

Miks total parenteral beslenme uygulanabilirliğinin yenidoğan Hesix civcivlerde araştırılması (invivo-invitro araştırma)

Meral BARLAS, Alp CAN, Selim EREKUL
A.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi, Histopatoloji Anabilim Dalı, Ankara

Özet

Glukozun % 5, % 10, % 20, % 30, % 50 konsantrasyonlarının herbiri, % 8.5 sentetik aminoasit, % 0.9 NaCl, % 10 soya fasülyesi yağı ile karıştırılarak 65 flakon miks total parenteral beslenme solüsyonu (TPBS) hazırlandı. Bu solüsyon 24 saat oda ısısında bekletildikten sonra, evvela fazkontrast mikroskopisinde, daha sonra 40 yeni doğan (YD) Hesix civcive 6 cc/100 gr intravenöz (İV) uygulanarak, karaciğer (KC), akciğer (AC) ve kalp doku örnekleri alındı. Örnekler Hematoksilen Eosin, Oil Red O ile boyanarak ışık mikroskopisinde ve ayrıca elektron mikroskopisinde değerlendirildi.

Glukozun % 50 konsantrasyonu ile hazırlanan miks TPBS'de lipid partikülleri boyularında artma, sferoid yapı düzensizliği, homojen dağılım bozukluğu, vardı. Aynı solüsyon YD Hesix civcivlere uygulandığında ışık mikroskopisinde saptanan vasküler yapılar da dilatasyon, eritrosit kümeleri, yağ embolileri ve parankimal hücrelerde ödem gibi bulgular, elektron mikroskopik incelemelerde de gözlemlendi.

Faz kontrast, ışık ve elektron mikroskopik araştırmalar değerlendirildiğinde % 50 glukoz konsantrasyonuna kadar olan miks TPBS'lerinin güvenilebilir, % 50 ve daha yüksek konsantrasyonlu miks TPBS'lerinin ise yağ embolileri de dahil çeşitli komplikasyonlara neden olabileceği kanısı hasıl olmuştur.

Anahtar kelimeler: Miks total parenteral beslenme, Hesix civcivleri

Summary

Investigation of the usage of total parenteral nutrition admixtures in the newly hatched Hesix chicks

Sixty-five bottles of total parenteral nutrition mixtures (The all in one-AIO-TPN) including 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 50 % dextrose, 8.5 % amino acid, 0.9 % NaCl, and 10 % soybean oil emulsion were used after leaving them 24 hours at room temperature.

Phase contrast microscopic investigation, in the group treated with 50 % dextrose revealed that the existency of disturbed surface layer of liposomes, aggregation and enlargement of some lipid particles.

In vivo investigation consisted of 40 newly hatched Hesix chicks treated with AIO-TPN. While dextrose concentrations up to 50 % remained harmless, 5 of the eight animals which received AIO-TPN with 50 % dextrose died (62.5 %). Histological examination of their lungs, livers and hearts revealed distended capillaries filled with fat droplets. In addition to these, alveoles were distended by round shaped 2.5-4 micron fat globules.

Key words: Total parenteral nutrition mixture

Miks total parenteral beslenme (TPB), klasik separe TBP'den farklı olarak karbohidrat-protein-yağ, elektrolit, vitamin, eser element karışımlarının bir flakonda veya EVA plastik torbalarıyla hastalara kolayca uygulanabildiği pratik, ucuz yeni bir yöntemdir (1,6,7,11,22).

Miks TPB ilk defa 1971'de Fransa'da Solassol ve arkadaşları tarafından 75 hastada uygulanmıştır (28). Amerika Birleşik Devletleri'nde 200'den fazla yatak hastanelerin % 38'inde Miks TPB uygulanmakta, 1995'lerde bu kullanım oranının % 45-50 varacağı beklenmektedir (5).

Adres: Meral Barlas, Aydoğmuş Sokak, 16/6 06600 Kurtuluş/Ankara

Günümüzde üçlü karışım, 3'ü bir yerde (all in one) olarak da adlandırılan Miks TPB solüsyonları belir-

li ekiplerle, steril şartlarda hazırlanıp 4°C'de stoklanmakta ve transport edilebilmektedir (2,11-14).

