

T.C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SERVİS ŞEFLİĞİ

DENEYSEL OLARAK NEKROTİZAN ENTEROKOLİT  
OLUŞTURULMUŞ YENİDOĞAN SIÇANLARDA  
HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

Doğan ŞİMŞEK  
HV. TBP. YZB.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığı'nın  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Programı  
İçin Öngördüğü  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**  
Olarak HazırlanmıŐtır

İSTANBUL  
2007

**T.C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SERVİS ŞEFLİĞİ**

**DENEYSSEL OLARAK NEKROTİZAN ENTEROKOLİT  
OLUŞTURULMUŞ YENİDOĞAN SIÇANLARDA HİPERBARİK  
OKSİJEN TEDAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Doğan ŞİMŞEK  
HV. TBP. YZB.**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığı'nın  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Programı  
İçin Öngördüğü  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ**  
Olarak HazırlanmıŐtır

**TEZ DANIŞMANI  
İsmail GÖÇMEN  
Prof. Hv. Tbp. Kd. Alb**

**İSTANBUL  
2007  
ONAY SAYFASI**

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığı' na:

“Deneysel olarak nekrotizan enterokolit oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin değerlendirilmesi” konulu bu çalışma Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı' nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Prof. Hv. Tbp. Kd. Alb. İsmail GÖÇMEN

Üye : Prof. Ecz. Tbp. Kd. Alb. Mustafa GÜLTEPE

Üye : Prof. Tbp. Kd. Alb. Rıdvan AKIN

Üye : Prof. Dz. Tbp. Kd. Alb. Şaban ÇAVUŞLU

Üye : Doç. Svl. Tbp. Ferhan KARADEMİR

ONAY:

Hv.Tbp.Yzb. Doğan Şimşek'in 16.10.2007 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki juri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

M. Zeki BAYRAKTAR  
Prof.Tbp. Tümgeneral  
Askeri Tıp Fakültesi Dekanı  
Eğitim Hastanesi Baştabibi

**TEŞEKKÜR**

Deneysel olarak nekrotizan enterokolit oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin değerlendirilmesi konulu uzmanlık tezi GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servis Şefliği tarafından Mart 2005' te verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, tezimin hazırlanmasında bana yol gösterip yetişmemde büyük katkıları ve emeği olan başta değerli hocalarım Prof. Dr. İsmail GÖÇMEN ve Doç. Dr. Ferhan KARADEMİR'e teşekkürlerimi arz ederim.

Asistanlığım süresince eğitimime katkıları olan, sorunları çözmemde her zaman yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Selami SÜLEYMANOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Seçil AYDINÖZ ve Yrd. Doç. Dr. Cihan Meral' e asistanlık süresince sıcak ve dostça bir çalışma ortamını paylaştığım bütün asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire ve yardımcı personeline, tez çalışmam sırasında her türlü desteği gösteren Biyokimya servis şefi Prof. Dr. Mustafa GÜLTEPE, Yrd. Doç. Dr. Ömer ÖZCAN, Yrd. Doç. Dr. Osman Metin İPÇİOĞLU ve ilgili klinik laboratuvar teknisyenlerine teşekkürü bir borç bilirim.

## ÖZET

**Doğan ŞİMŞEK, Hv. Tbp. Yzb.**

**Deneysel olarak nekrotizan enterokolit oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi**

Çalışmamızda deneysel olarak nekrotizan enterokolit oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğini değerlendirmeyi amaçlandık.

Nekrotizan enterokolit oluşturabilmek için daha önceden kullanılmış bir hipoksi-reoksijenizasyon (H/O) modeli kullanıldı. Grup 1'e üç gün arka arkaya hipoksi reoksijenizasyon (H/O) işlemi yapıldı. Grup 2'ye üç gün arka arkaya hipoksi reoksijenizasyon (H/O) işlemi yapıldı. Son hipoksi reoksijenizasyon işleminden iki saat sonra, 2,5 ATA basınçta 60 dakika %100 O<sub>2</sub> ile bir seans HBO tedavisi uygulandı.

Üçüncü günün sonunda terminal ileum ve çekumu içine alan barsak kısımları çıkarıldı. Dokuda TUNEL boyama yöntemi ile apoptozis ve protein karbonilasyon yöntemi ile oksidatif stres değerlendirildi.

Kontrol grubu ve hiperbarik oksijen tedavisi verilen grup oksidatif stres ve doku hasarı yönünden karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

**1.** Protein karbonilasyon yöntemi ile saptanan oksidatif stres, kontrol grubu ile HBO tedavisi verilen grup arasında belirgin farklıydı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.(p=0,01) Kontrol grubunda ortalama protein karbonil değeri 32,20 (±16,93) nmol/ mg proteinken, HBO tedavisi verilen grupta 233,25 (±181,06) nmol/mg protein olarak bulundu.

**2.** Doku hasarını belirlemek amacıyla histopatolojik kesitlere yapılan TUNEL boyaması ile apoptozis skorlandı. Apoptozis skorlamasına göre kontrol grubu ile HBO tedavisi verilen grup arasındaki fark belirgindi. İstatistiksel olarak anlamlıydı.(p=0,003) Kontrol grubunda ortalama apoptozis skoru 2,1 (±0,6), HBO tedavisi verilen grupta 1 (±0,7) olarak bulundu

**3.** Bizim çalışmamızda HBO tedavisi verilen grupta protein karbonilasyon yöntemi ile oksidatif stresin belirgin arttığı gösterildi. Ancak HBO tedavisi verdiğimiz grupta doku hasarının kontrol grubuna göre daha az olduğunu TUNEL yöntemi ile yaptığımız apoptozis değerlendirmesinde saptadık. Bu karşılıklı bize oksidatif stresin belirli bir düzeye kadar doku üzerinde koruyucu etki yaptığını belirli bir düzeyin üzerinde ise doku hasarını artırdığını düşündürdü. Ancak bu konuda yeterli veri olmadığını, daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak deneysel olarak nekrotizan enterokolit oluşturduğumuz yenidoğan sıçanlarda yeni bir tedavi yöntemi olarak denediğimiz hiperbarik oksijenin intestinal hasarı azaltmada etkili bir yöntem olduğunu düşünmekteyiz ancak NEK tedavisinde hiperbarik oksijenin etkinliğini gösterecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Danışman: Prof.Hv.Tbp.Alb. İsmail Göçmen**

**Çalışmayı Destekleyen Kuruluş: GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi**

**Anahtar kelimeler:** Nekrotizan enterokolit; hiperbarik oksijen; apoptozis

## **SUMMARY**

### **Effect to hyperbaric oxygen therapy in an experimental newborn rat model of necrotizing enterocolitis**

This study was undertaken to investigate the effect to hyperbaric oxygen (HBO) therapy in an experimental newborn rat model of necrotizing enterocolitis.

Twenty newborn rats were divided to two groups as control (group1) and HBO (group 2). An animal model was used for hypoxia-reoxygenation (H/O) which was described previously. Hypoxia was accomplished by placing the pups in an airtight plexiglas (Rohm & Haas, Philadelphia, PA) chamber (Vacunit; Echmann, England), which was perfused with 100% CO<sub>2</sub> for 15 minutes. After hypoxia, the animals were reoxygenated for 15 min with 100% oxygen.

After this procedure the animals were kept under standard conditions. H/O was applied for three days to both groups. Single dose HBO therapy was applied to group 2 at 2,5 ATA 100% O<sub>2</sub> with a duration of 60 minutes.

At the end of the study all animals were sacrificed by cervical dislocation. Terminal ileum and cecum were removed and fixed in 10% formaldehyde. The tissue injury was determined by performing an apoptosis scoring system with TUNEL staining. Oxidative stress was determined by measuring tissue protein carbonyl content.

The results of our study regarding the tissue injury and oxidative stress when we compared between the two groups are:

1. There was a statistically significant difference between control and HBO groups in oxidative stress determined by protein carbonilation ( $p=0,01$ ). Mean protein carbonilation values were 32,2 nmol/mg protein and 233,25 nmol/mg protein in control and HBO groups respectively.
2. Apoptosis scoring was made after TUNEL staining to determine tissue injury. There was a statistically significant difference between control and HBO groups in apoptosis scores ( $p=0,003$ ) Mean apoptosis scores were 2,1 ( $\pm 0,6$ ) and 1 ( $\pm 0,7$ ) in control and HBO groups respectively.
3. We showed a significant increase in oxidative stress by using protein carbonilation in HBO group in our study. However the tissue injury determined by apoptosis scoring with TUNEL staining was significantly decreased in HBO group.

In conclusion these findings let us to think that HBO therapy reduces intestinal tissue injury in our experimental newborn rat model of necrotizing enterocolitis but more detailed studies should be made to show effect of HBO therapy on necrotizing enterocolitis.

**Danışman: Prof.Hv.Tbp.Alb. İsmail Göçmen**

**Çalışmayı Destekleyen Kuruluş: GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi**

**Key words:** Necrotizing enterocolitis; hyperbaric oxygen; apoptosis

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	V
İNGİLİZCE ÖZET.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	VIII
ŞEKİLLER.....	IX
TABLolar.....	X
<b>GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Nekrotizan Enterokolit.....	3
2.2. Patogenez.....	4

2.3. Laboratuvar Bulguları.....	8
2.4. Radyolojik Bulguları.....	9
2.5. Klinik Evreleme.....	10
2.6. Tanı.....	11
2.7. Tedavi.....	11
2.8. Prognoz.....	13
2.9.Korunma.....	13
2.10. Hiperbarik Oksijen Tedavisi.....	14
<b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>19</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>23</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>26</b>
<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>30</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>31</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ATA</b>	: Atmosfer Absolut
<b>CO</b>	: Karbonmonoksit
<b>CO2</b>	: Karbondioksit
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>DIC</b>	:Disemine Intravasküler Koagülasyon
<b>GATA</b>	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
<b>GİS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>HBO</b>	: Hiperbarik Oksijen
<b>H2O2</b>	: Hidrojen Peroksit

<b>H / O</b>	: Hipoksi Reoksijenizasyon
<b>İL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>İL-3</b>	: İnterlökin-3
<b>İL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>mRNA</b>	: Haberci Ribonükleik Asit
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>TUNEL</b>	: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz aracılı dUTP son etiketi işaretler
<b>TdT</b>	: Terminal Deoksinükleotidil Transferaz
<b>TNF-alfa</b>	: Tümör Nekrozis Faktör alfa

## ŞEKİLLER

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 3. 1</b> Apoptozis Skoruması.....	21
<b>Şekil 4. 1</b> Protein karbonilasyonu.....	24
<b>Şekil 4. 2</b> Apoptozis skoruması.....	25

## TABLULAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2. 1</b> Nekrotizan enterokolitin etiyolojisinde rolü olduğu düşünölen risk faktörleri.....	7
<b>Tablo 2. 2.</b> Basıncın arteriyal oksijen üzerindeki etkisi.....	16
<b>Tablo 4. 1</b> Protein Karbonilasyonu.....	23
<b>Tablo 4. 2</b> Apoptozis skorlaması.....	24

## GİRİŞ

Nekrotizan enterokolit (NEK), bağırsakların kısmi veya tam iskemisi ile karakterli önemli bir gastrointestinal hastalıktır. NEK yenidoğan periyodunda en sık görülen gastrointestinal problemdir. Tutulum bölgesi sıklıkla terminal ileumdur. İntestinal iskeminin başlamasında tetiği çeken üç önemli faktör hipoksi, hipertonic mamalarla erken enteral beslenme ve enfeksiyondur ancak faktörlerin ulaştığı ortak yol intestinal iskemidir. İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar mediatörlerin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da arttırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdukları düşünülmektedir (1-3).

