

44961

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahi Anabilim Dalı

RANİTİDİN VERİLEREK MİDE ASİTLİĞİ AZALTILMIŞ YAVRU SIÇANLARDA

GASTRO İNTESTİNAL SİSTEMİN BAKTERİ KOLONİZASYONU

VE

BAKTERİYEL TRANSLOKASYON

UZMANLIK TEZİ

Dr Ümit Nusret Başaran

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

İSTANBUL-1995

anneme!..



İÇİNDEKİLER

• ÖNSÖZ	1
• GİRİŞ	2
• GENEL BİLGİLER	3
• GEREÇLER VE YÖNTEM	7
• BULGULAR	11
• İRDELEME VE SONUÇ	17
• KAYNAKLAR	19

12 07 1995

ÖNSÖZ

Cerrahpaşa Tıp Fakültesindeki görevime Şubat 1990 da başladım.Bu beş seneyi geçen dönem içinde bana eğitimimdeki katkılarından dolayı hocalarım ABD Başkanımız Prof Dr Daver Yeker'e, Çocuk Ürolojisi BD Başkanı Prof Dr Nur Danişmend'e, Prof Dr Cenk Büyükün'al'a, tez hocam Prof Dr Osman Faruk Şenyüz'e, Doç Dr Yunus Söylet'e, Doç Dr Ergun Erdoğan'a;

Ayrıca Anesteziyoloji -ve Reanimasyon ABD Öğ .Görevlisi Doç Dr'a Güner Kaya'ya, anestezi uzmanlarımız Uz Dr Yüksel Yeker'e ve Uz Dr Pervin Bozkurt'a;

Tezimde önemli bir yer tutan bakteriyolojik araştırmalarda bilgi ve tecrübesinden faydalandığım Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD Öğr Görevlisi Doç Dr Recep Öztürk'e;

İlk cerrahi bilgi ve pratiklerini aldığım abim Y Doç Dr Nüvit Sarımurat'a ve tezimde emeğini ,fikren yardımlarını esirgemeyen Op Dr Sinan Celayir'e;

Tezimde benim kadar emeği geçen Dr Nur Eray'a ve diğer asistan arkadaş ve hemşire, personel, sekreterlerimize;

Ve aileme;

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM!

Dr Ümit Nusret Başaran

GİRİŞ

Yenidoğan ilk defa rahim dışındaki ortamla karşılaşmaktadır. Normal olarak ilk defa mikroorganizmalarla ilişkisi başlamıştır. Yine ilk defa sistemleri erişkinlerdeki kadar gelişmemiş olsa da rahim dışı ortama uyum sağlamaya başlamıştır. Bu ve başka ilk defalar yenidoğanın özelliğini oluşturur.

Mikroorganizmalar; deri, sindirim sistemi, dış kulak yolu ve benzeri yerlerde yerleşmiş (kolonize) durumdadır .Ama bu yerleşme rastlantısal olmayıp , biz makroorganizma ile mikroorganizmalar arasında karşılıklı çıkar ilişkisine dayanır. Doğumla birlikte yenidoğanın sindirim sisteminin mikroorganizma kolonizasyonu hakkında çalışmalar yapılmakla beraber tam ve yeterli bilgiye sahip değiliz(4).

Yenidoğanın midesine bakteriler hemen yerleşmekte (10) ve ilk günden itibaren de dışkıda bakteri kolonizasyonu gösterilmektedir(7). Yenidoğan hayvanlarla yapılan çalışmalarda ağız, mide, rektum kolonizasyonu tüm mide barsak kanalının kolonizasyonunu yansıtmamaktadır. Tavşan yavruları ile yapılan çalışmalarda, barsak kanalı kolonizasyonu anüsten yukarı doğru olduğu tespit edilmiştir. Kalın barsaklar 10.günden sonra tam olarak kolonize, ince barsaklar 13.güne kadar ancak %64 oranında kolonize olmuşlardır(1,4). Bu sonuç midenin bakteriler için önemli bir engel olduğunu göstermektedir (4,27).

İnsan ve hayvanlarda mide barsak kanalının kolonizasyonun kalitatif ve kantitatif olarak ana sütü veya formül beslenme, hastalık ,açlık, antibiyotik kullanımı gibi etkenler sebebiyle değiştiği gösterilmiştir. Yine son yıllarda bakteriyel translokasyonun varlığı yenidoğan hayvanlarda gösterilmiş fakat translokasyonun özellikle ince barsak bakteriyel kolonizasyonu ile paralel gittiği de tespit edilmiştir(1). Ayrıca bakteriyel translokasyon beslenme tarzı, travma, yanık, şok, kolestaz, ileus, immun yetmezlik, cerrahi girişimler gibi bir çok durumda deneysel olarak gösterilmiştir(1,2,3,6,12,13,14,15,18,24,25,27).

Yaptığımız araştırmada yenidoğan tedavilerinde önemli bir uygulama yeri olan mide asitliğini azaltıcı uygulamaların, bir takım bilinmeyenlere sebep olabileceğine dair öngörülerin olmasına rağmen mide asit engelini kaldırıldığı ,bunun mide barsak kanalı kolonizasyonu ve bakteriyel translokasyon üzerine olan etkisinin incelendiği bir çalışma tespit edemedik (27).

Tezimde yenidoğan sıçan yavrularına H2 reseptör antagonisti verilmiş, mide barsak kanalı bakteriyel kolonizasyonu ve bakteriyel translokasyonu incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

Yenidoğan ; sindirim sistemi oldukça gelişmiş şekilde doğar. Prematürelde de sindirim sistemi diğer sistemlere göre olarak daha gelişmiş durumdadır. Fetal hayatın 20. haftasına kadar sindirim sisteminin kas, mukoza, villuslar, damar ve lenf sistemi, sinir sistemi oluşur(17). Doğum sonrasında mide barsak kanalı gelişimine devam eder. Ayrıca bakterilerde mide barsak kanalında yerleşmeye başlarlar.