Gereç ve Yöntem

Glukoz'un % 5, 10, 20, 30, 50'lik konsantrasyonlarından ayrı ayrı 2.5 cc alınarak, herbirine 1.5 cc % 8.5'lik sentetik aminoasit, 1 cc % 0.9 NaCl, 1 cc % 10 soya fasülyesi yağı karıştırılarak 65 flakon miks TPBS'u oluşturuldu. Karışım 24 saat oda ısısında bekletilmeyi takiben invitro-invivo araştırmalar için kullanıldı.

Araştırma için üç grup oluşturuldu.

1. Faz kontrast mikroskop inceleme grubu (invitro)
2. Işık ve elektron mikroskopik inceleme grubu (invivo)
3. Kontrol grubu; 10 YD Hesix civcive % 0.9 NaCl IV uygulanarak yapıldı.

İnvitro araştırma: Miks TPBS'undan bir damla lam üzerine damlatılarak faz kontrast mikroskopisinde;

- a- Lipid partikülleri yüzey değişiklikleri
 - b- Partikül arası mesafe (distribition)
 - c- Partikül boyutlarındaki değişiklikler
- saptanmaya çalışıldı. Araştırma 5 ayrı glukoz konsantrasyonlu Miks TPBS'unda olmak üzere toplam 25 flakonla yapıldı.

İnvivo araştırma: % 50 glukozlu miks TPBS'u 2-3 günlük ve 100 gr ağırlığındaki yeni doğan Hesix civcive 6 cc/100 gr/gün olarak 24 saat'da 26 gauge'lik kelebek set ile vena jugularis interna (VJI) - vena subclavia (VS)'dan uygulandı. Yaşamakta olan civcivlerin dekapitone edilenlerinde ve eksitus olanların da KC, AC ve kalplerinden doku örnekleri alınarak 2 eşit parçaya ayrıldı.

Doku örnekleri:

A- Işık mikroskopunda (HE, Oilred-O ile boyanarak) incelendi.

B- Elektron mikroskopunda

I- Yağ embolileri

II- Tromboembolik oluşumlar

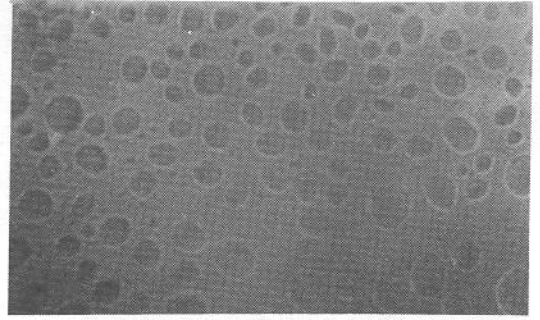
III- Parenkim hücrelerinde değişiklikler olup ol-

madığı araştırıldı. Araştırma, her glukoz konsantrasyonu için 8 YD Hesix civcivi olmak üzere toplam 40 YD Hesix'te uygulandı.

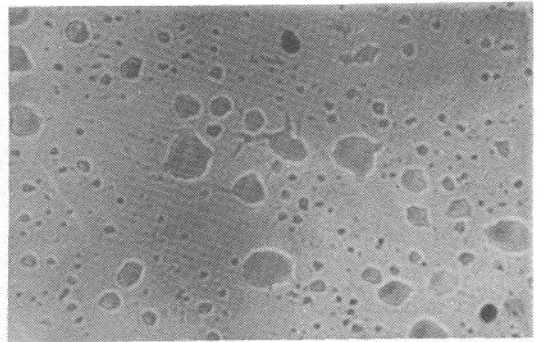
Kontrol grubundaki doku örnekleri aynı yöntemlerle araştırıldı.

