

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL HEPATİK ENSEFALOPATİ  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA SACCHAROMYCES  
BOULARDİİ KULLANIMI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. YÜKSEL IŞIK  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. ÜNSAL ÖZGEN**

**MALATYA-2006**

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL HEPATİK ENSEFALOPATİ  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA SACCHAROMYCES  
BOULARDİİ KULLANIMI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. YÜKSEL IŞIK  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. ÜNSAL ÖZGEN**

**Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından  
2005-16 proje numarası ile desteklenmiştir.**

# İÇİNDEKİLER

Tablolar ve Şekiller Dizini.....	II
Kısaltmalar Dizini.....	IV
Giriş ve Amaç .....	1
Genel Bilgiler.....	3
Hepatik Ensefalopati.....	3
• Tanımlar	
• Klinik Bulgular	
• Tanı	
• Patogenez	
• Tedavi	
Bakteri Göçü.....	17
Saccharomyces boulardii.....	20
Gereç ve Yöntem.....	23
Bulgular.....	32
Tartışma.....	49
Sonuç ve Öneriler.....	57
Özet.....	58
Summary.....	60
Kaynaklar ve Ekler .....	62

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> Hepatik ensefalopati evreleme sistemi.....	6
<b>Tablo 2:</b> Hepatik ensefalopatiyi kolaylaştırıcı nedenler.....	13
<b>Tablo 3:</b> Bakteri göçüne neden olan faktörler.....	17
<b>Tablo 4 :</b> Sıçanlarda nörolojik muayene değerlendirilmesinde kullanılan davranışsal refleksler.....	24
<b>Tablo 5 :</b> Sıçanların vücut ağırlıklarına göre gruplara dağılımı.....	32
<b>Tablo 6 :</b> Sıçanların ölüm zamanlarının gruplara dağılımı.....	33
<b>Tablo 7 :</b> Sıçanların mortalite ve hayatta kalma oranlarına göre gruplara dağılımı.....	34
<b>Tablo 8 :</b> Thioacetamide bağlı gelişen akut hepatik yetmezlikte 72 saat sonunda hepatik ensefalopati evrelerinin gruplara dağılımı.....	34
<b>Tablo 9 :</b> Hepatik ensefalopati evrelerinin gruplara dağılımı.....	35
<b>Tablo 10 :</b> Sıçanların thioacetamid uygulama öncesi ve çalışma sonu serum amonyak seviyelerine göre gruplara dağılımı.....	36
<b>Tablo 11 :</b> Sıçanların çalışma sonu serum amonyak seviyelerinin gruplara dağılımı.....	38

<b>Tablo 12</b> : Sıçanların thioacetamid uygulama öncesi ve çalışma sonu serum AST seviyelerine göre gruplara dağılımı.....	39
<b>Tablo 13</b> : Sıçanların çalışma sonu serum AST seviyelerinin gruplara dağılımı.....	40
<b>Tablo 14</b> : Sıçanların thioacetamid uygulama öncesi ve çalışma sonu serum ALT seviyelerine göre gruplara dağılımı.....	41
<b>Tablo 15</b> : Sıçanların çalışma sonu serum ALT seviyelerinin gruplara dağılımı.....	42
<b>Tablo 16</b> : İleum içeriği kültürlerinde üreyen bakterilerin ortalama koloni sayılarının gruplara dağılımı.....	43
<b>Tablo 17</b> : Bakteri göçü lokalizasyonunun ve oranlarının gruplara göre dağılımı.....	44
<b>Tablo 18</b> : Bakteri göç oranlarının gruplara dağılımı.....	46
<b>Tablo 19</b> : Bakteriyel göçte mikroorganizmaların ürettiği lokalizasyona göre oranları.	47
<b>Tablo 20</b> : Sıçanların karaciğer nekroz derecesine göre gruplara dağılımı.....	47
<b>Tablo 21</b> : Karaciğer nekroz derecesinin gruplara dağılımı.....	48