Mide barsak kanalı sadece sindirim sisteminin bir parçasını değil, aynı zamanda hormonal ve bağışıklık sisteminin de önemli bir parçasını oluşturur. Bu derlemede sırasıyla yenidoğanın mide barsak kanalının gelişimi anne sütünün etkileri ve özellikleri, mide barsak kanalı kolonizasyonu, ve bakteriyel translokasyon hakkında güncel bilgiler sunulmuştur.

YENİDOĞANIN MİDE BARSAK KANALI GELİŞİMİ VE ANNE SÜTÜNÜN ETKİLERİ

Yapılan hayvan incelemelerinde yavru hayvanlarla erişkin hayvanların barsakları arasında biyokimyasal açıdan farklılıklar bulunmuştur. Yavrularda barsak geçirgenliği daha fazladır. Barsak mukus yapısı daha zayıftır. Yavru hayvanların mukozalarının daha çok bakteri yapışmasına ve endotoksin geçirgenliğine sahip olduğu görülmüştür(22). İmmunolojik yönden yenidoğanın barsak sistemi tam olgunlaşmamıştır. Sekretuar IgAları yoktur(28). Normal miadında yenidoğanlarda mide astliği fazla olup, kan gastrin seviyeleri fazladır(17). Fakat prematürlerde %80 ninde mide pHsının yükek olduğu gösterilmiştir(29).

Yenidoğanın mide barsak kanalının bazı yetersizliklerine rağmen, anne sütünün bu eksiklikleri mükemmel bir şekilde kapattığı görülür. Anne sütü alan yavru hayvanlar ile formül beslenen hayvanlar arasında yapılan bir çalışmada, anne sütü grubunda barsak hücrelerinin DNA ve protein içeriklerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu mide barsak duvarında hiperplazi ve hipertrofiye işaret eder. Yine anne sütü özellikle kolosturumda bazı trofik faktörler epidermal growth faktör, nerve growth faktör, insulin, insülin benzeri büyütücü faktör, tirozin, kortizol, taurin, glutamine, amino şekerler, somatomedin-C gibi tespit edilmiştir. Sayılan bu faktörlerin büyük bir kısmı mide barsak kanalının gelişimine etkilidirler(22).

Anne sütünde IgA, lizozom, lökosit gibi vucut bağışıklık sisteminin parçalarında mevcuttur. Böylece bebeğin bağışıklık sistemleri gelişene kadar anne sütü önemli bir savunma işlevinde yerine getirir(20,21,22,26,28). Anne sütü ile beslenen hayvan ve bebeklerde infeksiyon, ishal, translokasyon, nekrotizan enterokolitin (NEK) daha az geliştiğide gösterilmiştir.

Bebeğin gelişimi ve büyümesi için anne sütü en az 4-6 ay tek başına yeterlidir ve en ideal besindir.

YENİDOĞANIN MİDE BARSAK KANALININ BAKTERİYEL KOLONİZASYONU

Özellikle 80'li yıllarda yenidoğanın mide barsak kanalının bakteriyel kolonizasyonu ile ilgili yapılan araştırmalarda; sağlıklı anne sütü ile beslenen bebeklerin dışkı mikrobiyolojik incelemelerinde ilk 5 gün enterobakter ailesine ait gram(-) çomakların hakimiyetinde olduğu görülmüştür. Daha sonraki günlerde bifidobakteriler ve kısmen laktobasiller dışkı florasına hakim olmaktadır. Ortalama olarak bifidobakter ,enterobakter oranı 1000:1 civarındadır (2,7).

Bifidobakteriler, insanlar için patojen olmayıp anaerop, mikroaerofil, polimorf, karbonhidratları gaz yapmadan asetik asit ve laktik aside yıkan organizmalardır. Bu durum, mide barsak kanalının asitliğini arttırarak özellikle yenidoğanlar için önemli patojen olan enterobakter ailesi gibi bakteriler için olumsuz şartlar yaratır. Böylece patojen bakteriler için önemli bir engel oluşur (2,7).

Hasta, yoğun bakımda yatan veya formül beslenen yenidoğanların dışkı ve mide sıvısı incelemelerinde anne sütü ile beslenenlere göre farklılıklar bulunmuştur. Bir çalışmada biberon ile beslemede ancak bir ay sonra dışkı florasında bifidobakterilerin hakimiyetinin olduğu gösterilmiştir(7). Başka bir çalışmada, hasta yenidoğanlarda mide içeriği ve dışkısında yenidoğan için patojen olan bakterilerin arttığı gösterilmiştir(2).

Anne sütündeki bazı özellikler mide ve ince barsak bakteri yaşamını etkilemektedir. Yenidoğanın mide barsak kanalında IgA bulunmamasına rağmen anne sütünde vardır. Bu IgA lar mukoza ve bakterilere yapışarak ,bakterilerin barsak mukozasına yapışmasını engeller. Laktoferrin ve transferrin anne sütünde diğer memeli sütlerine göre fazladır. Bu iki protein demir bağlayarak patojen bakterilerin demir kullanımını engeller ve kuvvetli bir bakteriyostatik etki yaratırlar. Anne sütünde görece demir azdır fakat kullanılabilirliği mükemmeldir. Lizozomlar anne sütünde bulunur ve bakterilere yapışarak doğrudan öldürücü etki gösterirler. Anne sütünde canlı lökosit hücreleride bulunur ve IgA ile birlikte hareket ederler(3,21,26,27,28).

Anne sütünün ilk 5 haftasında amino şekerler olan N-asetilglukozamin (GlcNAc) ve N-asetilnöröramimik asit (NeuNAc) en önemli protein dışı azot kaynağıdır. Bu amino şekerlerin işlevleri tam anlaşılacak kadarla beraber bifidobakteriler için esansiyel bir büyüme faktörü olduğu düşünülmüştür(22). Bir yayında da Laktobasillus bifidus için bir büyütücü faktörün anne sütünde olduğu belirtilmiştir(28).

