygulanacak bir alternatif olduğu gösterilmiştir (32, 34, 58). Lymna ve ark. ları (59) filgrastim ve lenograstim ile yapılan 8 randomize çalışmayı analize etmişler, lenfomalı ve solid tümörlü hastalarda profilaktik G-CSF kullanımının nötropenik ateş riskini azalttığını bildirmişlerdir. Bui ve ark. ları (60) 1995 yılında yaptıkları çalışmada yumuşak doku sarkomu tanısı ile kemoterapi gören 46 hastadan lenograstim uygulanan grupta nötropenik ateş sıklığında anlamlı azalma ve kemoterapi sonrası hematolojik toleransta artma olduğunu bildirmişleridir.

Günümüzde Granülosit koloni uyaran faktör onkoloji kliniklerinde konvansiyonel KT sonrası nötropenin şiddetinin ve süresinin azaltılması amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (34). Rekombinan G-CSF ün nötropeni şiddet ve süresini, KT sonrası febril nötropeni sıklığını, hastaneye yatış sayısı ve süresini azalttığı sonuç olarak yaşam kalitesini arttırdığı ve daha da önemlisi KT doz yoğunluğunun devam etmesine fırsat sağladığı gösterilmiştir. Yapılan üç kontrollü randomize çalışmada yoğun KT alan erişkin hastalarda G-CSF kullanımı ile NA sıklığında %50 azalma olduğu gösterilmiştir (61, 62, 63). Granülosit koloni uyaran faktör internal disülfid bağları içeren, 20kD ağırlığında bir glikoprotein olup reseptörü kemik iliğindeki öncül hücrelerde bulunur (Şekil 1). Granülosit koloni uyaran faktör geni 17. kromozom üzerindeki q21-22 lokusunda yerleşmiş ve dört

intronu olduğu gösterilmiştir. Granülosit koloni uyaran faktör reseptörü ise 1. kromozomun p35-p34.3 lokusunda kodlanmaktadır (64). Granülosit koloni uyaran faktör kemik iliğindeki nötrofil prekürsör hücrelerinin hayatta kalmasını, proliferasyonunu ve farklılaşmasını sağlarken, matür nötrofilleri fonksiyonel olarak aktive eder. Granülosit koloni uyaran faktör endotel hücreleri, makrofajlar ve diğerk bağışıklık ile ilişkili hücrelerde sentezlenebilir. Granülosit koloni uyaran faktör sentezi bakteriyal endotoksinler, interlökin-1, interlökin-17, doku nekroz faktörü ve granülosit-makrofaj koloni uyaran faktör tarafından uyarılırken, prostoglandin E<sub>2</sub> tarafından inhibe edilir (65).

Koloni uyaran faktörler klinikte çeşitli amaçlarla kullanılmıştır.

- Primer profilaksi
- Sekonder profilaksi
- Ateşli veya ateşsiz nötropenide tedavi amacıyla
- Otolog veya allojenik kök hücre nakli uygulanan hastalarda destek amacıyla
- Kök hücrelerinin mobilizasyonu amacıyla



şekil 1. G-CSF in yapısı (60)

Primer profilaksi KT siklusları sonrası henüz nötropeni gelişmeden G-CSF başlanmasıdır. Yapılan çalışmalarda primer profilaksidede filgrastim kullanımıyla NA sıklığı ve kültürle gösterilmiş infeksiyon sıklığında belirgin azalma gösterilmiştir (66, 61, 67, 68).

Bununla birlikte konvansiyonel KT sonrası primer profilaksi amacıyla G-CSF kullanımı tedavi maliyetini oldukça arttırmaktadır. Maliyet - etkinlik konusunda yapılan çalışmalarda febril nötropeni sıklığı  $>40\%$  a ulaşan KT rejimlerinde G-CSF kullanımının verimli olduğu bildirilmiştir (69, 70, 35).

American Society of Clinical Oncology (ASCO), 2000 tarihli rehberinde, büyüme faktörlerinin infeksiyonlara bağlı ölüm, KT ye yanıt ve kanserli hastaların sağ kalım oranları üzerinde etkilerinin olmayışı nedeniyle, bu ilaçları sadece yüksek riskli solid tümörlü ve non-myeloid maliyniteli, febril nötropeni gelişme olasılığı  $40\%$  in üzerinde olan KT rejimlerinde kullanılması önermekteydi (70).

Ancak American Society of Clinical Oncology tarafından 2006 yılında yayınlanan bir meta-analizde, G-CSF ün solid tümörlü ve lenfomalı hastalarda NA riskini  $37\%$  den  $20\%$  ye indirdiği ve infeksiyon ile ilişkili mortalite de  $3,3\%$  ten  $1,7\%$  ye düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (58). Rutin klinik uygulamalarda da G-CSF kullanımında ASCO 2000 rehberi kurallarının dışında uygulamalar sıktır. Bu uygulamaları haklı gösterecek nedenler arasında hastaların evde izlenme oranlarının artırılması, uzun süreli nötropenin önlenmesi, toksisitenin azaltılması ve bazı adli endişeler sayılmaktadır (71). National Comprehensive Cancer Network (NCCN) tarafından basılan son rehberlerde ve ASCO 2006 rehberinde G-CSF kullanımı için nötropenik ateş oranı klinik veri ışığında  $20\%$  sınırına indirilmiştir (40, 72).

Sekonder profilaksi, önceki KT siklusu sonrası nötropeni veya NA gelişen olgularda, sonraki kürlerde koloni stimulan faktörlerin başlanmasıdır, bu sayede sitotoksik tedavinin doz yoğunluğunun sağlanması amaçlanmaktadır. Crawford ve ark. larının (73) yaptığı çalışmada G-CSF ile sekonder profilaksi uygulaması ile ilk kürde  $100\%$  olan NA sıklığının ikinci kürde  $23\%$ 'e düştüğü gösterilmiştir. Meme kanserli hastalarla yapılan bir çalışmada G-CSF desteği ile verilebilen ortalama



doz yoğunluğunun kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak sekonder G-CSF kullanımı ile planlanan KT doz yoğunluğu sağlanabilmektedir, ancak bu sonucun hayatta kalım üzerine etkisi henüz gösterilmemiştir (74). Bu nedenle ASCO 2000 Rehberi küratif tümörler dışında, KT kürü sonrası ortaya çıkan NA veya uzamış veya ağır nötropeni, öncelikle bir sonraki kürde doz azaltımına gidilmesini, G-CSF ile sekonder profilaksinin yüksek riskli durumlarda başlanmasını önermektedir (70). Bu konuda halen kesin endikasyonlar belirli olmayıp randomize çalışmalara ihtiyaç vardır (58).

Ayrıca NA için risk grubunda olan yaşlı hastalar, önceki nötropeni öyküsü, refrakter veya relaps yapmış olgular, kemik iliği rezervi sınırlı hastalar, önceden pelvik RT alan hastalar, KT ile birlikte RT alan hastalar ve yüksek dozda KT uygulanan hastalara profilaktik G-CSF başlanabilir (34).

Profilaktik G-CSF (filgrastim and lenograstim) ya da son zamanlarda geliştirilen yeni formu olan pegfilgrastim genellikle riskli hastalara uygulanmaktadır. Bununla birlikte NA ve uzun süreli nötropeni geliştirme riski olan hastaların belirlenmesi için gerekli olan kriterler henüz açık olarak tanımlanmamıştır. Bir önceki kür sonrası NA atağı geçiren hastalara gelişebilecek yeni atakların önlenmesi için büyüme faktörleri uygulanabilir. Bu hastalarda alternatif olarak büyüme faktörü uygulanmadan bir sonraki kür geciktirilir veya sonraki kürlerde sitotoksik ajan dozları azaltılabilir. Bununla birlikte KT kürlerinde gecikme veya doz azaltımına gidilmesinin belirli bir zaman periyodunda uygulanan KT dozlarının azaltılmasına neden olarak tehlikeli klinik sonuçlara yol açabileceği gösterilmiştir. Granülosit koloni uyaran faktör devam eden nötropenin süresi ve ağırlığını azaltmak için de kullanılmaktadır. Çok sayıda çalışmada doz-yoğun KTnin, standart KT rejimlerine göre daha yüksek oranda hayatta kalım oranları sağladığının gösterilmesinden sonra profilaktik G-CSF in doz-yoğun KT rejimlerini desteklemek amacıyla kullanılması giderek artmaktadır. Avrupa'da uygulanan KT rejimleri sıklıkla Amerika'dan farklı olduğundan ASCO ve NCCN tarafından önerilen rehberler faydalı referanslar olmalarına rağmen Avrupa'daki klinik uygulamayı tam olarak yansıtmamaktadırlar. Bu nedenle European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) tarafından yapılan 2006 yılında yapılan çalışmada 65 yaş üzerinde olup febril nötropeni gelişme olasılığı %10-20

arasında olan KT rejimleri uygulanan hastalara ve febril nütropeni gelişme olasılığı %20 üzerinde olan KT rejimleri alan tüm hastalara profilaktik olarak G-CSF başlanması önerilmiştir (40).

Kemoterapi alan hastalarda G-CSF kullanım maliyetinin yüksek olması ve bazı çalışmalarda G-CSF'ün nütropenik infeksiyonların sıklığını azaltmasına rağmen tedavi ile ilişkili mortalite oranlarını değiştirmedığının gösterilmesi nedeniyle KT sonrası immun fonksiyonların düzeltilmesi ve nütropeni süresinin kısaltılması amacıyla alternatif tedavi yöntemleri araştırılmaktadır (2, 20).

Pegfilgrastim, filgrastimin polietilen glikol eklenmiş bir formu olup bu alandaki yeni bir gelişmedir, filgrastimin farmakokinetik profilini değiştirmek, özellikle ilaç yarı ömrünün uzatılması amacıyla araştırmalar sonucu bulunmuş bir moleküldür. Filgrastimin günlük olarak uygulanması gerekirken, pegfilgrastim kür sonrası tek doz uygulamaya izin vermektedir (34).

Nütropenik ateşte tedavi amacıyla G-CSF kullanımı ise 2002 IDSA Rehberinde rutin olarak önerilmemektedir, bununla birlikte özel durumlarda ve kliniğin ağırlaştığı durumlarda kullanılabilmesi belirtilmektedir (71). 2006 ASCO rehberinde de NA te tedavi amacıyla G-CSF rutin önerilmemektedir ancak infeksiyona bağlı komplikasyon gelişme olasılığı yüksek hastalarda ve klinik ve laboratuvar bulguları kötü prognostik özelliklere sahip hastalarda (65 yaş üstü, nötrofil sayısı<100/ml, beklenen nötrofil sayısı>10 gün, primer malinite kontrol altında olmayan, hipotansiyon ve multiorgan disfonksiyonlu, invazif fungal infeksiyonlu hastalar ve nütropenik ateş tanısı hastanede yatarken konulan hastalar) kullanılabilmesi belirtilmiştir (73).

Granülosit makrofaj koloni uyaran faktör immatür hematopoetik progenitörlerden, olgunlaşmış nötrofil, monosit ve eozinofillere kadar çok sayıda hücre dizisini uyarıcı eden orta-etkili bir sitokindir. Granülosit makrofaj koloni uyaran faktör aynı zamanda olgun makrofaj ve nötrofillerin fonksiyonlarını düzelterek fagositoz ve süperoksit üretimi ile mikrobiyal öldürme kapasitesini de artırır (32).

Sargramostim Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan ilk GM-CSF formudur. Bir maya mantarı (*Saccharomyces cerevisiae*) tarafından üretilen glikozile rekombinan bir proteindir. Molgramostim halen klinik çalışmaları devam eden, *E. coli* kaynaklı non-glikozile diğer bir GM-CSF türüdür.

Lösemi dışındaki maliyneteli hastalarda primer profilakside GM-CSF ün yararı konusundaki kanıtlar G-CSF e göre daha azdır (32). Yapılan iki çalışmada nötropenideki azalma sadece KTNin ilk küründe gösterilebilmiştir (55, 56). Diğer yandan Barjorin ve ark. nın (72) çalışmasında GM-CSF alan grupta infeksiyon oranları ve hastaneye yatış sıklığı ile toksisiteye bağlı ölümün daha çok görüldüğü bildirilmiştir. Weaver ve ark. nın (79) çalışmasında sargramostim ile karşılaştırıldığında filgrastim verilen hastalarda nötrofil engraftmanının daha hızlı olduğu, NA ve hastaneye yatış oranlarının filgrastim grubunda daha az olduğu bildirilmiştir.

Büyüme faktörlerinin primer profilakside kullanımı ile kanserli hastalarda genel sağkalım değişmemektedir. Ayrıca hedef hücrelerin yetersiz olduğu kemik iliği hipoplazisi, aplastik anemi, akut myeloid lösemi (AML) tedavisinin indüksiyon dönemi ve ağır kemik iliği baskılanması durumlarında etkileri sınırlıdır. Hastanede kalım sürelerini kısalttığına dair az sayıda yayın vardır. Bu sınırlılıklar ve yüksek maliyet nedeniyle alternatif arayışlar sürmektedir.

### **3.2.3. Profilaktik Antibiyotik Kullanımı**

Nötropenik hastalarda invazif bakteriyel infeksiyonların önlenmesi amacıyla profilaktik antibiyotik kullanımının yararlı olup olmadığının belirlenmesi amacıyla çok sayıda üzerinde çalışma yapılmış olup çalışmalar daha çok erişkin olgularda yapılmış, çocukluk çağındaki araştırmalar sınırlıdır. İlk çalışmalarda trimetoprim - sulfametaksazol (TMP-SMX) kullanılmış ancak nötropeninin uzaması dahil çok sayıda dezavantajı olması nedeniyle TMP-SMX' den vazgeçilmiştir. Florokinolonların 1980'li yıllarda bulunmasından sonra geniş antibakteriyel spektrumları, anaerobik bağırsak florasını koruyucu etkileri, sistemik bakterisidal aktiviteleri olması ve miyelosupressif etkileri olmaması nedeniyle florokinolon grubu antibiyotikler uygulanmıştır (80). Bu çalışmalarda gram negatif enfeksiyon

sıklığında ve infeksiyonla ilişkili mortalite oranlarında azalma saptanmasına rağmen rezistan mikroorganizmaların artışı sonucu daha morbid infeksiyonların ortaya çıkma riski nedeniyle bugün kanser hastalarında rutin profilaktik antibiyotik kullanımı önerilmemektedir (81, 82). Bununla birlikte 2001 yılında Japonya'da yapılmış bir çalışmada doktorların %38'inin lösemili hastalarda oral kinolon grubu antibiyotiklerle profilaksi uygulandığı gösterilmiştir (83).

EORTC İnfeksiyon Hastalıkları Grubu da kanser hastalarında profilaktik antibiyotik kullanımının potansiyel tehlikeleri ile hastalara olan faydalarının göz önünde bulundurularak bu konuda ihtiyatlı olunması gerektiğini vurgulamıştır (40). Profilaktik antibiyotik tedavisinden yarar görme olasılığı olan hasta grubunun belirlenmesi için prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç vardır. Profilaktik antibiyotiklerin ne kadar süre ile verilmesi gerektiği de henüz tanımlanmamıştır. Profilaktik tedavinin nötropeni düzelinceye kadar verilmesi yerine kemik iliği iyileşme bulgularının ilk ortaya çıktığı dönemde kesilmesi dirençli patojenlerin gelişme riskini azaltabilir (20). Sonuç olarak kanser hastalarında profilaktik antibiyotik kullanımı çok sınırlı olup, sadece yüksek doz kemoterapi-kök nücre nakli uygulanan lösemi, lenfoma ve solid tümörlü hastalar ve hastaya uygulanmakta olan kemoterapi protokolünün önerisi dahilinde kullanılmaktadır (84).

#### **4. Glutamin**

İmmunonutrisyon, immün sistem hücrelerinin sayı ve fonksiyonunu arttırmak amacıyla özgün besin öğelerinin enteral veya parenteral yolla desteği olarak tanımlanmaktadır (6). İmmunonutrisyon ile inflamatuvar mediyatörlerin üretimi ve hücrel immün fonksiyonlar değiştirilebilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda immünonutrientlerin kanser hastalarının immün sistemleri üzerinde de olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (3). İmmünonütrisyon için sıklıkla kullanılan besin öğeleri arginin, glutamin, dallanmış zincirli amino asitler, n-3 yağ asitleri, nükleotidler ve RNA dır.

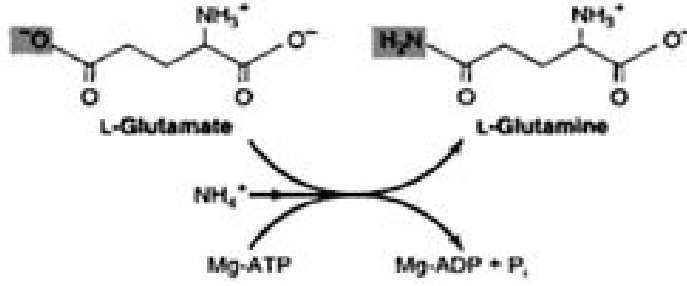
Glutamin de vücutta belli koşullara bağlı olarak sentezlenen ve lenfosit, enterosit, retikülosit ve fibroblast gibi hızlı bölünen hücrelerde nükleotid sentezi için gerekli olan bir aminoasittir (4, 5, 9).

Vücuttaki dokularda ve plazmada serbest olarak en bol oranda bulunan amino asittir. Plazmadaki standart konsantrasyonu 0,6mmol/litre olup, kanda dolaşan amino asitlerin %30-35 ini ve iskelet kasındaki serbest amino asitlerinlerin yaklaşık %60 ını oluşturur. Nonesansiyel bir amino asit olarak bilinmekle beraber az sayıda doku glutamin sentezleme yeteneğine sahiptir, büyük oranda kas, daha az oranda beyin ve akciğerler tarafından glutamatın glutamin sentetaz enzimi katalizörlüğü ile aminasyonu sonucu sentez edilir (Şekil 2) (85, 86). Hiperkatabolik ve hipermetabolik durumlarda intrasellüler glutamin düzeylerinin düşmesi nedeniyle vücutta ihtiyacı artmakta ve esansiyel hale gelmektedir (4, 6, 7, 8). Çok sayıda sistem tarafından yaygın olarak kullanılması ve doku hasarı durumlarında plazma düzeylerinin düşmesi nedeniyle koşullu esansiyel amino asit olarak sınıflanmıştır (87). Glutamin protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmalarında önemli rol oynayan bir amino asittir (88). Glukoneogenezde major karbon donörü olarak rol alır, nitrojen transferi, protein ve nükleik asit sentezi gibi metabolik olaylarda kritik bir substrat olup, böbrekte amonyak sentezinde görev alarak asit-baz dengesinin düzenlenmesinde, lipoliz ve ketogenez inhibisyonunda da rol oynamaktadır. Sitrülin, arginin, GABA ve glukoz sentezleri için önemli bir substrattır.

Glutamin, sistein ve glisin bir tripeptid olan glutatyonun öncülleridir. Glutamin ayrıca vücuttaki hücreleri oksidasyondan koruyan bir kimyasal madde olan glutatyonun karaciğer ve bağırsaktaki üretimi için de hız sınırlayıcı bir faktördür. Glutatyon elektrofilik ksenobiotiklerin detoksifikasyonunda, düzenlenmiş sinyal iletiminde, sistein depolanması ve transportunda, hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde, antioksidan savunma gibi çok sayıda metabolik olayda önemli rolü olan bir tripeptiddir. Glutatyonun hücre ve metabolik fonksiyonlar üzerindeki özelliklerini düzenleyen anahtar mekanizma tiyol-disülfid değişim dengesidir. Kritik hastalıklarda karaciğer, kas ve plazma glutatyon düzeylerinde azalma görülür, sonuç olarak vücut antioksidan kapasitesi azalır ve oksidatif hasar ortaya çıkar.

Glutamin, glutatyonun öncülü olarak glutatyon düzeylerindeki değişiklikleri olumlu yönde etkileyerek karaciğer fonksiyonlarının da korunmasını sağlar (86).