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1</b> : Normal karaciğer dokusu örneği.....	29
<b>Şekil 2</b> : Karaciğer dokusunda fokal nekroz örneği.....	29
<b>Şekil 3</b> : Karaciğer dokusunda zonal nekroz örneği.....	30
<b>Şekil 4</b> : Karaciğer dokusunda birleşen nekroz örneği.....	30
<b>Şekil 5</b> : Serum amonyak seviyelerinin gruplara dağılımı.....	37
<b>Şekil 6</b> : Serum AST seviyelerinin gruplara dağılımı.....	39
<b>Şekil 7</b> : Serum ALT seviyelerinin gruplara dağılımı.....	41
<b>Şekil 8</b> : Bakteri göç oranlarının gruplara dağılımı.....	45

## KISALTMALAR DİZİNİ

- **HE** : Hepatik ensefalopati
- **PSE** : Portal sistemik ensefalopati
- **FHY** : Fulminan hepatik yetmezlik
- **MSS** : Merkezi sinir sistemi
- **GABA** : Gamma amino butirik asit
- **DZAA** : Dallı zincirli aminoasitler
- **AAA** : Aromatik aminoasitler
- **MLN** : Mezenterik lenf nodu
- **sIgA** : Salgısal immünoglobulin A
- **TPN** : Total parenteral nutrisyon
- **SB** : Saccharomyces boulardii
- **TAA** : Thioacetamid
- **ALT** : Alanin aminotransferaz
- **AST** : Aspartat aminotransferaz
- **EMB** : Eosin Methylene Blue
- **MR-VP** : Metilret-Vogesproskover testi

## **GİRİŞ VE AMAÇ**

Hepatik ensefalopati (HE), akut veya kronik karaciğer hastalığı sonucu anormal bilinç durum gelişimi ile belirlenen nöropsikiyatrik bir durumdur. Başlıca bulguları davranış bozuklukları, bilinç değişikliği ve oryantasyon bozukluğudur. Hepatik ensefalopatinin oluş biçimi net olarak bilinmemekle birlikte, bağırsaktan geçen nitrojenin büyük rol oynadığı kabul edilmektedir. Özellikle amonyak patogeneizde önemli bir faktördür (1).

Hepatik ensefalopatide laktuloz tedavisi uzun süredir kullanılmaktadır. Laktuloz değişmeden kalın bağırsağa gelir ve orada kolon florasındaki mikroorganizmaların salgıladığı enzimlerle laktik asit ve asetik asite dönüşür. Kalın bağırsakta pH'nın düşmesi protein artıklarından amonyak oluşturan kolonik bakterilerin sayısını ve amonyağın emilimini azaltır. Laktulozun uzun süre kullanılması sonucu ishal ve elektrolit düzeylerinde dengesizlik görülebilir. Diğer bir tedavi seçeneği olan antibiyotikler; bağırsaktaki bakteriyel florayı etkileyerek amonyak oluşumunu azalttığı için HE tedavisinde kullanılır. Antibiyotikler işitme kaybı ve böbrek hasarı yapabilir (2-6).

Karaciğer retikuloendotelial sisteminin en önemli organıdır. Karaciğer hastalıklarında bağışıklığın zayıflaması, enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Sirozlu hastalarda %15-47 oranında enfeksiyon oluşabilir. Oluşan enfeksiyonlar karaciğer hastalıklarında HE oluşumunu kolaylaştırır ve mortaliteyi artırır. Karaciğer hastalarında enfeksiyon odağının çoğunlukla saptanamaması ve kan kültürlerinde bağırsak içi

mikroorganizmaların sık tespit edilmesi, enfeksiyon kaynağının hastaların kendi bağırsak mikroflorası olduğunu düşündürür (7-9).