İnsidansı ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye değişmektedir. Çok merkezli çalışmalarda 100 canlı doğumda 0,3 ile 2,4 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir (2-6). Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerin yaklaşık %1-10'unda gelişmektedir. Esas olarak prematüre bebeklerde görülmekle birlikte, NEK gelişen bebeklerin % 10'unu zamanında doğan bebekler oluşturmaktadır. NEK insidansı azalan doğum ağırlığı ve azalan gestasyon yaş ile orantılı olarak artmaktadır. En yüksek oranlar 1000 gramın altındaki bebeklerde (%42). Doğum ağırlığı 1000-1500 gram arasındaki bebeklerde %39,0, 1500-2000 gram arasındaki grupta %3,8, 2500 gramın üstündeki bebeklerde ise % 0.11 oranında NEK görülmektedir (2-6).

Hastalığın başlama zamanı bir gün ile üç ay arasında değişmekte olup sıklıkla ikinci haftadadır. Ayrıca hastalığın ortaya çıkışı, gebelik yaşı ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır; prematürelde daha matür bebeklere kıyasla, daha geç görülmektedir. Hastalığın başlangıç zamanını, 30 hafta veya daha küçük bebeklerde ortalama 20,2 gün, 31–33 gestasyon haftasında 13,8 gün, 34 gestasyon haftasında veya daha büyük bebeklerde 5,4 gündür (7).

NEK'in tedavisi medikal ve cerrahi tedavi olmak üzere iki şekilde yapılır. NEK şüphesinde veya varlığında tedaviye erken başlanılmalıdır. Tıbbi tedavinin temel amacı, barsakları dinlendirerek hastalığın ileri evrelere geçişini önlemek, enfeksiyonu kontrol etmek, metabolik dengeyi sağlamaktır.

Mortalitesi %10–50 arasında değişmekle birlikte son yıllarda erken tanı, ciddi takip ve tedavi ile bu rakamın %28'lere indirilebildiğini belirten merkezler de vardır (8-12). Bu oranlar hastalığın halen etkin bir tedavisi olmadığını göstermektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda hiperbarik oksijenin yara iyileşmesi ve enfeksiyon üzerindeki olumlu etkisinin gösterilmesi, bize hasarlanmış ve enfekte olmuş barsak dokusunun (NEK) tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürdü.

Çalışmamızda deneysel olarak NEK oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### 2. 1. NEKROTİZAN ENTEROKOLİT

Nekrotizan enterokolit (NEK), bağırsakların kısmi veya tam iskemisi ile karakterli önemli bir gastrointestinal hastalıktır. Tutulum bölgesi sıklıkla terminal ileumdur. Intestinal iskeminin başlamasında tetiği çeken üç önemli faktör hipoksi, hipertonic mamalarla erken enteral beslenme ve enfeksiyondur ancak faktörlerin ulaştığı ortak yol intestinal iskemidir. İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar mediatörlerin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da arttırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdıkları düşünülmektedir (1-3).

Nekrotizan enterokolit yenidoğan periyodunda en sık görülen gastrointestinal problemdir (2,3). İnsidansı ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye değişmektedir. Çok merkezli çalışmalarda 100 canlı doğumda 0,3 ile 2,4 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde izlenen bebeklerin yaklaşık %1-10'unda gelişmektedir. Esas olarak prematüre bebeklerde görülmekle birlikte, NEK gelişen bebeklerin % 10'unu zamanında doğan bebekler oluşturmaktadır (2-6).

Nekrotizan enterokolit insidansı azalan doğum ağırlığı ve azalan

gestasyon yaş ile orantılı olarak artmaktadır. Wilson ve arkadaşları (7) 148 NEK'li hastayı değerlendirmişler ve en yüksek oranların 1000 gramın altındaki bebeklerde olduğunu görmüşlerdir (%42). Doğum ağırlığı 1000–1500 gram arasındaki bebeklerde %39,0, 1500-2000 gram arasındaki grupta %3,8, 2500 gramın üstündeki bebeklerde ise % 0.11 oranında NEK saptamışlardır.

Hastalığın başlama zamanı bir gün ile üç ay arasında değişmekte olup sıklıkla ikinci haftadadır. Ayrıca hastalığın ortaya çıkışı, gebelik yaşı ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır; prematürelde daha matür bebeklere kıyasla, daha geç görülmektedir (8–12). Stoll ve arkadaşları (13) çalışmalarında hastalığın başlangıç zamanını, 30 hafta veya daha küçük bebeklerde ortalama 20,2 gün olarak saptarken, 31–33 gestasyon haftasında 13,8 gün, 34 gestasyon haftasında veya daha büyük bebeklerde 5,4 gün olarak tespit etmişlerdir. Otuzaltı gestasyon haftası veya daha büyük bütün bebeklerde ise 7 gün olarak bulunmuştur.

Cinsiyet ile NEK insidansı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Her iki cinste de eşit oranda görülmektedir. Bazı çalışmalarda siyah ırkta beyazlara göre daha fazla oranda görüldüğü bildirilmekle birlikte, ırksal farklılık olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Sosyoekonomik durum ve mevsimlerle de arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır (14–17).

Mortalitesi %10–50 arasında değişmekle birlikte son yıllarda erken tanı, ciddi takip ve tedavi ile bu rakamın %28'lere indirilebildiğini belirten merkezler de vardır. Gebelik yaşı küçüldükçe mortalitenin arttığı bildirilmektedir (8- 12).

## **2. 2. PATOGENEZ**

Nekrotizan enterokolitin etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak yıllardır NEK patogenezindeki en önemli faktörün mezenter iskemisi olduğu ileri sürülmektedir. Diving refleksi (kalp ve beynin selektif olarak refleksi dolaşım şantlarıyla perfüzyonunun sağlanması) selektif olarak splanknik iskemiyeye yol açar. Prematüre bebekler, hipoksi, asidoz,

hipotansiyon, hipotermi, umbilikal kateterizasyon gibi yenidoğanın barsak hasarının patogeneğinde rol oynayan önemli faktörlere maruz kalır (18–20). İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1 (IL-1), interlökin-3 (IL-3), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar mediatörlerin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da arttırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdıkları düşünülmektedir (21–27).

Enteral beslenmeye hızlı ve erken geçiş, enterik kan akımında ve mukozanın oksijen ihtiyacında artmaya neden olmaktadır. NEK gelişen bebeklerin %90–95' inde enteral beslenmenin major rol oynadığı görülmüştür (28). Tamamen sindirilemeyen mamalar, gastrointestinal sistemde bakteri proliferasyonu için substrat görevi yaparak NEK gelişimine zemin hazırlamaktadır. Besinlerin emilimi sırasında bağırsakların metabolik ihtiyacın artması, hipoksik iskemik stres, immatür vasküler düzenleme kapasitesi, immatür immün sistem ve gastrointestinal dismotilite doku hipoksisine yol açar ve takiben bakteriyel invazyonun da eklenmesiyle nekrotizan enterokolit gelişir. Hiperosmolar mamalarla beslenmenin de NEK riskini arttırdığı saptanmıştır (29).

Anne sütü; içerdiği lenfositler, makrofajlar, laktoferrin, laktoperoksidaz, lizozimler, kompleman komponentleri, antistafilokokal ajanlar ve sekretuar IgA başta olmak üzere immünoglobulinler gibi laktobasillerin üremesini arttıran faktörler sayesinde NEK'ten koruyucu etki yapmaktadır. Ayrıca anne sütü NEK patogeneğinde önemli rol oynayan mediatörlerden biri olan platelet aktive edici faktörün metabolizmasında anahtar enzim olan PAF -asetilhidrolaz enzimini içermektedir. Ancak inek sütünde bu enzim bulunmamaktadır. Beslenme PAF sentezini stimüle ederek de NEK gelişimine zemin hazırlar (30–36).

Son birkaç yıldır prematüre infantlarda dikkatli beslenme rejimleri ile NEK insidansının önemli oranda azaldığı bildirilmiştir. Neonatoloji uzmanlarının çoğu, az miktarda ve dikkatli olarak beslenmeyi önerse de, bu teknik az sayıdaki çalışma ile desteklenmiştir (32, 33).

Nekrotizan enterokolit patogeneğinde yer alan bir diğer önemli faktör

bakteri çoğalmasdır. Bakterilerin hastalığın primer başlatıcısı olup olmadığı bilinmemektedir. Ancak prenatal dönemde steril olan intestinal sistemde in utero NEK vakası tanımlanmamıştır ve inflamatuvar barsak nekrozunun başlangıcı için önceden barsak kolonizasyonunun olması gerekmektedir. Beslenmeye başlayan bebeklerde laktobasilus ve bifidusbakteria gibi anaerob bakteriler hızla intestinal sistemde kolonize olur. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen ve anne sütü ile beslenmeyen prematüre bebeklerin barsak florasının, sağlıklı term bebeklerden farklı olduğu tespit edilmiştir (37,38). Çok düşük doğum ağırlıklı prematüre bebeklerin de barsak florasının bakteri kolonizasyonunun yetersiz olduğu, anne sütü ile beslenenlerde flora bakterilerinin arttığı, antibiotik tedavisi ile de flora bakterilerinin azaldığı görülmüştür (39).

Çoğunlukla NEK vakaları sporadiktir. Epidemiler esnasında etkilenen bebeklerin özellikleri sporadik vakalardan farklıdır. Bu bebeklerde sporadik vakalara göre daha yüksek apgar skoru ve doğum ağırlığı, daha az perinatal komplikasyon ve daha düşük ölüm oranları bildirilmiştir (13,14).

Nekrotizan enterokolit epidemilerine rağmen etken olan spesifik bir mikroorganizma tespit edilememiştir. Bakteriler (K. pneumoniae, E. coli, koagülaz negatif stafilokoklar), viruslar (rotavirus, corona virus ve diğerleri), klostridumlar etken olabilmektedir. Nonspesifik gastrointestinal rahatsızlıklar NEK salgınları esnasında artar, yenidoğan yoğun bakım personeli arasında epidemik periyottan önce, sonra ve epidemisi esnasında da yine gastrointestinal rahatsızlıkların insidansı artar. Yenidoğan yoğun bakım üniteleri kalabalık olduğunda, NEK epidemisi riski artar (24, 40,41).

Platelet aktive edici faktör NEK patogeneğinde rol oynayan primer mediatördür. Gonzalez-Crussi ve arkadaşları (22) aort içine Platelet aktive edici faktör enjeksiyonunun NEK' e benzer şekilde intestinal nekroza yol açtığını deneysel olarak göstermişlerdir. PAF-asetilhidrolaz ve PAF-degrading enzim gibi PAF'ın metabolizmasında rol oynayan enzimlerin prematür bebeklerde önemli oranda düşük olduğu ve enteral beslenmenin başlanmasını takiben dışkıda PAF düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Yenidoğan farelerde formula ile beslenme ve hipoksik stresin NEK'e yol açtığı, ayrıca fosfolipazA2 ile PAF

reseptör mRNA'nın intestinal ekspresyonunda artış olduğu saptanmıştır. Aksine PAF reseptör antagonisti veya PAF-asetilhidrolaz enzimi ile kombine formulaların deneysel olarak NEK gelişimini önlediği tespit edilmiştir (42). Ayrıca yapılan çalışmalarda NEK'li hastalarda IL-1, IL-3, IL-6 ve TNF-alfa düzeyleri yüksek bulunmuştur (1).

