

# Deneysel nekrotizan enterokolit modelinde ağızdan verilen immünglobülin G'nin etkisi

Müslim YURTÇU, Bahattin AYDOĞDU, Hatice TOY, Mehmet GÜRBİLEK, Engin GÜNEL

Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi, Patoloji ve Biyokimya Anabilim Dalları, Konya

## Özet

**Amaç:** Deneysel olarak oluşturulan nekrotizan enterokolit (NEK) modelinde, ağızdan verilen immünglobülin G'nin sıçan barsağında koruyucu etkisini araştırdık.

**Gereç ve Yöntem:** 40 yenidoğan sıçan 10'arlı gruplar halinde 4 gruba ayrıldı. Kontrol (K) grubu anne yanında bırakılırken, NEK (N), sham (S) ve tedavi (T) grubu anne sütü almadan, annesinden ayrı olarak 36°C'de ve % 60'luk nemde beslenme ve bakım sağlanmak üzere inkübatöre yerleştirildi. K grubundaki sıçanlar anne sütü ile beslendi. N grubundaki denekler doğar doğmaz, anne sütü almadan annelerinin ayrılarak formula mama ile beslendi. T grubundaki sıçanlara hiç anne sütü almadan formula mamaya ilaveten 1200 mg/kg/gün 6 doz olarak ağızdan saf Ig G verildi. S grubundaki deneklere hiç anne sütü almadan mamaya ek olarak 0.1 ml /kg/gün immünglobülin çözünüsü olan distile su verildi. Tüm gruplardaki sıçanlar 4. gün tartılarak sakrifiye edildi. Laparatomiden sonra ileoçekal valvin 1 cm yukarısından 2 cm'lik bağırsak segmenti histopatolojik inceleme için, geri kalan 10 cm'lik kısmı biyokimyasal inceleme için çıkartıldı. H&E boyama ile histopatolojik, ARC (Apoptosis Repressor With CARD) Ab-1 apoptozis kiti kullanılarak immunohistokimyasal, Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve İnterlökin altı (IL-6) bakılarak biyokimyasal inceleme yapıldı.

**Bulgular:** N, S ve T gruplarında mortalite oranı K gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $P=0.038$ ). K grubunda diğer gruplara göre anlamlı ağırlık artışı tespit edildi ( $P=0.000$ ). Histopatolojik değerlendirmede K grubunda villus hasarı, transmural nekroz ve apoptozisin, N, S ve T gruplarından anlamlı olarak az olduğu görüldü ( $P=0.000$ ). Apoptozisin de K grubunda, N, S ve T gruplarından anlamlı olarak az olduğu görüldü ( $P=0.001$ ). Doku IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin K grubunda, S, N ve T gruplarından anlamlı olarak az olduğu ( $P<0.05$ ), ayrıca N, S ve T grupları arasında anlamlı farklı olmadığı saptandı ( $P>0.05$ ).

**Sonuç:** Ağızdan verilen saf IgG'nin deneysel NEK modelinde, biyokimyasal ve histopatolojik olarak intestinal yıkımı azaltmadığı ve NEK'i önlemediği gösterildi.

**Anahtar kelimeler:** Nekrotizan enterokolit, yenidoğan, immünglobülin G, tedavi

**Adres:** Dr. Müslim Yurtçu, Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Konya  
**Yayına kabul tarihi:** 22.1.2009

## Summary

**Effect of oral immunoglobulin G in experimental necrotizing enterocolitis model**

**Aim:** Investigation of the protective effect of oral immunoglobulin(Ig) G on rat intestine in experimental necrotizing enterocolitis model.