Laktuloz ve antibiyotik tedavilerinin bağırsak florası üzerine etkileri istenen düzeyde değildir. Kullanılan tedaviler ile istenen sonuçların alınmaması HE tedavisinde yeni seçeneklerin araştırılmasını gerektirmiştir. Bağırsak mikroflorası üzerinde düzenleyici etkisi olan probiyotiklerin HE ve karaciğer hastalıklarında kullanımı gündeme gelmiştir. Probiyotikler bir çok etkilerinden dolayı HE tedavisinde kullanılabilir. Probiyotiklerin etki mekanizmaları; bakteriyel üreaz aktivitesinin azalması sonucu oluşturdukları asidik ortam ile amonyak emilimini azaltmaları, bağırsak epitelinin yeniden düzenlenmesini sağlayarak portal kanda amonyak seviyelerini düşürmeleri, toksin ve amonyağın artışı sonucu oluşan oksidatif stres ve inflamasyonu azaltmaları, toksinlerin bağırsaktan emilimini azaltmaları şeklinde özetlenebilir (10).

Deneysel HE’de probiyotik olarak *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* ve *Enterococ*’lar değişik çalışmalarda kullanılmış etkili oldukları görülmüştür (11).

Bir probiyotik olan *Saccharomyces boulardii* bağışıklık sistemini uyarır, patojen mikroorganizmaların çoğalmasını, toksinlerin bağırsaktaki reseptörlerine bağlanmasını engeller, bağırsak epitelinde laktaz, sukraz, maltaz etkisini artırır (12).

Hepatik ensefalopatide bağışıklığın zayıflaması, bağırsakta bakterilerin aşırı yoğunlaşması ve bağırsakta geçirgenliğin artması bakteriyel göçe sebep olmaktadır (9). Bu nedenle *Saccharomyces boulardii* HE tedavisinde etkili bir tedavi seçeneği olabilir.

Bu çalışmada, sıçanlarda thioacetamid ile oluşturulmuş hepatik ensefalopati modelinde bir probiyotik olan *Saccharomyces boulardii* tedavisinin klinik, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve histolojik etkilerinin laktuloz tedavisi ile karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlandı.



## GENEL BİLGİLER

### HEPATİK ENSEFALOPATİ

#### Tanımlar

*Hepatik Ensefalopati* : Akut, subakut veya kronik hepatoselüler yetmezliğin komplikasyonu olarak diğer sebepler dışlandıktan sonra ortaya çıkan, merkezi sinir sistemi (MSS) fonksiyonlarının yaygın baskılanması sonucu, kişilik değişikliği ve bilinç bulanıklığından derin komaya kadar uzanan nöropsikiyatrik semptomlarla karakterize, geriye döndürülebilen metabolik ensefalopatidir (1).

Altta yatan hastalıkların büyük farklılıklar göstermesi, klinik belirti ve bulguların geniş bir yelpazede yer alması HE için bir takım sınıflamaların ve tanımların yapılması gerekliliğini de beraberinde getirmiştir. Hepatik ensefalopati tanımının çok yönlü olması, hepatik yetmezliğin tipi ve süresi göz önüne alındığında ayrıca kendi içinde üçe ayrılmaktadır (1).

Tip A : Akut hepatik yetmezlik ile birlikte olan HE.

Tip B : İntrinsik hepatik hastalık olmaksızın portosistemik 'by-pass' ile birlikte olan HE.

Tip C : Kronik karaciğer hastalığı ile birlikte olan HE.

*Portal Sistemik Ensefalopati (PSE)* : Hepatik ensefalopati ile ilgili literatürlerde sıkça karşılaşılan terimlerden olmakla birlikte daha çok portal sistemik şantın artığı durumlarda gelişen nöropsikiyatrik değişiklikler için kullanılır. Ancak, şant gelişimi portal ven trombozunda olduğu gibi karaciğer parankim hastalığı olmadan da var olabilmektedir.