Nekrotizan enterokolit riskini arttıran diğer hazırlayıcı nedenler arasında enteral ve parenteral verilen E vitamini, indometazin ve metilksantinler sayılabilir (43–45). Barsakların fonksiyonel immatüritesi, azalmış motilite de NEK gelişimi için hazırlayıcı faktörlerdendir. Antenatal steroid kullanımının NEK riskini azalttığı saptanmıştır. Prematüre bebeklerde safra tuzları havuzu term bebeklerden küçüktür, safra tuzları endotoksinleri nötralize eder. Steroidler safra tuzu havuzunun büyüklüğünü ve bağırsak matürasyonunu artırır (46–48).

**Tablo 2. 1. Nekrotizan enterokolitin etiolojisinde rolü olduğu düşünülen risk faktörleri (1,3)**

Prematurite	Konjenital GİS anomalileri
İntrauterin gelişme geriliği	Yüksek osmolar mamalar
Erken membran rüptürü	Enteral beslenmeye erken geçiş
Perinatal asfiksi	Sıvı yüklenmesi
Düşük apgar skoru	Polisitemi
Hipoksi ve şok	Tromboz
Umbilikal kateterizasyon	Anemi
Patent duktus arteriozus	Kan değişimi
Hipotermi	Siyanotik konjenital kalp hastalığı

Nekrotizan enterokolitli bebekler genellikle özgül gastrointestinal semptomlara sahiptir. Ancak NEK'in erken bulguları neonatal sepsisten ayırt edilemez. En sık bulgular abdominal distansiyon (%70–90), beslenme

intoleransı ve gastrik rezidülerin artması, safralı kusma (>%70), kanlı gaita (%25–63), gastrointestinal gizli kanama (%22–59) ve nadiren ishaldir (%4–26). Abdominal distansiyon, intestinal dilatasyon ve asite bağlı olarak gelişir. Başlangıç bulguları, sadece letarji ve ısı düzensizlikleri şeklinde olabilir, daha sonra apne, bradikardi gibi ciddi kardiorespiratuvar sistem bulguları ortaya çıkabilir (3).

Fizik muayenede, gerilmiş barsak ansları palpe edilebilir, bazen palpasyonda hassasiyet alınabilir. Bu dönemde dışkıda gizli kan pozitifliği tanıyı destekler. Hastalık ilerledikçe karın duvarı gri-mavi renk alır; daha sonra hastalığın yaygınlaştığını ve peritonit geliştiğini gösteren endürasyon ve eritem ortaya çıkar. Sabit bağırsak ansları karında abdominal kitle olarak palpe edilebilir ve taze kanla bulaşık dışkılama görülebilir. Bazen perforasyon ve beraberinde şok, koagülopati ve multiorgan yetmezliği gelişebilir (3).

Nekrotizan enterokolit bulguları ani ve sinsi başlangıçlı olabilir. Ani başlayan formda sepsisten ayırt edilemeyen ani kötüleşme görülür. Bebekte GIS ile ilgili semptomlar ve fizik muayene bulguları vardır. Ani başlangıçlı NEK hem preterm hem de term bebeklerde görülebilir. Solunum yetmezliği, şok, asidoz, belirgin abdominal distansiyon başlıca özellikleridir. Bu gruptaki hastalarda genellikle kan kültürü pozitifliği saptanır (1,3).

Sinsi başlangıçlı NEK, 1–2 gün içinde gelişir. Beslenme intoleransı, gaita paterninde değişiklik, intermittan abdominal distansiyon ve gaitada gizli kan gibi bulgularla karakterizedir. Bu tablo preterm bebeklerde term bebeklere oranla daha sık görülür (1,3).

### **2. 3. LABORATUVAR BULGULARI**

Nekrotizan enterokolitli hastalarda laboratuvar bulguları sepsisi destekler niteliktedir. Lökosit sayısında artma ve daha sıklıkla da lökopeni olabilir. Vakaların yaklaşık %37'sinde beyaz küre sayısı <1500 mm<sup>3</sup> olarak bulunmuştur. Bazı çalışmalarda lökopeni gelişen NEK'li hastalarda, gram-negatif etkenlerin daha sıklıkta olduğu gösterilmiştir (49–51). Hastaların %87'sinde trombositopeni bulunmaktadır (49,51). Koagülasyon bozuklukları,

hipo-hiperglisemi, metabolik asidoz ve elektrolit bozuklukları olabilir. Metabolik asidoz sıklıkla şokun bir bulgusudur. Bazı hastalarda C-reaktif protein düzeyinde artma görülür. Tekrarlayan apnelar ve abdominal distansiyona bağlı diafragmanın yukarı itilmesi sonucu hipoksi, hiperkarbi gelişebilir (1,3).

Hastaların yaklaşık %10-30'unda kan veya peritoneal sıvıda pozitif kültür tespit edilir. Dışkı kültüründe üretilen mikroorganizma, kan veya periton sıvısı kültüründe üreyenle aynı olduğu zaman anlamlı kabul edilmelidir (1). Sorumlu bakteriler yıllar ve merkezler arasında farklılık göstermesine rağmen, en sık saptanan etkenler, E. coli, Klebsiella spp, Enterobakter spp, koagülaz negatif stafilokok, Clostridium spp, Pseudomonas aeruginosa ve Candida albicans'tır (2, 52, 53).

## **2. 4. RADYOLOJİK BULGULARI**

Nekrotizan enterokolit şüphesi olan vakalarda mutlaka radyolojik değerlendirme yapılmalıdır. En sık erken bulgu intestinal ileustur. Diğer erken dönem bulguları barsak anslarında dilatasyon, incelme ve hava-sıvı seviyesidir. Barsak duvarı içinde gaz görünümü (pnömatozis intestinalis) NEK'in patognomonik radyolojik bulgusudur. Gaz subseroza ile muskularis tabakası arasındadır ve patojen bakteriler tarafından üretilen hidrojene bağlı olarak oluşur. Pnömatozisin iki radyografik paterni tanımlanmıştır. Kistik patern, submukozadaki hava kabarcıklarından kaynaklanmakta olup, kalın barsaktaki fekal materyali taklit edebilir. Lineer patern ise hava kabarcıkları tarafından oluşturulup, barsak lümenine paralel seyrederek (3).

Intestinal nekrozis ve perforasyon NEK'in en ciddi komplikasyonudur ve hastaların üçte birinde görülür. Batın grafisinde serbest hava varlığı ile karakterizedir. Lateral horizontal grafi ile anterior koleksiyonlar daha iyi görülebilirken, karaciğer ve diafragma arasındaki serbest hava en iyi supin pozisyonundaki grafi ile değerlendirilir. NEK'li bazı hastalarda perforasyon ve nekrozisin radyolojik bulguları çok açık olmayabilir. Radyolojik olarak serbest hava varlığı sadece cerrahi girişim için endikasyondur, fakat diğer bulguların

varlığında da cerrahi müdahale düşünülebilir. Intramural hava mezenterik venöz dolaşım tarafından absorbe edildiği zaman, portal venöz gaz fenomeni ile sonuçlanır. Portal gaz fenomeni karaciğer altında ince, lineer hava dansitesi şeklinde görülür (3).

Ultrasonografi, kontrast radyografi ve manyetik rezonans görüntüleme, kullanılabilen diğer tanı yöntemleridir. Abdominal ultrasonografi hasta başında uygulanabilmesi, noninvasiv olması nedeniyle tercih edilir. Abdominal ve portal hava (şampanya belirtisi), kitle ve asit varlığını değerlendirir. Aynı zamanda major splanik vaskülaritenin değerlendirilmesi, çöliak ve süperior mezenterik arterin artmış kan akımının, artmış pik akım hızı tanıda yardımcıdır (54–57).

## **2. 5. KLİNİK EVRELEME**

Klinik evreleme ilk defa Bell ve arkadaşları (58) tarafından yapılmış, daha sonra Walsh ve Kliegman (59) tarafından radyolojik bulgular evrelendirmeye eklenmiştir.

### **Evre IA - Şüpheli NEK**

Sistemik Bulgular: Isı düzensizlikleri, apne, bradikardi, letarji.

Intestinal Bulgular: Rezidü kalması, hafif abdominal distansiyon, kusma, gaitada gizli kan pozitifliği.

Radyolojik Bulgular: Normal veya barsaklarda hafif dilatasyon

### **Evre IB - Şüpheli NEK**

Sistemik Bulgular: Evre IA ile aynı.

Intestinal Bulgular: Rektumda kan.

Radyolojik Bulgular: Evre IA ile aynı.

### **Evre IIA - Kesin NEK (hafif hasta)**

Sistemik Bulgular: Evre IA ile aynı.

Intestinal Bulgular: Evre IA ile aynıdır. Ek olarak barsak sesleri alınamaz, abdominal hassasiyet +/-

Radyolojik Bulgular: Intestinal dilatasyon, ileus, pnömotozis intestinalis.

### **Evre IIB - Kesin NEK (orta derecede hasta)**

Sistemik Bulgular: Evre IIA ile aynı, ayrıca hafif metabolik asidoz, hafif trombositopeni

Intestinal Bulgular: Evre IIA ile aynı, barsak sesleri yoktur, abdominal hassasiyet vardır, abdominal sellülit veya sağ üst kadranda kitle +/- olabilir.

Radyolojik Bulgular: Evre IIA ile aynı, ayrıca portal vende gaz, asit +/- olabilir

### **Evre IIIA - İleri NEK (ciddi hasta, perforasyon yok)**

Sistemik Bulgular: Evre IIB bulgularına ilaveten hipotansiyon, bradikardi, ciddi apne, kombine metabolik ve respiratuar asidoz, DIC, nütropeni.

Intestinal Bulgular: Evre IIB bulgularına ilaveten peritonit bulguları, abdomende distansiyon ve belirgin hassasiyet.

Radyolojik Bulgular: Evre IIB bulguları ile aynı ayrıca asit.

### **Evre IIIB - İleri NEK (ciddi hasta, barsaklar perforasyon)**

Sistemik Bulgular: Evre IIIA bulguları ile aynı.

Intestinal Bulgular: Evre IIIA bulguları ile aynı.

Radyolojik Bulgular: Evre IIIA bulguları ile aynı ayrıca pnömoperitoneum mevcut.

## **2. 6. TANI**

Nekrotizan enterokolit tanısı klinik ve laboratuvar bulgularına dayanarak konulur. Özgül gastrointestinal semptomların varlığında, direkt batın grafisinde pnömatozis intestinalis görüntüsü NEK tanısını koydurur. Pnömoperitoneum intestinal perforasyonu gösterir. Bazı bebeklerde bu özgül radyolojik bulgular olmayabilir. Tekrarlanan grafilerde büyük distandü sabit barsak lümeni görülmesi barsaklarda nekroz olduğunu gösterir. Gazsız abdomen perforasyon ve peritoniti gösterir (1,3).

Portal venöz sistemde hava, 2400 gram altındaki prematüre bebeklerde daha sıklıkla görülür ve hızla ilerlemeye eğilim gösterir. Anlamli derecede cerrahi girişime ihtiyaç gösterir, sıklıkla tamama yakın intestinal nekrozis ile birlikte ve hem cerrahi hem de medikal tedavi verilen bebeklerde anlamli derecede yüksek mortalite ile birlikte (60).

Nekrotizan enterokolit GIS'in tüm bölümlerini etkileyebilir fakat özellikle

ileum ve kolon etkilenir (1,3).