Mide barsak kanalının kabaca iki uçundan alınan örneklerle kolonizasyon incelenmeye ve özellikle bakteri cinslerinin dinamiği anlaşılmasına çalışılmıştır. Yenidoğanların dışkısında 48 içinde bakterilerin yerleşimlerini tamamladığı; bu bilgi ışığında mide barsak kanalı bakteri kolonizasyonunun yenidoğanda 24 ile 48 saat içinde tamamlandığı düşünülmüştür. Ama kolonizasyonun şekli ,dinamiği ile ilgili belki en önemli yazı 1994 senesinde çıkmıştır. Araştırmada yavru tavşanlar 0-2günlük, 3-5 günlük, 6-8 günlük, ve10-13 günlük dört gruba

ayrılmıştır. Tüm hayvanlardan ağız ve makattan örnek, kalın ve ince barsaktan da parçalar alınmıştır. Yapılan mikrobiyolojik incelemede, ağız hemen ilk dakikalarda kolonize olmaktadır. 0-2 günlük grupta makatta %89 oranında kolonizasyon gösterilmiştir. İnce ve kalın barsakta hiç kolonizasyon yoktur. 3-5 günlük grupta hepsinde ağız ve makat kolonizasyonu tamamlanmıştır. Ama ince barsak %25, kalın barsak %62.5 oranında kolonize olmuştur. 6-8 günlük grupta ise kalın barsak %93, ince barsak %37 oranında kolonize, 10-13 günlük grupta ise kalın barsak %100, ince barsak hala %64 oranında kolonizedir(4).

En azından yenidoğan tavşanlarda bu çalışma göstermiştir;

- İlk 24-48 saatte mide barsak kanalı bakteriyel kolonizasyonu tamamlanmamakta, 2 haftaya kadar varan süreler gerekmektedir.
 - Kolonizasyon anüstenyukarı doğru olmaktadır.
 - Mide asiditesi ve barsak motilitesi bakteriler için önemli bir engeldir.
- Bu sonuçları rahatlıkla insanlara da yansıtabiliriz.

BAKTERİYEL TRANSLOKASYON

Mide barsak kanalı içindeki canlı bakterilerin mezenter lenf bezi, karaciğer, dalak, kan, böbrek gibi barsak dışı doku ve organlara geçmesine bakteriyel translokasyon adı verilmektedir.

Yanık, travma, şok, cerrahi girişimler, ileus, kolestaz, açlık, TPN, formül besleme gibi durumlarda bakteriyel translokasyon gösterilmiştir (1,3,6,12,13,14,15,23,25). Bu durumlar ağır tablolardır. Çalışmaların çoğu erişkin cerrahi ve yoğun bakım birimlerinden yapılmıştır. Her halde bakteriyel translokasyonun çocuk cerrahisinde ve yenidoğanlarda çok daha ayrıcalıklı yeri olmalıdır. Yenidoğan sepsisi ve nekrotizan enterokolitinin (NEK) birçok yayında translokasyonla ilişkisi belirtilmiştir (1,2,3,4,5,27).

Temel olarak translokasyonun gelişmesi için;

- Normal mide barsak kanalı bakteri mikro ekolojisinin bozulması;
 - Barsak mukoza engelinin bozulması;
 - Bağışıklık sisteminin zayıflaması;
- gerekmektedir(1,18,27).

Bir görüşe göre yenidoğanlarda özelliklede prematürelde barsak mukoza engelinin tam gelişmemiş olması translokasyona sebep olmaktadır. Fakat ince barsağın geç kolonize olması bir yerde koruyucu mekanizma oluşturmaktadır. Dolayısı ile mukoza gelişiminin tamamlanmasıyla, ince barsak kolonizasyonunun tamamlanması arasında bir kritik dönem (*danger period*) de tanımlanmıştır(4). Masahiko Urao ve arkadaşları (kolonizasyon bölümünde belirtilen çalışmanın ekibidir.) 1995 yılında yaptıkları çalışmalarında tavşan yavrularını dört gruba ayırıp; hayvanları 1 ile 4 günlerde kesmişlerdir. Anne sütü ile beslenen grupta, translokasyon anlamlı şekilde az olmuştur. Formül beslenen grupta gram (-) kolonizasyonun gram (+) kolonizasyona oranla anlamlı derecede fazla olduğu görülmüştür. İnce barsak kolonizasyonu ile translokasyon arasında bağlantı tespit edilmiştir. Antibiyotik verilen grupta translokasyon oranı değişmemiştir.

Sonuç olarak;

1. Bakteriyel translokasyon, ince barsak kolonizasyonu ile beraber gider.
2. Antibiyotik alımı bakteriyel translokasyonu etkilemez.
3. Bu bulgular NEK ile yenidoğan sepsisinin yaşamın ilk 3 -5 gününden sonra görülmesini açıklar(1).

Özellikle çocuk cerrahisinde translokasyon ve kolonizasyonla ilgili deneysel ve klinik araştırmalar yeterli değildir. Daha birçok çalışmanın yapılması gerekmektedir.



GEREÇLER VE YÖNTEM

GEREÇLER

Bu çalışmamız İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ABD ve Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD da gerçekleştirildi.

Çalışmada ,Wistar Albino sıçan yavruları kullanıldı. Yavrular İstanbul Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinden (DETAM) temin edilen erkek ve dişi hayvanların 1. ,2. veya 3. kuşak hayvanların çiftleştirilmesinden elde edildi. Doğuma tahminen bir hafta kala gebe hayvanlar tek kafeslere alındı. Günde iki kez ziyaret edilerek yavruların doğum günleri ve tahmini doğum saatleri tespit edildi.

Sıçanlar oda koşullarında tutuldular. Şebeke suyu ile sulandılar. İstanbul Yem Sanayi'nin ürettiği en az %16 protein içeren, 2400kcal/kg enerji değeri olan tamamen doğal malzeme ile yapılan süt pelet yem ile beslendiler.