**Materials and Methods:** 40 newborn rats were divided into 4 groups each containing 10 rats. While control (C) group was fed by breast, the rats in necrotizing enterocolitis (N), sham (S), and treatment (T) groups were settled into incubators at 36°C and 60 % humidity and fed, but not by breast. The rats in group C were breast fed. The rats in N group were fed with Formula as soon as they were born. The rats in T group were fed with Formula and 1200 mg/kg/day oral Ig A with 4-hour intervals. The rats in S group were fed with Formula and 0.1 ml/kg/day distilled water which is solvent of Ig. The rats in all groups were weighed and sacrificed on fourth day. 2 cm intestinal segment from proximal of ileocecal valve was used for histopathologic examination, another 10 cm intestinal segment for biochemical examination. After laparotomy, H&E was used for histopathological examination and apoptosis repressor with card Ab-1 ctt for immunohistochemical examination. Biochemical parameters such as TNF- $\alpha$ , and IL-6 were evaluated.

**Results:** The rate of mortality in N, S, and T groups was significantly higher than groups C ( $P=0.038$ ). Significant weight increase in group C was significantly higher than N, S, and T groups ( $P=0.000$ ). Histopathologic parameters such as villus injury, transmural necrosis in group C were found to be significantly decreased compared with N, S, and T groups according to scoring system ( $P=0.000$ ). Apoptosis in group C was found to be significantly decreased compared with N, S, and T groups according to scoring system ( $P=0.001$ ). IL-6 and TNF- $\alpha$  levels were identified to be significantly decreased in group C compared with N, S, and T groups ( $P<0.05$ ). There was no significant difference among N, S, and T groups ( $P>0.05$ ).

**Conclusion:** Pure IgG given orally was not identified to decrease intestinal damage and to prevent NEC in experimental NEC model both biochemically and histopathologically.

**Key words:** Necrotizing enterocolitis, newborn, immunoglobulin G, treatment

## Giriş

Nekrotizan enterokolit (NEK) mukozadan başlayıp tüm katları tutabilen inflamasyon ve nekroz ile karakterize, gastrointestinal sistemin (GİS) ilerleyici bir patolojisi olup, yenidoğanların en sık acil cerrahi müdahale gerektiren hastalığıdır. NEK, prematür ve düşük doğum ağırlıklı (DDA) bebeklerin hastalığı olarak bilinir; hastalığın etyopatogenezi tam olarak tespit edilememiştir. Kesin olmamakla birlikte prematürite, hipoksi, beslenme, farmakolojik ajanlar, infeksiyon, sitokinler, bağırsak bariyerinin bozulmasına neden olan etkenler gibi birçok faktör suçlanmaktadır<sup>(14,16)</sup>.

NEK'in bağırsağın koruyucu faktörlerinin immatüritesinden kaynaklanıyor olması daha akla yatkın gelmektedir. Çünkü bu bariyer lümenindeki bakterilerin sisteme ulaşmasını engelleyecek karmaşık anatomik ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. Bağırsak lümenindeki bariyerin spesifik kanadına immün sistem komponentleri olarak B ve T hücreleri ile immünglobulinler yerleşmişlerdir. Yenidoğanların bağırsaklarındaki B ve T lenfositleri ile prematür bebeklerin bağırsaklarındaki sekretuar IgA, IgG ve IgM düzeyleri düşüktür. Düşük doğum ağırlıklı infantlarda NEK'in gelişimini önleyen profilaktik mukozal bariyerin gelişiminde IgG yaşamsal öneme sahiptir<sup>(18)</sup>. NEK riski taşıyan yenidoğanlarda yapılan çalışmaların bir kısmında ağızdan verilen kombine immünglobulinlerin NEK insidansını azalttığını ve bazılarında ise koruyucu etkilerinin olmadığını bildiren çalışmalar vardır<sup>(8,10,11,17,18,19,21)</sup>. Ancak, immünglobulin G'nin tek başına ağızdan verildiğinde NEK oluşumunu önleyici etkisini araştıran çalışmalara literatürde rastlanmamıştır.