Bulgular

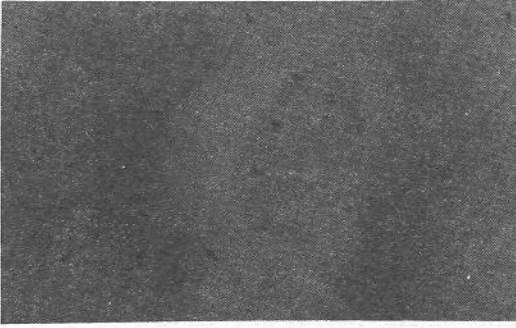
1. Faz kontrast mikroskopik inceleme grubu (İnvitro): % 50 Glukoz konsantrasyonlu miks TPBS'da lipid partikülleri sferoid yapılarının düzensiz, homojen dağılımın bozuk ve partikül boyutlarının artmış olduğu (Resim 2); % 30 glukozlu miks TPBS'lu preparatlarda ise benzer değişikliklerin minimal diğer TPBS'da bir değişiklik olmadığı gözlemlendi (Resim 1).



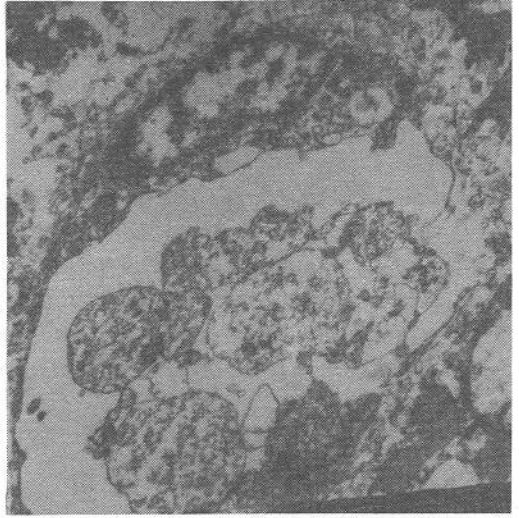
Resim 1. % 10 glukozlu Miks TPBS'unda lipid partikülleri normal-sferoid yapıları ve homojen dağılımı görülmektedir (Faz kontrast görüntüX160)



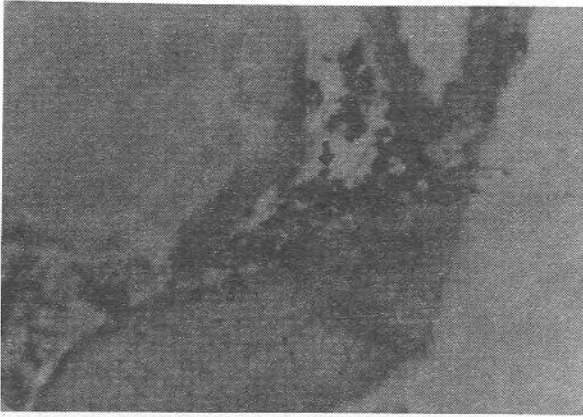
Resim 2. % 50 glukozlu Miks TPBS'da lipid partikülleri sferoid yapılarının büyük oranda bozulduğu, partiküller arası kümeleşme eğilimi ve homojen dağılımın düzensizliği görülmektedir (Faz kontrast görüntüX160).



Resim 3. IV % 50 glukozlu Miks TPBS alan Hesiv civiv KC'de ödem, genişlemiş ve lümeni boş damar kesitleri izlenmektedir (HEX50).



Resim 5. IV % 50 glukozlu Miks TPBS'u alan deneklerin KC sinüzoidlerinde trombosit kümeleri ve vakuolizasyon gösteren endotel hücreleri izlenmektedir (TEMX6000).



Resim 4. HE ile lümeni boş damarların, Oil Red O ile kırmızı boyanmış yağ embolileri olduğu görülmektedir (Oil Red-OX100).

red-O ile kırmızı boyanan yağ embolisi olduğu gösterilmiştir (Resim 4).