## 2. 7. TEDAVİ

Nekrotizan enterokolitin tedavisi medikal ve cerrahi tedavi olmak üzere iki şekilde yapılır. NEK şüphesinde veya varlığında tedaviye erken başlanılmalıdır. NEK vakalarının çoğunda medikal tedavi yeterli olmaktadır. Tıbbi tedavinin temel amacı, barsakları dinlendirerek hastalığın ileri evrelere geçişini önlemek, enfeksiyonu kontrol etmek, metabolik dengeyi sağlamaktır (1–3).

### Medikal Tedavi Basamakları

- Enteral beslenme kesilir ve abdominal distansiyonu azaltmak için nazogastrik drenaj uygulanır
- Umbilikal kateter varsa çekilir.
- Isı, oksijen satürasyonu, solunum sayısı, aldığı çıkardığı ve batın çevresi yakından takip edilir
- Semptomlar devam ettiği sürece 6–12 saat arayla radyolojik değerlendirme yapılır
- Sıvı elektrolit dengesi sağlanır. Metabolik asidoz varsa tedavi edilir.
- Kan, trombosit, plazma desteği sağlanır.
- Ampirik olarak antibiyotik tedavisi başlanmalı ve 10–14 gün sürdürülmelidir. Önerilen genellikle ampisilin, aminoglikozit ve anaerobik bakterileri kapsayan metronidazol veya klindamisin şeklinde üçlü antibiyotik tedavisidir (2,61).
- Bebek stabilize edildikten sonra total parenteral nütrisyon başlanmalıdır.
- Batın grafileri, batın muayenesi ve gastro intestinal fonksiyonlar normale döndükten sonra, en az 5 gün geçmeden enteral beslenmeye başlanmamalıdır (genellikle hastalığın başlangıcından itibaren 10–14 gün) (60).

## Cerrahi Tedavi

Medikal tedaviye rağmen NEK vakalarının %34–50' sinde cerrahi tedaviye ihtiyaç olmaktadır (3). Acil cerrahi tedavi gerektiren en temel endikasyon, intestinal perforasyondur ve en sık terminal ileumda görülmektedir (1). Perfore olmuş bebeklerde cerrahi mortalitenin daha yüksek olması nedeniyle bazı merkezler, genel durumu giderek bozulan, derin metabolik asidozu, düzeltilemeyen nötropeni ve trombositopenisi olan bebeklerin, 8–12 saat arayla tekrarlanan grafilerinde sabit barsak ansları görülmesi durumunda beklemeden cerrahi girişim yapmaktadır (62,63).

Ayrıca karın duvarında eritem, abdominal kitle, portal venöz gaz varlığı da cerrahi tedavi endikasyonlarındandır (62,63).

Cerrahi tedavi iki girişim yapmayı gerektirir. İlk operasyonda nekrotik bağırsak bölgesi rezeke edilerek proksimal kısım dışarı ağızlaştırılır ve bebeğin genel durumu düzeldikten sonra ikinci ameliyatla reanastomoz yapılır (1,64). Çok düşük doğum ağırlıklı ya da genel durumu cerrahiye alınamayacak kadar kötü olan hastalarda, laparotomi öncesi bir süre peritoneal drenaj uygulanması ve izlemde gerekirse laparotomi yapılması önerilmektedir (65–69).

## 2. 8. PROGNOZ

Nekrotizan enterokolitin mortalitesi %30–40 arasında değişmektedir. Cerrahi tedavi gerektiren vakalarda ise bu oran %60'lara yükselmektedir. Cerrahi veya medikal tedaviden sonra yaşayanların %25-35'inde bağırsaklarda strüktür gelişmektedir. Perfore olmayan bağırsak bölgesinde skar gelişimi nedeniyle oluşur. Çoğunlukla akut dönemde semptomatik olmasına rağmen bazı strüktürler 6 ay gibi uzun bir süre semptom vermeyebilir. Bu hastalarda beslenme problemleri, diyare veya bağırsak obstrüksiyonu şeklinde bulgulara yol açabilmektedir (3).

Nekrotizan enterokolitin en sık geç komplikasyonları strüktür, fistül, abse, rekürren NEK, kısa bağırsak sendromu, malabsorbsiyon, kolestaz ve enterokist gelişimidir (3).

## 2. 9. KORUNMA

Küçük prematüre bebeklerde enteral beslenmeye başlanmadan hipovoleminin ve hipervizkozitenin düzeltilmesi, homeostatik mekanizmanın maturasyonunu tamamlaması için bebeğe zaman tanınması riski azaltıcı rol oynar. Çok küçük prematürelere ve perinatal asfiksi ile doğan bebeklerde, enteral beslenmeye küçük miktarlarla başlanmalı ve anne sütü ile beslenme tercih edilmelidir. Mama ile beslenme zorunluluğu olan durumlarda mama önceleri dilüe edilerek osmolaritesi düşürülmeli, giderek konsantrasyonu artırılmalıdır. Tüm bebekler beslenmelerinin arttırıldığı dönemlerde, vital fonksiyonlar, gastrik rezidü, abdominal distansiyon, beslenme intoleransı ve dışkıda gizli kan pozitifliği açısından yakından izlenmelidir (1).

## 2. 10. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ (HBO)

Hiperbarik oksijen tedavisi kapalı bir basınç odasında, 1 atmosferden (1 ATA= Absolu Atmosfer = 760 mmHg ) daha yüksek basınç altında oksijen solutmak suretiyle uygulanan bir tedavi yöntemidir (70)

### **Fizyoloji:**

Anaerobik bakterilerin haricindeki mikroorganizmalar yeryüzündeki yaşamlarını ve normal hayati fonksiyonlarını devam ettirebilmek için oksijene ihtiyaç gösterirler. Oksijen hücre içinde enerji açığa çıkaran biyokimyasal reaksiyonlar zincirinde gereklidir.

Hiperbarik oksijenasyonun iki temel etkisi sözkonusudur. 1. Mekanik etki veya basıncın direk etkisi, 2. Vücuttaki tüm dokularda, kanda ve hücrelerde oksijen parsiyel basıncının artışı.

### **Basıncın direk etkisi:**

Temel gaz kanunlarından Boyle kanununa göre, gazların basınçları ve hacimleri arasında ters bir orantı söz konusudur. Basıncın artışıyla,

dolaşımdaki ve dokulardaki gazların hacimleri ve gaz kabarcıklarının çapları küçülür. Ayrıca kabarcıkların yüzey gerilmeleri de büyüklükleri ile ters orantılıdır ve büyük kabarcıklar, küçüklerden daha stabildir. Kabarcıklar küçüldükçe yüzey gerilimi artacağından, çap belli bir değere düştükten sonra kollabe olup absorbe edilir. Basıncın mekanik etkisi en iyi dekompresyon hastalığı ve iatrojenik hava embolisi vakalarının tedavisinde görülür. Bu gibi hastalıkların tedavisinde kabarcıkların küçülüp kollabe olması önem taşımaktadır. Böylece doku perfüzyonu tekrar sağlanabilmektedir (71).

### **Artmış oksijen parsiyel basıncı:**

Hiperbarik ortamda % 100 oksijen solunduğunda Henri kanunu gereğince plazmada oksijenin çözünürlüğü artar. Hastanın fizyolojik ve fizyopatolojik koşullarına bağlı olarak, artmış oksijen basıncının etkisi dokularda, biyokimyasal reaksiyonlarda gözlenir.

### **Plazmada çözülmüş oksijen miktarının artması**

Normalde 1 gram hemoglobin 1.34 ml oksijenle bağlanabilir. 100 ml kanda hemoglobin konsantrasyonu 15 gramdır. Hemoglobin % 100 sature edildiğinde 100 ml kan 20,1 ml hemoglobinle bağlı oksijen barındırır. 1 ATA'lık atmosfer basıncında hava solunduğunda % 97 sature olan hemoglobinin saturasyonunu % 100 den daha fazla artırmak mümkün olmayacağından kanda hemoglobinle taşınan oksijen miktarı da artmayacaktır. Hiperbarik koşullarda, solunan oksijen parsiyel basıncındaki artıştan ötürü, plazmada çözünen oksijen miktarıda artar. Tablo 1 de görüldüğü gibi 1 ATA'da hava solunduğunda kanın 100 ml'sinde 0,3 ml olan çözülmüş oksijen miktarı, 3 ATA'da % 100 oksijen solunduğunda 100 ml kanda 6,8 ml'ye kadar yükselir.

1 ATA'lık atmosfer basıncında hava solunduğunda 100 ml arteryel kanda 20 ml oksijen bulunurken, karışık venöz kanda 14 ml'ye düşmektedir. Yani, 100 ml kandan dokularda kullanılan oksijen miktarı 6 ml'dir. Bu değer 3 ATA'da % 100 oksijen solunduğunda sadece plazmada çözünen oksijen

miktarına eşittir. Bu durumda oksihemoglobine gerek kalmaksızın, dokuların ihtiyacını karşılayacak yeterli oksijenasyon mümkündür. Plazmada çözülmüş oksijen hücreye direk utilize olabilmektedir. HB0 tedavisiyle hemoglobinsiz yaşamı devam ettirmek mümkündür (72, 73).

**Tablo 2. 2. Basıncın arteriyal oksijen üzerindeki etkisi (73)**

Total basınç		İdeal çözülmüş oksijen içeriği	
<u>ATA</u>	<u>mmHg</u>	<u>Hava soluma(ml)</u>	<u>%100 oksijen soluma(ml)</u>
1	760	0.32	2.09
1.5	1140	0.61	3.26
2	1520	0.81	4.44
2.5	1900	1.06	5.62
3	2280	1.31	6.80

### **Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri**

Hiperbarik ortam myokard hücreleri üzerine doğrudan etkiyle uyarılabilirlik ve iletiyi azaltır. Böylece bradikardiye sebep olur. HB0 kalp atım hacminde azalmadan ziyade, bradikardiye bağlı olarak kardiyak outputta %10–20 arasında düşmeye yol açar. Kan basıncında herhangi bir değişiklik olmaz. Hiperoksinin vazokonstriktif etkisinden dolayı dokulara giden kan miktarı azalır, fakat plazmada artmış olan çözülmüş oksijen parsiyel basıncı nedeniyle akım azaldığı halde dokuların yüksek düzeyde oksijenasyonu sağlanır.

Hiperbarik oksijenin oluşturduğu vazokonstriksiyon, kapiller kan basıncını düşürerek diapedesis ve vasküler permeabilite artışını azaltır. Böylece transkapiller sıvı geçişi değişerek ekstravasküler sıvı rezorpsiyonu

hızlanır. İnterstisyel sıvı basıncını düşürerek hipoksi ve iskeminin yarattığı ödemin gerilemesinde yardımcı olmaktadır. Hiperbarik oksijenin bu etkisinden yanıklarda, serebral ödemde, periferik travmalarda, embolilerde, purpura fulminans tedavisinde yararlanılmaktadır (70, 71, 73, 74, 75).

### **Yara iyileşmesine etkisi**

Yaralanmış doku hipoksiktir; parsiyel oksijen basıncı 5–15 mmHg'ye ve hatta daha düşük değerlere kadar düşebilir. Oysa yara iyileşmesi için gerekli kollajenin fibroblastlarca sentezlenmesi için minimum 30–40 mmHg parsiyel oksijen basıncı gereklidir. HB0 ile doku oksijen parsiyel basıncının artırılması, fibroblastik aktivite artışı ve kollajen matriks birikimine yol açar. Angioneogenesis ise hipoksi ile uyarılır. Böylece günde 1–4 saat süreyle uygulanacak hiperbarik oksijen kollajen matriks birimini sağlarken geri kalan sürede de hipoksinin angiogenesisi uyarıcı etkisiyle vasküler proliferasyonun gelişimine katkıda bulunur (74, 76, 77).