Daha önceki çalışmamızda NEK oluşturularak IgA verilen sıçanlarda, TNF- $\alpha$ , MPO ve IL-6 seviyelerinin anlamlı olarak düşük çıktığını saptadık<sup>(2)</sup>. Bu çalışmamızda, NEK modelinde, immünglobulin G'nin sıçan bağırsağını koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

*Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 21.02.2007 tarih ve 2007/6 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulundu.*

*Çalışmamızda Sprague-Dawley cinsi sıçanların gebeliğin 20. gününde sağlık personeli gözetiminde doğumu takip edildi. Sıçanlar doğar doğmaz anne sıçanın yanından alınarak doğum ağırlıkları tespit edildi. Nadler ve ark.<sup>(15)</sup>'nin tanımladığı deneysel NEK modeli kullanıldı.*

*Yenidoğan sıçanlar 10'arlı gruplar halinde 4 gruba ayrıldı. K grubu anne yanında bırakılırken, N, S ve T grubu anne sütü almadan, annesinden ayrı olarak beslenme ve bakım sağlanmak üzere ortam ısı 36°C olan ve % 60 nem sağlayan özel inkübatöre yerleştirildi. Hiperozmolar olup, protein ve kalori olarak sıçan anne sütüne benzeyen<sup>(4)</sup> hiperozmolar özel mama 75 ml. Pupy-milk canine milk replacement (Beaphar-bogena, B.V. Sedel, Nederland) içine 15 g Similac 60/40 (Ross Pediatrics, Columbus, OH) karıştırılarak elde edildi.*

*K grubundaki (n=10) yenidoğan sıçanlar anne sütü ile beslendi.*

*N grubundaki (n=10) yenidoğan sıçanlar, hiç anne sütü almadan annelerinin yanından alınarak 2 saatte bir (12 doz /24 saat) özel damlalıkla özel mama ile beslendi.*

*S grubundaki (n=10) yenidoğan sıçanlar hiç anne sütü almadan annelerinin yanından alındı, 2 saatte bir (12 kez/24 saat) özel damlalıkla özel mama ile beslendiler ve 4 saatte bir (6 kez /24 saat) özel mama içine ilaveten 0.1 ml /kg/gün immunoglobülin çözünür olan distile su verildi. Tüm gruplardaki sıçanlar (96. saate) 4. gün tartularak servikal dislokasyon ile öldürüldü.*

*T grubundaki (n=10) yenidoğan sıçanlar hiç anne sütü almadan annelerinin yanından alınarak 2 saatte bir (12 kez /24 saat) özel damlalıkla özel mama beslendiler ve ayrıca 4 saatte bir (6 kez/24 saat) özel mama içine 1200 mg/kg/gün oral immünglobülin G (% 97.6 IgG. Erkim) eklenerek verildi.*

## Değerlendirme:

*Çalışmada, yavru sıçanların sağ kalım oranları ve ağırlık değişimleri, makroskopik olarak sıçan bağırsak duvarında inflamasyon ve nekroz görünümü, mikroskopik olarak bağırsak duvarında histopatolojik inceleme ve apopitozis skorlaması, biyokimyasal*

olarak bağırsak dokusu IL-6 ve TNF- $\alpha$  ölçümleri değerlendirme kriterleri olarak kullanıldı.

#### **Histopatolojik değerlendirme:**

Laparotomi yapıldıktan sonra, bağırsakların ileoçekal valvinin 1 cm proksimalinden 2 cm'lik kısmı alınıp % 10 formol ile fikse edildi. Uygun parçaların kesilmesinden sonra ototeknikon cihazından rutin takip yapıldı. Parafin içine gömülen dokular mikrotom aracılığı ile 5 mikron kalınlığında kesilerek lam üzerine alınarak, hemotoksilen ve eozin ile boyandı<sup>(7)</sup>. Ardından klasik ışık mikroskopunda (Nicon Eclipse-200) incelendi. Morfolojik değerlendirme için, daha önce Caplan ve ark.<sup>(5)</sup>'nin kullandığı skorlama sistemi modifiye edildi ve bağırsaklardaki değişiklikler "0"dan "4"e kadar evrelendi.