*Fulminan Hepatik Yetmezlik (FHY)* : Hepatoselüler yetmezliğin akut olarak oluştuğu ve toplam hastalık süresinin sekiz haftadan kısa olduğu durumlarda ortaya çıkan HE yerine kullanılmaktadır.

*Kronik HE veya Kronik PSE* : Portal-sistemik şantı belirginleşmiş kronik karaciğer parankim hastalarında görülen ensefalopatinin daha hafif, daha uzun süreli ve daha epizodik şekline verilen isimdir.

*Subklinik HE* : Kronik karaciğer parankim hastalığı olup belirgin davranışsal, nörolojik ve EEG değişiklikleri sergilemeyen fakat psikomotor testler ile anormal sonuçlar elde edilen hastalar için kullanılmaktadır. Bu değişiklikler de laktuloz, diyetle protein kısıtlaması gibi HE tedavisi için sıkça kullanılan yöntemlerle geri dönebilmektedir.

Hepatik ensefalopati iki değişik durumda gelişmektedir. Olay birkaç gün içinde ortaya çıkabilir. Burada olay hepatositlerin büyük kitlesel hasarı ve nekrozu sonucu organizmanın adeta aniden karaciğerden yoksun kalmasıdır. İkinci durumda olay çok daha uzun ve kronik karaciğer hastalığı zemininde gelişir. Burada olay, kanın hepatositlerin kontrolüne uğramadan genel dolaşıma ulaşmasıdır (13).

Hepatik ensefalopati nedenleri çok ve farklıdır. Hepatik ensefalopatinin nöropsikiyatrik bulguları altta yatan karaciğer hastalığı ile değişmez. Hepatik ensefalopati akut veya kronik karaciğer hastalığında görülebilir (13).

Hepatik ensefalopati ile beraber olan akut karaciğer yetmezliğine, fulminan karaciğer yetmezliği denir ve mortalite oranı yüksektir. Klinikte sık rastlanan durum ise dekompanse kronik karaciğer hastalığı seyrinde görülen HE'dir. Sirotik hastada akut HE, ileri derecede ikteri ve asiti olan karaciğer yedeği tamamen tükenmiş hastalarda

kendiliğinden gelişebileceği gibi en sık olarak kolaylaştırıcı bir etkenin tetiklemesi ile ortaya çıkar. En sık kolaylaştırıcı etkenler enfeksiyonlardır. Başta özofagus varis kanaması olmak üzere her türlü gastrointestinal sistem kanaması gerek hipovolemi, gerekse bağırsakta biriken kan proteinlerinden amonyak ve diğer toksik maddelerin üretilmesi sonucunda ensefalopatiye neden olan önemli kolaylaştırıcı etkidir. Diüretikler, kusma-ışhal, elektrolit dengesizliği hipotansiyon yapmaları ve karaciğer içi dolaşımı bozmaları nedeniyle HE oluşumunu kolaylaştırır. Aşırı parasentez de HE oluşumunu kolaylaştırır. Alkol hem beyin işlevlerini bozarak hem de alkolik hepatit nedeniyle HE oluşturabilir. Cerrahi girişimler, ilaçlar, aşırı protein alınması ve kabızlık HE oluşmasını kolaylaştıran diğer etkenlerdir (14).

Kronik HE çok nadir görülür, spontane oluşan şantlardan veya geniş portokaval şant ameliyatlarından sonra ortaya çıkar. Persistan veya epizodik HE atakları ile karakterizedir (14).

Toksin ve ilaçların karaciğer nekrozuna yol açarak FHY yapması hayvan modellerinin oluşturulmasında kullanılmıştır. Hayvan modellerinde fulminan hepatik yetmezlik oluşturulması yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesini kolaylaştırmıştır (15).