B- Elektron mikroskobu

% 50'lik miks TPB alan civivlerde: KC sinüzoidlerinin aktive olmuş Kupffer hücreleriyle ve bazı sahalarda trombosit kümeleriyle dolu olduğu, endotel hücrelerinde ise pinositik veziküller ve vakuolizasyon gözlenmiştir (Resim 5). Akciğerlerde, eritrosit kümeleriyle dolu, ileri derecede distandı alveol ve kapiller endotelinde hipervezikülizasyon, bazı alanlarda ise endotel harabiyeti saptandı (Resim 6). Alveoller içinde tek veya kümeler halinde, 2.5-4.5 mikrometre boyutlarında elektrodens yağ partikülleri saptanmıştır (Resim 7). Bu bulgu alveolekapiller membran harabiyetini düşündürmüştür. KC'de saptanan trombosit agregasyonu, AC'de saptanmamıştır. Diğer deneklerde patolojik bulgu gözlenmemiştir.

3. Kontrol grubu: Bu grupta akciğer, karaciğer, kalp doku örnekleri histopatolojik ve elektron mikroskopik incelemelerinde patolojik bulgu gözlenmemiştir.

4. Mortalite 40 denekten 6'sında mortalite oluşmuştur (% 15). % 50 glukozlu miks TPBS alan 8 civivden 5'inde (% 62.5), % 30 glukozlu miks TPBS

2. Işık ve elektron mikroskopi inceleme grubu (invivo)

A- Işık mikroskobu

HE boyasıyla:

% 50 glukozlu miks PBS alan deneklerin KC-AC-Kalp doku örneklerinde genişlemiş içi boş damar yapıları, KC'de ödem (Resim 3), AC'de alveolar distansiyon gözlenirken, diğer glukoz konsantrasyonlu miks TPNS alan deneklerde ve kontrol grubunda benzer bulgular saptanamamıştır.

Oil Red-O boyasıyla:

HE boyası ile incelenen doku örneklerindeki genişlemiş içi boş olarak görülen damarsal yapıların, Oil-



Resim 6. IV % 50 glukozlu Miks TPBS'u alan denek akciğer kapillerinin eritrositlerle (çekirdekli hücreler) tamamen dolu olduğu ve alveollerin genişlediği görülmektedir (TEMX2000).

alan 8 civcivden 1'inden mortalite (% 12.5) görülmüştür. Diğer glukoz konsantrasyonlu miks TPBS alan civcivlerde mortalite saptanmamıştır (% 0).

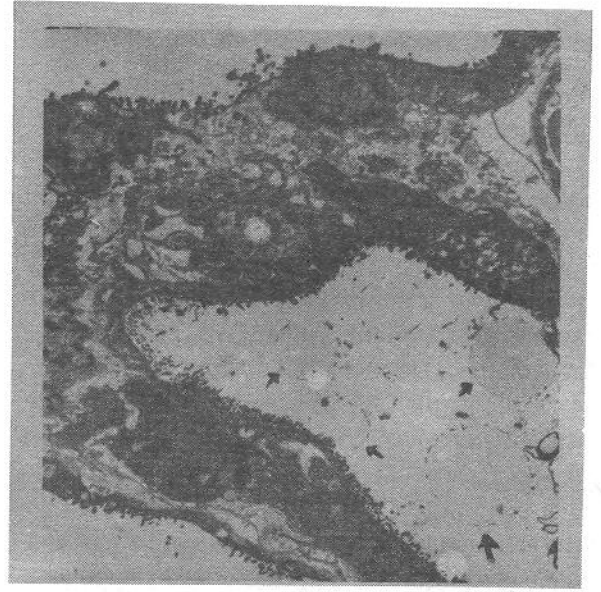
Tartışma

TPB'nin preoperatif, intraoperatif ve postoperatif uygulanmasının cerrahi yaşam indeksine olan müsbet katkıları yöntemin daha ucuz, daha pratik, daha az komplikasyonlu duruma nasıl getirilebileceği konusundaki araştırmaları yoğunlaştırmış (1-5, 7-20, 25, 26).

Özellikle son 20 yılda TBP uygulanma yöntemlerinde yararlı gelişmeler kaydedilmiştir (27-32).