#### **Apopitozis değerlendirilmesi:**

Sıçan yavrularından alınan incebağırsak dokuları % 10 formol ile fikse edildi. Uygun parçaların kesilmesinden sonra ototeknikon cihazından rutin takip yapıldı. Parafin içine gömülen dokular mikrotom aracılığı ile 5 mikron kalınlığında kesilerek lam üzerine alındı. ARC (Apoptosis Repressor With CARD) Ab-1 Apoptozis kiti kullanılarak, immunohistokimyasal çalışma yapıldı. Tüm dokulara immunohistokimyasal çalışma ile apopitozis boyamaları yapıldı ve "0"dan "+++"e kadar evrelendi<sup>(6)</sup>.

#### **Biyokimyasal değerlendirme için doku hazırlanması:**

Laparotomi sonrası, bağırsakların ileoçekal valvinin 3 cm yukarısından yaklaşık 10 cm'lik kısmı da biyokimyasal inceleme için çıkarıldı. Dokular soğuk serum fizyolojik içeren cam tüplere alındı. Sonra bağırsaklar soğuk tuzlu suyla yıkandı ve soğuk potasyum fosfat tamponu ile (PH:7,4) Mikroson XL Ultrasonic CellDisruptor marka cihaz kullanılarak homojenize edildi.

#### **Doku IL-6 ve TNF- $\alpha$ ölçümü:**

Daha önce soğuk Potasyum fosfat tamponu ile (PH: 7,4) homojenize edilen dokular 3000 rpm'de 10 dk. Santrifüje edildi. Biosource rat IL-6 ve Biosource rat TNF- $\alpha$  ticari kit kullanılarak ELX-800 cihazında, ELISA metod kullanarak IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü.

#### **İstatistiksel Değerlendirme:**

Veriler bilgisayar ortamına aktarılmadan önce kodlandı. İstatistik analizi SPSS for Windows 10,0 paket programı ile yapıldı. Veriler ortalama+standart sapma ve % olarak değerlendirildi. Gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Gruplar arasında farklılık gösteren değişkenler ikincil test (Post Hoc Tukey HSD) ile değerlendirildi. Kategorik veriler Ki-kare (Chi-Square) testi ve Student t testi ile değerlendirildi. Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak alındı.  $P < 0.05$  anlamlı olarak değerlendirildi.

#### **Bulgular**

Bu çalışmada kontrol grubundaki tüm sıçanlar yaşarken, Tedavi grubunda 2 sıçan 2. günde ve 2 sıçan da 4. günde aspirasyon sonucu öldü. N grubunda 2. günde 1 sıçan, 3 günde 3 sıçan aspirasyon sonucu öldü. S grubunda 1. günde 1 sıçan ve 3. günde de 2 sıçan öldü.

Tüm sıçanların ilk ve 4.gün ortalama ağırlıkları ve değişimleri değerlendirildi. İlk ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı. Anne sütü ile beslenen kontrol grubundaki sıçanlarda ortalama  $3.45 \pm 0.75$  g ağırlık artışı olurken, N grubunda ortalama  $2.26 \pm 0.23$  g, S grubunda ortalama  $2.10 \pm 0.64$  g ve T grubunda ortalama  $1.96 \pm 0.41$  g ağırlık azalması saptandı.

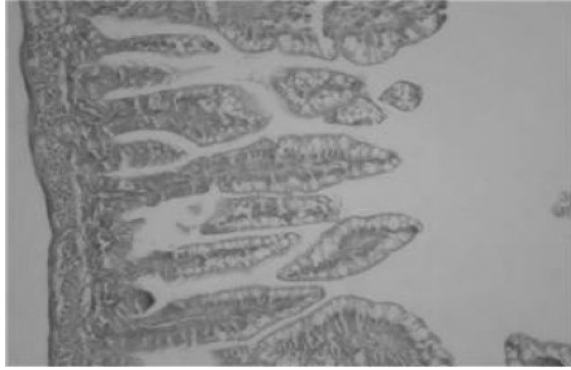
Çalışma sonrası alınan barsakların makroskopik incelemesinde, kontrol grubundaki bütün sıçanların bağırsakları normal görünümde idi. T grubunda 3 sıçanda, N grubunda 4 sıçanda ve S grubunda da 2 sıçanda barsaklarda mavi-siyah renk değişikliği ve nekroz tespit edildi.