Çalışmada kullanılan yavrulara ve annelerine ilk altı, yedi gün su, yem desteği dışında müdahalede bulunulmadı. 6. ve 7. günlerde yapılan tartılarda ortalama ağırlık 13gr ,kesimin yapıldığı 13. ve 14. günlerde ki ortalama ağırlık 17gr olarak tespit edildi. Bu sebeble yavrular ortalama 15 gr kabul edildi. Doğumdan kesime kadar sürede hiç bir yavru kaybı olmadı. Yine bu sürede yavruların sadece ana sütü ile beslendiği gözlemlendi. Kesim sırasında mide piyeslerinde sadece kazeifike olmuş süt bulunması ile de bu gözlem doğrulandı.

90x10 mm lik γ ışınları ile sterilize edilmiş plastik petri kutuları bakteriyolojik incelemelerde kullanıldı. Endo ve çikolatamsı besiyerleri Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ABD'da hazırlandı. Hassas tartılar için SHIMADZU LIBROR AEG 220 model tartı aleti kullanıldı.

YÖNTEM

Tezimde ,bakteriler için önemli bir engel olan mide asit engelini kırmak için H₂ reseptör antagonisti kullanılmaya karar verildi. Bu sebeble kliniktede kullanımı çok olan parenteral formuda bulunan ranitidin kullanıldı (Ulcuran amp ;Abfar 50mg/2cc).

Ranitidin aminoalkilfuran türevi bir H₂ reseptör blokeridir. Sadece dışarıdan verilen histaminin yaptığı asid salgılanmasını değil, gastrin, yemek, vagus uyarısı, kafein ,insülin enjeksiyonu ve psişik refleks gibi etkenlerin yaptığı asid salgılanmasını da inhibe eder. Mide hareketlerini ve mide boşalmasını etkilemez. İntrinsik faktör miktarını azaltır. Ama bu etkisinin B₁₂ vitamin eksikliği yapması mutad değildir(16).

Siçanlarda ranitidinin etkisini göstermek için küçük bir ön çalışma yapıldı.

ÖN ÇALIŞMA

Yedi(7) adet 2 aylık 150 ila 200 gr ağırlığında sıçana 10 mg/kg/gün iki doz halinde sağrı bölgelerinden ciltaltına no 28 G insülin iğnesi ile ranitidin yapıldı. Beş gün sonunda eter anestezisi ile hayvanların karınları açıldı. Mideleri elden geldiğince kanatmadan fundus bölümünden açıldı. pH indikatör kağıdı (MERCK) mide içine sevk edildi. Bir dakika sonra pH indikatör kağıdı okundu . Bu seride pH değerleri 4 ile 5 arasında ölçüldü. Beş hayvanada sadece serum fiyolojik yapıldı. Beş (5) gün sonra aynı şekilde kesildiler .Mide pH değerleri 1 ile 2 arasında ölçüldü.

Mide pH değerleri 4 ve üstünde olan vakalar mide asitliği azalmış olarak değerlendirildi. Yapılan kalitatif istatik değerlendirmede (Fischer'in kesin χ^2 analizi)aradaki fark anlamlı bulundu(p=0.0013). Bu sonuçlar ışığında yavru sıçanlarda da ranitidine kullanılmasına karar verildi.

YAVRU SIÇANLARDA YAPILAN İŞLEMLER

Yavrular iki gruba ayrıldı. Gruplar kardeşlerden oluşturuldu.

Kontrol grubu:

Bu gruptaki yavrulara kesime kadar bir işlem yapılmadı. 13. veya 14. gün hayvanlar kesime alındı. Eter anestezisi ile uyutulan hayvanlar kesim tahtasına dört üyesinden flaster ile tespit edildi. %10 luk povidon iyot ile cilt temizliği yapıldı. Yavruların boyuna uygun delikli bir yeşil ile örtüldü. Batın cildi bir makas ve penset ile kesilip çıkarıldı. Bu aletler daha sonra kullanılmadı. Kalan batın duvarıda bütün olarak çıkarıldı. Sırasıyla karaciğerden bir parça, dalağın tümü, mezenter lenf bezi, mide bütünü, bir kısım orta ince barsak, çekumun bütünüyle beraber bir kısım kalın barsak çıkarıldı. Çıkarılan parçalar steril ependorf tüplere alındı. Bu grupta toplam 28

hayvan kullanıldı. Fakat 10 tanesinden yukarıda sayılan tüm parçalar alınırken; 4 hayvandan karaciğer ve dalak harici dört parça;14 hayvandan sadece mide ve ince barsak parçaları alındı.

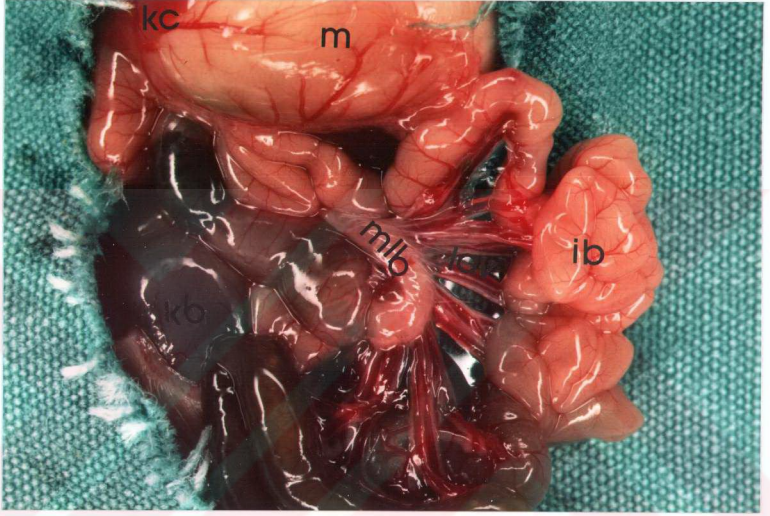
Ranitidin grubu:

Bu yavrular 6. veya 7. günden itibaren günde iki doz halinde sağrı bölgesinden ranitidin enjeksiyonu yapıldı. Toplam 19 yavrunun 11 tanesine 150 mcg/gün dozunda; 8 tanesine 300 mcg/gün dozunda ranitidine uygulandı. İnjesiyonlar 7 gün boyunca düzenli olarak yapıldı. Tüm hayvanlar kontrol grubundaki gibi kesilerek hepsinden sırasıyla karaciğer, dalak, mezenter lenf bezi, mide, ince barsak, çekumla beraber kalın barsak parçaları alındı.

MİKROBİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

Alınan parçalar endorf tüplerle beraber +/-0.1 mg hassasiyetinde tartıldı. Parçalar steril olarak içinde bir tutam kum bulunan steril tüplere alındı. Tüplere 0.5 ml serum fizyolojik kondu. Steril bagetlerle alınan parçalar ezilerek homojenize edildi. Karaciğer, dalak ve mezenter lenf bezi üzerlerine 0.5 ml serum fizyolojik konarak 0.01 ml örnek alan özelerle 9 cm çaplı petrilere dökülmüş endo ve çikolatamsı besiyerlerine yayılarak ekildiler. Mide, parçalarında aynı şekilde fakat 5 ml ye tamamlandıktan sonra 1/50 ile 1/12.5 arası bir sulandırmaya karşılık gelecek şekilde mikro pipetlerle alınan örnek sulandırma tüplerine alındı. Yine standart özelerle endo ve çikolatamsı besiyerlerine ekildi. İnce barsak ve kalın barsak parçaları ise 1/100 veya 1/50 sulandırılarak ekildi. Boşalan endorf tüpler tartıldı. İlk tartımlardan çıkarılarak parçaların esas ağırlıkları bulundu.

Tüm besiyerleri 24 saat etüvde 37°C de tutuldu. Takiben koloni sayımları yapıldı. 48 saat sonra tekrar kontrolleri yapıldı, fakat sonuçlarda bir farklılık tespit edilmedi.



Resim: 14 günlük sıçan yavrusunun batin ön duvarının uzaklaştırıldıktan sonraki yakın plan fotoğrafı (yaklaşık 4X).

m: Mide, içinde kazeifike süt mevcut.

kc: Karaciğer.

ib: İnce barsak, proksimal kısmında süt mevcut.

mlb: Mezenter lenf bezi

lav: Mezenter lenf, arter ve ven damarları. Lenf damarları, içindeki şiloz sıvıdan dolayı beyaz olarak görülüyor.

kb: Kalın barsak.

BULGULAR

Karaciğer, dalak kültürlerinde üreme olmadı. Sadece ranitidin yapılan grubun mezenter lenf bezi örneklerinin bir tanesinde üreme oldu ve bakteriyel translokasyon olarak değerlendirildi. Yapılan Fisher'in kesin χ^2 analizinde anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Mide, ince barsak, kalın barsak piyeslerinden elde edilen mikrobiyolojik sonuçlar tablo 1, tablo 2, tablo 3 te detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Mide, ince barsak, kalın barsak parçalarının kültür sonuçları;

1. Ranitidin ve kontrol grupları arasında Fisher'in kesin χ^2 analizi ve t- testi ile değerlendirildi. Özellikle ranitidin grubunda üreyen bakteri sayısı ve kolonizasyonları anlamlı oranda fazlaydı. Detaylı kesin χ^2 analizi ve t- testi sonuçları tablo 4 ve tablo 5 gösterilmiştir. Her iki test içinde anlamlı fark $p < 0.05$ olarak alınmıştır.
2. Hem ranitidin hem kontrol grubu içinde mide - ince barsak, kalın barsak - ince barsak ve mide - kalın barsak arasında kolerasyon araştırmaları Pearson- Bravais yöntemi ile değerlendirildi. Bu yöntemde bulunan "r" sayısı (Pearson katsayısı) -1 ile +1 arasında değişir. Eksi değerler ters, artı değerler doğru orantılı bir bağıntıyı (korelasyonu) gösterir. Bulunan "r" sonucu +1 veya -1 değerine yaklaştıkça bağıntının kuvveti artar. Fakat arada bir bağıntıdan söz edebilmek için korelasyon yapılan grupların farklılığı ispatlanmalıdır. Bu işlem için t- testi kullanılır. Sonuç olarak çıkan "p" değeri 0.05 ten küçük olmalıdır. İncelememizde Spearman sıra farkı metodu ile de değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen "p" (ro) değeri aynen Pearson katsayısı gibi değerlendirilir. Genel olarak "r" değeri veya "p" için 0.25 ile 0.50 arası zayıf, 0.50 ile 0.75 arası orta, 0.75 ile 0.95 arası kuvvetli bir bağıntıyı temsil eder.

Korelasyon analizleri ile ilgili sonuçlar detaylı bir şekilde tablo 6 ve tablo 7 de gösterilmiştir.

Yapılan bu istatistik analizleri için Kwikstat 3.3 Data Analysis ve Graphics bilgisayar programı (Texasoft 1984-93) ve Prof Dr Sıtkı Velicangil'in Biyoloji, Tıp, Eczacılık Bilimlerinde İstatistik Metodları kitabı kullanılmıştır.

TABLO 1 MİDE PİYESLERİNİN KÜLTÜR SONUÇLARI

GRUP	KONTROL		RANİTİDİN	
	çikolatamsı	endo	çikolatamsı	endo
denek sayısı	26	28	19	19
ortalama bakteri sayısı (10^7)	0.403	0.0378	0.242	0.190
standart sapma (10^7)	0.882	0.160	0.478	0.337
üreme olmayan denek sayısı	3 (%11.5)	10 (%35.7)	0	5 (%26.3)

TABLO 2 İNCEBARSAK PİYESLERİNİN KÜLTÜR SONUÇLARI

GRUP	KONTROL		RANİTİDİN	
	çikolatamsı	endo	çikolatamsı	endo
denek sayısı	26	28	19	19
ortalama bakteri sayısı (10^7)	0.403	0.102	5.977	4.931
standart sapma (10^7)	1.015	0.383	9.056	6.731
üreme olmayan denek sayısı	6 (%23)	16 (%57.1)	3 (%15.8)	3 (%15.8)

- Çikolatamsı besi yeri, anaerob olmayan gram(-) ve gram(+) bakterilerin ürettiği bir besiyeridir.
- Endo besiyeri, gram(-) bakterilerin ürettiği besiyeridir.

