

Deneysel nekrotizan enterokolit modelinde ağız yolu ile verilen immünglobülin A'nın etkisi

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

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

Özet

Amaç: Deneysel olarak oluşturulan nekrotizan enterokolit (NEK) modelinde, oral yoldan verilen immünglobülin A'nın sıçan barsağını koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

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'lık nemde beslenme ve bakım sağlanmak üzere inkübatöre yerleştirildi. K grubundaki sıçanlar anne sütü ile beslendi. N grubundaki denekler doğar doğmaz, hiç anne sütü almadan annelerinin yanından ayrılarak formula mama ile beslendi. T grubundaki sıçanlara hiç anne sütü almadan formula mamaya ilaveten 600 mg/kg/gün 6 doz halinde saf oral IgA verildi. S grubundaki deneklere hiç anne sütü almadan mamaya ilaveten 0.1 ml/kg/gün immünglobülin çözünürü olan distile su verildi. Tüm gruplardaki sıçanlar 4. gün tartularak sakrifiye edildi. Laparotomi sonrası ileoçekal valvin 1 cm proksimalinden 2 cm'lik barsak segmenti histopatolojik inceleme için, geri kalan 10 cm'lik segment biyokimyasal inceleme için çıkarıldı. H&E boyama ile histopatolojik, ARC (Apoptosis Repressor With CARD) Ab-1 apoptozis kiti kullanılarak immunohistokimyasal, doku Myeloperooksidaz (MPO), Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), ve İnterlökin altı (IL-6) bakılarak biyokimyasal değerlendirme yapıldı.

Bulgular: N ve S gruplarında mortalite oranı T ve K gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P<0.05$). K grubunda istatistiksel olarak anlamlı ağırlık artışı olduğu tespit edilirken, diğer gruplarda ağırlık azalması tespit edildi ($P<0.05$). Histopatolojik değerlendirme ve apoptozis dağılımına bakıldığında, T grubunun, N ve S grubundan anlamlı azalma olduğu görüldü ($P<0.05$). Doku IL-6, TNF- α ve MPO seviyeleri incelendiğinde, T grubunun S ve N gruplarından anlamlı olarak düşük olduğu ($P<0.05$), ayrıca T ile K grubu arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

Sonuç: Oral yolla verilen saf IgA'nın deneysel NEK modelinde, intestinal hasarı azalttığı ve NEK'ı önlediği görüldü.

Anahtar kelimeler: Nekrotizan enterokolit, yenidoğan, immünglobülin A, tedavi

Summary

Effect of oral immunoglobulin A in experimental necrotizing enterocolitis model

Aim: Investigation of the protective effect of oral immunoglobulin (Ig) A on rat intestine in experimental necrotizing enterocolitis (NEC) 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 C group were fed by breast. 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 600 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 ileocaecal 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 myeloperoxidase (MPO), TNF- α , and IL-6 were evaluated.

Results: The rate of mortality in N and S groups was significantly higher than T and C groups ($P<0.05$). Significant weight increase was identified in C group ($P<0.05$). There was significant decrease in T group in comparison of histopathologic values and apoptosis according to N and S groups ($P<0.05$). T group was significantly different in comparison of IL-6, TNF- α , and MPO according to S and N groups ($P<0.05$). There was no significant difference between T and C groups ($P>0.05$).

Conclusion: Pure IgA given orally was identified to decrease intestinal damage and to prevent NEC in experimental NEC model.

Key words: Necrotizing enterocolitis, newborn, treatment, immunoglobulin A

Adres: Müslim Yurtçu, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Konya
Yayına kabul tarihi: 21.4.2008

Giriş

NEK yenidoğanların en sık acil cerrahi müdahale gerektiren, mukozadan başlayıp tüm katları tutabilen inflamasyon ve nekroz ile karakterize, gastrointestinal sistemin (GİS) ilerleyici bir hastalığıdır. NEK, klasik olarak prematür ve düşük doğum ağırlıklı (DDA) bebeklerin hastalığı olarak bilinir. Önemi git-tikçe artmasına rağmen hastalığın etyopatogenezi tam olarak ortaya konulamamıştır. Prematürite, hipoksi, beslenme, farmakolojik ajanlar, infeksiyon, sitokinler, barsak bariyerinin bozulmasına sebep olan etkenler gibi birçok faktör suçlanmaktadır. Ama bunlar arasında kesinleşmiş etyolojik faktör henüz ortaya konamamıştır^(1,2).