Bağırsak dokularının histopatolojik değerlendirilmeleri yapılarak, sonuçlar Tablo I'de gösterildi. Kontrol grubundan alınan örneklerden 6'sının normal morfolojiye sahip olduğu, 3'ünde villuslarda mukus zenginliği ve 1'inde hafif epitelyial dökülme olduğu gözlemlendi. N grubunda alınan örneklerden 3'sinde hafif villus hasarı, 1'inde ciddi düzeyde villus hasarı ve diğer 2'sinde transmural nekroz tespit edildi (Resim 1). S grubunda alınan örneklerden 2'ünde hafif epitelyial dökülme, 3'ünde orta düzeyde villus hasarı, 1'ünde ağır düzeyde villus hasarı ve 1'inde transmural nekroz gözlemlendi. T grubunda alınan örneklerin, 2'sinde

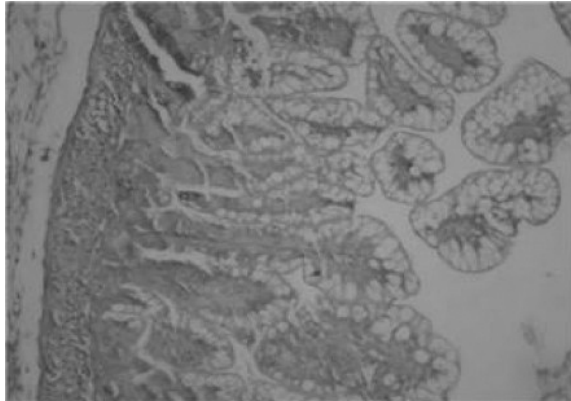
**Tablo I. Tüm grupların mikroskopik inceleme skorlaması.**

Gruplar		K (n=10) <sup>γ</sup>	N (n=6)	S (n=7)	T (n=6)
Evre 0	Normal bağırsak	6 (% 60)	0	0	0
Evre 1A	Bağırsak villusunda hafif mukus zenginliği	3 (% 30)	0	0	0
Evre 1B	Bağırsak villusunda hafif epitelyumde dökülme	1 (% 10)	0	2 (% 28.6)	2 (% 33.2)
Evre 2	Bağırsakta orta düzeyde villus hasarı	0	3 (% 50)	3 (% 42.9)	1 (% 16.6)
Evre 3	Bağırsakta ciddi düzeyde villus hasarı	0	1 (% 16.6)	1 (% 14.3)	2 (% 33.2)
Evre 4	Bağırsakta transmural nekroz	0	2 (% 33.2)	1 (% 14,3)	1 (% 16.6)

γ: Grup N, S ve T'ye göre P=0.000



**Resim 1. N grubunda, villus hasarı ve transmural nekrozu gösteren histopatolojik görünüm (X20).**



**Resim 2. T grubunda, iyileşmemiş villus hasarı ve transmural nekrozu gösteren histopatolojik görünüm (X10).**

hafif epteliyal dökülme, 1'inde orta derecede villus hasarı ve 2'sinde ağır derecede villus hasarı ve 1'inde transmural nekroz gözlemlendi (Resim 2).