## **Klinik Bulgular**

Hepatik ensefalopatinin en erken fazı klinik deneylerle kolayca anlaşılabilir. Bazı vakalarda HE birden başlayabilir, buna rağmen genellikle HE tablosu yavaş başlar, başlangıçta anlaşılmayan davranış bozuklukları ile uyku düzeninin bozulması görülür. Bazı durumlarda hafif konfüzyon, öfori ya da depresyon gibi psikolojik bozukluklar gelişebilir. Daha sonra letarji, dezoryantasyon ortaya çıkabilir. Son olarak hastalarda koma gelişir (13, 16).

Hepatik ensefalopatinin erken evrelerinde komaya ilerleme, tedaviden bağımsız olarak kimi zaman saatler içinde gerçekleşebilirken, HE'nin herhangi bir evresindeyken sendromun duraklaması ve hatta gerilemesi de gözlenebilmektedir.

Hepatik ensefalopati, rutin klinik değerlendirmede nörolojik durum, mental ve nöromusküler fonksiyonlar esas alınarak dört ana evreye ayrılmaktadır. Evre 4 ağırlı

uyarana cevabın olup olmamasına göre ayrıca kendi içinde iki alt evreye ayrılabilir (17).

**Tablo 1:** Hepatik ensefalopati evreleme sistemi

<p>EVRE 0 : ( Subklinik )</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bilinç düzeyi : Normal</li><li>• Kişilik değişikliği : Yok</li><li>• Nörolojik bozukluk : Psikometrik testler dışında normal</li><li>• EEG değişikliği : Yok</li></ul>
<p>EVRE 1 :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bilinç düzeyi : Uyku düzeninde bozulma, husursuzluk</li><li>• Kişilik değişikliği : Unutkanlık, konfüzyon, ajitasyon</li><li>• Nörolojik bozukluk : Tremor, apraksi, koordinasyon bozukluğu</li><li>• EEG değişikliği : Yavaş 5 Hz frekansında trifazik dalgalar</li></ul>
<p>EVRE 2 :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bilinç düzeyi : Letarjik, tepkilerde yavaşlama</li><li>• Kişilik değişikliği : Zaman oryantasyon bozukluğu, uygunsuz davranışlar</li><li>• Nörolojik bozukluk : Asteriks, disartri, ataksi, DTR'lerde yavaşlama</li><li>• EEG değişikliği : Yavaş trifazik dalga örneği</li></ul>
<p>EVRE 3 :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bilinç düzeyi : Uykuya eğilim</li><li>• Kişilik değişikliği : Yer oryantasyon bozukluğu, agresyon</li><li>• Nörolojik bozukluk : Asteriks, DTR'lerde artış, Babinski işareti</li><li>• EEG değişikliği : Yavaş trifazik dalga örneği</li></ul>
<p>EVRE 4 :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Bilinç düzeyi : Koma</li><li>• Nörolojik bozukluk : Deserebre postür</li><li>• EEG değişikliği : Yavaş 2-3 Hz frekansında delta dalga aktivitesi</li></ul>

## Tanı

Hepatik ensefalopati tanısı koymada karaciğer hastalığının varlığının saptanması çok önemlidir. Anamnez ve fizik muayene bulguları önemli katkı sağlayabilir. Fizik muayenede splenomegali, sarılık, karında serbest asit, ödem, karın cildinde portal tipte kollateral dolaşımın görülmesi karaciğer hastalığını kuvvetle düşündürür. Bunlara ek olarak kronik karaciğer yetersizliğinin periferik bulguları olan palmar eritem, arteriyel örümcek, çomak parmak, tırnak değişiklikleri, kas kitlesinde azalma, sekonder cinsiyet

karakterlerinde gerileme ve jinekomasti tanıyı destekler. Fötor hepatikus hastanın soluğunda duyulan özel bir kokudur. Merkaptan türevlerinden dimetil disülfitin kokunun ana maddesi olduğu gösterilmiştir. Fötor hepatikus varlığı da HE tanısını kuvvetle destekler (18).