Son zamanlarda çok sayıda araştırma grubu glutaminin farklı hücrelerdeki, fizyolojik ve patolojik durumlardaki etkileri üzerine çalışmaktadır. Bunlardan birisi de immun sistem üzerindeki etkisidir.



**Şekil 2.** Glutaminin kimyasal yapısı ve glutamattan glutamin sentetaz enzimi yoluyla sentezi (85)

#### **4.1. Glutamin ve İmmunite**

Glutamin immunonutrisyon çalışmalarında sık kullanılan besin elemanlarından biri olup, intestinal mukoza hücreleri, makrofajlar, lenfositler ve diğer immun sistem bağışıklık hücreleri için nükleotid prekürsörü ve respiratuvar substrattır (89).

Glutaminin kısa ve uzun süreli kemik iliği doku kültürleri için de gerekli bir madde olduğu iyi bilinmektedir (14). Lenfosit proliferasyonu ve olgunlaşması için gerekli bir substrattır, bağışıklık hücrelerinin işlevini arttırmaktadır. Çeşitli stres koşullarında uygulanan glutamin desteğinin B ve T lenfosit popülasyonlarını koruduğu ve in vitro koşullarda makrofaj ve nötrofillerin bakterisidal etkisini arttırdığı gösterilmiştir (10). Strese bağlı olarak nötrofillerdeki azalmış bakterisidal fonksiyonun glutamin desteğiyle düzeldiği gösterilmiştir (7). Postoperatif dönemde glutamin ile beslenen hastalarda lenfosit sayısının daha çabuk normale döndüğü, nötrofillerde sistein-lökotrien düzeylerinin daha yüksek olduğu ve nötrofillerin

bakterisidal etkisinde artış gösterilmiştir (6, 10, 90). Yanıklı çocuk hastalardan alınan nötrofillerde glutamin desteği ile bakterisidal etkide artış gösterilmiştir (91).

Yapılan hayvan çalışmalarında katabolik durumlarda uygulanan parenteral glutamin desteğiyle intestinal mukoza bütünlüğünün korunduğu, total parenteral nutrisyona bağlı negatif etkilerin azaldığı bildirilmiştir (6, 92, 93). Saito ve ark. ları (89) ratlarda oluşturdukları peritonit modelinde, hayvanlardan alınan nötrofillere uygulanan glutamin desteği ile fagositozda ve reaktif oksijen metabolitlerinin üretiminde artış olduğunu göstermişlerdir. Diğer yandan Curi ve ark. ları (94) ratlardan peritoneal lavaj yolu ile aldıkları nötrofilleri gram negatif bakteri ürünü lipopolisakkaritlere maruz bırakmışlar ve glutamin desteği alan nötrofilleri kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında, glutamin alan grupta tümör nekrosis faktör üretiminin daha az olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuç, glutaminin infeksiyon veya doku hasarına maruz kalan nötrofillerin fonksiyonlarını da olumlu etkilediğini göstermektedir.

Kanser dışı tanılarla tedavi gören hastalarda da glutamin desteğiyle postoperatif dönemde hastanede kalış süresinin ve dolayısıyla tedavi maliyetinin azaldığı, glutaminin postoperatif dönemde iskelet kası proteini sentezini arttırdığı ve nitrojen dengesini düzelttiği, ayrıca travma hastaları ve çok düşük doğum ağırlıklı prematürelde nozokomiyal enfeksiyon sıklığını ve çok düşük doğum ağırlıklı prematürelde mekanik ventilasyon ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir (9, 6, 10).

#### **4.2. Kemoterapiye Bağlı Miyelosupresyonda Glutamin**

Diğer katabolik olaylarda olduğu gibi kanserli hastalarda da intrasellüler glutamin düzeyleri düşmekte ve glutamin esansiyel hale gelebilmektedir. Uygulanan KT ve/veya RTye bağlı bulantı, iştahsızlık, mukozit gibi sorunlar da gıda alımını azaltmakta ve hastaların bir kısmına parenteral nutrisyon uygulanması gerekmekte ve bu hastalarda glutamin içermeyen solüsyonlar kullanıldığında glutamin eksikliği daha da ağırlaşmaktadır (11, 12). Ayrıca maliyn neoplasmlarda salınan doku nekroz faktörünün serum glutamin düzeylerini düşürdüğü ve kanser hücrelerinin normal hücrelerdeki glutamin miktarını azaltarak dolaylı olarak

oksidasyondan koruyucu olan hücre içi glutatyon düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (13). Kanserle ilişkili glutamin eksikliği normal dokuların kanser tedavisine toleransını azaltmakta, her siklusta uygulanan ilaç dozunun düşürülmesine neden olarak KT'nin etkisini azaltmaktadır. Ayrıca glutamin desteğinin tümör hücrelerinin KT'ye duyarlılığını arttırarak tümörosidal etkiyi arttırdığı ve normal dokuları tedaviye bağlı yan etkilerden koruyabildiği gösterilmiştir (10, 95, 96). Bu nedenlerle glutamin 2000'li yılların başlarından itibaren yoğun KT, RT ve yüksek doz KT ile kök hücre nakli uygulanan hastalara verilen oral ve parenteral beslenmenin önemli bir bileşeni olmuştur (3, 14, 97).

Glutaminin tümör büyümesi üzerine etkisinin araştırıldığı rat çalışmalarında uzun süreli uygulanan oral glutaminin tümör ağırlığı, tümörün protein ve DNA sentezini arttırmadığı, tümörün büyüme kinetikleri ve metastaz yapabilme özelliğinde herhangi bir artışa yol açmadığı gösterilmiştir (11)

Oral glutaminin KT'ye bağlı diyare, oral mukozit ve gastrointestinal sistem ile ilişkili diğer semptomların süre ve ağırlığını azaltabildiği, özellikle fluorourasile bağlı intestinal toksisiteyi önlediği bildirilmiştir (98, 99, 100, 101, 102). Yapılan bazı randomize çalışmalarda yüksek doz KT ve kök hücre nakli uygulanan hastalara parenteral glutamin desteği uygulanması ile total lenfosit sayısı, CD4 ve CD8 lenfosit sayılarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, nitrojen retansiyonunun düzeldiği, infeksiyon sıklığının azaldığı, intestinal mukozit şiddetinin ve hastanede kalış sürelerinin daha az olduğu bildirilmiştir (2, 3, 6, 12). Glutaminle ilişkili bu olumlu sonuçlara rağmen, yüksek doz KT ve kök hücre nakli uygulanan hematolojik maliyniteli hastalarla yapılan bazı çalışmalarda glutaminin tümör yanıtı ve KT'ye bağlı yan etkileri önlemede olumlu bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir, bu nedenle konvansiyonel KT ve kök hücre naklinde glutamin desteği halen araştırılmakta olan bir konudur (4, 5, 55, 12, 17).

Glutaminin konvansiyonel KT sonrasında görülen miyelosupresyon ve nötrofil engraftmanı üzerindeki etkisi konusunda yapılmış az sayıda çalışma mevcuttur (11,14). Bildiğimiz kadarıyla İngilizce literatürde konvansiyonel KT'ye sekonder miyelosupresyonda glutaminin etkisini araştıran hayvan çalışması yoktur. Kemoterapi uygulanan ratlarda glutamin ile yapılan çalışmalar daha çok glutaminin



tümör hücrelerindeki glutasyon düzeyini düşürerek KT selektivitesini arttırıcı etkisi ve kemoterapi sonrası gastrointestinal mukoza hücreleri üzerindeki koruyucu etkileri üzerinedir (68, 103).

Glutaminin, kanser dışı tanılarla tedavi gören hastaların bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinmektedir, ancak KT ve kök hücre transplantasyonu uygulanan kanser hastalarıyla yapılan klinik çalışmalarda glutamin desteğinin bağışıklık sistemi üzerindeki olumlu etkisi halen tartışmalıdır (12, 17, 55)

## **5. İfosfamid**

İfosfamid çok sayıda tümörün tedavisinde kullanılan bifonksiyonel bir alkile edici ajandır. 1970 li yılların başlarında siklofosfamidden daha geniş spektrumlu antitümöral etkisi olan bir ajan araştırılırken geliştirilen bir oksazafosforin analogudur (104). Asimetrik konumda fosfor atomları içeren ve iki enantiomerik formu olan bir moleküldür; R-ifosfamid, S-ifosfamid. Klinik pratikte kullanılmakta olan ifosfamid bu iki stereoizomerin 50:50 razemik karışımıdır (105).

Siklofosfamid ile karşılaştırıldığında daha az miyelosupresyon yapması nedeniyle daha yüksek dozlarda uygulanabilmesi önemli bir avantajdır (100). Oksazafosforinlerin etkisi reaktif elektrofilik gruplarıyla DNA daki guaninin N-7 pozisyonuna bağlanarak DNA yı alkilemeleri sonucu DNA iplikçiklerinin aralarında kovalen bağlar oluşturmaları ve sonuç olarak sitotoksisite ve hücre ölümü yoluyla gerçekleşir. Eğer nükleik asit yapısında oluşan bu değişiklik hücrenin ölümüne yol açmazsa mutagenез ve karsinogenез ile sonuçlanabilir.

İnsanlarda oral biyoyararlanımı yüksek olmasına rağmen, bu yolla alındığında nörotoksik bir metabolit olan kloroasetaldehidin yüksek miktarlarda üretimi nedeniyle intravenöz yolla uygulanmaktadır. İfosfamid uygulandıktan sonra vasküler ve ekstrasvasküler boşluktaki tüm vücut sıvılarına yaygın bir şekilde dağılır, beyin omurilik sıvısındaki konsantrasyonları plazma konsantrasyonuna benzer oranlara ulaşır. Temel olarak karaciğerde metabolize olur ancak oral ve intravenöz uygulamaların metabolik yolları farklıdır. Karaciğerde sitokrom p-450

sistemi ile aktive olarak bir ara molekül olan 4-OH-ifosfamid ve aldoifosfamide dönüşür, aldoifosfamid de spontan olarak parçalanarak aktif form olan ifosforamid mustard ile birlikte ürotoksik olan akroleinin açığa çıkmasına neden olur. İfosfamidin yarılanma ömrü değişken olup tedavi süresi, hastanın yaşı, dokuların yağ oranı, birlikte kullanılan diğer ilaçlar, karaciğer ve böbrek fonksiyonları ile ilişkilidir (104).

İfosfamidin diğer antineoplastik ilaçlarda da görülebilen miyelosupresyon, bulantı, kusma, alopesi ve hipersensitivite gibi çok sayıda akut yan etkisi vardır. Bu etkiler uygun dozda ilaç kullanımı ve büyüme faktörlerinin kullanımı gibi medikal önlemlerle başarılı bir şekilde kontrol edilebilmektedir. Tablo 6 de İfosfamid ile ilişkili olarak görülebilen yan etkiler özetlenmiştir.

**Tablo 6.** İfosfamid yan etkilerinin ortaya çıkış süreleri (101).

Organ	Yan Etki	Yan Etki Başlangıç Zamanı
Kardiyovasküler sistem	*Aritmi (yüksek dozda)	Erken
Santral sinir sistemi	Ensefalopati( başlangıç 2 saat- 1 ay)	Ani veya Erken
Dermatolojik	Alopesi (sık)	Erken
Gastrointestinal sistem	Bulantı-kusma(birkaç saat ile 3 gün süreli)	Ani
Hematolojik	*Miyelosupresyon (8-10. günlerde en ağır, iyileşme 14-21 gün)	Erken
Hipersensitivite	Tip 1(anfilaktoid, nadir)	Ani
Akciğer	İnterstisyel pnömoni(nadir)	Geç
Böbrek/Metabolik	*Hematüri, proksimal tübüler hasar, uygunsuz ADH sendromu, metabolik asidoz	Ani, Erken veya Geç
Over-testis	Gonadal hasar, sterilite	Geç

\* = Doz sınırlayıcı etki

İfosfamidin ayrıca hemorajik sistit, nefropati, ensefalopati ve kardiyak toksisite gibi daha spesifik, hayatı tehdit edici yan etkileri de vardır. Hemorajik sistit siklofosfamid ve ifosfamidin karaciğerde üretilen bir metaboliti olan akroleinin

ürotoksik etkisi nedeniyle oluşan ağır bir komplikasyondur. Klinikte ifosfamid siklofosfamide oranla daha yüksek dozlarda uygulanmakta, bu da daha fazla akrolein üretimi ile sonuçlanmaktadır, bu nedenle hemorajik sistit görülme olasılığı ifosfamid uygulamasında daha yüksektir. Bir tiyol bileşiği olan sodyum 2-merkaptotansulfonat (MESNA) akrolein ve diğer oksazafosforin metabolitlerine bağlanarak bu komplikasyonun gelişimini önler. İfosfamide bağlı nefrotoksisite daha çok çocukluk çağında bildirilmiş olup ve bu ilacı alan çocukların yaklaşık %30 unda gelişir. Nefrotoksisitenin daha çok çocuklarda görülmesinin nedeni çocukluk çağı kemoterapi protokollerinde daha yüksek doz ifosfamid uygulanmasıdır. Skinner ve ark. nın (100) çalışmasında kümülatif ifosfamid dozunun yüksek oluşu nefrotoksisite gelişimi açısından tek risk faktörü olarak bulunmuş, 100mg/m<sup>2</sup> ve üzerindeki kümülatif dozlardan kaçınılması gerektiğini bildirilmiştir. Nefrotoksisite nefronun herhangi bir segmentinde görülebilmekle birlikte glukoz, fosfat, bikarbonat, amino asit ve protein kaybı ile karakterize Fanconi sendromu benzeri tabloya yol açan proksimal tubulopati görülen en sık klinik tablodur (4). Hemorajik sistitten farklı olarak nefrotoksisitede MESNA'nın herhangi bir koruyucu etkisi yoktur ve ifosfamid kesildikten sonrada genellikle devam eder. Sisplatin, aminoglikozitler ve karboplatin gibi diğer nefrotoksik ajanlarla birlikte uygulanması, yüksek kümülatif doza ulaşılması ve küçük yaş nefrotoksisite gelişiminde risk faktörleridir (100). Santral sinir sistemi toksisitesi yüksek dozda ifosfamid uygulanan hastaların %10-40 ında gelişen, konfüzyon, ataksi, görsel halüsinasyonlar, konvülsiyon ve ekstrapiramidal bulgularla karakterize bir durumdur ve mekanizması bilinmemekle birlikte bir ifosfamid metaboliti olan kloroetilaminin nörotoksik etkisi ile oluşabileceği düşünülmektedir (101). Periferik nöropati daha nadir görülen bir yan etki olup özellikle daha önceden aksonal nöropatisi olan hastalarla, sisplatin, paklitaksel, vinkristin gibi nörotoksik ilaç alan hastalarda görülür (102). Kardiyotoksisite konvansiyonel dozda ifosfamid alan hastalarda nadiren görülmekte olup daha çok myokardiyal veya iskemik toksisite şeklindedir, aritmi görülen olgular da bildirilmiştir. Kardiyotoksisitede erken tanı klinik seyrin kötü olması nedeniyle çok önemlidir. Alkile edici ajanlara karşı kazanılmış direnç sık görülmekle beraber biyokimyasal nedeni henüz açığa kavuşmamış bir sorundur. Artmış intrasellüler glutatyon, artmış aldehid dehidrogenaz aktivitesi ve yüksek DNA onarım kabiliyeti etkili olabilecek en önemli mekanizmalardır (18).

Ratlarda ifosfamid doz-toksisite ilişkisi üzerine yapılmış az sayıda çalışma vardır. Konvansiyonel rat:insan dönüşüm 1:7 oranı göz önünde bulundurulduğunda ratlara 100mg/kg tek dozda ifosfamid uygulandığında, insanlara klinik uygulamada tek dozda verilen 600mg/m<sup>2</sup> dozuna eşit gelmektedir. Wainer ve ark. (105) nın yaptığı çalışmada ratlara 100mg/m<sup>2</sup> veya 125 mg/m<sup>2</sup> ifosfamid R, S, RS formları tek doz uygulanmış, 7-10 gün içinde toksisite değerlendirilmiş ve R-ifosfamid uygulanan grupta lethality 1:5, S-ifosfamid uygulanan grupta 0:5 olarak saptanmıştır.

## 4. OLGULAR VE YÖNTEM

### 4.1. Materyal

Çalışmada kullanılacak olan toz şeklindeki glutamin yurt dışından satın alınarak temin edildi. G-CSF (Neupogen 30 IU enjektör, Roche) ve etken ilaç ifosfamid (Holoxan 2g flakon - Eczacıbaşı) ülkemizdeki eczanelerden satın alınarak temin edildi.

### 4.2. Denekler

Çalışmada uygulanacak yöntem Tıp Bilimleri Uluslararası Organizasyonlar Konseyi Hayvan Deneyleri Etik Yasasına uygun olup, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Çalışmaları Etik Kurulu tarafından onaylandı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Laboratuvarı'ndan temin edilen Wistar cinsi, ağırlıkları 200-250gr. olan, toplam 33 dişi rat çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan ratlardan hiçbiri gebe değildi.

Çalışma prospektif, randomize olarak, her biri yedi rat içeren dört çalışma grubu ve beş rat içeren kontrol grubu olmak üzere toplam beş gruba yapıldı. Ratlar, çalışma öncesinde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Laboratuvarı'nda bir hafta süreyle 24 C° ısıda, 12 saat aydınlık - karanlık ortamda, standart yem ile beslenerek, gıda ve sıvı alımları serbest olacak şekilde izlendi.

### 4.3. DeneySEL Plan

Çalışmaya başlarken 33 rat randomize edilerek beş grup oluşturuldu ve çalışma süresince her bir grup ayrı bir kafeste, ancak aynı fiziksel ortamda, gıda ve sıvı alımları serbest olacak şekilde izlendi:

**Grup 1:** Kontrol grubu (n= 5), 19 gün süreyle standart diyet,

**Grup 2:** İfosfamid uygulanan grup (n= 7), 19 gün süreyle standart diyet,

**Grup 3:** İfosfamid + G-CSF uygulanan grup (n= 7), 19 gün süreyle standart diyet,

**Grup 4:** İfosfamid + enteral glutamin uygulanan grup (n= 7), ilk 10 gün standart diyet ve glutamin, sonraki 9 gün standart diyet,

**Grup 5:** İfosfamid + glutamin + G-CSF uygulanan grup (n= 7), ilk 10 gün standart diyet ve glutamin, sonraki 9 gün standart diyet ile beslendi.

Grup 1, 2 ve 3 çalışma süresince (19 gün) standart diyet ile beslendi. Grup 4 ve 5 teki ratlara çalışmanın ilk 10 gününde standart diyete ek olarak, 0,5g/kg/gün dozunda glutamin içeren solüsyon nazogastrik yolla uygulandı, bu ratlar da çalışmanın kalan süresinde sadece standart diyet ile beslendiler. Glutamin dozu, glutamin ile yapılmış diğer rat çalışmaları ve insan çalışmaları göz önünde bulundurularak belirlendi (89, 92, 93). Glutaminin stabil olmaması nedeniyle her bir rata uygulanacak olan glutamin solüsyonu nazogastrik uygulamadan hemen önce taze olarak hazırlandı. Kontrol grubu dışındaki tüm ratlara beslenmenin 11. gününde 125mg/kg ifosfamid (Eczacıbaşı-Holoxan 2g flakon) intravenöz olarak tek doz uygulandı. İfosfamid ile eş zamanlı olarak 125mg/kg MESNA (Üromitexan 400mg ampul) intravenöz olarak uygulandı. İfosfamidin kanser hastalarında kullanılan terapötik dozu 1,5 g/m<sup>2</sup> ile 12 g/m<sup>2</sup> arasında değişmektedir. Ratlara uygulanacak ifosfamid dozu daha önce ratlarla yapılmış çalışmalardan yola çıkılarak, kabul edilebilir mortalite oranı göz önünde bulundurularak belirlendi (105). İfosfamid ile ratlarda daha önce yapılan çalışmalar, ratlara uygulanacak 100mg/kg ifosfamid dozunun, insanlarda uygulanan 600mg/m<sup>2</sup> lik doza denk geldiğini göstermiştir. İnsanda uygulanan bu doz klinikte tek doz ifosfamid uygulamaları için standart bir dozdur (106). Wainer ve ark. ları (87) 1994 yılında ratlarla yaptıkları bir çalışmada ratlara 100mg/kg, 125mg/kg ve 150mg/kg dozlarında ifosfamid uygulamışlar, 100mg/kg, 125mg/kg dozlarında ifosfamid uygulamaları sonrası benzer ve kabul edilebilir lethalite oranları (5 rattan biri kaybedilmiş) elde etmişken, 150mg/kg dozda ifosfamid uygulaması sonrası lethalite oranında belirgin artış (4 rattan ikisi kaybedilmiş) saptamışlardır. Çalışmamızda bu araştırmadan yola çıkarak, konvansiyonel rat:insan doz dönüşüm faktörü olarak kabul edilen 1:7 oranı dikkate alınarak ratlara ifosfamid 125mg/kg intravenöz olarak ve tek dozda uygulanmıştır.