Tüm parenteral beslenme solüsyonlarının, elektrolitlerin ve vitaminlerin bir flakonda karıştırılarak hastaya uygulanması ilk defa Solassol ve arkadaşları tarafından 1971 yılında Fransa'da tatbik edilmiştir (28).

Solassol ve arkadaşları miks TPBS'larını farklı sıcaklıklarda 6 ay depoladıktan sonra köpeklerde yapılan denemelerle en uygun depolama ısısının 4°C olduğunu saptamışlardır. Bilahare 2 yıllık sürede, 2 litrelik torbalarda hazırlanan 4500 adet miks TPBS'u hastalarına uygulanmıştır. Bu torbaların



Resim 7. IV % 50 glukozlu Miks TPBS'u alan denek akciğer alveollerinde, elektrodens sınırla belirlenen çeşitli büyüklükteki (2.5-4.5 µm) yağ partikülleri izlenmektedir (TEM:2750).

yikanıp sterilize edilebilir, can kurtaran yeleği tipinde, giysilerin altından giyilebilecek şekilde olduğunu bildirmişlerdir (28).

O'Keefe ve arkadaşları 1985'de 85 hastada 3 litrelik EVA plastik torbalarla miks TPB uygulayarak en önemli komplikasyonun Mg, Fe eksikliği ve sepsis (% 14) olduğunu, orta derecede reversibl karaciğer fonksiyon testleri bozukluğu saptadıklarını bildirmişlerdir (17).

Driscoll 1986'da miks TPBS'nun en az 7 gün oda ısısında fizik ve şimik stabilitesini muhafaza ettiğini rapor etmiştir (5).

Pamperi ve diğerleri 1982'de lipid-aminoasit karışımlarının minimal inclusion cisimciklerine neden olduğunu ancak agregasyona sebep olmadıklarını, lipid ve yüksek konsantrasyonlu glukoz karışımlarının ise lipid partikülleri yüzey mesafelerini azalttığını, bazı sahalarda ise tamamen ortadan kaldırdığını ayrıca yağ partikülleri agregasyonuna neden olduğunu saptamışlardır (19,20).

Aynı araştırmacılar miks TPBS'na iki değerli katyonların ilave edilmesi ile lipid partikülleri agregasyo-

nunun tamamen kaybolduğunu bildirmişlerdir. Pamperi 1976 yılından beri kliniğinde miks TBPS uygulamaktadır (15-20).

Black ve arkadaşları 1980'da % 10'luk lipid'e çeşitli PBS ve bir-iki değerli katyonlar ilave ederek 44 ayrı karışımı, visual elektronik RBC sayıcı ve ışık mikroskopisiyle araştırmışlardır. Aminoasit lipid karışımları en az 72 saatte partiküllerde bir değişikliğe neden olmazken, % 60 glukoz-lipid karışımlarının 48 saatte partikül flokülasyon oranlarının % 5 kadar arttığını, miks TPBS tek değerli katyon ilavesi ile lipid partiküllerinde flokülasyon saptanmadığını bildirmişlerdir. Flokülasyonlu miks TPBS verilen 4 tavşandan 3'ünde respiratuar distres sendromu gelişmiştir. Bu araştırmalarında yüksek konsantrasyonlu glukoz ve iki değerli katyonların direkt olarak lipid solüsyonuna karıştırılmaması gerektiği bildirilmiştir (2).

Rollins ve arkadaşları 1990 tarihinde 1 yaşa kadar olan 20 bebekte, 3'ü birarada ve iki+bir yöntemiyle kullandıkları TPB uygulamalarında: miks TPB (AIO)'nın, (2+1) sistemine kıyasla günde her hasta için yaklaşık 12 dolar daha ucuz olduğunu, buna karşın kilo alma ve serum bioşimik parametrelerinin farklı olmadığını bildirmişlerdir (22).

Driscoll, lipid solüsyonunun periyodik kullanılmasının RES'i, karaciğer fonksiyonları ve metabolizmayı negatif etkilediği, ayrıca alkali ve izoosmolar olması nedeniyle de bakteriyel çoğalmı artırdığını buna karşın bu etkilerin miks TPB (AIO)'de saptanmadığını bildirmiştir (5).