Hepatik ensefalopati tanısı koydurucu bir biyokimyasal test yoktur. Karaciğer testlerinin bozukluğu zemindeki karaciğer hastalığını göstermek bakımından yararlıdır ama normal bulunması HE tanısından uzaklaştırmaz. Plazma amonyak düzeyi yüksekliği tanı koydurucu olmamakla birlikte ayırıcı tanıda kullanılabilecek değerli bir testtir. Plazma amonyak düzeyi HE'li hastaların hemen hemen yüzde doksanında yüksek bulunur fakat plazma amonyak değerleri HE evreleri ile paralellik göstermez (14).

Sirozlu hastalarda subklinik HE %50-80 görülebilir ve bu hastalarda nörolojik muayene bulguları normaldir. Psikomotor performans testleri ile subklinik HE vakaları tanınabilir (19).

Hepatik ensefalopatide EEG'deki ana bulgular dalga frekansında ve alfa dalgası amplitüdünde azalma ve ileri dönemlerde paroksizmal trifazik dalgaların görülmesidir. Genelde HE evreleri ile EEG bulguları bağlantılıdır ama HE'nin EEG bulguları özgül değildir. Bilgisayarlı beyin tomografisi ve manyetik rezonans görüntülemesi ile HE'de beyindeki morfolojik değişiklikler ortaya konabilir, fakat bu bulgular özgül değildir. Hepatik ensefalopatide görsel, duysal ve somatosensorial evoke potansiyellerin tanısal önemi tartışmalıdır (20).

*Ayırıcı Tanı* : Hepatik ensefalopati düşünüldüğünde, öncelikle organik bir ensefalopati dışlanmalıdır, sonra metabolik ensefalopatiye yol açan diğer nedenlerin ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Karaciğer yetmezliğinden başka hipoglisemi, hiperglisemi, hiponatremi, üremi, hipotiroidi gibi durumlar metabolik komanın sık nedenlerindedir. Karaciğer hastalığı ile birlikte subdural hematom ve organik beyin sendromu bulunabilir. Aile anamnezi olan hastalarda hepato-lentiküler dejenerasyon (Wilson Hastalığı) ayırıcı tanıda düşünülmelidir (14).

## Patogenez

Merkezi sinir sisteminin fonksiyonlarını devam edebilmesi için normal işlev gösteren bir karaciğerin olması gerektiği bilinmektedir. Hepatik ensefalopatinin ise, karaciğerin yeterli işlev göstermemesi nedeniyle plazmadan uzaklaştırılamayan bir takım maddelerin, doğrudan veya dolaylı yollardan MSS'ni baskılaması sonucu ortaya çıkan bir sendrom olduğu düşünülmektedir. Patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte yapısal bozukluktan ziyade metabolik ve nörofizyolojik anormaliklere bağlı geliştiği konusunda fikir birliği vardır (21).

Patogenezi açıklamaya yönelik birçok hipotez ortaya atılmış olmasına rağmen bu hipotezlerden hiçbiri tek başına yeterli olmamakla birlikte ve deneysel olmaktan öteye gidememektedir. Sonuç olarak HE patogenezinde birden fazla etkene bağlı olması en büyük olasılıktır.

*a- Amonyak hipotezi* : Hepatik ensefalopati patogenezinde üzerinde en çok çalışma yapılmış etkenlerden birisi amonyaktır. Tedavide kullanılan neomisin, laktuloz gibi bir çok ajan kandaki amonyak düzeylerini düşürmek için kullanılır (22).

Amonyak karaciğerde üre ve glutamine parçalanır. Karaciğer yetmezliğinde ve/veya portakaval anastamoz varlığında karaciğerin amonyağı yıkıcı fonksiyonu gerçekleştiremez ve kanda amonyak düzeyi yükselir.