Yapılan çalışmalarda G-CSF, ratlara 1,5 – 10 µg/kg/gün dozlarında subkutan uygulanmıştır (104, 105). Çalışmamızda G-CSF, Grup 3 ve grup 5 teki ratlara ifosfamid dozlarının tamamlanmasından sonra yedi gün süre ile 10µg/kg/gün dozunda (Neupogen 30 IU enjektör) subkutan verildi.

Ifosfamidin verilmesinden sonra miyelosupresyonun derecesinin belirlenmesi amacıyla tam kan sayımı ve periferik yayma değerlendirmeleri çalışmanın farklı zamanlarında yapıldı. Bu amaçla çalışmanın 11. günü (ifosfamid uygulaması öncesi), 14. günü (ifosfamid uygulamasından üç gün sonra) ve 19. günü (ifosfamid uygulamasından sekiz gün sonra) tüm ratlardan periferik kan örnekleri kuyruk veninden alınıp tam kan sayımı yapıldı ve periferik yayma ile lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları değerlendirildi (3, 4). Laboratuvar incelemelerinin hangi günlerde yapılacağı ratlarda ifosfamid uygulaması sonrası miyelosupresyonun en belirgin olarak ortaya çıktığı ve düzelmeye başladığı süreler göz önünde bulundurularak belirlendi (106, 107). Diurnal etkilerin elimine edilmesi amacıyla kanlar tüm ratlardan aynı saatte alındı. Çalışmanın 19. gününde tüm ratlar sakrifiye edildi. Bu işlemler sırasında ratların anestezisi amacıyla eter inhalasyonu uygulandı.

#### **4.4. Klinik Değerlendirme**

Çalışma süresince tüm ratların ağırlıkları beşer gün aralarla toplam beş kez ölçüldü. Ratlar genel durum, aktivite, diyare, hemorajik sistit, klinik infeksiyon bulguları, gıda ve sıvı alımları açısından yakın olarak izlendi.

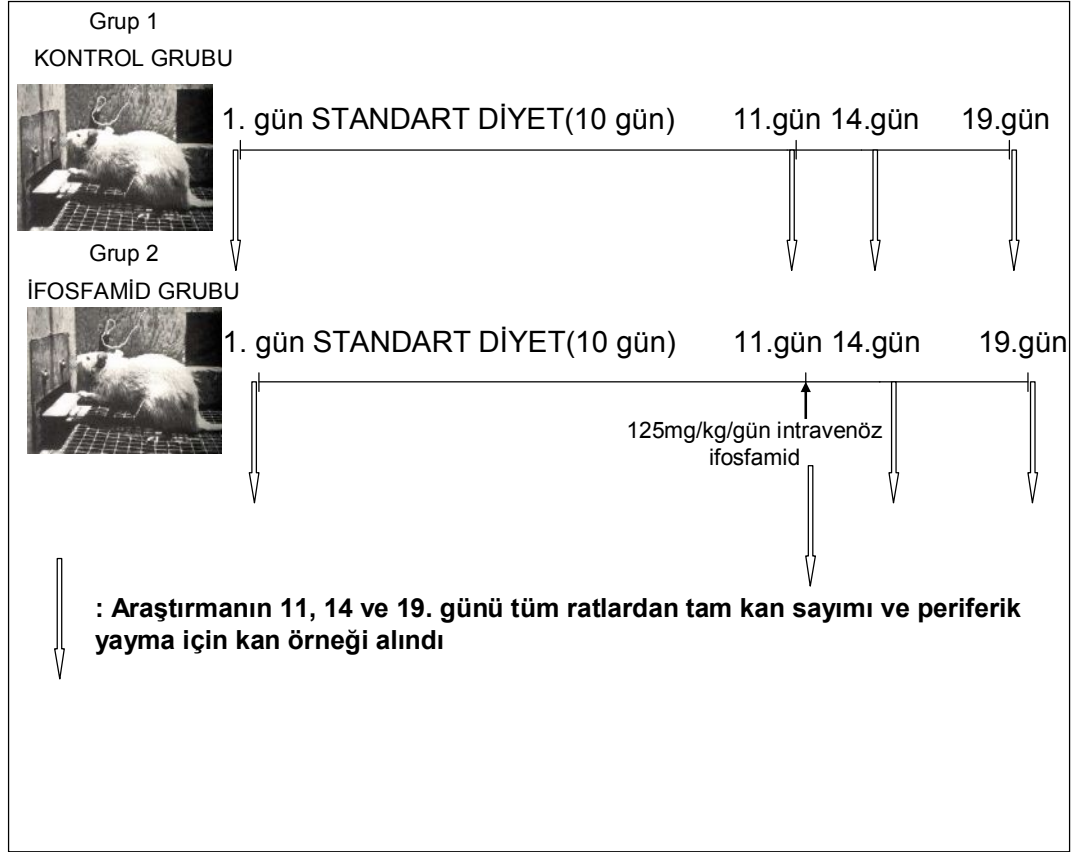
#### **4.5. Hematolojik İncelemeler**

Bir mililitre EDTA lı tüpe alınan kanların tam kan sayım analizleri, kan alınma işleminin hemen ardından Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Beckman Coulter LH 750 Analyzer cihazı ile yapıldı, tüm periferik yaymalar Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarı'nda Wright yöntemi ile boyandıktan sonra aynı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı tarafından değerlendirildi.

#### **4.6. İstatistiksel Yöntem**

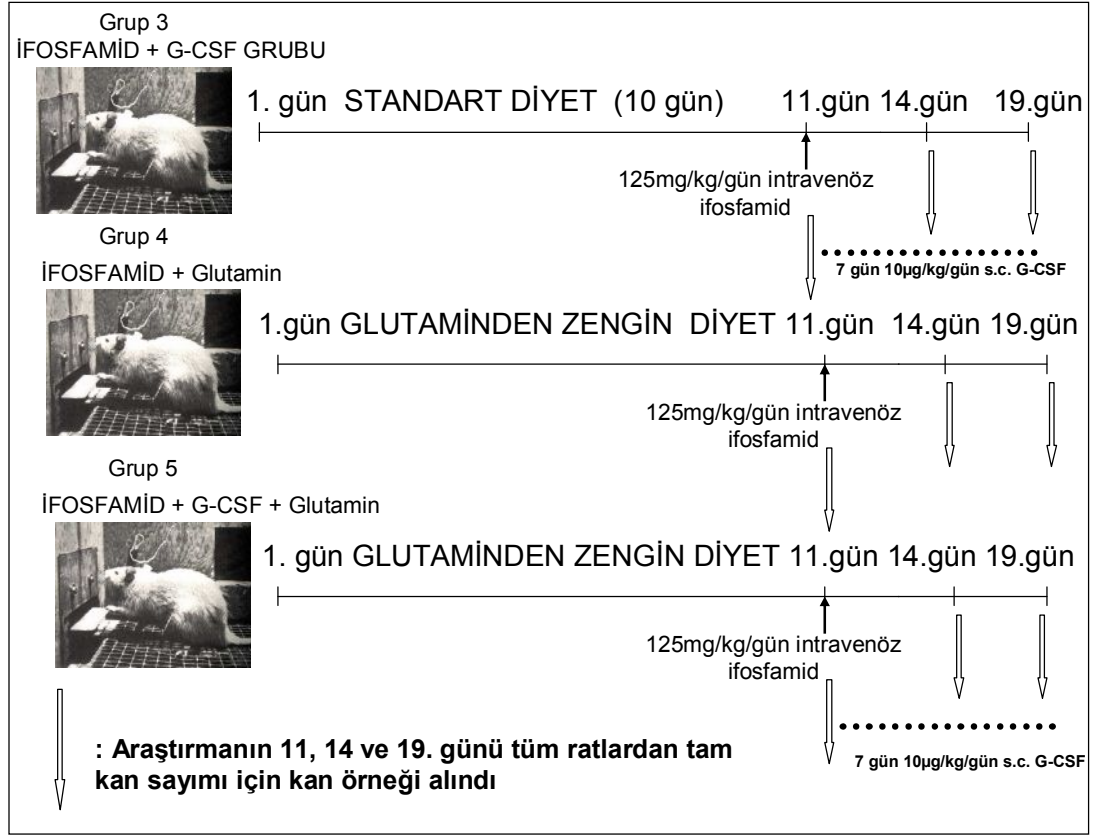
Tüm istatistiki analizler SPSS 11.0 bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Grupların lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları arasındaki fark Man Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi. Ratların lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit

sayıları Cuevas ve ark.nın çalışmasındaki veriler ve Türk Cerrahi Derneğinin 3. Ulusal Deneysel Cerrahisi Kursu'nda belirtilen kriterler kullanılarak değerlendirildi (108, 109). Grupların lökopeni, nötropeni, lenfopeni ve monositopeni oranları arasındaki farklar Ki-kare testi ile belirlendi. Çalışma süresince grupların ağırlıkları arasındaki farklar Man Whitney U testi ile değerlendirildi. Hematolojik sonuçlar ve ağırlık değerlerinin ortalamaları da bağımsız değişkenler t testi ile hesaplandı.



**Şekil 3.** Grup 1 ve 2 deki ratlara uygulanacak protokol





**Şekil 4.** Grup 3, 4 ve 5 teki ratlara uygulanacak protokol

#### 4.7. Sonuçların Değerlendirilmesi

1) Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'teki ratların lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları ile sitopeni oranları 5 gün aralarla ölçülerek, glutaminin ifosfamide bağlı mielosupresyonun derinliği üzerindeki etkisi değerlendirildi. Ayrıca glutamin ve G-CSF birlikte verilerek, glutaminin ifosfamide bağlı mielosupresyonun düzelmesinde G-CSF'ün olumlu etkisine additif etkisinin olup olmadığı değerlendirildi.

2) Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'teki ratların ağırlıkları beş gün aralarla ölçülerek, glutamin ve/veya G-CSF'ün konvansiyonel dozda ifosfamid sonrası ratların ağırlıkları üzerindeki etkisi değerlendirildi.

## 5. BULGULAR

01.12.2006–19.12.2006 tarihleri arasında toplam 33 rat çalışmaya alındı. Çalışma süresince Grup 2 ve Grup 3'ten birer rat olmak üzere toplam iki rat infeksiyon nedeniyle ve Grup 5'ten bir rat anesteziye bağlı solunum depresyonu nedeniyle kaybedildi. Sonuç olarak çalışmanın analizi 30 rat ile yapıldı. Çalışmanın periferik kan tablosu ile ilişkili sonuçları Tablo 7'de özetlenmiştir.

### **Kemoterapi Uygulanan Ratlarda Glutamin Desteğinin Miyelosupresyon Üzerine Etkisi Değerlendirildiğinde:**

Ifosfamid uygulaması öncesinde, çalışmanın 11. gününde alınan kan örneklerinde grupların ortalama lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları arasında fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Çalışmamızda ifosfamid uygulamasının 3. gününde (çalışmanın 14. günü) ve 8. gününde (çalışmanın 19. günü) gruplardan alınan kan örneklerindeki lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları karşılaştırıldığında, KT öncesi uygulanan glutamin desteğinin ifosfamide bağlı miyelosupresyonun erken (ifosfamid uygulamasının 3. günü) ve geç (ifosfamid uygulamasının 8. günü) dönemlerinde olumlu bir etkisinin olmadığı, tersine glutamin alan her iki grubun (Grup 4 ve Grup 5) ifosfamid sonrası 3. gün nötrofil sayılarının, destek tedavi almayan sadece ifosfamid uygulanan (Grup 2) gruba göre anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü ( $p<0,05$ ).

Ancak grupların sitopeni oranları değerlendirildiğinde, ifosfamid uygulamasının 8. gününde lenfopeni gelişen ratların oranı, ifosfamid + glutamin alan grupta (Grup 4), sadece ifosfamid uygulanan gruba (Grup 2) göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p:0,033$ ).

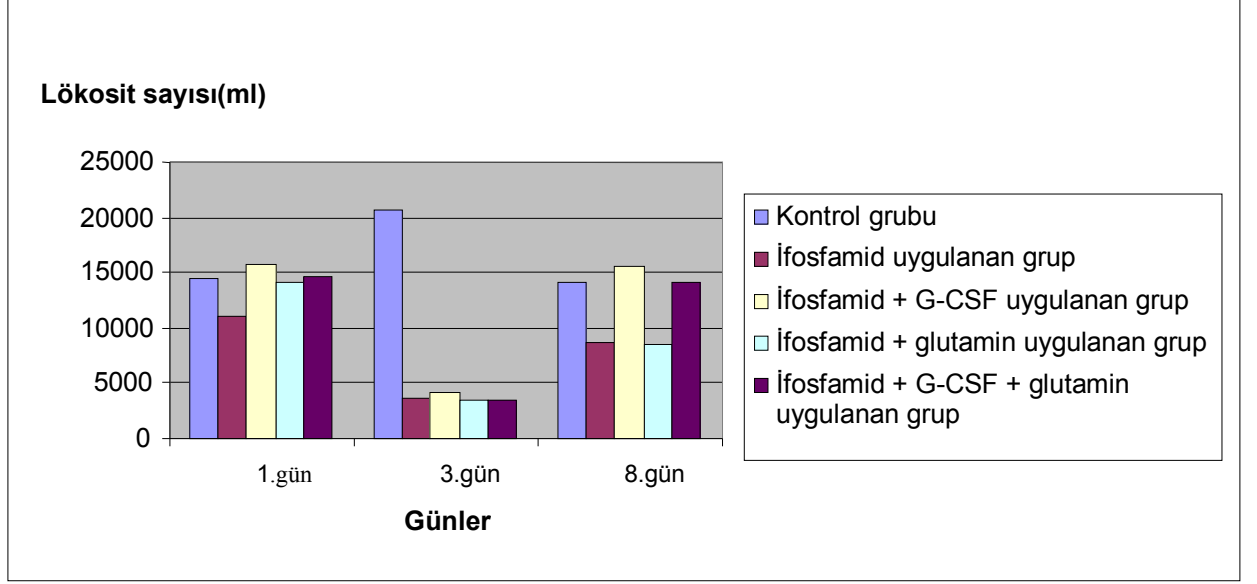
## **Kemoterapi Uygulanan Ratlarda Glutamin Desteğinin Ratların Kilo Alımı Üzerine Etkisi Değerlendirildiğinde:**

Çalışmaya alınan tüm gruptaki ratların çalışma başlangıcında ortalama ağırlıkları benzer olup, gruplar arasında anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Glutamin desteği alan gruptaki (Grup 4 ve 5) ratların kilo alımının, glutamin desteğinin uygulandığı ilk 10 gün süresince, diğer gruptan daha iyi olduğu görüldü. Ancak glutamin desteği kesildikten sonra, ifosfamid + glutamin uygulanan Grup 4 teki ratların aldıkları ağırlıkları kaybettikleri, ifosfamid + glutamin + G-CSF uygulanan Grup 5'teki ratların ağırlık ortalamalarının ise çalışmanın sonuna kadar diğer gruptan daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 5).

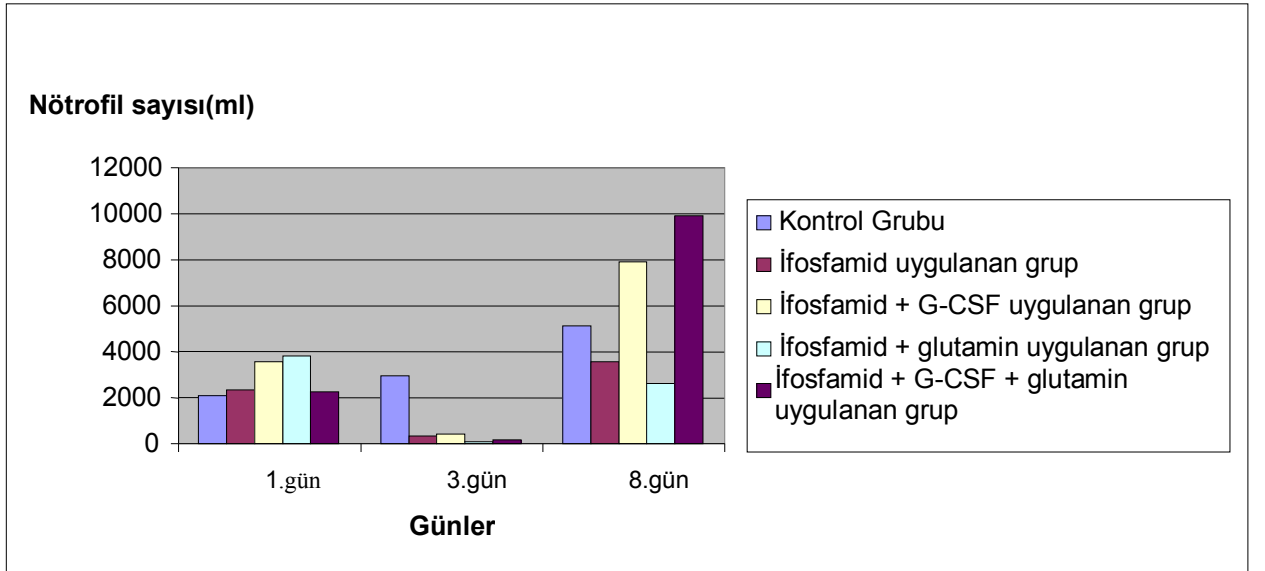
**Tablo 7.** Kontrol grubu ve ifosfamid uygulanan gruptaki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayı ortalamaları

Çalışma Grubu	<u>3. gün tam kan sayımı ortalama değerleri (sayı/ml)</u>				<u>8. gün tam kan sayımı ortalama değerleri (sayı/ml)</u>			
	Lökosit	Nötrofil	Lenfosit	Monosit	Lökosit	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
<b>Kontrol grubu</b>	20740 ± 6236,42	2935,20 ± 1960,69	16331 ± 3602,56	1493,60 ± 1369,40	14220,00 ± 3313,91	5171,20 ± 3041,09	8317,60 ± 3267,08	731,20 ± 617,54
<b>İfosfamid uygulanan grup</b>	3533,3 ± 854,79	389,33 ± 163,69	2970,66 ± 951,07	173,33 ± 108,12	8633,33 ± 3813,48	3553,33 ± 1571,34	4777,33 ± 3631,16	302,66 ± 332,56
<b>Ifosfamid + G-CSF uygulanan grup</b>	4200 ± 2117,54	424,66 ± 406,99	3589,33 ± 1687,13	186,00 ± 171,57	15666,67 ± 4129,72	7891,33 ± 2828,47	6900,66 ± 3645,18	874,66 ± 541,04
<b>Ifosfamid + glutamin uygulanan grup</b>	3528,57 ± 1054,69	74,85 ± 75,67	3130,28 ± 810,71	323,42 ± 299,04	8450,00 ± 2083,86	2625,14 ± 1031,39	5397,14 ± 2031,31	427,71 ± 493,08
<b>Ifosfamid + G-CSF + glutamin uygulanan grup</b>	3366,66 ± 2472,78	150,00 ± 151,36	2844,66 ± 2026,05	372,00 ± 537,60	14100 ± 2586,50	9929,60 ± 1884,20	3172,80 ± 1509,84	997,60 ± 873,90