NEK klasik olarak prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hastalığı olduğundan dolayı sadece barsağın koruyucu faktörlerinin immatüritesinden kaynaklanıyor olması daha akla yatkın gelmektedir. Bu bariyer lümenindeki bakterilerin sisteme ulaşmasını engelleyecek karmaşık anatomik ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. Bariyerin spesifik kanadında yer alan immün sistem komponentleri B ve T hücreleri ve immünglobulinlerdir. Yenidoğan bebeklerde intestinal B ve T lenfositleri düşük sayıdadır. Prematür bebeklerin barsaklarındaki sekretuar IgA, IgG ve IgM düzeyleri düşüktür. IgA bakterileri bağlayarak onların barsak mukozasına yapışmalarını önleyen barsağın koruyucu mukozal bariyerinin oluşmasında hayati bir öneme sahiptir^(3,4). NEK riski taşıyan yenidoğanlarda yapılan çalışmaların bir kısmında oral verilen kombine immünglobulinlerin NEK insidansını azalttığı ortaya konurken, bir kısmında ise koruyucu etkilerinin olmadığını gösteren çalışmalar vardır^(3,5-10). Ancak immünglobulin A'nın tek başına oral yolla verildiğinde NEK oluşumunu önleyici etkisini araştıran çalışmalara literatürde rastlanmamıştır.

Çalışmamızda; deneysel olarak oluşturulan NEK modelinde, oral yoldan verilen immünglobulin A'nın rat barsağını koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Deney Hayvanları

Etik Kurulu'nun 12.05.2006 tarih ve 2006/19 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak yapıldı.

Çalışmada Sprague-Dawley cinsi sıçanların gebeliğinin 20. gününde sağlık personeli gözetiminde doğumu takip edildi. Sıçanlar doğar doğmaz anne ratın yanından alınarak doğum ağırlıkları saptandı. Nadler ve ark.⁽¹¹⁾'nin tarif ettiği 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 ısısı 36 0C olan ve % 60 nem sağlayan özel inkübatöre yerleştirildi. Hiperozmolar olup protein ve kalori olarak rat anne sütüne benzeyen⁽¹²⁾ hiperozmolar özel mama 75 ml. Pupy-milk canine milk replacement (Beaphar-bogena, B.V. Sedel, Nederland) içine 15 gr. Similac 60/40 (Ross Pediatrics, Columbus, OH) karıştırılarak elde edildi.

K grubundaki (n=10) yeni doğan sıçanlar anne sütü ile beslendi.

N grubundaki (n=10) yeni doğan 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) yeni doğan 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 çözücüsü olan distile su verildi. Tüm gruplardaki sıçanlar (96. saate) 4. gün tartılarak servikal dislokasyon ile öldürüldü.

T grubundaki (n=10) yeni doğan 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 600 mg/kg/gün oral immünglobülin A (insan kolostrumundan elde edilmiş yaklaşık % 98 Ig A. Sigma) eklenerek verildi.

Değerlendirme:

Çalışmada, yavru sıçanların sağ kalım oranları ve ağırlık değişimleri, makroskopik olarak sıçan barsak duvarında inflamasyon ve nekroz görünümü, mikroskopik olarak barsak duvarında histopatolojik inceleme ve apoptozis skorlaması, biyokimyasal olarak barsak dokusu MPO, IL-6, TNF- α ve CD4 ölçümleri değerlendirme kriterleri olarak kullanıldı.

Histopatolojik değerlendirme:

Laparotomi yapıldıktan sonra, barsakların 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 mikroton aracılığı ile 5 mikron kalınlığında kesilerek lam üzerine alınarak, hemotoksilen ve eozin ile boyandı (13). Ardında klasik ışık mikroskopunda (Nicon Eclipse-200) incelendi. Morfolojik değerlendirme için, daha önce Caplan ve ark.(14)'nin kullandığı skorlama sistemi modifiye edildi ve barsaklardaki değişiklikler "0" dan "4" e kadar evrelendi.