TABLO 3 KALIN BARSAK PİYESLERİNİN KÜLTÜR SONUÇLARI

GRUP	KONTROL		RANİTİDİN	
	çikolatamsı	endo	çikolatamsı	endo
besiyer				
denek sayısı	14	14	19	19
ortalama bakteri sayısı (10^7)	15.793	15.394	28.715	26.354
standart sapma (10^7)	17.793	28.174	28.166	24.773
üreme olmayan denek sayısı	0	2 (%14.0)	0	0

- Çikolatamsı besi yeri, anaerob olmayan gram(-) ve gram(+) bakterilerin ürediği bir besiyeridir.
- Endo besiyeri, gram(-) bakterilerin ürediği besiyeridir.

TABLO 4 KONTROL VE RANİTİDİN GRUPLARININ BAKTERİ SAYILARI ARASINDAKİ FISHER'İN KESİN χ^2 TESTİ SONUÇLARI

	ENDO	ÇİKOLATAMSI
MİDE	p=0.350 anlamsız	p=0.180 anlamsız
İNCE BARSAK	p=0.0047 anamlı	p=0.407 anlamsız
KALIN BARSAK	p=0.390 anlamsız	p=0.429 anlamsız

İnce barsak endo besiyerindeki üreme olup olmasına göre yapılan kalitatif hesaplamaya göre p=0.0047 çıkmıştır. Bu sonuç kuvvetli bir anlamlılığı ifade eder.

TABLO 5 KONTROL VE RANİTİDİN GRUPLARI ARASINDAKİ BAKTERİ SAYILARININ t-TESTİ İLE DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

	ENDO	ÇİKOLATAMSI
MİDE	p=0.043 anamlı	p=0.448 anlamsız
İNCE BARSAK	p=0.012 anamlı	p=0.003 anamlı
KALIN BARSAK	p=0.254 anlamsız	p=0.136 anlamsız

Endo besiyerindeki (gram -) üremelerde kontrol ile ranitidin grupları arasında t- testi ile mide ve ince barsakta anlamlı fark bulunmuştur. Çikolatamsı besiyerinde ise sadece ince barsakta anlamlı bir fark bulunmuştur.

TABLO 6 RANİTİDİN GRUBUNDAKİ MİDE İLE İNCE BARSAK,KALIN İLE İNCE BARSAK VE MİDE İLE KALIN BARSAK KOLONİ SAYIMLARI ARASINDAKİ KORELASYON DEĞERLERİ

RANİTİDİN GRUBU	ENDO	ÇİKOLATAMSI
MİDE-İNCE BARSAK	r=0.466 p=0.044 ρ=0.560	r=0.550 p=0.015 ρ=0.380
KALIN- İNCE BARSAK	r=0.399 p=0.090 ρ=0.490	r=0.285 p=0.238 ρ=0.530
MİDE-KALIN BARSAK	r=0.470 p=0.042 ρ=0.650	r=0.471 p=0.042 ρ=0.450

r=Pearson katsayısı ; p=t-testi ; ρ(ro)=Spearman katsayısı

Ranitidin grubunda yapılan bakteri sayımları arasındaki korelasyon araştırılmasında hem endo (gram -) hem de çikolatamsı besiyeri (gram+ ve gram-) bakteri sayımları arasından, mide ile ince barsak ve mide ile kalın barsak arasında orta derecede bir bağıntı (korelasyon) mevcuttur. Kalın ile ince barsak arasında t-testi sonuçları 0.05 ten büyük çıkmıştır. Bu sebeble aralarında bir korelasyon ispatlanamamıştır.

Kısmi bağıntı (korelasyon) değerlendirmesinde yapılmış mide ince barsak ilişkisinden kalın barsağın etkisinin kaldırılarak yapılan hesaplamada endo besiyeri için r=0.425 çikolatamsı besiyeri için r=0.58 bulunmuştur. Fakat sonuç üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı görüldü.

TABLO 7 KONTROL GRUBUNDAKİ MİDE İLE İNCE BARSAK, KALIN İLE İNCE BARSAK VE MİDE İLE KALIN BARSAK KOLONİ SAYIMLARI ARASINDAKİ KORELASYON DEĞERLERİ

KONTROL GRUBU	ENDO	ÇİKOLATAMSI
MİDE-İNCE BARSAK	r= -0.054 p=0.810 ρ=0.171	r= -0.120 p=0.576 ρ=0.295
KALIN-İNCE BARSAK	r= -0.005 p=0.998 ρ=0.180	r=0.489 p=0.107 ρ=0550
MİDE-KALIN BARSAK	r= -0.071 p=0.810 ρ= -0.060	r= -0.030 p=0.933 ρ=0.240

r=Pearson katsayısı ; p=t-testi ; ρ(ro)=Spearman katsayısı

Kontrol grubunda endo (gram -) besiyeri çikolatamsı (gram - ve gram+) besiyerindeki bakteri sayıları arasında bağıntı (korelasyon) tespit edilmemiştir.

İRDELEME VE SONUÇ

Yenidoğanın mide barsak kanalı kolonizasyonu ile ilgili bilgilerimiz yeterli değildir. Bakteriler ilk 48 saat içinde yenidoğanın dışkısına çıkmaktadır. Bu bilgiyle yenidoğanın barsak bakteri kolonizasyonunun 48 saat içinde tamamlandığı düşünülmüştür. Genel olarak bakterilerin yukarıdan aşağıya doğru yayıldığı varsayılmıştır. Fakat 1994 senesinde Camp JMV ve arkadaşlarının (4); 1995 senesinde Urao M ve arkadaşlarının (1) yayınladıkları iki yazı yenidoğanın barsak bakteriyel kolonizasyonuna çok daha farklı bir boyut getirmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda bu iki çalışma ile kıyaslanmıştır.