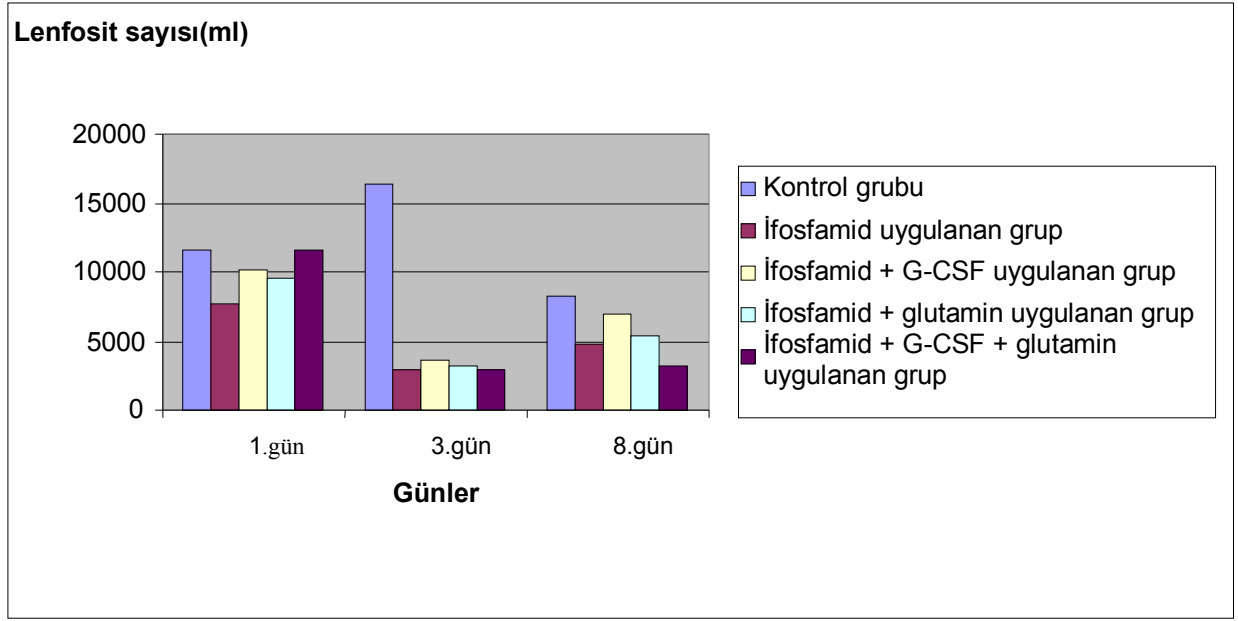
Çalışma süresince grupların ortalama lökosit, nötrofil, lenfosit, monosit değerleri aşağıda grafiklerle gösterilmiştir (Şekil 5, 6, 7, 8).



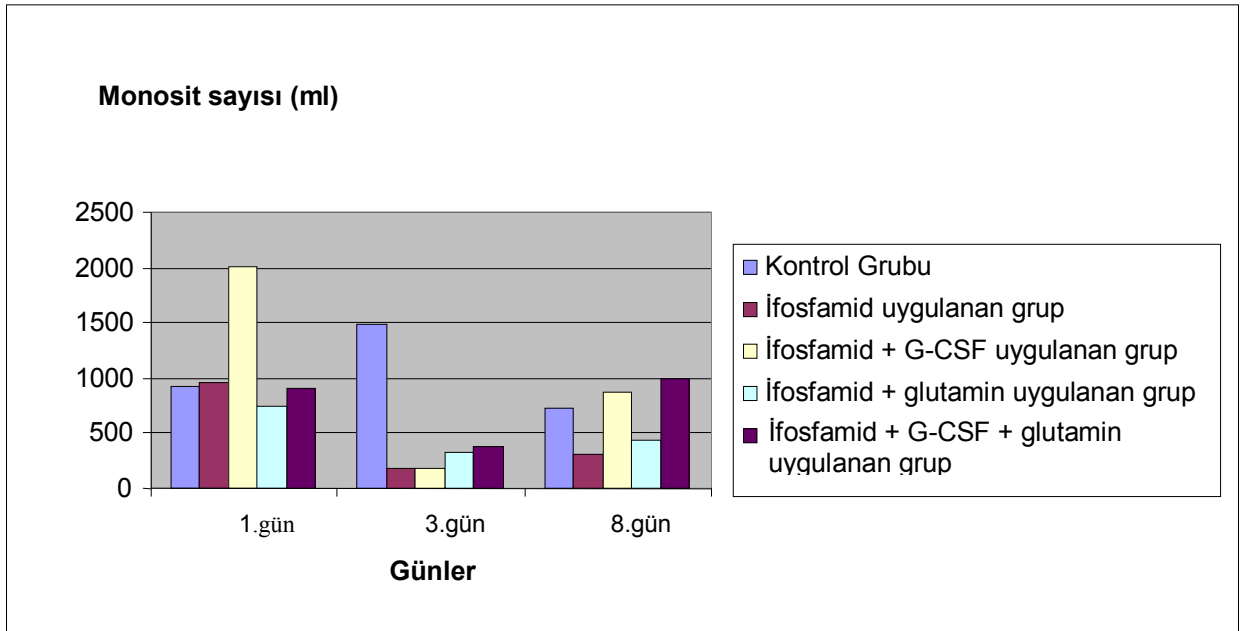
**Şekil 5.** Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit sayıları



**Şekil 6.** Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama nötrofil sayıları



**Şekil 7.** Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lenfosit sayıları



**Şekil 8.** Grupların ifosfamid uygulaması öncesi, ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama monosit sayıları

### **5.1. Lökosit, Nötrofil, Lenfosit ve Monosit Sayılarının Değerlendirilmesi**

Kontrol grubu ve ifosfamid uygulanan diğer gruptaki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayılarındaki değişiklikler sırasıyla Şekil 1, 2, 3 ve 4'de görülmektedir.

Beklendiği şekilde, ifosfamid uygulanan grupta (Grup 2, 3, 4, 5) uygulamanın 3. günündeki lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit değerleri, ilaç uygulanmayan grup olan kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ).

Ifosfamid uygulamasının 8. günündeki lökosit değerleri incelendiğinde ise, kontrol grubunun lökosit sayısının, sadece ifosfamid uygulanan grubun (Grup 2) ve ifosfamid + glutamin uygulanan grubun (Grup 4) lökosit sayılarından anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ( $p:0,018$ ,  $p:0,012$ ). Granülosit koloni stimulan faktör alan diğer iki grup (Grup 3 ve 5), kontrol grubu (Grup 1) ile karşılaştırıldığında ise grupların 8. gün lökosit değerleri arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p > 0,05$ ).

Diğer yandan kontrol grubunun 8. gün nötrofil, lenfosit ve monosit değerleri ile, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 ün 8. gün nötrofil, lenfosit ve monosit değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Bu sonuç ifosfamid uygulamasının 8. gününde KT ye bağlı miyelosupresyonun düzelmeye başladığını düşündürmektedir. Bununla birlikte istatistiki olarak gösterilememiş olsa da kontrol grubuyla karşılaştırıldığında G-CSF desteği almayan grupların (Grup 2 ve Grup 4) 8. gün nötrofil, lenfosit ve monosit sayılarının G-CSF alan gruptan (Grup 3 ve 5) belirgin olarak düşük olduğu görüldü (Tablo 1).

Ifosfamid + glutamin + G-CSF uygulanan Grup 5 in 8. gün lökosit sayısı kontrol grubundan farklı değilken, nötrofil sayısı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p:0,028$ ), bu farkın G-CSF kullanımına bağlı olduğu düşünüldü.

Bu sonuçlar kemoterapiye bağılı mielosupresyonun ifosfamid uygulamasının 3. gününde tüm ratlarda geliştiğini göstermektedir. Kemoterapinin 8. günü laboratuvar sonuçları incelendiğinde ise, ifosfamid alan ancak G-CSF uygulanmayan gruplarda (Grup 2 ve 4) hücre sayılarının halen düşük olduğu ancak 3. gün değerleriyle karşılaştırıldığında mielosupresyonun bu gruplarda da düzelmeye başladığı görüldü.

Sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) ile ifosfamid + G-CSF alan grup (Grup 3) arasında 3. gün lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları arasında anlamlı fark saptanmadı, ancak 8. gün lökosit ve nötrofil sayıları Grup 3 te anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p:0,025$ ,  $p:0,016$ ,  $p:0,05$ ). Diğer yandan G-CSF alan grubun 8. gün lenfosit ve monosit sayıları belirgin olarak daha yüksek olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Grup 2 lenfosit: 4777/ml, Grup 3 lenfosit: 6900/ml, Grup 2 monosit sayısı: 302/ml, Grup 3 monosit sayısı: 874/ml). Sonuç olarak KT sonrası kısa süreli G-CSF uygulamasının olumlu bir etkisi görülmemesine rağmen, uzun süreli G-CSF uygulamasının lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmektedir (Tablo 8).



**Tablo 8.** Grup 2 ve 3 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Parametre	Grup 2 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	Grup 3 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	p*
<b>3. gün</b>			
Lökosit	3533,33 $\pm$ 348,96	4200,00 $\pm$ 864,48	0,747
Nötrofil	389,33 $\pm$ 66,82	424,66 $\pm$ 166,15	1,00
Lenfosit	2970,66 $\pm$ 388,27	3589,33 $\pm$ 688,77	0,749
Monosit	173,33 $\pm$ 44,14	186,00 $\pm$ 70,04	0,747
<b>8. gün</b>			
Lökosit	8633,33 $\pm$ 1556,84	15666,67 $\pm$ 1685,95	<b>0,025</b>
Nötrofil	3533,33 $\pm$ 641,49	7891,33 $\pm$ 1154,72	<b>0,016</b>
Lenfosit	4777,33 $\pm$ 1482,41	6900,66 $\pm$ 1488,14	0,262
Monosit	302,66 $\pm$ 135,77	874,66 $\pm$ 220,88	0,106

p\*: p değeri tüm tablolarda  $<0,05$  olduğunda anlamlı kabul edilmiştir

Sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) ile ifosfamid + glutamin uygulanan grup (Grup 4) karşılaştırıldığında ise 3. gün nötrofil düzeyleri glutamin desteği almayan grupta anlamlı olarak daha yüksekti (p:0,002), ancak lökosit, lenfosit ve monosit sayıları arasında fark yoktu. Sekizinci gün parametreleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Diğer yandan istatistiksel anlamlı farklılık gösterilememekle birlikte grupların 3. ve 8. gün monosit sayıları karşılaştırıldığında, glutamin alan grupta monosit sayıları daha yüksekti. Sayılar arasındaki bu farklılık, erken ve geç dönemde glutamin desteğinin monositler üzerinde olumlu etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Tablo 9).

Sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) ile ifosfamid + glutamin + G-CSF alan grup (Grup 5) karşılaştırıldığında da 3. gün nötrofil sayıları, grup 2 de anlamlı olarak yüksekti (p:0,018). Bu iki grubun 3. gün lökosit ve lenfosit sayıları arasında

ise fark saptanmadı. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte 3. gün monosit sayılarının Grup 5 te belirgin olarak daha yüksek olduğu görüldü. Bununla beraber 8. gün lökosit ve nötrofil sayıları ise Grup 5 te anlamlı olarak daha yüksekti (p:0,009, p:0,003). Sekizinci gün lenfosit ve monosit sayıları açısından bu iki grup arasında anlamlı fark saptanmamasına rağmen Grup 5'in monosit sayıları belirgin olarak daha yüksekti (Grup 2 monosit sayısı: 302/ml, Grup 5 monosit sayısı: 997/ml) (Tablo 10).

**Tablo 9.** Grup 2 ve 4 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Parametre	Grup 2 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	Grup 4 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	p
<b>3. gün</b>			
<b>Lökosit</b>	3533,33 $\pm$ 348,96	3528,57 $\pm$ 398,63	0,775
<b>Nötrofil</b>	389,33 $\pm$ 66,82	74,85 $\pm$ 28,60	<b>0,002</b>
<b>Lenfosit</b>	2970,66 $\pm$ 388,27	3130,28 $\pm$ 306,42	0,775
<b>Monosit</b>	173,33 $\pm$ 44,14	323,42 $\pm$ 113,02	0,473
<b>8. gün</b>			
<b>Lökosit</b>	8633,33 $\pm$ 1556,84	8450,00 $\pm$ 787,62	0,886
<b>Nötrofil</b>	3533,33 $\pm$ 641,49	2625,14 $\pm$ 389,82	0,317
<b>Lenfosit</b>	4777,33 $\pm$ 1482,41	5397,14 $\pm$ 767,76	0,475
<b>Monosit</b>	302,66 $\pm$ 135,77	427,71 $\pm$ 186,37	0,499

**Tablo 10.** Grup 2 ve 5 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Parametre	Grup 2 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	Grup 5 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	p
<b>3. gün</b>			
Lökosit	3533,33 $\pm$ 348,96	3366,66 $\pm$ 1009,51	0,521
Nötrofil	389,33 $\pm$ 66,82	150,00 $\pm$ 61,79	<b>0,018</b>
Lenfosit	2970,66 $\pm$ 388,27	2844,66 $\pm$ 827,13	0,749
Monosit	173,33 $\pm$ 44,14	372,00 $\pm$ 219,47	0,630
<b>8. gün</b>			
Lökosit	8633,33 $\pm$ 1556,84	14100,00 $\pm$ 1156,71	<b>0,018</b>
Nötrofil	3533,33 $\pm$ 641,49	9929,60 $\pm$ 842,64	<b>0,006</b>
Lenfosit	4777,33 $\pm$ 1482,41	3172,80 $\pm$ 675,22	0,584
Monosit	302,66 $\pm$ 135,77	997,60 $\pm$ 390,82	0,097

Burada da KT öncesi glutamin alan grupta 3. gün nötrofil sayılarının daha düşük olduğu görülmektedir. Glutamin uygulanan gruplarda miyelosupresyona bağlı nötropenin neden daha ağır seyrettiği açıklanamadı. Diğer yandan glutamin desteği alan grubun 3. ve 8. gün monosit sayılarının burada da Grup 2 den daha yüksek olduğu görülmektedir. Grup 5 te 8. gün hücre sayılarındaki artış G-CSF ün uzun süreli kullanımına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Ifosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 3) ile ifosfamid + glutamin uygulanan grup (Grup 4) karşılaştırıldığında 3. gün lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu, ancak 8. gün lökosit ve nötrofil sayıları G-CSF alan grupta anlamlı olarak daha yüksekti (p:0,003, p:0,007). Sekizinci gün lenfosit değeri G-CSF alan grupta daha yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Benzer şekilde istatistiksel olarak gösterilememekle birlikte glutamin desteği alan grubun 3. gün

monosit sayısı ortalaması 323,42 iken, G-CSF alan grubun 3. gün monosit sayısı ortalaması 186,00 idi, bu rakamsal farkın 8. gün incelemelerinde tersine döndüğü G-CSF alan grubun 8. gün monosit sayısı ortalaması 874,66 iken, glutamin alan grubun 8. gün monosit sayısı ortalaması 427,71 olduğu görüldü. Bu karşılaştırmada da kısa süreli G-CSF uygulamasının parametreler üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, ancak uzun süreli uygulamada lökosit ve nötrofiller üzerinde olumlu etkisinin anlamlı olduğunu görüyoruz (p: 0,001, p: 0,003). İstatiksel açıdan gösterilemese de, erken dönemde glutaminin monosit sayısı üzerine olumlu etkisi görülürken, geç dönemde G-CSF ün monositler üzerindeki olumlu etkisinin ön plana çıktığı görüldü (Tablo 11).

**Tablo 11.** Grup 3 ve 4 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Parametre	Grup 3 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	Grup 4 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	p
<b>3. gün</b>			
Lökosit	4200,00 $\pm$ 864,48	3528,57 $\pm$ 398,63	0,775
Nötrofil	424,66 $\pm$ 166,15	74,85 $\pm$ 28,60	0,169
Lenfosit	3589,33 $\pm$ 688,77	3130,28 $\pm$ 306,42	0,886
Monosit	186,00 $\pm$ 70,04	323,42 $\pm$ 113,02	0,310
<b>8. gün</b>			
Lökosit	15666,67 $\pm$ 1685,95	8450,00 $\pm$ 787,62	<b>0,001</b>
Nötrofil	7891,33 $\pm$ 1154,72	2625,19 $\pm$ 389,82	<b>0,003</b>
Lenfosit	6900,66 $\pm$ 1488,14	5397,14 $\pm$ 767,76	0,668
Monosit	874,66 $\pm$ 220,88	427,71 $\pm$ 186,37	0,250

İfosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 3) ile ifosfamid + G-CSF + glutamin uygulanan grubun (Grup 5) karşılaştırıldığında 3. gün ve 8. gün lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı

( $p>0,05$ ). Her iki grup ta G-CSF aldığından bu beklenen bir sonuçtu ve bu sonuçlar glutaminin KT ye bağlı miyelosupresyonda olumlu bir etkisi olmadığını düşündürmektedir (Tablo 12). Bununla birlikte istatistiksel olarak gösterilememekle birlikte Grup 3 ve Grup 4 arasındaki karşılaştırmaya benzer şekilde Grup 5 in 3. gün monosit sayısı ortalaması 372 iken, Grup 3 ün 3. gün monosit sayısı ortalaması 186,00 dı, bu rakamsal farkın 8. gün incelemelerinde ortadan kalktığı görüldü. Bu erken dönemdeki farkın kombine destek alan grupta glutamin kullanımına bağlı olabileceği düşünöldü. Granölosit koloni stimulan faktörün monositler üzerindeki olası olumlu etkisinin her iki grupta da 7 gün süreli kullanımdan sonra ortaya çıktığı görölmektedir.

**Tablo 12.** Grup 3 ve 5 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Parametre	Grup 3 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	Grup 5 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	p
<b>3. gün</b>			
Lökosit	4200,00 $\pm$ 864,48	3366,66 $\pm$ 1009,51	0,423
Nötrofil	424,66 $\pm$ 166,15	150,00 $\pm$ 61,79	0,470
Lenfosit	3589,33 $\pm$ 688,71	2844,66 $\pm$ 827,13	0,423
Monosit	186,00 $\pm$ 70,04	372,00 $\pm$ 219,47	1,00
<b>8. gün</b>			
Lökosit	15666,66 $\pm$ 1685,95	14100,00 $\pm$ 1156,71	0,927
Nötrofil	7891,33 $\pm$ 1154,72	9929,60 $\pm$ 842,64	0,273
Lenfosit	6900,66 $\pm$ 1488,14	3172,80 $\pm$ 675,22	1,00
Monosit	874,66 $\pm$ 220,88	997,60 $\pm$ 390,82	1,00

İfosfamid + glutamin uygulanan grup (Grup 4) ile ifosfamid + G-CSF + glutamin uygulanan grup (Grup 5) karşılaştırıldığında 3. gün lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları arasında anlamlı fark saptanmazken, 8 .gün lökosit ve nötrofil değerleri G-CSF in trofik etkisi nedeniyle Grup 5 te anlamlı olarak daha

yüksekti (p:0,012, p:0,004). Diğer yandan 8. gün lenfosit sayısı sadece glutamin alan grupta anlamlı derecede daha yüksek bulundu (p:0,04). Bu iki grubun 8. gün monosit değerleri arasında istatistiksel açıdan fark yoktu, bununla birlikte monosit sayısının 8. günde Grup 5 te belirgin olarak daha yüksek olduğu görüldü (Grup 4 8. gün monosit sayısı: 427/ml, Grup 5 8. gün monosit sayısı: 997/ml) (Tablo 13).