Grupların histopatolojik apoptozis sonuçları ve skorlaması Tablo II'de gösterilmiştir. K grubundaki preparatların 4 tanesinde % 0-33, 6 tanesinde de "0" apoptozis olduğu tespit edildi. N grubunda 4 preparatta % 66 üzerinde, 2 preparatta da % 33-66 arasında apoptozis olduğu gözlemlendi. S grubunda örneklerin 2'inde % 66 üzerinde, 3 preparatta % 33-66 apopto-

**Tablo II. Tüm grupların histopatolojik incelenmesinde apoptozis skorlaması ve yüzdeleri.**

	0	+	++	+++
K (n=10) <sup>λ</sup>	6 (% 60)	4 (% 40)	-	-
N (n=6)	-	-	3 (% 33.2)	2 (% 66.4)
S (n=7)	-	2 (%28.6)	3 (% 42.9)	2 (% 28.6)
T (n=6)	-	1 (% 16.6)	3 (% 49.8)	2 (% 33.2)

λ: Grup N, S ve T'ye göre P=0.001

**Tablo III. Tüm grupların IL-6 ve TNF-α değerleri ve ortalama standart sapmaları.**

Gruplar	K (n=10) <sup>λ</sup>	N (n=6)	S (n=7)	T (n=6)
IL-6 (pg/ml)	0.91±0.24	2.43±0.44	2.30±0.33	2.37±0.52
TNF-α (pg/ml)	0.42±0.25	1.84±1.04	2.20±1.00	1.67±0.63

Değerler Ortalama±SD olarak verilmiştir.

λ: Grup N, S ve T'ye göre P=0.000

zis ve 2 preparatta (% 0-33 apoptozis) tespit edildi. T grubundaki preparatların 2 tanesinde % 66 üzerinde, 3 tanesinde % 33-66 arası ve 1 tanesinde % 0-33 arası apoptozis olduğu gözlemlendi.

Bağırsak dokusu IL-6 üretiminin değerlendirilmesi için doku örneklerinde IL-6 seviyeleri saptandı ve grupların ortalama değerleri Tablo III'de gösterildi. Çalışmada kontrol grubunda IL-6 seviyesi N, S ve T grupları ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük düzeyde tespit edildi (p<0.05). N, S ve T grupları arasında belirgin düzeyde fark tespit edilmedi (p>0.05).

TNF-α üretimini değerlendirmek için bağırsak dokusu örneklerinde TNF-α seviyeleri tespit edildi ve



grupların ortalama değerleri Tablo III'te gösterildi. Çalışmada K grubunda TNF- $\alpha$  değeri T, N ve S grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0.05$ ). T, N ve S grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

### Tartışma

NEK; her geçen gün artmakta olan, yenidoğanların mide bağırsak sistemini tutan ve oldukça ölümcül seyreden bir hastalıktır. Etiyopatogenezinde birçok risk faktörü bildirilmesine rağmen kesin neden tespit edilememiştir <sup>(14,16)</sup>.

Düşük doğum ağırlıklı infantlarda NEK'in gelişimini önleyen profilaktik mukozal bariyerin gelişiminde IgG yaşamsal öneme sahiptir <sup>(18)</sup>.

İmmünglobulin G'nin tek başına ağızdan verildiğinde NEK oluşumunu önleyici etkisini araştıran çalışmalara literatürde rastlanmamıştır.

Yapılan bir çalışmada ağızdan IgA-G verilmesi ile NEK gelişiminin önlenileceği bildirilmiştir <sup>(8)</sup>. Bu çalışmada ağızdan anne sütü alamayan düşük doğum ağırlıklı infantlarda ağızdan verilen Ig'lerin (% 73,04 IgA , % 25,87 IgG ve %0,74 IgM) NEK üzerindeki etkileri klinik olarak araştırılmıştır <sup>(8)</sup>. Diğer klinik çalışmalarda, profilaktik olarak ağızdan verilen IgG-A (% 70 IgA ve % 25 IgG)'nın bağırsak mukoza seviyesinde inflamatuvar mediatorlerin (TNF- $\alpha$  ve IL-6) ortaya çıkmasını inhibe ederek NEK gelişimini önlediği bildirilmiştir <sup>(20)</sup>.

Ağızdan verilen Ig'lerin (% 90 üzerinde monomerik IgG, geriye kalan ise dimerik veya polimerik IgG ve düşük miktarda da IgA ve IgM içeren) NEK'i önlediği saptanmıştır <sup>(18)</sup>.