### **İnfeksiyon üzerine etkisi (Antibakteriyel etki)**

Oksijen için tedavi sınırları oldukça önemlidir. Tedavide amaç hastaya zarar vermeksizin bakteriyi ortadan kadırmaktır. Tek hücreli mikroorganizmalar özellikle bakteriler, hiperoksiye bifazik cevap verirler. 1 ATA'da % 100 oksijenli ortamda E.Coli, P.auroginosa, S.aureus gibi aerob bakterilerin gelişmeleri hızlıdır. Fakat 1,3 ATA üzerinde oksijen inhibisyon yapar (78).

Oksijen-NADPH oksidaz sistemi temel mikrobisidal sistemdir. Fagositoz düşük oksijen parsiyel basıncından etkilenmese de oksidatif patlama ile bakterilerin öldürülmesi dokudaki oksijen basıncına bağlıdır. HB0 hipoksik ve infekte dokulardaki oksijen basıncını nötrofillerin bakterileri öldürebileceği seviyeye kadar yükseltir (72, 79).

HBO bakteriyostatik ve bakteriyositik özelliğini, serbest oksijen radikalleri aracılığı ile göstermektedir. Serbest oksijen radikalleri membran lipid ve proteinlerini okside edip, DNA'ya hasar vererek mikroorganizmanın büyümesi için temel metabolik fonksiyonları inhibe ederler. Serbest radikaller

ve reaktif oksijen ürünleri oluşumunu artıran HB0, antioksidan savunma sistemleri olmayan veya sınırlı olan bazı mikroorganizmaların hızla ortadan kaldırılmasını sağlar. Anaerobların serbest radikallere ve diğer oksidanlara karşı savunma mekanizmaları olmadığından, oksijenin öldürücü etkisine duyarlıdırlar. Hiperbarik oksijen infekte ve nekrotik dokulardaki doku onarımı ve rejenerasyonu düzenleyerek, infeksiyonun progresyonunu indirek olarak etkileyebilir (74, 78 ). Antibakteriyal ajan olarak seçici değildir. Gram negatifler kadar gram pozitif bakterileride etkileyen, spektrumu geniş bir ilaç olarak düşünülebilir.

### **Antitoksik etkisi**

Hiperbarik oksijenizasyon, direk üretimini inhibe ederek ya da toksinlerin etki metabolizmasını engelleyerek antitoksik özellik gösterir. Bunlardan ilkin örnek; hücre membranını parçalayarak kapiller permeabiliteyi bozan Clostridial alfa toksin ve lesitinaz üretiminin inhibisyonudur. CO zehirlenmesinde ise etki mekanizması üzerinde inhibisyon yaratarak yararlılık göstermektedir. CO'in hemoglobine affinitesi 200 kat daha fazla olduğundan oksihemoglobin yerine karboksihemoglobin oluşturarak kanda yeterli düzeyde oksijen taşınmasını zorlaştırır. HB0 oksijen parsiyel basıncını artırarak, karboksihemoglobine veya sitokroma bağlanmış olan CO'in eliminasyonunu hızlandırır, plazmada yeterli miktarda çözülmüş oksijen taşınarak dokuların metabolizmasının ve yaşamasının devamını sağlar (72, 74, 76, 79, 80).

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Epidemiyolojik Kurul'undan ve Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul'undan onay alındıktan sonra 17–20 Nisan 2007 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği tarafından gerçekleştirildi. Deneysel olarak NEK oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

### **Deney Hayvanları**

Bu çalışmada 20 adet 2–5 günlük yenidoğan Wistar türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar arasında cinsiyet ayrımı gözetilmedi. Yenidoğan sıçanlar uygun boyutta kafeslere, her kafeste bir anne ve yavruları olacak şekilde yerleştirildi. Oniki saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda anne sütü ile beslenmeleri sağlandı. Tüm deneysel girişimler hayvan çalışmaları sırasında uyulması gereken etik kurallar gözetilerek gerçekleştirildi.

### **Çalışmanın Tasarımı**

Yirmi yenidoğan sıçan annelerinden ayrılmayacak şekilde rastgele iki gruba ayrıldı. NEK oluşturabilmek için daha önceden kullanılmış bir hipoksi-reoksijenizasyon (H/O) modeli kullanıldı. Hipoksi işlemi için sıçanlar 15

dakika süreyle, %100 CO<sub>2</sub> akışı sağlanan hava geçirmez plastik cam kap (Vacunit; Echmann, England) içinde bekletilerek yapıldı. Ardından aynı kap içine 15 dakika süreyle %100 O<sub>2</sub> verilerek reoksijenizasyon gerçekleştirildi. Bu işlem haricinde sıçanlar yukarıda bahsedilen standart koşullarda hayatlarını sürdürdüler.

### **Deney grupları**

**Grup 1 (Kontrol Grubu=Tedavi verilmeyen grup; n=10):** Üç gün arka arkaya hipoksi reoksijenizasyon (H/O) işlemi yapıldı.

**Grup 2 (Hiperbarik oksijen tedavisi verilen grup; n=10):** Üç gün arka arkaya hipoksi reoksijenizasyon (H/O) işlemi yapıldı. Son hipoksi reoksijenizasyon işleminden iki saat sonra, 2,5 ATA basınçta 60 dakika %100 O<sub>2</sub> ile bir seans HBO tedavisi uygulandı.

Üçüncü günün sonunda bütün hayvanlara ketamin anestezisini takiben servikal dislokasyonla ötenazi uygulandı. Terminal ileum ve çekumu içine alan barsak kısımları çıkarıldı, %10 formolaldehit ile fikse edildi. Dokuda histopatolojik ve protein karbonilasyon yöntemleri ile doku hasarı ve serbest oksijen radikalleri değerlendirildi.

### **Hiperbarik Oksijen Tedavisi (HBO)**

HBO uygulanan gruptaki sıçanlar kafesleriyle birlikte basınç odasına alındı. Basınç odasının kapağı kapatılarak oksijen girişi açıldı. İç basıncın uygulanacak değere kadar dakikada 0,3 atm basıncı geçmeyecek hızda yükselmesi sağlandı. Hedeflenen basınç değerine ulaşıldığında süre başlatıldı ve 60 dakika boyunca sabit tedavi basıncında kalması cihaz tarafından otomatik olarak sağlandı. Seans bitiminde basınç yine aynı hızda düşürülerek normal atmosfer basıncı ile eşitlendi ve hayvanlar basınç odasından çıkarıldı.

### **Histopatoloji**

% 10 Formaldehitde fikse edilmiş doku örnekleri, doku takibi işlemi ile dehidrate edildikten sonra parafin içinde blok haline getirildi. Her bir bloktan

0,4 µ kalınlığında iki adet parafin kesit alınarak hematoksilin-eozin ve TUNEL immunohistokimyasal boyaması yapılarak incelendi. Her bir kesit karışık olarak kör çalışma prensibinde bir patolog olarak değerlendirilerek 0 ile 4 arasında evrelenerek skorlandı.

### **Apoptoz skorlama sistemi**

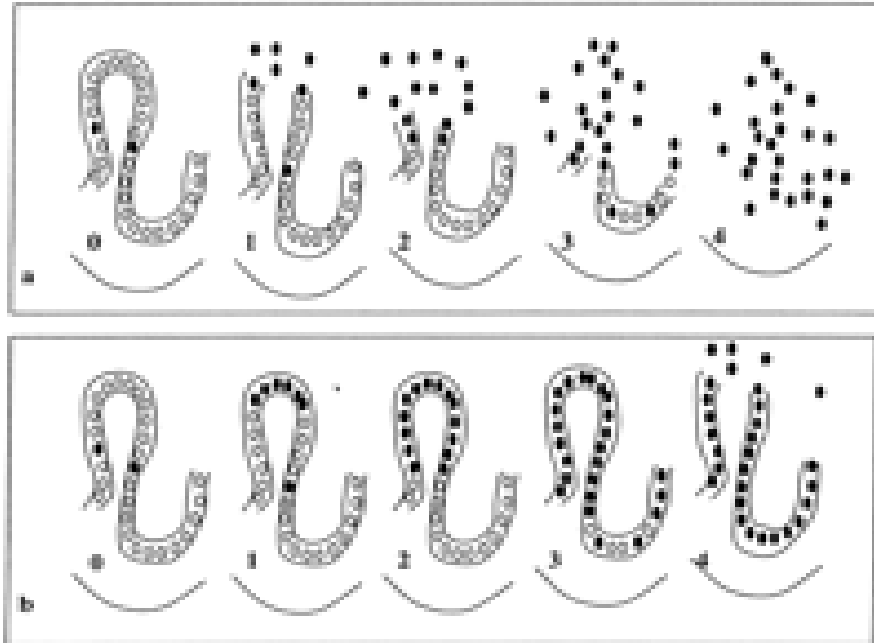
**Skor 0:** Villus epitelinde ayrı ayrı birkaç TUNEL pozitif nükleus var

**Skor 1:** Villus epitelinde tepede izlenen gruplar halinde TUNEL pozitif nükleuslar var

**Skor 2:** Villus epitelinde villusu tamamen kaplayan fakat kriplere inmemiş gruplar halinde TUNEL pozitif nükleuslar var

**Skor 3:** Villus epitelinde villusu tamamen kaplayan ve kriplere uzanım gösteren gruplar halinde TUNEL pozitif nükleuslar var

**Skor 4:** Transmural yayılım gösteren gruplar halinde TUNEL pozitif nükleuslar var



**Şekil 3. 1 Apoptosisin evrelemesi**

### **Tunel yöntemi**

Parafin kesitler bir gece 56 derecede etüvde bekletildikten sonra ksilen, alkol serilerinden geçirilerek deparafinize edildi. Oda sıcaklığında Proteinaz K ile 10 dakika inkübasyon edildi. Distile su ile yıkanan doku örnekleri %3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 5 dakika bekletilip yıkama sonrası Equilibration Buffer da 10 saniye tutuldu. Tunnel immunohistokimyasal boyama setine ait (ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, S7100, Chemicon) Working Strength TdT enzimi eklenip, nemli ortamda 1 saat 37 C de inkübe edildi. Working Strength Stop/Wash Buffer buffer da 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. PBS ile yıkamayı takiben Anti digoxigenin konjugatı eklenerek 30 dk oda sıcaklığında nemli ortamda tutuldu. Tekrar PBS ile yıkayıp Peroksidaz substratı ile oda sıcaklığında 6 dk bekletildi. Yıkamayı takiben metal yeşilinde 10 dakika tutuldu. Su ile yıkama, alkol serileri ve ksilenden geçirilerek lamel ile kapama yapıldı (81)

### **Protein Karbonilasyonu**

Gastrointestinal sistem dokusunun protein karbonil düzeyi karbonil grubunun 2, 4-dinitrofenilhidrazin ile reaksiyonu sonucu oluşan 2, 4-dinitrofenilhidrazonun spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanan yöntem kullanılarak tespit edildi.(82)

Dokuların protein içeriği ise Lowry yöntemi (83) kullanılarak ölçüldü. Doku karbonil düzeyi protein miktarına oranlanarak birimlendirildi. (nmol/ mg protein)

### **İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel analizler SPSS 10,0 paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırılırken Student T testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Bu çalışma 17–20 Nisan 2007 tarihleri arasında 20 adet 2–5 günlük yenidoğan Wistar türü sıçan kullanılarak GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği tarafından gerçekleştirildi.