**Tablo 13.** Grup 4 ve 5 teki ratların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki ortalama lökosit, lenfosit, nötrofil ve monosit sayıları

Parametre	Grup 4 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	Grup 5 Ortalama $\pm$ standart sapma (sayı/ml)	p
<b>3. gün</b>			
Lökosit	3528,57 $\pm$ 398,63	3366,66 $\pm$ 1009,51	0,71
Nötrofil	74,85 $\pm$ 28,60	150,00 $\pm$ 61,79	0,169
Lenfosit	3130,28 $\pm$ 306,42	2844,66 $\pm$ 827,13	0,567
Monosit	323,42 $\pm$ 113,02	372,00 $\pm$ 219,47	0,774
<b>8. gün</b>			
Lökosit	8450,00 $\pm$ 787,62	14100,00 $\pm$ 1156,71	<b>0,006</b>
Nötrofil	2625,14 $\pm$ 389,82	9929,60 $\pm$ 842,64	<b>0,002</b>
Lenfosit	5397,14 $\pm$ 767,76	3172,80 $\pm$ 675,22	<b>0,04</b>
Monosit	427,71 $\pm$ 186,37	997,60 $\pm$ 390,82	0,190

## **5.2. Lökopeni, Nötropeni, Lenfopeni ve Monositopeni Oranlarının Değerlendirilmesi**

İfosfamid uygulaması öncesi alınan tam kan sayımları değerlendirildiğinde çalışmaya alınan ratlardan hiçbirinde sitopeni yoktu. İfosfamid uygulamasının 3. gününde (çalışmanın 14. günü) kontrol grubundaki hiçbir olguda sitopeni saptanmazken, ifosfamid alan çalışma gruplarının herbirinde farklı oranlarda

lökopeni, nötropeni, lenfopeni ve monositopeni saptandı, oranlar tablo 14 de görülmektedir. Bununla birlikte ifosfamid uygulamasının 8. gününde (çalışmanın 19. günü) tüm gruplardaki ratlarda miyelosupresyon bulgularının düzelmeye başladığı ve sitopeni oranlarının tüm gruplarda gerilediği görülmektedir.

**Tablo 14.** Grupların ifosfamid uygulamasının 3. ve 8. günlerindeki lökopeni, nötropeni ve lenfopeni oranları

Parametre	Sitopeni Oranı (rat sayısı)				
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
<b>3. gün</b>					
<b>Lökopeni</b>	0/5	4/6	3/6	5/7	4/6
<b>Nötropeni</b>	0/5	6/6	5/6	7/7	6/6
<b>Lenfopeni</b>	0/5	1/6	1/6	2/7	3/6
<b>Monositopeni</b>	0/5	1/6	2/6	2/7	2/6
<b>8. gün</b>					
<b>Lökopeni</b>	0/5	1/6	0/6	0/7	0/6
<b>Nötropeni</b>	0/5	0/6	0/6	0/7	0/6
<b>Lenfopeni</b>	0/5	3/6	0/6	0/7	2/6
<b>Monositopeni</b>	0/5	3/6	0/6	3/7	0/6

Sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) ile ifosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 3) karşılaştırıldığında 3. ve 8. gün lökopeni ve nötropeni oranları açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Üçüncü gün lenfopeni ve monositopeni oranları arasında da fark yokken, 8. gün lenfopeni ve monositopeni oranlarının Grup 3'te anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü (p:0,046, p:0,046).

Sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) ile ifosfamid + glutamin uygulanan grup (Grup 4) karşılaştırıldığında ise 8. gün lenfopeni oranları dışında farklılık saptanmadı. Sekizinci günde lenfopeni oranı glutamin alan grupta anlamlı olarak daha düşüktü (p:0,033), Grup 4'te lenfopenili olgu yokken, Grup 2'de halen 3

olguda lenfopeninin devam ettiği görüldü. Ancak lenfopeni üzerindeki bu olumlu fark, glutamin alan diğer grup olan Grup 5 ile Grup 2 karşılaştırıldığında saptanmadı.

Sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) ile ifosfamid + G-CSF + glutamin uygulanan grup (Grup 5) karşılaştırıldığında ise 3. ve 8. gün lökopeni, nötropeni, lenfopeni ve monositopeni oranları açısından anlamlı fark yoktu, ancak 8. günde Grup 5 te monositopenisi olan hiçbir olgu yokken Grup 2 de halen 3 olguda monositopeninin devam ettiği görüldü (p:0,064).

Ifosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 3) ile ifosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 4) çalışmanın 3. ve 8. gününde sitopeni oranları açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Bununla birlikte Grup 3 te 8. günde monositopenili olgu yokken, Grup 4'te 7 olgunun 3 ünde monositopeninin halen devam ettiği görüldü, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p:0,067).

Ifosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 3) ile ifosfamid + G-CSF + glutamin uygulanan grup (Grup 5) sitopeni oranları açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Glutaminin 8. gün lenfosit sayısı üzerine olası olumlu etkisi Grup 2 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırmada gösterilmişken, Grup 3 ile Grup 5 arasında bu etki gösterilemedi. Bu sonuç KT sonrası lenfopeninin düzelmesinde glutaminin olumlu etkisinin olmadığını düşündürmesine rağmen, G-CSF'ün lenfosit sayısını olası artırıcı etkisinin, glutaminin lenfosit yapımı üzerindeki olumlu etkisini maskeleyebileceğini düşündürmektedir.

Ifosfamid + glutamin uygulanan grup (Grup 4) ile ifosfamid + G-CSF + glutamin uygulanan grup (Grup 5) karşılaştırıldığında çalışmanın 3. ve 8. gününde sitopeni oranları açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Grup 4'te 8. gün lenfopenisi olan olgu olmadığı, Grup 5'te ise iki olguda lenfopeni saptandığı görülmektedir, ancak bu fark istatistiksel olarak gösterilememiştir ( p:0,067).

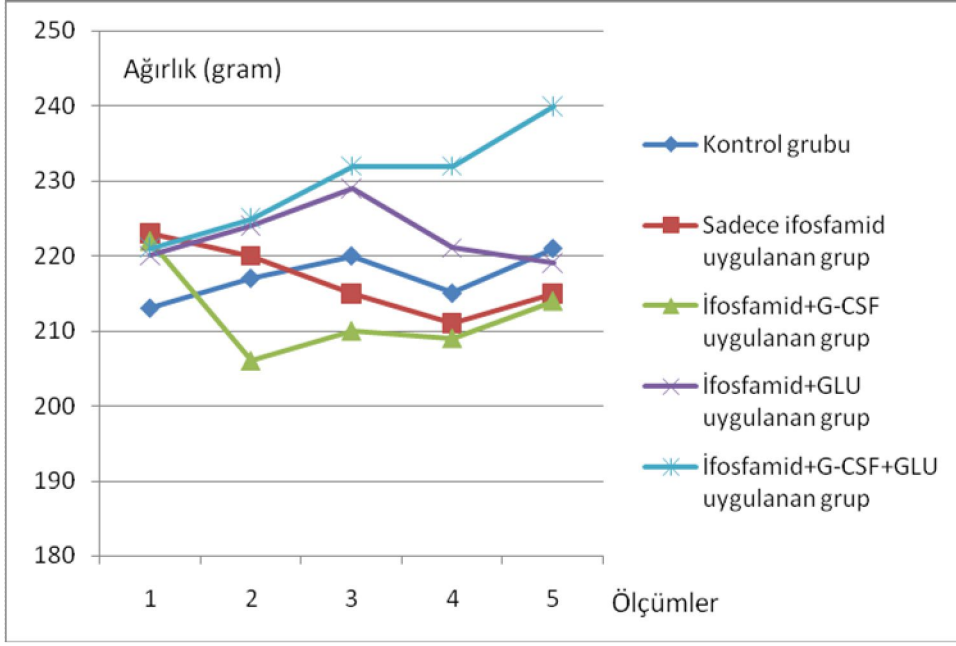


### 5.3. Ratların Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Çalışma süresince grupların ağırlık ortalamaları Tablo 15'te görülmektedir. Ratların ağırlıkları çalışmanın 1, 5, 15 ve 19. günlerinde ölçüldüğünde kontrol grubu (Grup 1) ile çalışma grupları arasında anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca ifosfamid + glutamin + G-CSF alan grup (Grup 5)'teki ratlar hariç, ifosfamid uygulanan diğer gruplardaki ratların ilaç uygulaması sonrası kilo kaybettikleri görüldü, ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 9). Grupların 10. gün ağırlıkları değerlendirildiğinde ise glutamin alan grupların (Grup 4 ve 5) ağırlık ortalamalarının, kontrol grubundan daha yüksek olduğu ve bu farkın sonraki ölçümlerde ortadan kalktığı görüldü (p:0,041, p:0,022).

**Tablo 15.** Grupların çalışma süresince ölçülen ağırlıklarının ortalamaları ve standart sapmaları

Ağırlık Ölçüm Zamanı	Ortalama Ağırlık (gram)				
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
1. gün	213,00 ± 2,73	223,57 ± 13,13	222,14 ± 15,23	220,00 ± 10,00	221,42 ± 18,36
5. gün	217,00 ± 9,08	220,42 ± 23,30	206,42 ± 18,31	224,28 ± 6,04	225,85 ± 12,28
10. gün	220,40 ± 7,12	215,42 ± 26,87	210,00 ± 21,74	229,42 ± 9,27	232,16 ± 6,33
15. gün	215,60 ± 8,56	211,00 ± 14,43	209,66 ± 11,51	221,85 ± 5,39	232,00 ± 13,76
19. gün	221,00 ± 24,07	215,50 ± 7,00	214,66 ± 9,02	219,28 ± 6,70	240,00 ± 10,29



**Şekil 9.** Çalışma süresince gruptaki ratların ortalama ağırlıklarındaki değişiklikler.

Benzer şekilde sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2), Grup 3 ve Grup 4 ile karşılaştırıldığında grupların ağırlıkları arasında çalışma süresince anlamlı fark saptanmadı (Tablo 16, 17). Bununla birlikte ifosfamid + glutamin + G-CSF alan grubun (Grup 5) 15 ve 19. gün ağırlıkları, Grup 2 ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksekti (p:0,045, p:0,010) (Tablo 18).

**Tablo 16.** Grup 2 ve Grup 3 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Ağırlık Zamanı	Ölçüm	Grup 2 Ağırlık (gram) Ortalama ± standart sapma	Grup 3 Ağırlık (gram) Ortalama ± standart sapma	p
1. gün		223,57 ± 13,13	222,14 ± 15,23	0,896
5. gün		220,42 ± 23,30	206,42 ± 18,31	0,159
10. gün		215,42 ± 26,87	210,00 ± 21,74	0,404
15. gün		211,00 ± 14,43	209,66 ± 11,51	0,873
19. gün		215,50 ± 7,00	214,66 ± 9,02	0,628

**Tablo 17.** Grup 2 ve Grup 4 teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Ağırlık Ölçüm Zamanı	Grup 2 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	Grup 4 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	p
1. gün	223,57 $\pm$ 13,13	220,00 $\pm$ 10,00	0,551
5. gün	220,42 $\pm$ 23,30	224,28 $\pm$ 6,04	0,608
10. gün	215,42 $\pm$ 26,87	229,42 $\pm$ 9,27	0,437
15. gün	211,00 $\pm$ 14,43	221,85 $\pm$ 5,39	0,110
19. gün	215,50 $\pm$ 7,00	219,28 $\pm$ 6,70	0,418

**Tablo 18.** Grup 2 ve Grup 5'teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Ağırlık Ölçüm Zamanı	Grup 2 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	Grup 5 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	p
1. gün	223,57 $\pm$ 13,13	221,42 $\pm$ 18,36	0,439
5. gün	220,42 $\pm$ 23,30	225,85 $\pm$ 12,28	0,518
10. gün	215,42 $\pm$ 26,87	232,16 $\pm$ 6,33	0,197
15. gün	211,00 $\pm$ 14,43	232,00 $\pm$ 13,76	<b>0,045</b>
19. gün	215,50 $\pm$ 7,00	240,00 $\pm$ 10,29	<b>0,010</b>

Grup 3 ile Grup 4 karşılaştırıldığında, çalışmanın 5. ve 10. günlerinde yapılan ölçümlerde glutamin alan Grup 4'teki ratların ağırlıkları anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p:0,029, p:0,038). Ancak 15 ve 19. gün ağırlık ölçümleri sonucunda her iki grubun ağırlıkları arasındaki farkın ortadan kalktığı düşünüldü (Tablo 19). Kemoterapi uygulaması öncesi verilen glutaminin kilo alımı üzerinde geçici olarak

olumlu bir etki yaptığı ancak ifosfamid verilmesi sonrası bu etkinin ortadan kalktığı görüldü. Kemoterapi uygulaması öncesi görülen bu olumlu etki ifosfamid + glutamin alan grup (Grup 4) ile sadece ifosfamid uygulanan grup (Grup 2) karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak gösterilemedi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 19.** Grup 3 ve Grup 4'teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Ağırlık Ölçüm Zamanı	Grup 3 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	Grup 4 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	p
1.gün	222,14 $\pm$ 15,23	220,00 $\pm$ 10,00	0,694
5.gün	206,42 $\pm$ 18,31	224,28 $\pm$ 6,04	<b>0,029</b>
10.gün	210,00 $\pm$ 21,74	229,42 $\pm$ 9,27	<b>0,038</b>
15.gün	209,66 $\pm$ 11,51	221,85 $\pm$ 5,39	0,61
19.gün	214,66 $\pm$ 9,02	219,28 $\pm$ 6,70	0,315

İfosfamid + glutamin + G-CSF uygulanan grup (Grup 5)'un 5. gün ve 10. gün ağırlıkları da ifosfamid + G-CSF uygulanan grup (Grup 3)'ten anlamlı olarak daha yüksekti ( $p: 0,017$ ,  $p:0,030$ ). Ancak Grup 5 te Grup 4'ten farklı olarak, ağırlık avantajının çalışma boyunca anlamlı olarak devam ettiği görüldü. Grup 5 te 15. ve 19. gün ağırlıklarının da Grup 3'ten anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü ( $p: 0,025$ ,  $p:0,01$ ) (Tablo 20).

**Tablo 20.** Grup 3 ve Grup 5'teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Ağırlık Ölçüm Zamanı	Grup 3 Ağırlık(gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	Grup 5 Ağırlık(gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	p
1. gün	222,14 $\pm$ 15,23	221,42 $\pm$ 18,36	0,748
5. gün	206,42 $\pm$ 18,31	225,85 $\pm$ 12,28	<b>0,017</b>
10. gün	210,00 $\pm$ 21,74	232,16 $\pm$ 6,33	<b>0,030</b>
15. gün	209,66 $\pm$ 11,51	232,00 $\pm$ 13,76	<b>0,025</b>
19. gün	214,66 $\pm$ 9,02	240,00 $\pm$ 10,29	<b>0,011</b>

İfosfamid + glutamin uygulanan grup (Grup 4) ve ifosfamid + glutamin + G-CSF uygulanan grup (Grup 5)'un ağırlıkları karşılaştırıldığında ise 5, 10, 15. gün ağırlıkları arasında beklendiği şekilde gruplar arasında anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Ancak 19. gün ağırlık ortalamasının Grup 5'te anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü ( $p:0,007$ ) (Tablo 21).

**Tablo 21.** Grup 4 ve Grup 5'teki ratların çalışmanın 1, 5, 10, 15 ve 19. günlerindeki ortalama ağırlıkları, standart sapmaları ve p değerleri

Ağırlık Ölçüm Zamanı	Grup 4 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	Grup 5 Ağırlık (gram) Ortalama $\pm$ standart sapma	p
1. gün	220,00 $\pm$ 10,00	221,42 $\pm$ 18,36	0,647
5. gün	224,28 $\pm$ 6,04	225,85 $\pm$ 12,28	0,948
10. gün	229,42 $\pm$ 9,27	232,16 $\pm$ 6,33	0,827
15. gün	221,85 $\pm$ 5,39	232,00 $\pm$ 13,76	0,191
19. gün	219,28 $\pm$ 6,70	240,00 $\pm$ 10,29	<b>0,007</b>

Sonuç olarak enteral glutamin desteği alan gruplarda kilo alımının çalışma suresince diğer gruplardan daha yüksek olduğu görüldü. Bu olumlu etkinin sadece glutamin alan grup 4'te destek kesildikten sonra ortadan kalktığı, glutamin ve G-CSF desteği alan grup 5'te ise çalışma suresince devam ettiği görülmektedir.

#### **5.4. Glutamine Bağlı Yan Etkilerin Değerlendirilmesi**

Glutamin alan ratlarda, glutamin ile ilişkili olduğu düşünülen herhangi bir yan etki izlenmedi.

## 6. TARTIŞMA

Günümüzde kanser tedavisinde sağkalımı artırmaya yönelik yoğun kemoterapi rejimleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte yoğun kombine KT rejimlerinin klinikte uygulanması normal dokulara olan toksisiteleri nedeniyle çeşitli komplikasyonlara neden olmaktadır. Bu toksisitelerin en yaygın görülenlerinden birisi miyelosupresyondur. Kemoterapinin immun sistemi baskıladığı, miyelosupresyona neden olduğu ve konakta infeksiyöz ve hemorajik komplikasyonlara yol açtığı bilinmektedir. Özellikle alkilleyiciler ve antimetabolitler başta olmak üzere çok sayıda kemoterapötik ilacın lökopeni ve nötropeni yapıcı etkileri oldukça kuvvetlidir. Kemoterapiye bağlı lökopeni ve nötropeninin genel olarak rekombinan koloni stimulan faktörlerin kullanımı ve/veya kemoterapi doz azaltımı ile önlenmesine veya ağırlığının azaltılmasına çalışılmaktadır. Ancak kemoterapi doz azaltımının antikanser tedavinin etkinliğinde azalmaya yol açması söz konusu olabileceğinden bu yöntem tercih edilmemektedir. Diğer yandan G-CSF'ün nötropenik infeksiyonların sıklığını azaltmasına rağmen tedavi ile ilişkili mortalite oranlarını değiştirmemesi ve aynı zamanda kullanım maliyetinin yüksek olması nedeniyle yeni destek tedavi arayışları sürmektedir (2).

Son yıllarda bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri olan besin öğelerinin kanser tedavisi alan hastalara uygulanması ve immunonutrisyon kavramının gelişmesi ile kanser hastalarında optimal beslenme rejiminin bulunmasına yönelik araştırmalarda artış görülmektedir. İmmunonütrisyon, sellüler ve humoral immüniteyi arttıran enteral veya parenteral diyetlerin uygulanması olarak tanımlanır.

İmmunonütrisyonunda kullanılan besin öğelerinin en önemlilerinden biri de glutamin amino asitidir. Bu konuda yapılan çok sayıda çalışmada glutamin desteğinin immun fonksiyonları arttırdığı gösterilmiştir (6, 7, 10, 90, 91). Katabolik stres durumunda glutaminin faydalı etkilerinin görülmesi, bu amino asitin KT'ye bağlı toksik etkilerden korunmak amacıyla da kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte saf glutaminin iki spesifik fiziksel ve kimyasal

özelliği; glutaminin spontan olarak siklik ürünü piroglutamik asite dönüşmesi ve suda çözünürlüğünün sınırlı olması, ticari olarak amino asit solüsyonlarının bulunmasını engellemektedir (86).