Kalın yazılar belirttiğimiz iki çalışmaya ait sonuçları; Ara metinler bizim bulgu ve irdellemelerimizi; kalın italik bölümler ise kendi sonuçlarımızı göstermektedir

1. Yenidoğanın mide barsak kanalı bakteriyel kolonizasyonu 24-48 saatte tamamlanmaz ;en az 14 güne kadar gecikebilmektedir(1).

- Yukarıda belirttiğimiz çalışmalardan ilki aerob ve anaerob bakterilerle kalitatif olarak yapılmıştır. Hayvan olarak tavşan kullanılmıştır. Bu sonuçları yavru sıçanlara da yansıtabiliriz. Biz araştırmamızda anaerob teknik kullanmadık. Yine de kontrol grubunda gram (-) bakteri kolonizasyonu %53, toplam aerob bakteri kolonizasyonu %77 oranında tespit edilmiştir. Bu sonuçlar barsakların bakteriyel kolonizasyonunun 14 güne kadar geciktiğini göstermektedir.

• Sonuç:Sıçan yavrularında da barsak bakteri kolonizasyonu 14 güne kadar gecikebilmektedir

2. Yenidoğanın mide barsak kanalı bakteriyel kolonizasyonu makattan yukarı doğru olmaktadır. Bu olayda, mide asitliği ve motilite önemli rol oynar(1,4)

- Kontrol grubumuzda (14 günlük hayvanlarda) ince barsaklarda %53 oranında gram (-) kolonizasyon mevcuttur (tablo 2). Fisher'in kesin χ^2 analizi ile kontrol ve ranitidin gruplarının ince barsaklarında gram (-) bakteri kolonizasyon oranlarının anlamlı şekilde farklı olduğu tespit edilmiştir (p=0.0047, tablo 4).
- Kontrol ve ranitidin gruplarının bakteri sayımları arasında t-testi ile de değerlendirme yapılmıştır. Kontrol ve ranitidin gruplarında, mide ve ince barsak gram(-) bakteri sayılarında anlamlı farklar mevcuttur(tablo 5). Yine ince barsak toplam aerob bakteri sayımlarında iki grup arasında fark vardır (tablo 5). Tablo 4'teki bulguların desteğiyle mide asitliğinin azalmasının mide ve ince barsakta kolonizasyonu artırdığını söyleyebiliriz.
- Kontrol grubunda ince barsakta kolonizasyon anlamlı derecede azdır. İnce barsak ve midede de bakteri sayıları ranitidin grubuna göre azdır (tablo 5). Bu bilgi mide asitliğinin bakteriler için önemli bir engel olduğunu gösterir. Dolayısıyla barsakların makattan yukarı doğru kolonizasyonunun daha rahat olabileceğini gösterir.
- Kontrol grubunda mide ile ince barsak bakteri kolonizasyonu arasında korelasyon bulunmamıştır (tablo 7). Bu barsak kolonizasyonunun yukarı doğru olduğu gibi, mide asitliğinin bakteri kolonizasyonu engelleyici etkiside gösterir.

- İnce barsakların kalın barsaktan kolonize olması beklendiğine göre; kontrol grubunda kalın ile ince barsak bakteri sayımları arasında bir korelasyon beklenirdi. Tablo 7 de toplam aerob bakteri sayımıyla (çikolatamsı besiyerindeki üremeler) ilgili kalın ve ince barsak arasında yapılan korelasyon çalışması istatistik tekniği olarak anlamlı olmasada zayıf bir bağıntıyı işaret ediyor. Çalıştığımız hayvanlar 13 ve 14 günlüktür. Bu dönemde barsak kolonizasyonunun büyük yüzdesi tamamlanmıştır. Dolayısıyla kalın barsağın ince barsağa olan kolonizasyon etkisinin zayıflaması beklenir ki çalışmamız bunu göstermiştir.
- Ranitidin grubunda, mide ve ince barsak bakteri sayımları arasında yapılan korelasyon analizlerinde orta dereceli bir bağıntı tespit edilmiştir. Bu durum mide asitliği azalmış deneklerde, ince barsak kolonizasyonunun mide tarafından da etkilendiği savımızı kuvvetlendirir (tablo 6).
- Normalde barsak bakteri kolonizasyonu yukarıya doğru ise, motilite hakikaten bakterilerin yukarıya doğru yayılmasını zorlaştıracaktır. Fakat mideyi geçebilen bakteriler aşağıya doğru çok daha hızlı bir yayılımda gösterebileceklerdir.
- **Sonuç:H2 reseptör antagonisti ve anti asit kullanan yenidoğanlarda zaten mide pH'sı düşük olan prematürelde barsak bakteri kolonizasyonu aşağıya doğru ve beklenenden hızlı olur.**
- 3. **Translokasyon ince barsak bakteri kolonizasyonu ile beraber gider. Ana sütü translokasyonu engeller. Antibiyotik translokasyonu engellemez(1). Sepsis ve NEK amilleri ince barsağa aşağıdan ince barsağa gelen bakterilerin translokasyonu ile olur(1,4).**
- Çalışmamızda sadece ranitidin grubunda bir adet mezenter lenf bezine bakteri translokasyonu tespit edildi. Yuvrularımızın sadece ana sütüyle beslenmelerinin translokasyonu engellediği söylenebilir. Sadece bu yönde yapılmış değerli çalışmalarda mevcuttur(3).
- Yavru hayvanlarımızın nispeten büyük 13 veya 14 günlük olması, ana sütü ile de beslenmeleri mide barsak kanalı gelişimini artırarak translokasyondan koruyucu etki yapmış olabilir(4,22).
- Sepsis ve NEK'in etyolojisinde ince barsaklardan bakteri translokasyonu önemli bir rol oynar(1,4,5). Sepsis ve NEK genellikle prematüre veya genel durumu iyi olmayan bebeklerde gelişir. Bu kritik bebeklerde mide asitliğini düşürücü tedaviler uygulanmaktadır. Anne sütü beslenmesinden de mahrumdurlar. Yukarıda belirttiğimiz gibi mide asitliğinin azalması ince barsak bakteri kolonizasyonunu da etkileyecektir. Yukarıdan ve normalden daha hızlı kolonize olan ince barsaklar, gelişimi ve sistemleri yeterli olmayan mide pH'sı yüksek, ana sütü almayan bu bebeklerde translokasyona sebep olabilecektir.
- Mide bakteri kolonizasyonunu arttırabilen nazogastrik tüp uygulaması, gastrostomi gibi durumlarda ince barsak bakteri kolonizasyonunu etkileyebilir.
- **Sonuç:Genel durumu iyi olmayan bebeklerde ve prematürelde NEK ve sepsis sık gelişir. Bu bebeklerde mide asitliğini düşürücü tedaviler ve nazo gastrik, gastrostomi gibi mide kolonizasyonunu bozucu uygulamalar yapılır. Buda ince barsağın yukarıdan kolonize olmasına sebep olur. Bu anormal bakteri kolonizasyonunda bakteri translokasyonu, dolayısıyla NEK ve sepsisin gelişimini kolaylaştırır.**