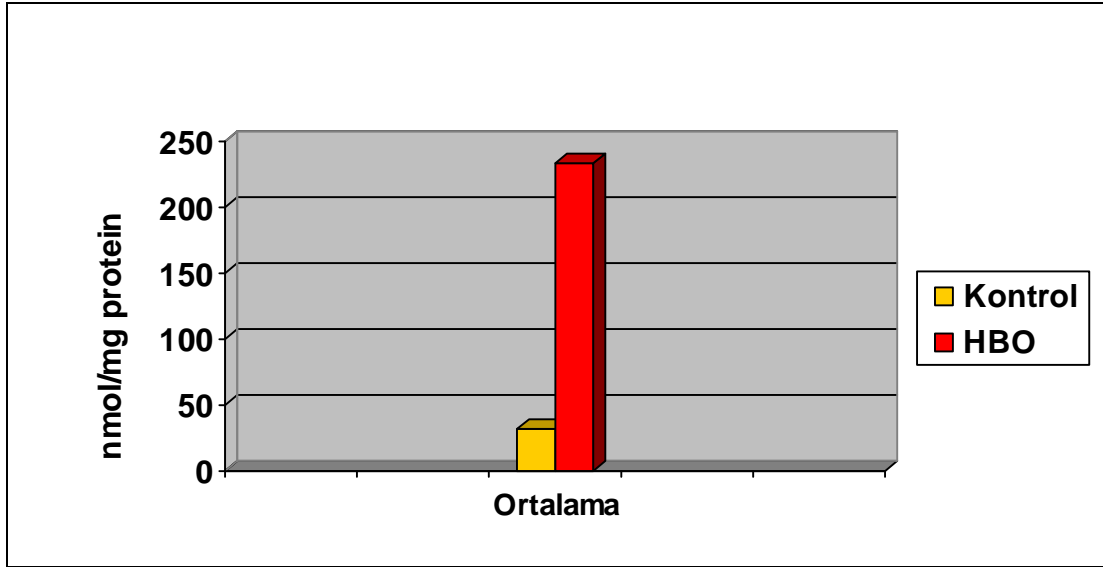
Deneyisel olarak NEK oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğinin araştırılması için protein karbonilasyon yöntemi ile oksidatif stres (serbest oksijen radikalleri), tünel boyama yöntemi ile apoptozis (doku hasarı) değerlendirildi.

Kontrol grubunda ortalama protein karbonil değeri 32,20 ( $\pm$ 16,93) nmol/ mg proteinken, HBO tedavisi verilen grupta 233,25 ( $\pm$ 181,06) nmol/mg protein olarak bulundu.

Protein karbonilasyon yöntemi ile saptanan oksidatif stres (serbest oksijen radikalleri), kontrol grubu ile HBO tedavisi verilen grup arasında belirgin farklıydı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,01$ ).

**Tablo 4. 1 Protein Karbonilasyonu (nmol/mg protein)**

Gruplar	n	En düşük	En yüksek	Ortalama	Std sapma
Kontrol	10	17,50	68,74	32,20	16,93
HBO tedavisi	10	62,54	664,68	233,25	181,06



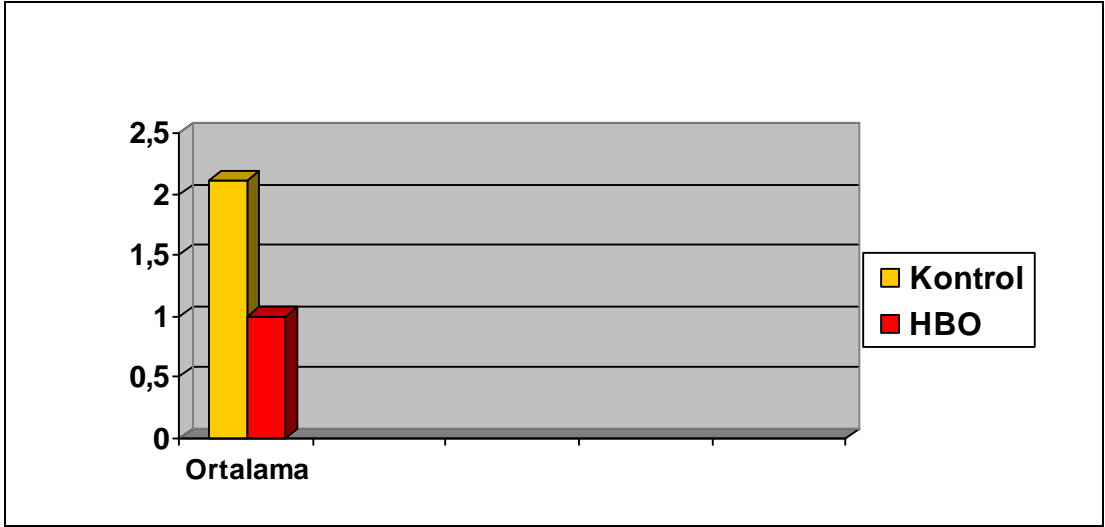
**Şekil 4. 1: Protein karbonilasyonu**

Kontrol grubunda ortalama apoptozis skoru 2,1 ( $\pm 0,6$ ), HBO tedavisi verilen grupta 1 ( $\pm 0,7$ ) olarak bulundu.

Doku hasarını belirlemek amacıyla histopatolojik kesitlere yapılan TUNEL boyaması ile apoptozis skorlandı. Apoptozis skorlamasına göre kontrol grubu ile HBO tedavisi verilen grup arasındaki fark belirgindi. İstatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,003$ ).

**Tablo 4. 2 Apoptozis Skorlaması**

Gruplar	n	Ortalama	Std sapma
Kontrol	10	2,1	0,6
HBO tedavisi	10	1,0	0,7



Şekil 4. 1 Apoptozis skorlaması

## TARTIŞMA

Nekrotizan enterokolitin başlamasında tetiği çeken üç önemli faktör hipoksi, hipertonic mamalarla erken enteral beslenme ve enfeksiyondur ancak faktörlerin ulaştığı ortak yol intestinal iskemidir (1). İskemi sonrası gelişen reperfüzyon evresinde, yapımı artan serbest oksijen radikalleri, tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF-alfa), trombosit aktive edici faktör (PAF), IL-1, IL-3, IL-6 gibi inflamatuvar mediatörlerin intestinal mukozal zedelenmeyi daha da arttırarak ülserasyon ve nekroz oluşturdıkları düşünülmektedir (21-27).

Hiperbarik oksijen tedavisi kapalı bir basınç odasında, 1 atmosferden (1 ATA= Absolu Atmosfer = 760 mmHg ) daha yüksek basınç altında oksijen solutmak suretiyle uygulanan bir tedavi yöntemidir (70).

Yaralanmış doku hipoksiktir; parsiyel oksijen basıncı 5-15 mmHg'ye ve hatta daha düşük değerlere kadar düşebilir. Oysa yara iyileşmesi için gerekli kollajenin fibroblastlarca sentezlenmesi için minimum 30-40 mmHg parsiyel oksijen basıncı gereklidir. HB0 ile doku oksijen parsiyel basıncının artırılması, fibroblastik aktivite artışı ve kollajen matriks birikimine yol açar. Angioneogenez ise hipoksi ile uyarılır. Böylece günde 1-4 saat süreyle uygulanacak hiperbarik oksijen kollajen matriks birimini sağlarken geri kalan sürede de hipoksinin angiogenezisi uyarıcı etkisi vasküler proliferasyonun gelişimine katkıda bulunur (74, 76, 77).

Tek hücreli mikroorganizmalar özellikle bakteriler, hiperoksiye bifazik cevap verirler. 1 ATA'da % 100 oksijenli ortamda E.Coli, P.auroginosa, S.aureus gibi aerob bakterilerin gelişmeleri hızlıdır. Fakat 1,3 ATA üzerinde oksijen inhibisyon yapar (78).

Oksijen-NADPH oksidaz sistemi temel mikrobisidal sistemdir. Fagositoz düşük oksijen parsiyel basıncından etkilenmese de oksidatif patlama ile bakterilerin öldürülmesi dokudaki oksijen basıncına bağlıdır. HB0 hipoksik ve infekte dokulardaki oksijen basıncını nötrofillerin bakterileri öldürebileceği seviyeye kadar yükseltir (72, 79).

HBO bakteriostatik ve bakteriyositik özelliğini, serbest oksijen radikalleri aracılığı ile göstermektedir. Serbest oksijen radikalleri membran lipid ve proteinlerini okside edip, DNA'ya hasar vererek mikroorganizmanın büyümesi için temel metabolik fonksiyonları inhibe ederler. Serbest radikaller ve reaktif oksijen ürünleri oluşumunu artıran HBO, antioksidan savunma sistemleri olmayan veya sınırlı olan bazı mikroorganizmaların hızla ortadan kaldırılmasını sağlar. Anaerobların serbest radikallere ve diğer oksidanlara karşı savunma mekanizmaları olmadığından, oksijenin öldürücü etkisine duyarlıdır. Hiperbarik oksijen infekte ve nekrotik dokulardaki doku onarımı ve rejenerasyonu düzenleyerek, enfeksiyonun progresyonunu indirek olarak etkileyebilir (74, 78 ). Antibakteriyal ajan olarak seçici değildir. Gram negatifler kadar gram pozitif bakterileride etkileyen, spektrumu geniş bir ilaç olarak düşünülebilir.

Çalışmamızda deneysel NEK oluşturabilmek için Okur ve arkadaşlarının (84) tarif ettiği hipoksi reoksijenizasyon modelini kullandık. Bu modelle kontrol grubunda da NEK olduğu görüldü. Kontrol grubunda, TUNEL yöntemi ile yaptığımız apoptozis skorlamasına göre HBO tedavisi verilen gruba göre artmış doku hasarı gördük. (p=0,003)

Nekrotizan enterokolitin tedavisi medikal ve cerrahidir. Mortalitesi %10–50 arasında değişmekle birlikte son yıllarda erken tanı, ciddi takip ve tedavi ile bu rakamın %28'lere indirilebildiğini belirten merkezler de vardır (8–12) .Bu yüksek oranlar hastalığın halen etkin bir tedavisi olmadığını yansıtmamaktadır.

Nekrotizan enterokolit tedavisinde deneysel olarak birçok farklı tedavi yöntemi denenmiştir. Clark ve arkadaşları(85), erken enteral beslenme ile NEK oluşturdukları yenidoğan sıçanlarda yaptıkları çalışmada, Epidermal growth faktörünün intestinal apoptozisi azaltarak doku hasarını karşı koruyucu etki yaptığını göstermişlerdir. Canpolat ve arkadaşları(86), yenidoğan sıçanlarda hipoksi reoksijenizasyon yöntemi ile NEK oluşturdukları çalışmalarında, rekombinant insan granülosit koloni uyarıcı faktörünün, intestinal apoptozisi azaltarak doku hasarına karşı koruyucu etki yaptığını göstermişlerdir. Bu iki çalışmada farklı tedavi yöntemleri kullanılmasına

rağmen intestinal apoptoziste azalma görülmüştür. Bu çalışmalar bize HBO tedavisinin intestinal apoptozisi azaltarak NEK' in tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürdü.

HBO' nin yara iyileşmesi ve enfeksiyon üzerindeki olumlu etkisinin birçok çalışmada gösterilmesi, bize NEK tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürdü. İngilizce ve Türkçe literatürde hiç karşılaşmadığımız deneysel olarak NEK oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğinin değerlendirmeyi amaçladık (72, 74, 76, 77, 78, 79 ).