Bir immunonutrient olan glutamin ile bugüne kadar yapılmış çok sayıda deneysel ve klinik çalışma vardır. Glutaminin enteral veya parenteral desteğinin yenidoğan sepsisi, prematüre yenidoğanın ventilasyon ihtiyacı, yanıklı veya postoperatif dönemdeki hastaların immun fonksiyonları, katabolik durumlarda mukoza hasarı üzerindeki olumlu etkileri gösterilmiştir (10, 91, 92, 93). Yüksek doz KT ve kök hücre nakli sonrası verilen glutaminin lenfosit ve nötrofil sayıları, nitrojen retansiyonu, infeksiyon sıklığı, intestinal mukozit şiddeti ve hastanede kalış süreleri üzerindeki olumlu etkileri daha önce yapılmış çalışmalarda gösterilmiştir (3, 6, 12). Bununla birlikte enteral glutaminin konvansiyonel KT'ye bağlı miyelosupresyon, nötrofil toparlanma süresi ve kilo alımı üzerine olan etkilerini değerlendiren az sayıda çalışma vardır ve bu konu halen tartışmalıdır (11,14, 110).

Bu çalışmada enteral glutaminin tek başına veya G-CSF ile kombine olarak verildiğinde bir kemoterapötik ajan olan ifosfamid uygulaması sonrası gelişen miyelosupresyon üzerine etkisi ve ayrıca glutaminin ifosfamid uygulaması sonrası kilo alımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu amaçlarla biri kontrol grubu olmak üzere beş grup rat ile çalışıldı.

### **6.1. Hücre Sayıları ve Sitopeni Oranları Açısından Değerlendirildiğinde:**

İfosfamid uygulamasının 3. gününde laboratuvar sonuçları değerlendirildiğinde çalışmadan beklendiği şekilde kontrol grubunun lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit değerleri KT uygulanan diğer dört çalışma grubundan yüksek olarak sonuçlandı. İfosfamid uygulamasının 8. gününde ise G-CSF uygulanan gruplarda KT'ye bağlı miyelosupressif etkinin ortadan kalktığı görülürken, diğer gruplarda lökosit sayılarındaki düşüklük halen devam ediyordu. Çalışmamızdaki olgular sitopeni sıklığı açısından değerlendirildiğinde de benzer



sonuçlar elde edildi. Kontrol grubunun lökopeni, ntropeni, lenfopeni, monositopeni oranları KT alan diğer dört çalışma grubundan anlamlı olarak düşük bulundu.

Kemoterapi alan çalışma grupları değerlendirildiğinde, ifosfamid uygulaması öncesi 10 gün süre ile verilen enteral glutamin desteğinin KT sonrası 3. ve 8. gün lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayıları üzerinde anlamlı derecede olumlu bir etkisinin olmadığı görüldü. Gruplar sitopeni oranları açısından değerlendirildiğinde de, kontrol grubu dışındaki çalışma grupları arasında, KT sonrası 3. ve 8. günlerdeki lökopeni ve ntropeni sıklığı açısından anlamlı fark saptanmadı. Bu sonuç glutamin veya G-CSF in tek başına veya kombine uygulamalarının KT sonrası erken ve geç miyelosupresyonda lökosit ve nötrofil sayıları açısından olumlu ya da olumsuz bir etkisi olmadığına işaret etmektedir. Bununla birlikte lenfopeni ve monositopeni oranları açısından karşılaştırıldığında ise KT alan çalışma gruplarının 3. ve 8. gün kan değerleri arasında anlamlı farklar saptandı.

İngilizce literatürde enteral veya parenteral uygulanan glutaminin konvansiyonel KT sonrası miyelosupresyon üzerindeki etkisini araştıran  çalışma bulunmuştur, ancak çalışmaların sonuçları birbirleriyle çelişkilidir (11, 14, 110). Çalışmamızda, daha önce yapılmış çalışmalardan farklı olarak, ifosfamid uygulaması öncesi verilen enteral glutamin desteğinin, ntropeni süresi üzerine olan etkisi değil, KT sonrası erken (ifosfamid sonrası üçüncü gün) ve geç (ifosfamid sonrası sekizinci gün) dönemde lökosit, nötrofil, lenfosit, monosit sayıları ve sitopeni oranları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Glutaminin konvansiyonel KT'ye bağlı miyelosupresyon üzerindeki etkisini araştıran önceki çalışmalarda glutamin genellikle KT ile eş zamanlı olarak başlanmıştır (11, 14, 110). Ancak alışmamızda glutamin desteği vücuttaki depoların doyurulması amacıyla, daha önce yapılmış iki çalışmada olduğu gibi, KT uygulamasından önce başlanmış ve ifosfamid uygulaması ile birlikte glutamin desteği kesilmiştir (3, 10).

Nötrofil toparlanma süresi açısından bakıldığında çalışmamızda glutaminin kemoterapi sonrası nötrofil sayıları üzerinde olumlu bir etkisinin olmadığı tersine

glutamin alan gruplarda KT sonrası erken dönemde nötrofil sayılarının daha düşük olduğu görülmüştür. Van Zaanen ve ark. ları (11) 1994 yılında yoğun KT (sitarabin, siklofosfamid, vinkristin ve antrasiklin kombinasyonu) alan hematolojik maliyn hastalığı olan hastalarla yaptıkları, 20 tedavi kürünü içeren prospektif çift kör çalışmada, yoğun KT ile eş zamanlı olarak total parenteral nütrisyon (TPN) sıvısına eklenen glutaminin (26g/gün) hastalardaki nötropeni periyodu, infeksiyon sıklığı, antibiyotik kullanımı ve transfüzyon sayısı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Araştırmanın sonucunda glutamin desteğinin güvenli olduğunu, ancak çalışmamıza benzer şekilde glutaminin miyelosupresyon üzerinde olumlu bir etkisinin olmadığını ve nötropeni süresini kısaltmadığını bildirmişlerdir. Araştırılan parametrelerden sadece kür başına kilo alımının, glutaminden zengin TPN uygulanan hastalarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte Scheid ve ark. nın (14) 2004 yılında yoğun KT uygulanan 54 AML tanılı hastayla yaptıkları prospektif, çift kör çalışmada TPN sıvısında glutaminin (20g) alan grup ile standart TPN alan grup karşılaştırılmış ve nötropeni süresi glutamin destekli TPN alan grupta, kontrol grubundan anlamlı olmayacak düzeyde daha kısa bulunmuş, grupların NA süreleri arasında da fark saptanmadığı bildirilmiştir. Diğer yandan Scheid ve ark. (14) tüm grubu değerlendirdiklerinde nötrofil engraftmanı açısından anlamlı sonuç bulamazken, sadece yüksek doz sitarabin ve mitoksantron (HAM rejimi) alan grubu değerlendirdiklerinde glutamin alan grupta nötropeni süresinin anlamlı olarak daha kısa olduğunu göstermişlerdir. Yüksek doz sitarabin ve mitoksantron (HAM rejimi) uygulanan hasta grubu en yoğun miyelosupressif tedavi alan gruptur, çalışmamızda oluşturulan hayvan modelinde ise ratlara tek bir kemoterapötik ajan, konvansiyonel dozda uygulanmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkarak glutaminin nötrofil engraftmanı üzerindeki olumlu etkisinin, HAM tedavisi gibi yoğun kombine KT'nin neden olduğu ağır miyelosupresyon ve katabolik durumlarda daha belirgin olarak ortaya çıkmış olabileceği akla gelmektedir.

Çalışmamızda oral glutamin desteğinin KT sonrası lenfosit sayıları üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ise, glutamin desteği alan grupta (Grup 4) kemoterapinin 8. gününde lenfosit sayısının, glutamin desteği almayan ancak kemoterapi alan

grup (Grup 2) ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görüldü, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 2. 8. gün ortalama lenfosit sayıları/ml; Grup 2: 4777,33 ± 3631,16, Grup 4: 5397,14 ± 2031,31). Diğer yandan her iki grubun (Grup 2 ve Grup 4) lenfopeni oranları karşılaştırıldığında, 8. gün lenfopeni oranının Grup 4 te, Grup 2 den anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü (p:0,033). Çalışmamızda glutaminin lenfositler üzerindeki olası olumlu etkisi, KT sonrası 3. günde görülmezken, miyelosupresyonun ortadan kalkmaya başladığı 8. günde görülmeye başlamıştır. Ancak bu olumlu etki ifosfamid + glutamin + G-CSF alan Grup 5 te saptanmamıştır, ilk planda bu sonucun G-CSF kullanımı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bununla birlikte bu sonuç KT uygulanan ratlarda G-CSF'ün miyelosupresyon üzerindeki etkisini araştıran diğer çalışmalarla desteklenmemektedir. Ratlarla yapılan çalışmalarda tümör nekrozis faktör, interlökin-1 gibi monokinlerin lenfopeniye yol açtığı gösterilmişken, G-CSF in böyle bir etkisi görülmemiştir (94, 95). Bu nedenle kombine destek alan grupta bu olumlu etkinin görülmemesi denek sayısının yeterli olmaması ile açıklanabilir. Bu sonuçlar Yoshida ve ark. nın (110) çalışması ile uyumludur ve enteral glutaminin KT sonrası lenfosit yapımını arttırdığını düşündürmektedir. Kombine radyokemoterapi tedavisinin lenfosit sayısında azalmaya yol açtığı ve lenfosit fonksiyonlarını bozduğu iyi bilinmektedir. Yoshida ve ark. (110) 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada mediastinal RT ile birlikte yüksek doz sisplatin ve 5-FU uygulanan özafagus karsinomlu hastalara eş zamanlı olarak başlanan oral glutamin desteğinin (30g/gün) yedinci gün lenfosit sayı ve fonksiyonlarında düzelleme sağladığını bildirmişlerdir. Ancak bu olumlu etkilerin geçici olduğu ve tedavinin 14 ve 28. günlerinde çalışma grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmadığı bildirilmiştir. Diğer yandan Scheid ve ark.'nın (14) yaptıkları çalışmada nötropeni sürelerine ek olarak CD4 ve CD8 lenfosit sayıları da değerlendirilmiş ve glutaminin lenfosit sayıları üzerinde herhangi bir olumlu etkisi gösterilememiştir. Çalışmamızda ratlar 19. günde sakrifiye edildiğinden KT sonrası 14. ve 28. gün lenfosit sayıları değerlendirilememiştir, ancak Yoshida ve ark. (110) nın çalışmasına benzer şekilde glutamin alan grupta lenfopeni oranı daha düşük saptanmıştır. Çalışmalardaki bu farklı sonuçlar nedeniyle glutaminin lenfositler

üzerindeki olası olumlu etkisinin açığa çıkarılması amacıyla yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda oral glutamin desteğinin KT sonrası monosit sayıları üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ise, glutaminin KT sonrası monositlerin toparlanma süresi üzerinde olumlu bir etkisi olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte glutamin alan gruplarda (Grup 4 ve Grup 5) konvansiyonel KT sonrası monosit sayılarının kemoterapinin 3. gününde diğer gruplara göre anlamlı olmayacak düzeyde yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 2. 3. gün ortalama monosit sayıları/ml; Grup 2:  $173,33 \pm 108,12$ , Grup 3:  $186,00 \pm 171,57$ , Grup 4:  $323,42 \pm 299,04$ , Grup 5:  $372,00 \pm 537,60$ ). Benzer şekilde kemoterapinin 8. günü monosit sayıları karşılaştırıldığında, glutamin desteği alan gruplarda (Grup 4 ve 5) monosit sayısı, sadece kemoterapi alan gruptan (Grup 2) anlamlı olmayacak düzeyde daha yüksek bulunmuştur. (Tablo 2. 8. gün ortalama monosit sayıları/ml; Grup 2:  $302,366 \pm 135,77$ , Grup 4:  $427,71 \pm 186,37$ , Grup 5:  $997,60 \pm 390,82$ ). Çalışmamızdaki olgu sayısındaki azlığın, glutaminin monositler üzerindeki olumlu etkisinin gösterilmesini önlemiş olabileceği düşünülmektedir. İngilizce literatürde glutaminin KT sonrası monosit sayısı üzerine etkisi konusunda yapılmış çalışma yoktur. Bununla birlikte Scheid ve ark. nın (14) yaptıkları çalışmada yoğun KT sonrası monosit sayıları değil, monosit aktivasyonları flow sitometri ile çalışılmış ve monositlerin yüzeyindeki HLA-DR ekspresyonu değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da çalışmamıza benzer şekilde glutamin alan grupla, kontrol grubu arasında monosit aktivasyonu açısından glutaminin olumlu bir etkisi saptanmamıştır. Literatürde enteral veya parenteral uygulanan glutaminin konvansiyonel KT sonrası monositler üzerindeki etkisini araştıran başka çalışma yoktur. Gerek ratlarda, gerek insanlarda daha yüksek olgu sayısı ile yapılacak yeni araştırmalar bu konuya açıklık getirebilecektir.

Literatürde hayvanlarda G-CSF'ün kemik iliği ve periferik kan tablosuna olan etkileri üzerine yapılmış çok sayıda çalışma olmasına rağmen, KT uygulanan ratlarda G-CSF'ün periferik kan tablosu üzerindeki etkisini araştıran çalışma sayısı azdır ve bu çalışmalarda daha çok nötrofil sayısı değerlendirilmiştir. Çalışmamızda

KT den sonra kısa süreli (3 gün) G-CSF uygulamasının KT'ye bağlı mielosupresyon üzerinde olumlu bir etkisinin olmadığı görüldü. Bununla birlikte önceden yapılmış çalışmalarla uyumlu olarak KT sonrası uzun süreli (8 gün) G-CSF uygulamasının mielosupresyon üzerindeki olumlu etkisi G-CSF uygulanan iki grupta da (Grup 3 ve 5) görülmüştür. Uzun süreli G-CSF alan ratlarda lökosit ve nötrofil sayısı G-CSF almayan gruplardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, bununla birlikte grupların lenfosit ve monosit sayıları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ratlarda tek doz veya uzun süreli G-CSF kullanımı ile periferik nötrofil sayısında belirgin artış olduğu çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (111, 56, 57). Ratlarda ilk doz G-CSF uygulamasından 2-6 saat sonra nötrofil sayısında, 6-48 saat sonra ise lökosit sayısında belirgin artış görüldüğü bilinmektedir (118, 64). Uzun süreli uygulamada ise miyeloid hücrelerde matürasyonu sağlayıcı ve kemik iliği nötrofil depolarını arttırıcı etkisi de olduğu gösterilmiştir (56). Cairo ve ark. larının (118) yenidoğan ratlar ile yaptıkları çalışmada tek doz G-CSF uygulamasını takiben 24 saat içinde periferik kanda lökosit ve nötrofil sayısının arttığı gösterilmiştir. Aynı grubun yaptığı diğer bir çalışmada uzun süreli G-CSF (7 gün 5µg/kg/gün dozunda) uygulanması, tek dozluk uygulama ile karşılaştırıldığında absolu nötrofil sayısının çok daha yüksek değerlere çıktığı bildirilmiştir (57). Tamura ve ark. ları (56) 15 gün süreyle 2,5µg/gün G-CSF uygulanan ratlarda ilk doz uygulanmasını takiben iki saat içinde periferik nötrofil sayısının yükselmeye başladığını ve 15 günün sonunda absolu nötrofil sayısının bazal değerinin 8 katı gibi çok daha yüksek oranlara çıktığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada G-CSF enjeksiyonlarının tamamlanmasından 48 saat sonra nötrofil sayısının normale döndüğü görülmüştür. G-CSF sonrası ilk 48 saatte ortaya çıkan nötrofili kemik iliğindeki nötrofil rezervinin perifere salınması sonucu oluşmaktadır, oysaki uzun süreli G-CSF uygulamasında nötrofilinin G-CSF'ün kemik iliğindeki nötrofil öncüllerini stimüle etmesi sonucu olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda diğer çalışmalara benzer şekilde, uzun süreli G-CSF uygulamasının lökosit ve nötrofil sayıları üzerinde olumlu etkileri görülmüştür. Ancak önceki çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda kısa süreli G-CSF uygulamasının lökosit ve nötrofil sayılarında artışa neden olmaması ratlara KT uygulanması ile açıklanabilir (65,118).

Mizushima ve ark. (112)'nin 1990 yılında yaptıkları çalışmada siklofosamid, mitomisin ve nimustin uygulanan ratlarda G-CSF uygulamasının lökosit ve nötrofil toparlanma süresini kısalttığı gösterilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda da, çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde kemoterapi uygulanan ratlara G-CSF uygulamasının proliferatif etki göstererek, lökosit ve nötrofil sayılarını arttırdığı gösterilmiştir (113). Hisadome ve ark. (114)'da 1992 yılında yaptıkları çalışmada 5-fluorouracil verilen ratlara subkutan uygulanan G-CSF in benzer şekilde lökosit ve nötrofil sayılarını arttırdığını, ancak lenfosit ve monosit sayılarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Ülkemizden yapılan bir hayvan çalışmasında Ozan ve ark. (115) ları, 21 rat ile yaptıkları çalışmada KT uygulanan ratlara KT'den 24 saat önce verilen tek doz G-CSF ün KT ile ilişkili miyelosupresyon üzerindeki etkisini ve güvenilirliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada G-CSF alan ratların ortalama lökosit ve lenfosit sayıları, G-CSF almayanlardan anlamlı olarak yüksekken, ratların ortalama nötrofil, monosit, eozinofil sayıları arasında anlamlı fark olmadığı bildirilmiştir. Ozan ve ark.'nın çalışmasında G-CSF ün KT sonrası nötrofilleri uyarıcı etkisinin gösterilememiş olması G-CSF ün tek doz uygulanmasına bağlı olabilir. Bu çalışmada, diğer çalışmalardan farklı olarak G-CSF ün KT sonrası lenfosit sayısını arttırıcı etkisinin olduğu bildirilmiştir. Hasegawa ve ark. (116) nın 2000 yılında köpeklerde yaptıkları bir çalışmada G-CSF ün lökosit ve nötrofil sayılarına ek olarak lenfosit sayılarında da artışa neden olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda diğer çalışmalarla uyumlu olarak KT sonrası uzun süreli (8 gün) G-CSF uygulamasının lökosit ve nötrofil sayılarını arttırdığı görülmüştür. Çalışmamızda G-CSF'ün lenfosit ve monosit sayıları üzerinde olumlu etkisi gösterilememiştir ancak sitopeni oranları değerlendirildiğinde, çalışmamızda G-CSF alan grubun (Grup 3) lenfopeni oranı sadece ifosfamid uygulanan gruptan (Grup 2) anlamlı olarak daha düşük sonuçlanmıştır (p:0,046). Bu sonuç Ozan ve Hasegawa'nın çalışmaları ile uyumludur ve G-CSF ün lenfosit sayılarını arttırıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir (115, 116).

Çalışmamızda G-CSF alan gruplarla, almayanlar karşılaştırıldığında monosit sayıları arasında fark saptanmazken, sadece G-CSF desteği alan Grup 3'ün geç dönemdeki (8. gün) monositopeni oranının sadece ifosfamid uygulanan Grup 2'nin

monositopeni oranından anlamlı derecede daha düşük olması, G-CSF'ün KT sonrası monosit yapımı üzerinde de olumlu etkisi olabileceğini göstermektedir (p: 0,046). Hannson ve ark.'nın (118) hematolojik maliyniteli hastalarla yaptıkları çalışmada KT sonrası verilen G-CSF ün monosit sayılarında iki kat yükselmeye neden olduğu bildirilmiştir. Pollmaher ve ark. da (119) sağlıklı erkeklerle yaptıkları çalışmada Salmonella abortus endotoksini verilmesi öncesi uygulanan G-CSF in uygulamadan 12 saat sonra monosit sayılarını arttırdığını göstermişlerdir. Bununla birlikte Cairo ve ark.'nın (57) çalışmasında farklı bir sonuç bildirilmiş, ratlara bir hafta süreyle G-CSF uygulanmış ve uzun süreli uygulamanın monosit sayısı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. G-CSF'ün KT sonrası monosit sayıları üzerindeki etkisi tartışmalı olup, bu konuda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kemoterapiye ek olarak sadece G-CSF alan grup (Grup 3) ile G-CSF + glutamin alan grup (Grup 5) karşılaştırıldığında da erken ve geç miyelosupresyon dönemlerinde hücre sayıları arasında fark saptanmamıştır. Sonuç olarak glutamin ve G-CSF kombinasyonunun KT sonrası miyelosupresyonda additif etkisi gösterilememiştir. İngilizce literatürde KT'ye bağlı miyelosupresyonda glutamin ve G-CSF kombinasyonunun etkilerini değerlendiren başka bir çalışma bulunamamıştır.