Apoptozis değerlendirilmesi:

Sıçan yavrularından alınan ince barsak dokuları % 10 formol ile fikse edildi. Uygun parçaların kesilmesinden sonra ototeknikon cihazından rutin takip yapıldı. Parafin içine gömülen dokular mikroton 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 apoptozis boyamaları yapıldı ve "0" dan "+++" e kadar evrelendi (15).

Biyokimyasal değerlendirme için doku hazırlanması:

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

Doku miyeloperoksidaz ölçümü:

Miyeloperoksidaz aktivitesi, Grisham ve arkadaşlarının metodunun bir modifikasyonu kullanılarak ölçül-

dü ve Barley tarafında tanımlanan MPO unitesi kullanıldı (16,17).

Doku IL-6 ve TNF- α 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- α ticari kit kullanılarak ELX-800 cihazında, ELISA metod kullanılarak IL-6 ve TNF- α seviyeleri ölçüldü.

İstatistiksel Değerlendirme:

Veriler kodlanarak bilgisayar ortamına aktarıldı. İstatistik analizi SPSS for Windows 10,0 paket programı yardımı ile yapıldı. Veriler ortalama+standart sapma ve % olarak özetlendi. Gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Gruplar arası fark tespit edilen değişkenler ikincil test (Post Hoc Tukey HSD) ile değerlendirildi. Kategorik veriler Ki-kare (Chi-Square) testi ile değerlendirildi. Bağımlı gruplarda da Student t testi kullanıldı. Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak alındı. PH<0.05 anlamlı olarak değerlendirildi.

Bulgular

Kontrol grubundaki tüm sıçanlar yaşarken, Tedavi grubunda 1 sıçan 2. günde aspirasyon sonucu öldü. N grubunda 1. günde 1 sıçan aspirasyon sonucu, 3 günde 1 sıçan ve 4. gün 1 sıçan öldü. S grubunda 3. günde 1 sıçan ve 4. günde de 2 sıçan öldü.

Ağırlık değişimi; 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 3.69±0.52 gr ağırlık artışı olurken, N grubunda ortalama 1.20±0.54 gr, S grubunda ortalama 1.40±0.48 gr ve T grubunda ortalama 0.64±0.31 gr ağırlık azalması gözlemlendi.

Makroskopik olarak; çalışma sonrası alınan barsakların makroskopik incelemesinde, kontrol grubundaki bütün sıçanların barsakları normal görünümde idi. T grubunda 2 sıçanın barsağında hafif dilatasyon görüldü ve diğer sıçanların barsaklarında renk değişikliği görülmedi. N grubunda 3, S grubunda 2 sıçanda barsaklarda mavi-siyah renk değişikliği ve nekroz gözlemlendi. N ve S grubundaki kalan tüm rat barsakla-

Tablo 1. Tüm grupların mikroskopik inceleme skorlaması.

Gruplar		K (n=10)	N (n=8)	S (n=8)	T (n=9)λ
Evre 0	Normal barsak	7 (% 70)	0	0	5 (% 55.6)
Evre 1A	Barsak villusunda hafif mukus zenginliği	3 (% 30)	0	0	1 (% 11.1)
Evre 1B	Barsak villusunda hafif epitelde dökülme	0	0	4 (% 50)	1 (% 11.1)
Evre 2	Barsakta orta düzeyde villus hasarı	0	4 (% 50)	3 (% 37.7)	2 (% 22.2)
Evre 3	Barsakta Ciddi düzeyde villus hasarı	0	2 (% 25)		0
Evre 4	Barsakta transmural nekroz	0	2 (% 25)	1 (% 12.5)	0

γ: Grup N ve S'ye göre P=0.002

Tablo 2. Tüm grupların histopatolojik incelenmesinde apoptozis skorlaması ve yüzdeleri.

	0	+	++	+++
K (n=10)	6 (% 60)	4 (% 40)	-	-
N (n= 8)	-	-	2 (% 25)	6 (% 75)
S (n= 8)	-	1 (%12.5)	6 (% 75)	1 (% 12.5)
T (n=9)λ	1 (% 11.1)	5 (% 55.5)	4 (% 33.3)	-

λ: Grup N ve S'ye göre P=0.01

rında yaygın gaz ve dilatasyon mevcuttu.