Kolostrum verilenlerde formula mama alanlara göre, villus uzunluğu, enzim aktiviteleri, besin emilimi, antioksidan etkinlikleri ve NO aktivitelerinin artmasına bağlı olarak NEK'in önlenildiği tespit edilmiştir <sup>(13)</sup>.

Ancak, hem ağızdan IgG hem de kombine IgA-IgG verilenlerde NEK gelişiminin önlenemediği tespit edilmiştir <sup>(11,21)</sup>. İmmünglobülinlerin kombine kullanımını sonucu farklı klinik sonuçlar elde edilmiştir.

Diğer çalışmalarda, nekrotik bağırsaklarda sıçan bağırsak mukozasında iskemi, reperfüzyon sonrası oluşan hasarın MPO aktivitesini yükselttiği, TNF- $\alpha$  ve PAF'da belirgin bir yükselme olduğu, formula mama ile beslenen hipoksi ile karşı karşıya kalan sıçanların bağırsak dokusunda IL-6 ve TNF- $\alpha$ 'nın yüksek çıktığı ve bağırsakta ortaya çıkan inflamasyona bağlı olarak MPO'nun yükseldiği gösterilmiştir <sup>(1,3,12,22)</sup>. Daha önceki çalışmamızda, IgA verilen sıçanlardan alınan örneklerde villus hasarının ve apoptozisin daha az olduğu olduğunu; TNF- $\alpha$ , MPO ve IL-6 seviyelerinin anlamlı olarak düşük çıktığını tespit ettik <sup>(2)</sup>. Bu çalışmamızda MPO kiti bulunmadığı için MPO araştırması yapılamadı, mikroskopik görüntülerde N, S ve T gruplarında apoptozis hücrelerinin arttığı ve K grubunda azaldığı görüldü. Yine bu çalışmamızda TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinin N, S ve T gruplarında yüksek çıkması, K grubunda ise anlamlı olarak düşmesi ağızdan IgG'nin NEK'i önleme açısından yararlı olmadığını göstermektedir.

Caplan ve ark. ile diğer araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda, NEK'li hayvanların bağırsak segmentinde, ciddi düzeyde villüs hasarı ile transmural nekroz <sup>(5)</sup>, koagülasyon nekrozu <sup>(9)</sup> ve apoptotik hücreleri görülmüştür.

Nadler ve ark.<sup>(15)</sup>'nin tanımladığı şekilde, biz de çalışmamızda yenidoğan sıçanları doğduktan sonra ilk 4 gün hiperosmolar formül mama ile besleyerek NEK oluşturmayı planladık. 4. günün sonunda sıçan incebağırsağında makroskopik ve mikroskopik olarak gözlenen, biyokimyasal parametreler ile ortaya konan NEK modeli oluşturuldu. K grubu ile karşılaştırıldığında N, S ve T gruplarında bağırsak dokusu IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde anlamlı artış olduğu görüldü. Bağırsak dokusunun histopatolojik incelenmesinde (NEK'dekine benzer şekilde) "ciddi düzeydeki villus hasarı", "transmural nekroz" ve "apoptotik hücre oranında yükseklik" gibi parametrelerde anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, bu modelin NEK deneysel çalışmaları için oldukça uygun ve başarılı olduğu, ancak NEK hastalığında, ağızdan saf IgG'nin verilmesi ile intestinal hasarlanmanın azalmadığı ve NEK'in önlenmediği kanısındayız.