Sasaki ve arkadaşlarının (87) yaptığı bir çalışmada oksidatif stresin sıçan myokardiyumunda doku hasarını azalttığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda HBO tedavisi verilen grupta protein karbonilasyon yöntemi oksidatif stresin belirgin arttığı gösterildi. Ancak HBO tedavisi verdiğimiz grupta doku hasarının kontrol grubuna göre daha az olduğunu TUNEL yöntemi ile yaptığımız apoptozis değerlendirmesinde saptadık. Bu sonuç, bize Sasaki ve arkadaşlarının (87) çalışmasının sonuçlarının bizim çalışmamızın sonuçları paralel olduğunu düşündürdü.

Benzeri bir çalışmada Kabaroğlu ve arkadaşları (88) farelerde hipoksi reoksijenizasyon ile intestinal hasar oluşturmuş ve serbest oksijen radikal düzeylerini ölçerek oksidatif stresi değerlendirmişler. Sonuçta intestinal hasar oluşumunda serbest oksijen radikal artışının rolü olduğu görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda, HBO tedavisi verdiğimiz grupta protein karbonilasyon yöntemi ile oksidatif stresin arttığını göstermemize rağmen TUNEL yöntemi ile doku hasarının kontrol grubuna göre belirgin daha az olduğunu saptadık. Bu karşıtlık bize oksidatif stresin belirli bir düzeye kadar doku üzerinde koruyucu etki yaptığını belirli bir düzeyin üzerinde ise doku hasarını artırdığını düşündürdü. Ancak bu konuda yeterli veri olmadığını, daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Özen ve arkadaşlarının (89), hipoksi reoksijenizasyon ile NEK oluşturup Insulin like growth faktör-1 ile tedavi ettikleri genç farelerde yaptıkları bir çalışmada, intestinal apoptozis oluşumunda serbest oksijen radikallerinin rolü olduğunu saptamışlardır. Ancak bizim çalışmamızda ise oksidatif stresin intestinal apoptozisi azalttığını gördük. Bu durum hipoksi

oluşturulurken kullanılan yöntem farklılığından kaynaklanabilir. Özen ve arkadaşlarının çalışmasında fareler 60 dakika süreyle hipoksiye maruz kalırken bizim çalışmamızda hipoksiye maruziyet süresi 15 dakikaydı. Bu durumda ortaya çıkan serbest oksijen radikali miktarı farklı olabilir, oluşan oksidatif stres düzeyine bağlı olarak doku hasarı düzeyi de değişebilir.

Sonuç olarak deneysel olarak NEK oluşturduğumuz yenidoğan sıçanlarda yeni bir tedavi yöntemi olarak denediğimiz hiperbarik oksijenin intestinal hasarı azaltmada etkili bir yöntem olduğunu düşünmekteyiz ancak NEK tedavisinde hiperbarik oksijenin etkinliğini gösterecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada deneysel olarak NEK oluşturulmuş yenidoğan sıçanlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Kontrol grubu ve hiperbarik oksijen tedavisi verilen grup oksidatif stres ve doku hasarı yönünden karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

**1.** Protein karbonilasyon yöntemi ile saptanan oksidatif stres, kontrol grubu ile HBO tedavisi verilen grup arasında belirgin farklıydı. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.( $p=0,01$ ) Kontrol grubunda ortalama protein karbonil değeri 32,20 ( $\pm 16,93$ ) nmol/ mg proteinken, HBO tedavisi verilen grupta 233,25 ( $\pm 181,06$ ) nmol/mg protein olarak bulundu.

**2.** Doku hasarını belirlemek amacıyla histopatolojik kesitlere yapılan TUNEL boyaması ile apoptozis skorlandı. Apoptozis skorlamasına göre kontrol grubu ile HBO tedavisi verilen grup arasındaki fark belirgindi. İstatistiksel olarak anlamlıydı.( $p=0,003$ ) Kontrol grubunda ortalama apoptozis skoru 2,1 ( $\pm 0,6$ ), HBO tedavisi verilen grupta 1 ( $\pm 0,7$ ) olarak bulundu

**3.** Bizim çalışmamızda HBO tedavisi verilen grupta protein karbonilasyon yöntemi ile oksidatif stresin belirgin arttığı gösterildi. Ancak HBO tedavisi verdiğimiz grupta doku hasarının kontrol grubuna göre daha az olduğunu TUNEL yöntemi ile yaptığımız apoptozis değerlendirmesinde saptadık. Bu karşıtlık bize oksidatif stresin belirli bir düzeye kadar doku üzerinde koruyucu etki yaptığını belirli bir düzeyin üzerinde ise doku hasarını artırdığını düşündürdü. Ancak bu konuda yeterli veri olmadığını, daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak deneysel olarak NEK oluşturduğumuz yenidoğan sıçanlarda yeni bir tedavi yöntemi olarak denediğimiz hiperbarik oksijenin intestinal hasarı azaltmada etkili bir yöntem olduğunu düşünmekteyiz ancak NEK tedavisinde hiperbarik oksijenin etkinliğini gösterecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- 1- Oygür N. Nekrotizan Enterokolit. Yurdakök M, Erdem G (eds). Neonato loji 2. Baskı. Alp Ofset I. 2004.p.552–6.
- 2- Jane S Lee, Richard A Polin. Treatment and prevention of necrotizing enteocolitis. Seminars in Neonatology 2003;8.449–59.
- 3- Dimmit R.A., Lawrance R. Clinical management of necrotizing enterocolitis. American Academy of Pediatrics 2001;2.110–7.
- 4- The Canadian Neonatal Network. Variations in Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Canadian Neonatal Intensive Care Units. Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition 2004;39:366–72.
- 5- Henry M.C., Moss R.L. Current issues in the management of necrotizing enterocolitis. Semin Perinatol 2004;28.221–33.
- 6- Maayan-Metzger A, Itzchak A, Mazkereth R, Kuint J. Necrotizing enterocolitis in full-term infants: case-control study and review of the literature. J Perinatol 2004;24.494–9.
- 7- Wilson R, Kanto W.P Jr, McCarthy B.J., Burton T, Lewin P, Terry J, Feldman R.A. Epidemiologic characteristics of necrotizing enterocolitis: a population-based study. Am J Epidemiol 1981;114:880–7.
- 8- Vanderhoof J.A., Zach T.L., Adrian T.E. Gastrointestinal disease. In: Avery G.B, Fletcher M.A. MacDonald M.G (eds). Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn. 5nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins;1999.p.739–63
- 9- Hartman G.E., Boyajian M.J., Choi S.S et al. General surgery. In: Avery G.B., Fletcher M.A., MacDonald M.G (eds). Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn. 5nd edition.

- Philadelphia:Lippincott Williams and Wilkins;1999.p.1005-44.
- 10-Kaul A, Balistreri W.F. Necrotising enterocolitis. In: Fanaroff A.A., Martin R.J (eds). Neonatal-Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Infant. 7th edition. St. Louis: Mosby 2002.p.1297–1307.
- 11-Newell S.J. Gastrointestinal disorders. In: Rennie J.M., Robertson N.R.C (eds).Textbook of Neonatology. 3rd edition. Edinburg: Churchill Livingstone; 1999.p.744–93.
- 12-Hebra A, Ross II A.J. Necrotizing enterocolitis. In: Spitzer AR (eds). Intensive Care of the Fetus and Neonate. St. Louis: Mosby; 1996.p. 865-74.
- 13-Stoll B.J., Kanto W.P Jr, Glass R.I., Nahmias A.J, Brann A.W Jr. Epidemiology of necrotizing enterocolitis: a case control study. J Pediatr 1980;96.447 -51.
- 14-Lianos A.R., Moss M.E., Pinzon M.C., Dye T, Sinkin R.A., Kendig J.W. Epidemiology of neonatal necrotising enterocolitis: a population-based study. Paediatr Perinat Epidemiol 2002;16.342–9.
- 15-Pickler R.H., Terrell B.V. Nonnutritive sucking and necrotizing enterocolitis. Neonatal Netw 1994;13.15–8.
- 16-Rowe M.I., Reblock K.K., Kurkchubasche A.G., Healey P.J. Necrotizing enterocolitis in the extremely low birth weight infant. J Pediatr Surg 1994;29.987–90.
- 17-Uauy R.D., Fanaroff A.A., Korones S.B., Phillips E.A., Phillips J.B., Wright L.L. Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: biodemographic and clinical correlates. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. J Pediatr 1991;

119:630–8.

- 18- Neu J. Necrotizing enterocolitis: the search for a unifying pathogenetic theory leading to prevention. *Pediatr Clin North Am* 1996;43:409–32.
- 19- Ledbetter D.J., Juul S.E. Necrotizing enterocolitis and hemotopoietic cytokines. *Clin Perinatol* 2000;27:697–716.
- 20-Covert R.F., Neu J, Elliott M.J et al. Factors associated with age of onset of necrotizing enterocolitis. *Am J Perinatol* 1989;6:455–60.
- 21-Ford H.R., Sorrells D.L., Knisely A.S. Inflammatory cytokines, nitric oxide and necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 1996;5:155-9.
- 22-Gonzalez-Crussi F, Hsueh W. Experimental model of ischemic bowel necrosis. The role of platelet-activating factor and endotoxin. *Am J Pathol* 1983;112:127–35.
- 23-MacKendrick W, Hill N, Hsueh W, Caplan M. Increase in platelet-activating factor levels in enterally fed preterm infants. *Biol Neonate* 1993;64:89–95.
- 24-Claud E.C., Walker W.A. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *Fa seb J* 2001;15:1398–1403.
- 25-Hsueh W, Caplan M.S., Tan X et al. Necrotizing enterocolitis of the newborn: pathogenetic concepts in perspective. *Pediatr Dev Pathol* 1998;1:2–16.
- 26-Edelson M.B., Bagwell C.E., Rozycki H.J. Circulating pro and counterinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 1999;103:766–71.
- 27-Ng P.C., Li K, Wong R.P et al. Proinflammatory cytokine responses in

preterm infants with systemic infections. Arch Dis Child Fetal Neonatal

Ed 2003;88:209–13.

28-Stoll B.J. Epidemiology of necrotizing enterocolitis. Clin Perinatol

1994;21: 205–18.

29-Lucas A, Cole T. J. Breast milk and neonatal necrotizing enterocolitis.

Lancet 1990;336:1519–23.

30-Updegrave K. Necrotizing enterocolitis: the evidence for use of human

milk in prevention and treatment. J Hum Lact 2004;20:335–9.

31-Minekawa R, Takeda T, Sakata M, Hayashi M, Isobe A, Yamamoto T,

Tasaka K, Murata Y. Human breast milk suppresses the transcriptional regulation of IL-1 beta-induced NF-kappaB signaling in

human intestinal cells. Am J Physiol Cell Physiol 2004;287:1404–11.

32-Reber K.M., Nankervis C.A.. Necrotizing enterocolitis: preventative strategies.

Clin Perinatol 2004;3:157–67.

33-Lee J.S., Polin R.A. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. Semin Neonatol. 2003;8:449–59.

34-Claud E.C., Savidge T, Walker W.A. Modulation of human intestinal

epithelial cell IL-8 secretion by human milk factors. Pediatr

Res

2003;53:419–25.

35-McGuire W, Anthony M.Y. Donor human milk versus formula for

preventing necrotising enterocolitis in preterm infants: systematic

review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2003;88:11–4.