Tüm gruplardaki barsak dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 1'de gösterildi. Kontrol grubundan alınan örneklerden 7'sinin normal morfolojiye sahip olduğu, 3'ünde villuslarda mukus zenginliği ve aynı zamanda tüm preparatlardaki villus hücreleri içerisinde süt damlacığı olduğu gözlemlendi. N grubunda alınan örneklerden 3'sinde orta düzeyde, 2'sinde ciddi düzeyde ve diğer 2'sinde transmural nekroz tespit edildi. S grubunda alınan örneklerde 3'ünde hafif epiteliyal dökülme, 3'ünde orta düzeyde villus hasarı, 1'inde transmural nekroz gözlemlendi. T grubunda alınan örneklerin 5'i normal, 1'inde villuslarda mukus zenginliği, 1'inde hafif epiteliyal dökülme ve 2'sinde da orta düzeyde villus hasarı tespit edildi.

Tüm gruplar arasındaki histopatolojik apoptozis değerlendirmesi ve skorlaması Tablo 2'de gösterilmiştir. K grubundaki preparatların 4 tanesinde % 0-33, 6 tanesinde de "0" apoptozis olduğu tespit edildi (Resim 1). N grubunda 5 preparatta % 66 üzerinde (Resim 2), 2 preparatta da % 33-66 arasında apoptozis olduğu gözlemlendi. S grubunda örneklerin 1'inde % 66 üzerinde, 6 preparatta % 33-66 apoptozis tespit edildi. T grubundaki preparatların 3 tanesinde % 33-66 arası, 5 tanesinde % 0-33 arası (Resim 3), 1'inde de 0 Apoptozis olduğu gözlemlendi.

Çalışmada barsak dokusu MPO üretiminin değerlendirilmesi için doku örneklerinden ölçülen MPO seviyeleri tespit edildi ve grupların ortalama değerleri Tablo 3'da gösterildi. N ve S gruplarındaki MPO se-

viyeleri K ve T grubuna göre belirgin olarak yüksek saptandı.

Tablo 3. Tüm grupların MPO, IL-6 ve TNF- α değerleri ve ortalama standart sapmaları.

Gruplar	K	N	S	T
MPO (U/mg.prot.)	0.26±0.02#	0.69±0.05+	0.95±0.42	0.33±0.02*
IL-6 (pg/ml)	0.90±0.34&	2.05±0.50	1.85±1.20	1.10±0.34*
TNF- α (pg/ml)	0.33±0.18	1.93±1.03	2.41±1.31	0.72±0.55@

Değerler Ortalama \pm SD olarak verilmiştir.

*:Grup S göre P=0.003, #:Grup S göre P=0.001 ve Grup N göre P=0.046, *:Grup N'ye göre P=0.030, &:Grup N'e göre P=0.0005 ve Grup S'e göre P=0.026, @:Grup N'e göre P=0.028 ve Grup S'e göre P=0.001.

Barsak doku IL-6 üretiminin değerlendirilmesi için doku örneklerinde IL-6 seviyeleri tespit edildi ve grupların ortalama değerleri Tablo 3'de gösterildi. Çalışmada kontrol grubunda IL-6 seviyesi ortalama 0.90±0.34, T grubunda ise 1.10±0.34 ve N grubunda 2.05±0.50 ile S grubundaki 1.85±1.20 değerlerden belirgin olarak düşük düzeyde tespit edildi.

Barsak dokusu TNF- α üretimini değerlendirmek için doku örneklerinde TNF- α seviyeleri tespit edildi ve grupların ortalama değerleri Tablo 3'da gösterildi. Çalışmada K grubunda TNF- α değeri ortalama 0.33±0.18, T grubunda ise ortalama 0.72±0.55 ve N grubunda 1.93±1.03 ile S grubunda 2.41±1.31 olarak düşük bulundu.

Tartışma

NEK; görülme sıklığı her geçen gün artmakta olan, yeni doğanın gastrointestinal sistemini tutan, oldukça ölümcül seyreden bir hastalıktır. Etiyopatogeninde sorumlu olabilecek birçok risk faktörü bulunmasına rağmen kesin sebep tespit edilememiştir (1,2).