## Kaynaklar

1. Alican İ, Ünlüer EE, Cumhuriyet Yeğen, et al: Bombesin Improves burn-induced intestinal injury in the rat. *Peptides* 21:1265-1269, 2000
2. Aydoğdu B, Yurtçu M, Akbulut S, Gürbilek M, Toy H, Günel E: Deneysel nekrotizan enterokolit modelinde oral yoldan verilen immünglobülin A'nın etkisi. *Çocuk Cerrahisi Dergisi* 22(1):8-14, 2008
3. Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, et al: Pathology of neo-natal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 117(Suppl):6-13, 1990
4. Barlow B, Santulli TV, Heird WC, et al: An experimental study of acute neonatal enterocolitis: The importance of breast milk. *J Pediatr Surg* 9:587-595, 1974
5. Caplan MS, Catchpole RM, Kaup S, et al: Bifidobacterial supplementation reduce the incidence of necrotizing in a neonatal rat model. *Gastroenterology* 117:577-583, 1999
6. Chen W, Fu XB, Ge SL, et al: Intravenous acid fibroblast growth factor protects intestinal mucosal cells against ischemia-reperfusion injury via regulating Bcl-2/Bax expression. *World J Gastroenterol* 14;11(22):3419-3425, 2005
7. Dickinson EC, Gorga JC, Garrett M, et al: Ig A supplementation abrogates bacterial translocation and preserves the architecture of the intestinal epithelium. *Surgery* 124:284, 1998
8. Eibl MM, Wolf HM, Furnkranz HM, Rosenkranz HM: Prevention of necrotizing enterocolitis in low-birth-weight infants by Iga-IgG feeding. *N Eng J Med* 319:1-7, 1988
9. Ford H, Watkins S, Reblock K, et al: The Role of Inflammator Cytokines and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery* 32(2):275-282, 1997
10. Foster J, Cole M: Oral immunoglobulin for preventing necrotizing enterocolitis in preterm and low birth-weight neonates. From The Cochrane Library, 2005 issue 2
11. Gregor L, David T, Kathryn B, et al: Enteral human IgG for prevention of necrotizing enterocolitis: a placebo-controlled, randomised trial. *Lancet* 357:2090-2094, 2001
12. Grisham MB, Benoit JN, Granger DN: Assessment of leukocyte involvement during ischemia and reperfusion of intestinal. *Methods Enzymol* 186:729-742, 1990
13. Hsueh W, Caplan MS, X Sun, et al: Platelet-activating factor, tumor necrosis factor, hypoxia and necrotizing enterocolitis. *Acta Pediatr Suppl* 396:11-17, 1994
14. Kim SS, Albanese CT: Necrotizing Enterocolitis, in Grosfeld JL, O'Neill JA, Coran AG, Fonkalsrud EW, Caldamone AA (eds): *Pediatric Surgery*. Philadelphia, Mosby Elsevier 2006, p: 1514-1559
15. Nadler EP, Dickinson E, Knisely A, et al: Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis. *J Surg Res* 92:71-77, 2000
16. Patole S: Prevention of necrotizing enterocolitis: Year 2004 and beyond. *The journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, January 17(1):69-80, 2005
17. Ricketts RR: Necrotizing enterocolitis, in Reffensperger JG (eds): *Swenson's Pediatric Surgery*. Connecticut, Appleton & Lange 1990, p: 627-636
18. Rubaltelli FF, Benini F, Sala M: Prevention of necrotizing enterocolitis in neonates at risk by oral administration of monomeric IgG. *Dev Pharmacol Ther* 17:138-143, 1991
19. Santulli TV, Schullinger JN, Heird WD, et al: Acute necrotizing enterocolitis in infancy: A review of 64 cases. *Pediatrics* 55:376-380, 1975
20. Sangild PT, Siggers RH, Mette S, et al: Diet- and colonization-dependent intestinal dysfunction predisposes to necrotizing enterocolitis in preterm pigs. *Gastroenterology* 130(6):1776-1792, 2006
21. Schmölder G, Urlesberger B, Reiterer B, et al: Multimodal approach to prophylaxis of necrotizing enterocolitis: clinical report and review of literature. *Pediatr Surg Int* 22(7):573-580, 2006
22. Zamora R, Vodovotz Y, Ford HR, et al: Plasma cytokine levels in experimental necrotizing enterocolitis: a mathematical model is needed. *Journal of Critical Care* 20(4):397, 2005