36-Raghuveer T.S., McGuire E.M., Martin S.M., Wagner B.A., Rebouche

C.J., Buettner G.R., Widness J.A. Lactoferrin in the preterm infants'

diet attenuates iron-induced oxidation products. *Pediatr Res*

2002;52:964–72.

37-Caplan M.S., Miller-Catchpole R, Kaup S, Russell T, Lickerman M,

Amer M, Xiao Y, Thomson R Jr. Bifidobacterial supplementation

reduces the incidence of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat

model. *Gastro enterology* 1999;117:577–83.

38-Carrion V, Egan E.A. Prevention of neonatal necrotizing enterocolitis.

*J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11:317–23.

39-Caplan M.S., Jilling T. The Pathophysiology of Necrotizing

Enterocolitis. *American Academy of Pediatrics* 2001;2:103–9.

40-Kosloske A.M. Epidemiology of necrotizing enterocolitis. *Acta Pediatr*

1994;396:2–7.

41-Van Camp J.M., Tomaselli V, Coran A.G. Bacterial translocation in the

neonate. *Curr Opin Pediatr* 1994;6:327–33.

42-Caplan M.S., Hedlund E, Adler L, Hsueh W. Role of asphyxia and

feeding in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *Pediatr*

*Pathol* 1994;14:1017–28.

43-Grosfeld J.L., Chaet M, Molinari F, Engle W, Engum SA, West KW,

Rescorla F.J., Scherer L.R 3rd. Increased risk of necrotizing enterocolitis in premature infants with patent ductus arteriosus treated with indomethacin. *Ann Surg* 1996;224:350–5.

44-Tatli M.M., Kumral A, Duman N, Demir K, Gurcu O, Ozkan H. Spon

taneous intestinal perforation after oral ibuprofen treatment of patent

ductus arteriosus in two very-low-birthweight infants. *Acta Paediatr*

2004;93:999-1001.

45-Hanna N, Graboski S, Laskin D.L., Weinberger B. Effects of Ibuprofen

and Hypoxia on Neutrophil Apoptosis in Neonates. *Biol Neonate*

2004;86:235- 9.

46-Sehdev H.M., Abbasi S, Robertson P, Fisher L, Marchiano

D.A.,

Gerdes J.S. The effects of the time interval from antenatal corticosteroid exposure To delivery on neonatal outcome of very low

birth weight infants. Am J Obstet Gynecol 2004;191:1409–13.

47-Bar-Lev M.R., Maayan-Metzger A, Matok I, Heyman Z, Sivan E, Kuint

J. Short-term outcomes in low birth weight infants following antenatal

exposure to betamethasone versus dexamethasone. Obstet Gynecol

2004;104:484–8

48-Smrcek J.M., Schwartau N, Kohl M, Berg C, Geipel A, Krapp M,

Diedrich K, Ludwig M. Antenatal corticosteroid therapy in premature

infants. Arch Gynecol Obstet 2004 Aug 10 [Epub ahead of print].

49-Wang Y.J., Shian W.J., Chang W.T., Chen H.C., Chi C.S. Clinical

observation of neonatal gastrointestinal perforation. Zhonghua Yi Xue

Za Zhi (Taipei) 1994;53:215-9.

50-Musemeche C, Caplan M, Hsueh W, Sun X, Kelly A. Experimental.

necrotizing enterocolitis: the role of polymorphonuclear neutrophils. J

Pediatr Surg 1991;26:1047-50

51-Hutter J.J Jr, Hathaway W.E., Wayne E.R. Hematologic abnormalities

in severe neonatal necrotizing enterocolitis. J Pediatr 1976;88:1026-

31.

52-Kleigman R.M., Fanaroff A.A. Necrotizing enterocolitis. N Engl J Med

1984;310:1093-103.

53-Uauy R.D., Fanaroff A.A., Korones S.B et al. Necrotizing enterocolitis

in very low birth weight infants: biodemographic and clinical

correlates. National Institute of Child Health and Human

Development Neonatal Research Network. J Pediatr

1991;119:630–8.

54-Morrison S.C., Reid J.R., Harrison M, Golz S. Systemic arterial

pneumatosis in a neonate with necrotizing enterocolitis.

Pediatr Radiol 2004;34:337 -9.

55-Hormann M, Pumberger W, Puig S, Kreuzer S, Metz V.M. Necrotizing

enterocolitis NEC in the newborn Radiologe 2000;40:58–62.

56-Pickworth F.E., Franklin K. Case report: ultrasound diagnosis of

unexpected necrotizing enterocolitis. Clin Radiol 1994;49:649-51.

57-Barr L.L. Sonography in the infant with acute abdominal symptoms.

Semin Ultrasound CT MR 1994;15:275-89.

58-Bell M.J., Ternberg J.L., Feigin RD, Keating J.P., Marshall R, Barton

L, Brot herton T. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic

decisions based upon clinical staging. Ann Surg 1978;187:1-7.

59-Walsh M.C., Kliegman R.M. Necrotizing enterocolitis: treatment

based on staging criteria. Ped Clin North Am 1986;33:179-201.

60-<http://www.neonatology.org/syllabus/nec.html>

61-Foglia R.P. Necrotizing enterocolitis. Curr Probl Surg 1995;32:757-

823. 62. Cass DL, Wesson DE. Advances in fetal and neonatal

surgery for gast rointestinal anomalies and disease. Clin Perinatol

2002;29:23-39.

63-Butter A, Flageole H, Laberge J.M. The changing face of surgical in

dications for necrotizing enterocolitis. J Pediatr Surg 2002;37:49

64- Pierro A, Hall N. Surgical treatments of infants with necrotizing en

terocolitis. Semin Neonato. 2003;8:223-32.

65-Michel J.L., Harper L, Alessandri J.L., Jacquemot L, De Napoli-Cocci

S, Pilorget H, Samperiz S. Peritoneal needie suction for intestinal per

foration in the preterm neonate. Peritoneal needie suction for intes

tinal perforation in the preterm neonate. Eur J Pediatr Surg 2004;14:85–8.

66-Sharma R, TepasJ.J 3rd, Mollitt D.L., Pieper P, Wludyka P. Surgical

management of bowel perforations and outcome in very low-birth-

weight infants (or =1,200 g). J Pediatr Surg 2004;39:190–4.

67-Gollin G, Abarbanell A, Baerg J.E. Peritoneal drainage as definitive

management of intestinal perforation in extremely low-birth-weight

infants. Pediatr Surg. 2003;38:1814-7.

68-Demestre X, Ginovart G, Figueras-Aloy J, Porta R, Krauel X, Garcia-Alix A, Raspall F. Peritoneal drainage as primary management İn necrotizing enterocolitis: a prospective study.

Pediatr Surg 2002;37:1534-9.

69-Noble H.G., Driessnack M. Bedside peritoneal drainage in very low

birth weight infants. Am J Surg 2001;181:416-9.

70-Çimşit M : Hiperbarik oksijenin kullanım alanları, Tıbbi Ekoloji klimatoloji Dergisi, Hiiperbarik Oksijenasyon özel sayısı, Cilt:2,

Sayı:1, 8-15, 1984

71-Hammerlund C: The physiologic effects of hyperbaric oxygen, In:

Hyperbaric Medicine Practice Ed: Kindwall E., Best Publishing

Company., 17-32, Arizona 1995.

72-Grim P.S., Gottlieb L.J. , Boddie A , Baston E : Hyperbaric Oxygen Therapy. Jama. Vol 263, No: 16, 2216–2220, 1990.

73-Jensen J.A., Hunt T..K., Scheuentuhl H et al.: Effect of lactate,

pyruvate and pH on secretion of angiogenesis and mitogenesis

factors by macrophages. Lab. Invest 54:574-578, 1986.

74-Mader J.T: Hyperbaric Oxygen Therapy: A Committee Report.

Bethesda, Md: Undersea and Hyperbaric Medical Society; 1989.

75-Nachum Z, Reissman P, Dolberg S, Melamed Y: Hyperbaric

Oxygen for purpura fulminans. Proceedings of the 15<sup>th</sup> Meeting of

the E.U.B.S. Ed: Bitterman N., Lincoln N , 251-257, Eilat 1989.

76-Çimşit M: Hiperbarik Oksijen Tedavisi. Sendrom. Yıl: 2, Sayı: 6, 67-

69, 1990.

77-Hunt T.K., Niinikoski J, Zederfeldt B.H., Silver I. A :Oxygen in

Wound Healing Enhancement: Cellular effect of oxygen,

Hyperbaric oxygen therapy, Ed: Davis J.C, Hunt T. K,  
Undersea

Medical Society Inc, 111–122, Maryland 1977.

78-Park M.K., Muhvich K.H., Myers R.A., Marzella R : Effects  
of

Hyperbaric oxygen in infectious Diseases: Basic  
Mechanisms.

Hyperbaric Medicine Practice, Ed: Kindwall E. P, Best  
Publishing Company, 141–171, Arizona 1995.

79-Ramachandran G.N: Stereochemistry of collagen.  
International

Journal of peptide and protein research 1988; 31:1–16.

80-Meyers R.A. M., Thom S.R: Carbon monoxide and cyanide  
poisoning. In: Hyperbaric Medicine Practice Ed: Kindwal E,  
Best

Publishing Company.343-372, Arizona 1995

81-Intestinal epithelial apoptosis initiates gross bowel necrosis  
in an

experimental rat model of neonatal necrotizing enterocolitis.  
Jilling T,

Lu J, Jackson M, Caplan M.S. Pediatr Res. 2004  
Apr;55(4):622–9.

Epub 2004 Feb 5.

82-LevineR.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I.,  
Lenz A.G.,

Ahn B.W., Shaltiel S., Stantman E.R. (1990). Determination  
of

carbonyl content in oxidatively modified proteins. In Methods  
in

Enzymology, V 186, Oxygen radicals in biological systems  
(Packer  
L., and Glazer A.N., Eds.), pp464-478 Academic Press,  
California

83-Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.,  
Protein  
Measurement with the Folin-Phenol Reagent. J.Biol.Chem.,  
193,  
265-275, 1951.

84- Okur H, Küçükaydın N, Köse K et al (1995) Hypoxia-  
induced  
Necrotizing enterocolitis in the immature rat: the role of  
lipid  
peroxidation and management by vitamin E. J Pediatr Surg  
30:1416–1419

85-Clark, J.A., Lane R.H., MacLennan, N.K. Epidermal growth  
factor  
reduces intestinal apoptosis in an experimental model of  
necrotizing enterocolitis. Am J Physiol Gastrointest Liver  
Physiol.  
2005 Apr, 288(4):G755-62.

86-Canpolat F.E., Yurdakok M, Korkmaz A, Yigit S, Tekinalp G  
(2006)  
Enteral granulocyte colony-stimulating factor for the  
treatment of  
mild (stage I) necrotizing enterocolitis: a placebo-controlled  
pilot  
study. J Pediatr Surg 41:1134–1138

87-Sasaki H., Partha L.Z., Galang N., Maulik N. Oxidative  
stress due  
to hypoxia/ reoxygenation induces angiogenic factor VEGF  
in adult

rat myocardium: possible role of NFkB. Toxicology 155 (2000) 27

88-Kabaroğlu C., Akisu M., Habif S., Mutaf I., Turgan N. Effectst of L-

Arginin and L- carnitine in hypoxia/reoxygenation–induced intestinal injury. Pediatr Int. 2005 Feb; 47(1):10-4.

89-Ozen S., Akisu M., Baka M., Yalaz M. Insulin-like growth factor

Attenuates apoptosis and mucosal damage in hypoxia/ reoxygenation-induced intestinal injury. Biol Neonate. 2005; 87(2):91-6