Salgısal IgA, anne sütündeki en önemli immunglobulindir. Anne sütünde IgA seviyesi doğum sonrası ilk günlerde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu salgısal IgA proteolitik enzimlere dirençli olduğu için gastrointestinal sistemin üst bölümlerinde etkilendenmeden ince barsaklara kadar ulaşabilir (18-20).

İmmünglobulin A'nın tek başına oral yolla verildiğinde NEK oluşumunu önleyici etkisini araştıran çalışmalar literatürde rastlanmamıştır.

Eible ve ark. (5) tarafından oral anne sütü alamayan düşük doğum ağırlıklı infantlarda oral verilen Ig'lerin (% 73.04 IgA, % 25.87 IgG ve % 0.74 IgM) NEK üzerindeki etkilerini araştırmak için klinik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda oral IgA-G verilmesi ile NEK gelişiminin önlenebileceği bildirilmiştir. Diğer klinik çalışmalarında, profilaktik olarak ağızdan verilen IgG-A (% 70 IgA ve % 25 IgG)'nın barsak mukozası seviyesinde inflamatuvar mediatorlerin (TNF- α ve IL-6) ortaya çıkmasını inhibe ederek NEK gelişimini önlediği saptanmıştır (21).

Oral 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 bildirilmiştir (6).

Ayrıca kolostrum verilenlerde formula mama alanlara göre, villus uzunluğu, enzim aktiviteleri, besin emilimi, antioksidan etkinlikleri ve NO aktivitelerinin artmış olduğundan dolayı NEK'in önlediği tespit edilmiştir (22).

Ancak bazı çalışmalarda, hem oral IgG hem de kombine IgA-IgG verilenlerde NEK gelişiminin önlenmediği tespit edilmiştir (8,9). İmmünglobülinlerin kombine kullanılanları ile çelişkili klinik sonuçlar bildirilmiştir ancak IgA'nın tek başına kullanımı ile daha fazla bir intestinal korunma mümkün olabilecektir.

Yapılan başka çalışmalarda, nekrotik barsaklarda TNF- α ve PAF'da belirgin bir yükselme olduğu (23), formula mama ile beslenen hipoksiye maruz kalan ratların barsak dokusunda IL-6 ve TNF- α 'nın yüksek çıktığı (24), yine rat barsak mukozasında iskemi, reperfüzyon sonrası oluşan hasarın MPO aktivitesini yükselttiği (25) ve intestinal inflamasyonda MPO'nun yükseldiği (26) gösterilmiştir. Çalışmamızda TNF- α , MPO ve IL-6 seviyelerinin N ve S gruplarında yüksek çıkması, T grubunda ise anlamlı olarak düşmesi bu çalışmaları desteklemektedir.

Caplan ve ark. ile diğer arştımcıların yaptıkları çalışmalarda, NEK'lı hayvanların barsak segmentinde, ciddi düzeyde villüs hasarı ile transmural nekroz (14), koagülasyon nekrozu (27) ve apopitotik hücreleri görülmüştür. Çalışmamızda da mikroskopik görüntülerde N ve S gruplarından apopitozis hücrelerinin arttığı ve T grubundakilerde azaldığı görüldü.

Çalışmamızda Nadler ve ark.(11)'nin tanımladığı şekilde yenidoğan ratlar doğduktan sonra ilk 4 gün hiperosmolar formül mama ile beslenerek NEK oluşturulması planlandı. 4. günün sonunda rat ince barsağında makroskopik ve mikroskopik (histopatolojik) olarak gözlenen, biyokimyasal parametreler ile ortaya konan NEK modeli oluşturuldu. K grubu ile karşılaştırıldığında N grubunda barsak dokusu MPO, IL-6 ve TNF- α seviyelerinde anlamlı artış olduğu görüldü. Barsak dokusunun histopatolojik incelenmesinde (NEK'dekine benzer şekilde) "ciddi düzeydeki villüs hasarı", "transmural nekroz" ve "apopitotik hücre oranında yükseklik" gibi parametrelerde anlamlı artış olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak; bu modelin NEK deneysel çalışmaları için oldukça uygun ve başarılı olduğu, ayrıca NEK hastalığında immunoprotektif ve direkt barsak mukozasını koruyucu etkisi nedeniyle, ağızdan saf IgA'nın verilmesi ile intestinal hasarlanmanın azaltılması ve normal barsak fizyolojisinin korunması sağlanabilir kanısındayız.