KAYNAKLAR

1. Urao M, Moy J, Camp JV, Drongowski R, ve ark. Determinant of bacterial translocation in the newborn: small bowel versus large bowel colonization. *J Pediatr Surg* 30 (6):831-36, 1995
2. Bell MJ, Rudinsky M, Brotherton T ve ark. Gastrointestinal microecology in the critically ill neonate. *J Pediatr Surg* 19(6):745-51, 1984
3. Go LL, Albanese CT, Watkins SC, ve ark. Breast milk protects the neonate from bacterial translocation. *J Pediatr Surg* 29(8):1059-64, 1994
4. Camp JVM, Drongowski R, Gorman R, ve ark. Colonization of intestinal bacterial in the normal neonate : Comparison between mouth and rectal swabs and small and large bowel specimens. *J Pediatr Surg* 29(10):1348-51, 1994
5. Grosfeld JL, Cheu H, Schlatter M, ve ark. Changing trends in necrotizing enterocolitis. Experience with 302 cases in two decades. *Ann Surg* 214(3):300-7, 1991
6. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF ve ark. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 212(4):496-512, 1990
7. Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast fed and bottle fed infants. *Pediatrics* 72(3):317-321, 1983
8. Long SS, Swenson RM, Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants. *J Pediatr* 91(2):298-301, 1977
9. Peter G, Nelson JS. Factors affecting neonatal E.coli K1 rectal colonization. *J Pediatr* 93(3):866-69, 1978
10. Brook I, Barrett CT, Brinkman III CR ve ark. Aerobic and anaerobic bacterial flora of maternal cervix and newborn gastric fluid and conjunctiva:A prospective study. *Pediatrics* 63(3):451-455, 1979
11. Goldmann DA. Bacterial colonization and infection in the neonate. *Am J Med* 70(2):417-22, 1981
12. Tokyay R, Zeigler ST, Traber DL, ve ark. Postburn gastrointestinal vasoconstriction increases bacterial and endotoxin translocation. *J Appl Physiol* 74(4):1521-27, 1993
13. Hebra A, Hong J, McGowan KL, Smith C ve ark. Bacterial translocation in mesenteric ischemia-reperfusion injury:Is dysfunctional motility the link?. *J Pediatr Surg* 29(2):280-87, 1994
14. Kueppers PM, Miller TM, Chen CYK, ve ark. Effect of total parenteral nutrition plus morphine on bacterial translocation in rats. *Ann Surg* 217(3):286-92, 1993
15. Sorell WT, Quigley EMM, Jin G, ve ark. Bacterial translocation in the portal-hypertensive rat:studies in basal conditions and on exposure to hemorrhagic shock. *Gastroenterology* 104(6):1722-26, 1993
16. Kayaalp OS. Histamin H2 reseptör blokerleri. *Tıbbi Farmakoloji* 3. cilt (3.baskı), 90.konu. Ankara Türkiye, Ulucan Matbaası, 1986, 2537-44
17. Hamilton JR. Normal development structure, and function of the stomach and intestines. *Nelson Textbook of Pediatrics*, editör Behrman RE ve

- Vaughan III VC.2.cilt (13. baskı), 12.26 .konu , PA, USA,W.B.Saunders, 1987, 777-778
- 18.Deitch EA. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multipl organ failure. Arch Surg 125(3):403-4, 1990
 - 19.Leonard EM, Saene HKF, Shears P ve ark. Pathogenesis of colonization and in a neonatal surgical unit. Crit Care Med 18(3):264-269, 1990
 - 20.Cunningham AS, Jelliffe DB, Jelliffe EFP. Breast feeding and health in the 1980s: A global epidemiologic review. J Pediatr 118(5):659-666, 1991
 - 21.Lucas A, Cole T. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. Lancet 336: 1519-23, 1990
 - 22.Sheard NF, Walker A. The role of breast milk in the development of the gastrointestinal tract. Nutrition Rev 46(1):1-8
 - 23.Deitch EA, Berg R, Specian R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. Arch Surg 122(2):185-190, 1990
 - 24.Deitch EA, Winterton J, Berg R. Effect of starvation, malnutrition, and trauma on the gastrointestinal tract flora and bacterial translocation. Arch Surg 122(9):1019-1024 , 1990
 - 25.Fukushima R, Gianotti L, Alexander W. The primary site of bacterial translocation. Arch Surg 129(1):53-58, 1994
 - 26.Slade HB, Schwartz SA, Mucosal immunity: The immunology of breast milk. J Allergy Clin Immunol 80(3 part1):348-58, 1987
 - 27.Rowe MI. The intestinal barrier and its relationship to pediatric infections Pediatr Cerr Derg 8:5-10, 1994
 - 28.Welsh JK, May JT. Anti-infective properties of breast milk. J Pediatr 94(1):1-9, 1979
 - 29.Wiever TW.Gastrointestinal disorders. Textbook of Neonatology editör NRC Robertson (2. baskı), 23. konu. Birleşik Krallık ,Curchill Livingstone 1992, 636-38

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