## **6.2. Grupların Ağırlıkları Değerlendirildiğinde:**

Çalışmamızda enteral yolla uygulanan glutaminin, ifosfamid uygulanan ratların ağırlıkları üzerindeki etkilerini belirlemek için ratların ağırlıkları çalışma süresince belirli aralıklarla ölçüldü. Kemoterapinin rat ağırlıkları üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada, 125mg/m<sup>2</sup> ifosfamid uygulanan ratlarda KT uygulamasının ilk gününden itibaren kilo kaybının başladığı ve ratların KT öncesindeki ağırlıklarına ancak ilaç uygulamasından 14 gün sonra ulaşabildikleri gösterilmiştir (113).

Çalışmamızda önceki çalışmalardan farklı olarak, ifosfamid uygulanan gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında KT uygulamasının ratların ağırlıkları üzerine anlamlı bir etkisi gösterilememiştir. Bununla birlikte glutamin ve G-CSF desteği alan Grup 5 dışındaki tüm gruplarda KT sonrası kilo kaybı olduğu görülmektedir (Grafik 5). Ayrıca ifosfamid uygulaması öncesi yapılan ölçümlerde 10 günlük dönemde glutamin alan grupların (Grup 4 ve Grup 5) kilo alımının, KT sonrası sadece G-CSF desteği alacak gruptan (Grup 3) anlamlı olarak daha iyi olduğu gösterilmiştir (p:0,038, p:0,030). Benzer şekilde sadece ifosfamid alan Grup 2 ile karşılaştırıldığında glutamin alan grupların (Grup 4 ve Grup 5) 10. gün ağırlığı anlamlı olmayacak düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Onbeş ve 19. gün ağırlıkları değerlendirildiğinde ise ifosfamid + glutamin + G-CSF desteği alan Grup 5 teki ratların ağırlıklarının, sadece ifosfamid alan Grup 2 den anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (p:0,045, p:0,010). Bu karşılaştırmada glutaminin kilo alımı üzerindeki olumlu etkisinin KT sonrası da devam ettiği görülmektedir. Ancak 15 ve 19. günlerdeki bu olumlu etki ifosfamid + glutamin desteği alan grup Grup 4 te gösterilememiştir.

Lin ve ark. larının (3) çalışmasında da benzer şekilde 20mg/kg metotreksat uygulanan ratların ilaç uygulamasının hemen sonrasında oral alımlarının azaldığı ve ağırlık kaybettikleri bildirilmiştir. Bununla birlikte aynı çalışmada ratlar randomize olarak farklı oranlarda glutamin öncülü olan glutamat içeren diyet ile beslenmişler ve diyetinde glutamat içermeyen kontrol grubu ile glutamat içeren çalışma grupları karşılaştırıldığında KT sonrası gıda ve kilo alımında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Diğer yandan Van Zaanen ve ark. ları (11) hematolojik maliy niteli hastalarla yaptıkları prospektif çift kör çalışmada yoğun KT verilen hastalarda TPN sıvısına glutamin (26g/gün) eklenen grupta KT siklusu başına kilo alımının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Fox ve ark.'ları (120) ratlarla yaptıkları çalışmada, 20mg/kg intraperitoneal metotreksat uygulaması sonrası ratları glutaminden zengin diyet ile beslemişler ve



çalışmanın sonunda, normal diyet ile beslenen grup ile karşılaştırıldığında glutaminden zengin diyet alan grupta nitrojen retansiyonunun daha iyi olduğunu ve kilo kaybının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçları Van Zaanen ve Fox'un çalışmaları ile uyumludur, glutamin desteğinin konvansiyonel KT sonrası, kilo alımı üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmektedir (11, 120). Bununla birlikte bu olumlu etkinin grupların bir kısmında glutamin kesildikten sonra ortadan kalktığı ve geçici olabileceği görülmüştür. Bu nedenle KT öncesi başlanan glutamin desteğinin KT ile eş zamanlı olarak ta devam etmesinin, kanser hastalarının kilo alımları üzerinde olumlu etkisi olabileceği kanaatindeyiz.

### **6.3. Enteral Glutamine Bağlı Yan Etki:**

İnsanlarda glutaminin güvenilirliğini araştırmak için yapılan çalışmalarda glutaminin belirgin bir yan etkisi olmadığı gösterilmiştir. Ziegler ve ark.'ları 1990 yılında, gönüllüler ile beş çalışma grubunda yaptıkları çalışmada klinik gözlem, vital bulgular ile birlikte çok sayıda laboratuvar parametresini değerlendirmişler ve glutaminin herhangi bir yan etkisini saptamamışlardır (121).

Ratlara oral glutamin verilerek yapılan önceki çalışmalarda da önemli bir yan etki izlenmediği bildirilmiştir. Tsubuku ve ark. (122)'ları ratlara artan miktarda glutamin verilmesi durumunda idrar proteini, idrar pH'sı ve idrarla atılan keton miktarlarında değişiklikler saptamışlardır. Lin ve ark. (3) ları farklı oranlarda glutamin öncülü olan glutamat ile besledikleri tüm ratlarda çalışmanın 3. günü diyare geliştiğini ve iki gün içinde düzeldiğini bildirmişlerdir. Çalışmamıza alınan ratların hiçbirinde diyare veya glutamin ile ilişkili olduğu düşünülen herhangi bir yan etki tespit edilmemiştir.

## Yorum:

Çalışmamızda KT sonrası görülen lökopeni, nötropeni ve monositopeninin önlenmesinde tek başına uygulanan enteral glutamin desteğinin herhangi bir olumlu etkisinin olmadığı, aksine KT sonrası erken dönemde nötrofil sayılarının glutamin uygulanan grupta daha düşük olduğu görülmüştür. Bununla birlikte KT öncesi verilen glutamin desteğinin, kemoterapi sonrası lenfosit sayıları üzerinde olumlu etki yapabileceği, ancak tartışmalı olan bu sonucun açığa çıkarılması amacıyla daha fazla sayıda olgu içeren yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir. Çalışmamızda KT sonrası miyelosupresyonun önlenmesinde glutamin ve G-CSF in kombine edilerek uygulamasının da herhangi bir additif etki oluşturmadığı görülmüştür. Glutaminin KT uygulaması sonrası kilo alımı üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ise KT uygulaması öncesi verilen glutaminin ratların kilo alımı üzerinde olumlu etkisi olduğu, ancak bu olumlu etkinin glutamin desteği kesildikten sonra ortadan kalktığı görülmüştür.

Sonuç olarak KT öncesi verilen glutaminin konvansiyonel KT sonrası miyelosupresyonun önlenmesinde lenfositler dışındaki hücreler üzerinde olumlu bir etkisinin olmadığı ve G-CSF ile birlikte uygulandığında da additif etki oluşturmadığı görülmüştür. Bununla birlikte glutaminin miyelosupresyon üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla daha geniş serileri ve daha yoğun kemoterapi protokollerini içeren çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmamızda ayrıca KT uygulanan olgulara tedavi öncesi dönemde verilen enteral glutaminin kilo alımını arttırabileceği görülmüştür, ancak bu etkinin glutamin kesildikten sonra ortadan kalkması, desteğin KT'nin uygulandığı süreçte de devam etmesi gerektiğini düşündürmektedir.

## 7. SONUÇLAR

Çalışmamızda wistar grubu ratlarla beş grup oluşturularak, enteral glutaminin ifosfamid sonrası kemik iliği toparlanma süresi üzerinde olumlu bir etkisi olup olmadığı ve glutaminin kemoterapi uygulanan ratların ağırlıkları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Ayrıca iki gruptaki ratlara G-CSF uygulanarak, glutaminin G-CSF ile birlikte verildiğinde ifosfamide bağlı mielosupresyonun derinliğinin azalmasında additif etkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır.

### **7.1. Kemoterapi Uygulanan Ratlarda Glutamin Desteğinin Miyelosupresyon Üzerine Etkisi:**

- i. Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde ifosfamid verildikten üç gün sonra, kemoterapi alan tüm ratlarda mielosupresyonun geliştiği ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lökosit, nötrofil, lenfosit ve monosit sayılarının anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmüştür. Kemoterapinin sekizinci gününde ise mielosupresyonun kemoterapi alan tüm gruplarda düzelmeye başladığı, ancak G-CSF desteği almayan gruplarda lökosit sayısının hala anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür.
- ii. Glutaminin KT sonrası erken (ifosfamid uygulamasının 3. günü) ve geç (ifosfamid uygulamasının 8. günü) dönemde lökosit sayıları üzerinde olumlu bir etkisi olmadığı görüldü.
- iii. Glutaminin KT sonrası erken dönemde (ifosfamid uygulamasının 3. günü) nötrofil sayıları üzerinde olumlu bir etkisi olmadığı, tersine glutamin alan gruplarda KT sonrası erken dönemde nötrofil sayılarının daha düşük olduğu görüldü. Glutaminin KT sonrası geç dönemde de (ifosfamid uygulamasının 8. günü) nötrofil sayıları üzerinde olumlu bir etkisi olmadığı görüldü.
- iv. Glutamin desteğinin KT sonrası lenfosit sayıları üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ise grupların lenfosit sayıları arasında erken ve geç dönemde istatistiksel fark saptanmadı. Bununla birlikte glutamin desteği alan grubun kemoterapi sonrası geç dönemde (ifosfamid uygulamasının 8.

günü) lenfopeni oranının glutamin almayan gruptan anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü.

- v. Glutamin desteğinin KT sonrası monosit sayıları üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ise, glutamin alan gruplarda konvansiyonel KT sonrası monosit sayılarının erken ve geç dönemde diğer gruplara göre anlamlı olmayacak düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür.

### **7.2. Kemoterapi Uygulanan Ratlarda G-CSF Desteğinin Miyelosupresyon Üzerine Etkisi:**

- i. Çalışmamızda KT sonrası uygulanan kısa süreli G-CSF (3 gün) uygulamasının KT'ye bağlı miyelosupresyon üzerinde olumlu etkisi olmadığı, ancak uzun süreli (8 gün) verilmesinin miyelosupresyon üzerindeki olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Granülosit koloni stimülan faktör alan gruplarda lökosit sayısına ek olarak nötrofil sayısı da diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, bununla birlikte grupların lenfosit ve monosit sayıları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.
- ii. Bununla birlikte G-CSF desteği alan grubun, lenfopeni ve monositopeni oranının kemoterapi sonrası geç dönemde G-CSF almayan gruptan anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü.

### **7.3. Kemoterapi Uygulanan Ratlarda Glutamin ve G-CSF Desteğinin Miyelosupresyon Üzerine Etkisi:**

Sadece glutamin desteği alan gruba, glutamin+G-CSF desteği alan gruplar (Grup 3 ve Grup 5) karşılaştırıldığında da erken ve geç miyelosupresyon dönemlerinde hücre sayıları arasında fark saptanmadı.

#### **7.4. Kemoterapi Uygulanan Ratlarda Glutamin Desteğinin Ratların Ağırlıkları Üzerine Etkisi:**

- i. Çalışmamızda kemoterapinin ratların ağırlıkları üzerinde istatiksels olarak anlamlı bir etkisi gösterilemedi. Bununla birlikte glutamin ve G-CSF desteği alan Grup 5 dışındaki tüm gruplarda KT sonrası anlamlı olmayacak düzeyde kilo kaybı olduğu gözlenmiştir.

Kemoterapi öncesi glutamin desteği alan gruplardaki ratların ağırlıklılarının, glutamin almayan gruplardan daha yüksek olduğu, ancak glutamin desteği kesildikten sonra bu olumlu etkinin ortadan kalktığı görülmüştür.

## 9. KAYNAKLAR

1. Kebudi R, Görgün Ö, Ayan İ, Gürler N, Akici F, Töreci K. Randomized Comparison of Cefepime Versus Ceftazidime Monotherapy for Fever and Neutropenia in Children With Solid Tumors. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:434-441.
2. Alonzo TA, Kobrinsky NL, Aledo A, Lange BJ, Buxton AB, Woods WG. Impact of granulocyte colony-stimulating factor use during induction for acute myelogenous leukemia in children: a report from the Children's Cancer Group. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2002;24(8):627-35.
3. Lin CM, Steve F. Abcouwer, Wiley W. Souba. Effect of Dietary Glutamate on Chemotherapy-Induced Immunosuppression. *Nutrition* 1999;15(9):687-696.
4. Ziegler TR. Glutamine Regulation of Human Immune Cell Function. *Nutrition* 2000;16(6):458-459.
5. Hideaki S, Satoshi F, Takeaki M. Glutamine as an Immunoenhancing Nutrient. *J Parenter Enteral Nutr* 1999; 23:59-61.
6. Abcouwer SF. Effects of Glutamine on Immune Cells. *Nutrition* 2000; 16:67–77.
7. Wilmore DW, Shabert JK. Role of Glutamine in Immunologic Responses. *Nutrition* 1998;14:618-626.
8. Ziegler TR, Daignault NM. Glutamine regulation of human immune cell function. *Nutrition* 2000;16(6):458-459.
9. Furukawa S, Saito H, Inoue T, Matsuda T, Fukatsu K, Han I. Supplemental Glutamine Augments Phagocytosis and Reactive Oxygen Intermediate

Production by Neutrophils and Monocytes From Postoperative Patients In Vitro. *Nutrition* 2000; 16:323-329.

10. Furukawa S, Saito H, Fukatsu K, Hashiguchi Y, Inaba T. Glutamine-Enhanced Bacterial Killing by Neutrophils From Postoperative Patients. *Nutrition* 1997;13(10):863-869.
11. Van Zaanen HC, Leile H, Timmer JG, Fürst P, Sauerwein HP. Parenteral Glutamine Dipeptide Supplementation Does Not Ameliorate Chemotherapy-Induced Toxicity. *Cancer* 1994; 74:2879-2884.
12. Ziegler TR, Rancy L, Persinger RL, Lorraine Santin WD. Effects of Glutamine Supplementation on Circulating Lymphocytes After Bone Marrow Transplantation: A Pilot Study. *Medical Sciences* 1998;315(1):4-10.
13. Chen DW, Fei WZ, Zhang YC, Ou JM, Xu J. Role of Enteral Immunonutrition in Patients with Gastric Carcinoma Undergoing Major Surgery *Asian J Surg* 2005; 28(2):121–124.
14. Scheid C, Hermann K, Kremer G, Holsing A, Heck G, Fuchs M, Waldschmidt D, Herrmann HJ. Randomized, Double-Blind, Controlled Study of Glycyl-Glutamine- Dipeptide in the Parenteral Nutrition of Patients With Acute Leukemia Undergoing Intensive Chemotherapy. *Nutrition* 2004; 20:249 –254.
15. Bartlett DL, Charland S, Torosian MH. Effect of glutamine on tumor and host growth. *Ann Surg Oncol*. 1995 Jan; 2(1):71-6.
16. Ziegler TR, Young LS, Benfell K, Scheltinga M, Hortos K, Bye R, Morrow FD, Jacobs DO, Smith RJ, Antin JH, et al. Clinical and metabolic efficacy of glutamine-supplemented parenteral nutrition after bone marrow transplantation. A randomized, double-blind, controlled study. *Ann Intern Med*. 1992 May 15;116(10):821-8.

17. Kuhn JG. Chemotherapy-associated hematopoietic toxicity. *Am J Health Syst Pharm.* 2002; 59(15 Suppl 4): 4-7.
18. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64(2):328-40.
19. Gaur AH, Flynn PM, Shenep JL Optimum management of pediatric patients with fever and neutropenia. *Indian J Pediatr.* 2004 Sep; 71(9):825-35.
20. Sung L. Preventing Invasive Bacterial Infection in Neutropenic Patients with Cancer. In Agarwal BR, Perilongo G, Wacker P, Eden T, eds. *SIOOP Educational Book 2006, 38th Congress of the International Society of Pediatric Oncology, Geneva, Switzerland, September 17-21, 2006.* p.113-118.
21. Wilde MI, Faulds D. Oprelvekin: a review of its pharmacology and therapeutic potential in chemotherapy-induced thrombocytopenia. *BioDrugs.* 1998 Aug;10(2):159-71.
22. Cantor SB, Elting LS, Hudson DV Jr, Rubenstein EB. Pharmacoeconomic analysis of oprelvekin (recombinant human interleukin-11) for secondary prophylaxis of thrombocytopenia in solid tumor patients receiving chemotherapy. *Cancer.* 2003 Jun 15;97(12):3099-106.
23. Schwartzberg LS. Neutropenia: Etiology and Pathogenesis. *Clinical Cornerstone.* 2006; 8[Suppl 5]:S5–S11.
24. Salama A, Schutz B, Kiefel V, et al. Immune mediated agranulocytosis related to drugs and their metabolites: Mode of sensitization and heterogeneity of antibodies. *Br J Haematol.* 1989; 72:127–132.



25. Andersohn F, Konzen C, Garbe E. Systematic review: agranulocytosis induced by nonchemotherapy drugs. *Ann Intern Med.* 2007; 146(9): 657-65.
26. Crighton MH, Puppione AA. Geriatric neutrophils: implications for older adults. *Semin Oncol Nurs.* 2006 Feb; 22(1):3-9. Review.
27. Dale DC. Colony-stimulating factors for the management of neutropenia in cancer patients. *Drugs.* 2002; 62 Suppl 1:1-15.
28. Lyman GH, Lyman CH, Agboola O. Risk models for predicting chemotherapy-induced neutropenia. *Oncologist.* 2005 Jun-Jul;10(6):427-37. Review.
29. Valley AW. New treatment options for managing chemotherapy-induced neutropenia. *Am J Health Syst Pharm.* 2002; 59(15 Suppl 4):S11-7.
30. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KV, Shenep JL, Young LS. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2002;34(6):730-51.
31. Yazıcı N, Kutluk T. Kanserli Çocukta Nötropenik Ateş. *Onkolojide Destek Tedaviler, Katkı Pediatri Dergisi* 2005 27:(1);65-85.
32. Garelli S, Schieppati G, Banfi L, Meroni P. Neutrophil function during cyclic chemotherapy for cancer disease. *Tumori.* 1983 Oct 31;69(5):409-15.
33. Gandossini M, Souhami RL, Babbage J, Addison IE, Johnson AL, Berenbaum MC. Neutrophil function during chemotherapy for Hodgkin's disease. *Br J Cancer.* 1981;44(6):863-71.

34. Mendonça MA, Cunha FQ, Murta EF, Tavares-Murta BM. Failure of neutrophil chemotactic function in breast cancer patients treated with chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006 May;57(5):663-70.
35. Aapro MS, Cameron DA, Pettengell R, Bohlius J, Crawford J, Ellis M, Kearney N, Lyman GH, Tjan-Heijnen VC, Walewski J, Weber DC, Zielinski C. EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphomas and solid tumours. *Eur J Cancer* 2006;42(15):2433-53.
36. Klastersky J, Zinner SH, Calandra T, Gaya H, Glauser MP, Meunier F, Rossi M, Schimpff SC, Tattersall M, Viscoli C. Empiric antimicrobial therapy for febrile granulocytopenic cancer patients: lessons from four EORTC trials. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1988;24 Suppl 1:S35-45.
37. Uysal KM. Çocuk onkoloji hastalarında febril nötropenin antimikrobiyal tedavisinde ilkeler. Çetingül N, Kansoy S, editörler. *Çocukluk Çağında Onkolojik Aciller ve Destek Sağaltımı.* Bornova, İzmir; 2003. p. 49-65.
38. Sarah W. Alexander, Thomas J. Walsh, Alison G. Freifeld, and Philip A. Pizzo Pizzo. Infectious Complications in Pediatric Cancer Patients. In: Philip A. Pizzo, David G. Poplack, eds. *Principles & Practice of Pediatric Oncology* 4th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers; 2001.p 1239-1285.
39. Caggiano V, Weiss RV, Rickert TS, et al. Incidence, cost and mortality of neutropenia hospitalization associated with chemotherapy. *Cancer* 2005; 103:1916–1924.