Kaynaklar

1. Patole S: Prevention of necrotising enterocolitis: Year 2004 and beyond. The journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine 17:69, 2005
2. Kim SS, Albanese CT: Necrotizing Enterocolitis, in Grosfeld JL, O'Neill JA, Coran AG, Fonkalsrud EW, Cal-

- damone AA (eds): Pediatric Surgery. Philadelphia, Mosby Elsevier 2006, p:1514
3. Ricketts RR: Necrotizing enterocolitis, in Reffensperger JG (eds): Swenson's Pediatric Surgery. Connecticut, Appleton&Lange 1990, p:627
4. Başaklar C: Yenidoğanlarda gastrointestinal Kanama, in Başaklar C (ed): Bebek ve Çocukların Cerrahi ve ürolojik hastalıkları. Ankara, Palme yayıncılık 2006, p:757
5. 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, 1988.
6. 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, 1991
7. Santulli TV, Schullinger JN, Heird WD, et al: Acute necrotizing enterocolitis in infancy: A review of 64 cases. Pediatrics 55:376, 1975
8. Gregor L, David T, Kathryn B, et al: Enteral human IgG for prevention of necrotising enterocolitis: a placebo-controlled, randomised trial. Lancet 357:2090, 2001
9. Schmölzer G, Urlesberger B, Reiterer B, et al: Multimodal approach to prophylaxis of necrotizing enterocolitis: clinical report and review of literature. Pediatr Surg Int 22:573, 2006.
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. 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, 2000
12. 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, 1974
13. 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
14. Caplan MS, Catchpole RM, Kaup S, et al: Bifidobacterial supplementation reduce the incidence of necrotizing in a neonatal rat model. Gastroenterology 117:577, 1999
15. 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, 2005.
16. Nakamura H, Tsukada H, Oya M, et al: Aminoguanidine has both an antiinflammatory effect on experimental colitis and a proliferative effect on colonic mucosal cell. Scand J Gastroenterol 34:1117, 1999
17. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, et al: Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. J Invest Dermatol 78:206, 1982
18. Goldman AS, Smith CW: Host resistance factors in human milk. J Pediatr 83:1082, 1973
20. Öneş Ü, Işık Y: İmmunoloji ve Alerji in Olcay N, Türkkan E (eds): Çocuk Hastalıkları. İstanbul, Nobel Tıp 1993, p:497-501
19. Marion C, Henry W, R. Moss RL: Current Issues in the Management of Necrotizing Enterocolitis. Seminars in Perinatology 28:221, 2004
20. Wolf HM, Eibl MM: The anti-inflammatory effect of an oral immunoglobulin (IgA-IgG) Preparation and its pos-

sible relevance for the prevention of necrotizing enterocolitis. *Acta paediatr suppl* 396:37, 1994

21. Sangild PT, Siggers RH, Mette S, et al: Diet- and colonization-dependent intestinal dysfunction predisposes to necrotizing enterocolitis in preterm pigs. *Gastroenterology* 130:1776, 2006

22. Hsueh W, Caplan MS, X Sun, et al: Platelet-activating factor, tumor necrosis factor, hypoxia and necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr Suppl* 396:11, 1994

23. Zamora R, Vodovotz Y, Ford HR, et al: Plasma cytokine levels in experimental necrotizing enterocolitis: a mathematical model is needed. *Journal of Critical Care* 20:397, 2005

24. Grisham MB, Benoit JN, Granger DN: Assessment of leukocyte involvement during ischemia and reperfusion of intestinal. *Methods Enzymol* 186:729, 1990

25. Alican İ, Ünlüer EE, Cumhuriyet Yeğen, et al: Bombesin improves burn-induced intestinal injury in the rat. *Peptides* 21:1265, 2000

26. Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, et al: Pathology of neo-natal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 117(Suppl):6, 1990

27. Ford H, Watkins S, Reblock K, et al: The Role of Inflammation Cytokines and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery* 32:275, 1997