Bizim faz kontrast mikroskopik araştırmamızda % 50'lik glukozla hazırlanan TBPS lipid partikülleri düzensiz dağılımı ve yüzey değişiklikleri saptanırken diğer glukoz konsantrasyonlarıyla hazırlanan TPBS tetkiklerinde bu değişiklikler gözlenmemiştir.

Araştırmamızın invivo grubunda % 50 glukozlu TBPS alan Hesix civciv hedef organ biopsilerinde HE ile içi boş genişlemiş vasküler yapılar görülürken, Oil Red-O ile bunların kırmızı boyanmış yağ kümeleri olduğu gözlenmiştir. Bu açılardan değerlendirildiğinde bulgularımız diğer araştırmacıların bulgularını destekler görünmektedir (2,8,10,11,19,20).

Jeppsson ve arkadaşları 1984'de benzer invitro-in vivo araştırmalarında TBPS (3'in 1) plastik torbalarını O₂ geçirgenliği nedeniyle destabilizasyona ve uzun süreli stoklamanın tehlikeli olabileceğini, PVC'nin aynı nedenle uygun olmadığını buna karşın EVA torbalarında 4 gün oda ısısında stoklanabileceğini bildirmişlerdir. Elektrolitleri de içeren TPBS EVA torbalarında 4 gün bekletildikten sonra 28 gün köpeklere 100 cc/kg/gün uygulanmış hematolojik, şimik ve idrar parametreleri ile otopsi bulgularının normal olduğu saptanmıştır (11).

Aynı araştırmacılar ve diğerleri lipide ilave edilen çeşitli solüsyonların farklı Ph'larda lipid partikülleri negatif zeta potansiyellerini değiştirerek flokülasyona neden olacağını saptamışlardır (11,27).

Bizim çalışmamızda faz kontrast, ışık ve elektron mikroskopik araştırmalar ve mortaliteler değerlendirildiğinde, % 50 glukoz konsantrasyonuna kadar olan miks TPBS'lerinin güvenilebilir, % 50 ve daha yüksek konsantrasyonlu miks TPBS'lerinin ise yağ embolileri de dahil çeşitli komplikasyonlara neden olabileceği kanısı hasıl olmuştur.

Kaynaklar

1. Askanazi J, Weissman C, Rothkopf M, Starker PM: Perioperative nutritional support. Nutrition international 3:12, 1987.
2. Black CE, Popovich NG: Stability of intravenous fat emulsion. Arch Surg 115:891, 1980.
3. Coran AG: Total intravenous feeding of infants and children without the Use of a central venous catheter. Ann Surg, 179:445, 1974.
4. Dhanireddy R, Hemosh M, Sivasubramanian KN, Chowdhry P, Scanlon WJ, Hamos P: Postheparin lipolytic activity and intralipid clearance in very low-birth-weight infants. J Pediatr 98:617, 1981.
5. Driscoll DF: Clinical issues regarding the use of total nutrient admixtures. The Annals of Pharmacotherapy, 24:296, 1990.
6. Hallberg D: Therapy with fat emulsion. Acta Anaesth Scand 55:131, 1974.
7. Hansen EW, Nielsen PL: Intrinsic and extrinsic microbial contamination of home total parenteral nutrition manufactured in EVA-infusion bags. J Clin phar and therap. 12:325, 1987.
8. Hertel J Tygstrup I, Andersen GE: Intarvascular fat accumulation after intralipid infusion in the very low birth weight infant. J Pediatr 100:975, 1982.
9. Hesseov I, Melsen F, Haug A: Postmortem findings in three patients treated with intravenous fat emulsions. Arch Surg 114:66, 1979.
10. Horisberger B: Schwere pulmonale und cerebrale zirkulations storungen nach hochdosierter parentareler zu-