40. Gülen H, Olgun N. Çocukluk çağı kanserlerinde tedavi maliyetlerinin değerlendirilmesi (Tez çalışması). Dokuz Eylül ÜTF Çocuk Hematolojisi Onkolojisi BD 1997:83-84.
41. Papadaki HA, Coulocheri S, Eliopoulos GD, et al. Patients with chronic idiopathic neutropenia of adults have increased serum concentrations of inflammatory cytokines and chemokines. *Am J Hematol.* 2000;65:271–277.
42. Herbst C, Naumann F, Kruse EB, Monsef I, Bohlius J, Schulz H, Engert A. Prophylactic antibiotics or G-CSF for the prevention of infections and improvement of survival in cancer patients undergoing chemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009 Jan 21;(1):CD007107. Review.
43. Cullen M, Steven N, Billingham L, Gaunt C, Hastings M, Simmonds P, Stuart N, Rea D, Bower M, Fernando I, Huddart R, Gollins S, Stanley A. Antibacterial prophylaxis after chemotherapy for solid tumors and lymphomas. *N Engl J Med.* 2005;353(10):988-98.
44. Castagnola E, Boni L, Giacchino M, Cesaro S, De Sio L, Garaventa A, Zanazzo G, Biddau P, Rossi MR, Schettini F, Bruzzi P, Viscoli C A multicenter, randomized, double blind placebo-controlled trial of amoxicillin/clavulanate for the prophylaxis of fever and infection in neutropenic children with cancer. *Pediatr Infect Dis J.* 2003 Apr;22(4):359-65.
45. Pascoe J, Steven N. Antibiotics for the prevention of febrile neutropenia. *Curr Opin Hematol.* 2009;16(1):48-52.
46. Elting LS, Rubenstein EB, Rolston KV, Bodey GP. Outcomes of bacteremia in patients with cancer and neutropenia: observations from two decades of epidemiological and clinical trials. *Clin Infect Dis.* 1997 Aug;25(2):247-59.

47. Richard P, Amador Del Valle G, Moreau P, Milpied N, Felice MP, Daeschler T, Harousseau JL, Richet H. Viridans streptococcal bacteraemia in patients with neutropenia. *Lancet*. 1995 Jun 24;345(8965):1607-9.
48. Lyman GH. A novel approach to maintain planned dose chemotherapy on time: a decision-making tool to improve patient care. *Eur J Cancer*. 2000;36 Suppl 1:S15-21.
49. Morstyn G, Campbell L, Lieschke G, Layton JE, Maher D, O'Connor M, Green M, Sheridan W, Vincent M, Alton K. Treatment of chemotherapy-induced neutropenia by subcutaneously administered granulocyte colony-stimulating factor with optimization of dose and duration of therapy. *J Clin Oncol*. 1989 ;7(10):1554-62.
50. Gabilove JL, Jakubowski A, Scher H, Sternberg C, Wong G, Grous J, Yagoda A, Fain K, Moore MA, Clarkson B. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia and associated morbidity due to chemotherapy for transitional-cell carcinoma of the urothelium. *N Engl J Med*. 1988;318(22):1414-22.
51. Morstyn G, Campbell L, Souza LM, Alton NK, Keech J, Green M, Sheridan W, Metcalf D, Fox R. Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet*. 1988;1(8587):667-72.
52. Tamura M, Hattori K, Nomura H, Oheda M, Kubota N, Imazeki I, Ono M, Ueyama Y, Nagata S, Shirafuji N, et al. Induction of neutrophilic granulocytosis in mice by administration of purified human native granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). *Biochem Biophys Res Commun*. 1987;142(2):454-60.

53. Cairo MS, Plunkett JM, Mauss D, Van de ven C. Seven-day administration of recombinant human granulocyte colony- stimulating factor to newborn rats: modulation of neonatal neutrophilia, myelopoiesis, and group B Streptococcus sepsis. *Blood*. 1990;76(9):1788-94.
54. Smith TJ, Khatcheressian J, Lyman GH, Ozer H, Armitage JO, Balducci L, Bennett CL, Cantor SB, Crawford J, Cross SJ, Demetri G, Desch CE, Pizzo PA, Schiffer CA, Schwartzberg L, Somerfield MR, Somlo G, Wade JC, Wade JL, Winn RJ, Wozniak AJ, Wolff AC. 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. *J Clin Oncol*. 2006;24(19):3187-205.
55. Lyman GH, Kuderer NM, Djulbegovic B. Prophylactic granulocyte colony-stimulating factor in patients receiving dose-intensive cancer chemotherapy: a meta-analysis. *Am J Med*. 2002 ;112(5):406-11.
56. Bui BN, Chevallier B, Chevreau C, Krakowski I, Peny AM, Thyss A, Maugard-Louboutin C, Cupissol D, Fargeot P, Bonichon F, et al. Efficacy of lenograstim on hematologic tolerance to MAID chemotherapy in patients with advanced soft tissue sarcoma and consequences on treatment dose-intensity. *J Clin Oncol*. 1995 Oct;13(10):2629-36.
57. Trillet-Lenoir V, Green J, Manegold C, Von Pawel J, Gatzemeier U, Lebeau B, Depierre A, Johnson P, Decoster G, Tomita D, et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *Eur J Cancer*. 1993;29A(3):319-24.
58. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, Kris M, Grous J, Picozzi V, Rausch G, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 1991 Jul 18;325(3):164-70.

59. Pettengell R, Gurney H, Radford JA, Deakin DP, James R, Wilkinson PM, Kane K, Bentley J, Crowther D. Granulocyte colony-stimulating factor to prevent dose-limiting neutropenia in non-Hodgkin's lymphoma: a randomized controlled trial. *Blood*. 1992 Sep 15;80(6):1430-6.
60. Nagata S, Tsuchiya M, Asano S, Kaziro Y, Yamazaki T, Yamamoto O, Hirata Y, Kubota N, Oheda M, Nomura H, et al. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. *Nature* 1986;319:415-8.
61. Welte K, Gabrilove J, Bronchud M, Platzer E, Morstyn G. Filgrastim (r-metHuG-CSF): the first 10 years. *Blood* 1996;88:1907-29.
62. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, Kris M, Grous J, Picozzi V, Rausch G, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 1991;325(3):164-70.
63. Curreli L, Lampis B, Bianchi A, et al. Role of G-CSF in reducing rates, duration and morbidity of chemotherapy-induced febrile neutropenia. *Br J Haematol* 1996; 93: 270.
64. Roche H, Chevallier B, Chollet P, et al. Lenograstim prevents morbidity from FEC-HD chemotherapy of inflammatory breast cancer. *Ann Oncol* 1994; 5: 91.
65. Olga Bessmertny, Pharm. D. and Mitchell S. Cairo. Prophylactic Use of Myelopietic Growth Factors in Children After Myelosuppressive Chemotherapy: Does It Pay? *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 2003;25(6):435-440.

66. Howard Ozer, James O. Armitage, Charles L. Bennett, Jeffrey Crawford, George D. Demetri, Philip A. Pizzo. 2000 Update of Recommendations for the Use of Hematopoietic Colony-Stimulating Factors: Evidence-Based, Clinical Practice Guidelines. *Journal of Clinical Oncology* 2000;18(20):3558-3585.
67. Swanson G, Bergstrom K, Stump E, Miyahara T, Herfindal ET. Growth factor usage patterns and outcomes in the community setting: collection through a practice-based computerized clinical information system. *J Clin Oncol*. 2000 Apr;18(8):1764-70.
68. Crawford J, Ozer H, Stoller R, et al. Reduction by granulocyte colony-stimulating factor of fever and neutropenia induced by chemotherapy in patients with small cell lung cancer. *N Engl J Med* 1991; 325: 164-70.
69. Trudeau ME. Optimizing adjuvant breast cancer chemotherapy: rationale for the MA.21 study. *Oncology* 2001; 15: 7-13.
70. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KV, Shenep JL, Young LS. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis*. 2002 ;34(6): 730-51.
71. Hamm JT, Schiller JH, Oken MM, et al. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor in small cell carcinoma of the lung: Preliminary analysis of a randomized controlled trial. *Proceedings of the American Society of Clinical Oncology*; 1991; 10: 255.
72. Weaver CH, Buckner CD, Curtis LH, et al. Economic evaluation of filgrastim, sargramostim, and sequential sargramostim and filgrastim after myelosuppressive chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 159-64.

73. Cruciani M, Concia E, Navarra A, Perversi L, Bonetti F, Arico M, Nespoli L. Prophylactic co-trimoxazole versus norfloxacin in neutropenic children--perspective randomized study. *Infection* 1989;17(2):65-9.
74. Van de Wetering MD, de Witte MA, Kremer LC, Offringa M, Scholten RJ, Caron HN Efficacy of oral prophylactic antibiotics in neutropenic afebrile oncology patients: a systematic review of randomised controlled trials. *Eur J Cancer*. 2005 Jul;41(10):1372-82. Review.
75. Engels EA, Lau J, Barza M. Efficacy of quinolone prophylaxis in neutropenic cancer patients: a meta-analysis. *J Clin Oncol*. 1998;16(3):1179-87.
76. Hasebe M, Suzuki H, Mori E, Furukawa J, Kobayashi K, Ueda Y. Glutamate in enteral nutrition: can glutamate replace glutamine in supplementation to enteral nutrition in burned rats? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1999; 23(5 Suppl):78-82.
77. Yoshida M, Ohno R. Antimicrobial prophylaxis in febrile neutropenia. *Clin Infect Dis*. 2004 Jul 15;39 Suppl 1:S65-7.
78. The prevention of febrile neutropenia. Pascoe J, Cullen M. *Curr Opin Oncol*. 2006 Jul;18(4):325-9.
79. Rodwell WV. Metabolism of proteins and aminoacids. Biosynthesis of nutritionally nonessential amino acids. In: Robert K. Murray, Daryl K. Granner, Victor W. Rodwell, eds. *Harper's illustrated biochemistry* 27.edition Toronto, Mc Graw Hill; 2006. p241-245.
80. Matilla B, Ortíz J, González P, García-Díez F, Jorquera F, Culebras JM, González-Gallego J, Tuñón MJ. Effects of parenteral nutrition supplemented with glutamine or glutamine dipeptides on liver antioxidant and detoxication systems in rats. *Nutrition*. 2000;16(2): 125-8.



81. Mora Lde O, Antunes LM, Francescato HD, Bianchi ML. The effects of oral glutamine on cisplatin-induced genotoxicity in Wistar rat bone marrow cells. *Mutat Res.* 2002 ;518(1): 65-70.
82. Mignon M, Leveque L, Bonnel E, Meynial-Denis D. Does concomitant glucose and glutamine supplementation change the response of glutamine synthetase to fasting in healthy adult rats? *Clin Nutr.* 2007; 10: [Epub ahead of print.
83. Saito H, Furukawa S, Matsuda T. Glutamine as an immunoenhancing nutrient. *J Parenter Enteral Nutr* 1999;23(5):59-61.
84. Furukawa S, Saito H, Inoue T. Supplemental glutamine augments reactive oxygen intermediate production and phagocytosis by phagocytes from postoperative patients. *Clin Nutr* 1998;17(suppl 1):33.
85. Ogle CK, Ogle JD, Mao JX, Simon J, Noel JG, Li BG, Alexander JW. Effect of glutamine on phagocytosis and bacterial killing by normal and pediatric burn patient neutrophils. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1994;18(2):128-33.
86. van der Hulst RR, van Kreel BK, von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, Soeters PB. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet.* 1993;341(8857):1363-5.
87. Inoue Y, Grant JP, Snyder PJ. Effect of glutamine-supplemented total parenteral nutrition on recovery of the small intestine after starvation atrophy. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1993;17(2):165-70.
88. Pithon-Curi TC, Trezena AG, Tavares-Lima W, Curi R. Evidence that glutamine is involved in neutrophil function. *Cell Biochem Funct.* 2002;20(2):81-6.

89. Rouse K, Nwokedi E, Woodliff JE, Epstein J, Klimberg VS. Glutamine enhances selectivity of chemotherapy through changes in glutathione metabolism. *Ann Surg.* 1995;221(4):420-6.
90. Klimberg VS, Nwokedi E, Hutchins LF, Pappas AA, Lang NP, Broadwater JR, Read RC, Westbrook KC. Glutamine facilitates chemotherapy while reducing toxicity. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1992;16(6 Suppl):83S-87S.
91. Ziegler TR. Glutamine supplementation in cancer patients receiving bone marrow transplantation and high dose chemotherapy. *J Nutr.* 2001;131:2578-84.
92. Anderson PM, Schroeder G, Skubitz KM. Oral glutamine reduces the duration and severity of stomatitis after cytotoxic cancer chemotherapy. *Cancer* 1998;83(7):1433-9.
93. B Daniele, F Perrone, C Gallo, S Pignata, S De Martino, R De Vivo, E Barletta, R Tambaro, R Abbiati and L D'Agostino. Oral glutamine in the prevention of fluorouracil induced intestinal toxicity: a double blind, placebo controlled, randomised trial. *Gut* 2001;48:28-33.
94. Huang EY, Leung SW, Wang CJ, Chen HC, Sun LM, Fang FM, Yeh SA, Hsu HC, Hsiung CY. Oral glutamine to alleviate radiation-induced oral mucositis: a pilot randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000 Feb 1;46(3):535-9.
95. Savarese DM, Savy G, Vahdat L, Wischmeyer PE, Corey B. Prevention of chemotherapy and radiation toxicity with glutamine. *Cancer Treat Rev.* 2003;29(6):501-13.

96. Fox AD, Kripke SA, De Paula J, Berman JM, Settle RG, Rombeau JL. Effect of a glutamine-supplemented enteral diet on methotrexate-induced enterocolitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1988;12(4):325-31.
97. Rouse K, Nwokedi E, Woodliff JE, Epstein J, Klimberg VS. Glutamine enhances selectivity of chemotherapy through changes in glutathione metabolism. *Ann Surg.* 1995 Apr;221(4):420-6.
98. Furlanut M, Franceschi L. Pharmacology of ifosfamide. *Oncology.* 2003;65 Suppl 2:2-6. Review.
99. Wainer IW, Granvil CP, Wang T, Batist G. Efficacy and toxicity of ifosfamide stereoisomers in an in vivo rat mammary carcinoma model. *Cancer Res.* 1994;54(16):4393-7.
100. Carli M, Passone E, Perilongo G, Bisogno G. Ifosfamide in pediatric solid tumors. *Oncology.* 2003;65 Suppl 2:99-104. Review.
101. Klastersky J. Side effects of ifosfamide. *Oncology.* 2003;65 Suppl 2:7-10. Review.
102. Frisk P, Stalberg E, Stromberg B, Jakobson A. Painful peripheral neuropathy after treatment with high-dose ifosfamide. *Med Pediatr Oncol.* 2001;37(4):379-82.
103. De Kraker J. Ifosfamide in pediatric oncology. *Anticancer Drugs.* 1991;2(4):339-341.
104. Cairo MS. Review of G-CSF and GM-CSF. Effects on neonatal neutrophil kinetics. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1989;11(2):238-44.

105. Moore MA, Warren DJ. Synergy of interleukin 1 and granulocyte colony-stimulating factor: in vivo stimulation of stem-cell recovery and hematopoietic regeneration following 5-fluorouracil treatment of mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(20):7134-8.
106. Bozzetti F, Biganzoli L, Gavazzi C, Cappuzzo F, Carnaghi C, Buzzoni R, Dibartolomeo M, Baietta E. Glutamine supplementation in cancer patients receiving chemotherapy: a double-blind randomized study. *Nutrition* 1997;13(7-8):748-751.
107. Semont H, Hecquet C, Adolphe M, Deysson G. Effects of oxazaphosphorine cytostatics on granuloid progenitor cell (CFUc) proliferation in mice. *Exp Hematol*. 1982 Oct;10(9):782-8.
108. Almodovar-Cuevas C, Navarro-Ruiz A, Bastidas-Ramírez BE, Mora-Navarro MR, Garzón P. Valproic acid effects on leukocytes and platelets of Sprague-Dawley rats. *Gen Pharmacol*. 1985;16(4):423-6.
109. İde T, Kozak O. Deney Hayvanlarının Genel Biyolojisi. Türk Cerrahi Derneği, Üçüncü Ulusal Deneysel Cerrahi Kongresi, 1. Uygulamalı Deneysel Cerrahi Kursu, 18-20 Kasım 2005, Ankara, sayfa 14.
110. Yoshida S, Matsui M, Shirouzu Y, Fujita H, Yamana H, Shirouzu K. Effects of glutamine supplements and radiochemotherapy on systemic immune and gut barrier function in patients with advanced esophageal cancer. *Ann Surg*. 1998;227(4):485-91.
111. Ulich TR, del Castillo J, Guo K, Souza L. The hematologic effects of chronic administration of the monokines tumor necrosis factor, interleukin-1, and granulocyte-colony stimulating factor on bone marrow and circulation. *Am J Pathol*. 1989 Jan;134(1):149-59.

112. Mizushima Y, Morikage T, Kuwahara T, Yano S. Effects of granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic injury induced by anticancer drugs in mice. *J Biol Response Mod.* 1990;9(6):576-83.
113. Mizushima Y, Morikage T, Kuwahara T, Yano S. Effects of granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic injury induced by anticancer drugs in mice. *J Biol Response Mod.* 1990;9(6):576-83.
114. Mizushima Y, Kashii T, Nakagawa K, Monno S, Yano S. Effects of granulocyte colony-stimulating factor, interleukin-1 alpha, and interleukin-6 on prolonged myelosuppression induced by nimustine hydrochloride in rats. *J Immunother* (1991). 1992;12(2):98-104.
115. Hisadome M, Fukuda T, Terasawa M, Oe T, Takahata H, Goto K, Tsuru S, Nomoto K. Enhancement of host defense by Y-25510, (+)-3-[4-(2-dimethylamino-1-methylethoxy)phenyl]-1H-pyrazolo[3,4 -b] pyridine-1-acetic acid, a novel synthetic compound. A comparison with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in 5-fluorouracil-treated mice. *Int J Immunopharmacol.* 1992;14(7):1195-201.
116. Ozan H, Ozkalemkas F, Ozan U, Ozerkan K, Bilgin T, Küçükyıldız F. Effect of prechemotherapy filgrastim on the bone marrow toxicity of topotecan. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2001;22(6):463-5.
117. Hasegawa T, Inomata T. Effect of recombinant human granulocyte colony stimulating factor on lymphocyte blastogenesis in healthy dogs. *J Vet Med Sci.* 2000 ;62(11):1205-7.
118. Hansson M, Svensson A, Engervall P, Björkholm M, Gruber A, Söderström T. Increase of monocytes predicts mobilization of peripheral stem and progenitor cells after chemotherapy followed by G-CSF administration. *Eur J Haematol.* 1995;54(5):321-8.

119. Pollmächer T, Korth C, Mullington J, Schreiber W, Sauer J, Vedder H, Galanos C, Holsboer F. Effects of granulocyte colony-stimulating factor on plasma cytokine and cytokine receptor levels and on the in vivo host response to endotoxin in healthy men. *Blood*. 1996;1;87(3):900-5.
120. Fox AD, Kripke SA, De Paula J, Berman JM, Settle RG, Rombeau JL. Effect of a glutamine-supplemented enteral diet on methotrexate-induced enterocolitis. *JPEN* 1988;12(4):325-31.
121. Garlick PJ. Assessment of the safety of glutamine and other amino acids. *J Nutr*. 2001;131:2556-61.
122. Tsubuku S, Hatayama K, Mawatari K, Smriga M, Kimura T. Thirteen-week oral toxicity study of L-glutamine in rats. *Int J Toxicol*. 2004;23(2):107-12.