- fuhr einer fettemulsione Schweiz. Med wochenschrift 96:1065, 1966.
11. Jeppson RI, Sjoberg B: Compatibility of parenteral nutrition solutions wehn mixed in a plastic bag. *Clinical Nutrition*, 2:149, 1984.
 12. Le Veen HH, Giordano P, Spletzer J: The mechanism of removal of intravenously injected fat. Its relationship to toxicity. *Arch Surg* 83:311, 1961.
 13. Lee HA: Planning intravenous nutrition, techniques and principles. *SA Medical Journal* 5:1725, 1976.
 14. Levene IM, Wigglesworth SJ, Desai R: Pulmonary fat accumulaton after intralipid infusion in the preterm infant. *Lancet* 2:815, 1980.
 15. Morgan TE, Humber GL: Loss of lipid during fixation for electron microscopy. *J Cell Biol*, 32:727, 1967.
 16. Morgan W, Yardley J, Luc G, Niemiec P, Dudgeon D: Total parenteral nutrition and intestinal development. A neonatal model, *JPS* 22:541, 1987.
 17. O'Keefe SJ, Bean E, Symmonds K, Smit R, Delport I, Dicker J: Clinical evaluation of a "3 in 1" intravenous nutrient solution. *S Afr Med* 68:82, 1985.
 18. O'Conner MJ, Ralston CW, Ament ME: Intellectual and perseptual motor performance of children receiving prolonged home total parenteral nutrition. *Pediatrics*, 81:231, 1988.
 19. Pamperl H, Kleinberger G: Morphologic changes of intralipid 20 % liposomes in "all in-one" solutions during prolonged storoge. *Infusionstherapie*. 9:86, 1981.
 20. Pamperl H, Kleinberger G: Stability of intravenous fat emulsion. *Arch Surg* 117:859, 1980.
 21. Penn D, Smmerfeld SE, Pascu F: Decreased tissue carnitine concentraiton in newborn infants receiving total, parenteral, nutrition. *J Pediatr* 98:976, 1981.
 22. Rollins CJ, Elsberry VA, Pollack KA, Pollack PF, Udal JN: Three in-one parenteral nutrition: A safe and economical method of nutritional support for infants. *JPEN* 14 290, 1990.
 23. Schiff D, Chan G, Seccombe D, Hohn P: Plasma carnitine levels during intravnavous feeding of the neonate. *J Pediatr* 95:1043, 1979.
 24. Schreiner LR, Glick MR, Nordschow DC, Gresham LE: An evaluation of methods to monitor infants receiving intravenous lipids. *J Pediatr* 94:197, 1979.
 25. Seltzer MH, Bastidas JA, Cooper DM: Instant nutritional assesment *JPEN*, 3:157, 1979.
 26. Seltzer MH, Slocum BA, Cataldi B: Instant nutritional assesment: absolute weight loss and surgical mortality. *JPEN*, 6:218, 1982.
 27. Shenkin A, Wretlind A: Review of nutrition and dietetics. *Wld Rev. Nutr. Diet* 28:1, 1978.
 - 28.. Solassol CL, Joyeux H, Etco L, Pujol H, Romieu CL: New techniques for long term intravenous feeding. *Ann Surg* 179:519, 1974.
 29. Stain D, Stain Y: Lipid synthesis. Intracellular transport and secretion. Electron microscopic autoradiographic study of liver after injection triadet palmitate or glycerol in fasted and ethanal treated rats. *J Cell Biol*, 33:319, 1967.
 30. Tanuri U, Chapchap S, Sesso A, Maksoud JG: Must fat emulsions and parenteral nutrition solutions be given through separete circuits. *J P S*: 22:132, 1987.
 31. Zaidan H, Dhanireddy R, Hamosh M: Effect of continuous, heparin administration on intarlipid clearing in very low birth weight infants. *J Pediatr* 101:599, 1982.
 32. Zaidan H, Dhanireddy R, Hamosh M, Olivecrona G, Hamosh P: Lipid celaring in peramuter infants during continuous heparin infusion: Role of circulating lipases. *P Res*: 19:23, 1985.