Vücuttaki amonyağın başlıca şu kaynaklardan oluştuğu düşünülmektedir:

- 1- Diyetteki proteinler ve azot ürünlerinin özellikle kolondaki bakterilerin etkisiyle parçalanması, açığa çıkan amonyağın bağırsaklardan emilmesi .
- 2- Diyetteki proteinlerin bağırsaklardan emilmesi, absorbe edilen glutaminin metabolik kullanımı.
- 3- Mide-bağırsak kanamaları nedeniyle bağırsaklarda bulunan kanın parçalanması.
- 4- Entero-hepatik dolaşıma giren ürenin bağırsaklarda bakteriyel üreaz aktivitesiyle amonyak, su ve karbondioksite parçalanması (toplam ürenin %25'i enterohepatik dolaşıma girer).

- 5- Kas yıkımı sonucu olarak serbest kalan aminoasitlerin metabolize olmasıyla açığa çıkan amonyak.

Amonyak yıkımı için kullanılan döngülerden en fazla önem taşıyanı üre döngüsü ile alfa keto-glutarattan; glutamat ve glutamattan glutamin meydana gelmesidir.

Amonyanın nörotoksik etkisini açıklamak amacı ile çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar;

- 1- Alfa keto-glutaratı Krebs döngüsünden alıp glutamin yoluna sokarak beyin enerji metabolizmasında bozukluğa yol açar.
- 2- Na-K-ATP-azı inhibe edip iyon taşıması ve aksiyon potansiyelini engelleyerek nöron hücre zarı üzerine doğrudan toksik etki yapar.
- 3- Post sinaptik düzeyde klor kanalları ile etkileşerek nöronların inhibisyon potansiyelinde düşme oluşturur.
- 4- Amonyak glutamattan glutamin sentezini artırır. Glutamat miktarında azalma nöronal uyarılarda baskılayıcı etkiyi artırır.
- 5- Amonyak kan-beyin bariyeri geçirgenliğini, beyin kan akımını ve glikoz metabolizmasını bozmaktadır.
- 6- Amonyak artışında antioksidan enzimlerin aktivitesinin azaldığı ve oksidatif stressin arttığı deneysel olarak gösterilmiş (22-24).

Amonyak HE'li hastaların %90'ında serumda ve aynı zamanda beyinde yüksek olarak bulunmuştur. Ancak komanın derecesi ne olursa olsun vakaların %10'unda amonyak düzeyleri normal sınırlar içindedir. Ayrıca serum amonyak düzeyi ile koma derecesinin paralellik göstermediği bilinmektedir (25).

Amonyanın astrositler üzerinde zararlı etkileri vardır. Amonyaya bağlı astrositlerdeki değişiklikler, Alzheimer type II astrosit benzeridir. Bu değişiklikler kromatin açığı ve hücre yüzeyinde genişleme olarak tanımlanmıştır (26).

**b- Glutamat hipotezi :** Glutamat beynin önemli uyarıcı nörotransmitteridir ve sinaptik aralıkta glutamat reseptörüne etki ederek uyarı oluşturur. Astrosit içinde glutamat sentetaz, glutamat ile amonyaktan glutamin oluşumunu sağlar. Amonyak artışı

glutamin birikimine ve glutamat azalmasına yol açar, böylece glutamat/glutamatın döngüsü olumsuz etkilenmiş olur ve HE'nin patogenezinde rol oynar (27).

Bu görüşleri destekleyen yayınların yanı sıra, bunun tersini belirten yayınlar da vardır. Butterworth ve arkadaşları (28) akut karaciğer yetmezliğinde beyin omurilik sıvısında (BOS) glutamat konsantrasyonlarını yüksek bulmuştur. Hücre içi serebral mikrodializ tekniği kullanılarak, hem sıçanlarda hem de tavşanlarda karaciğer yetersizliğinde artmış ekstraselüler beyin glutamat konsantrasyonları bildirilmiştir.

Akut karaciğer yetmezliğinde beyinde yüksek ekstraselüler glutamattan kaynaklanan artmış glutamaterjik nörotransmisyon, bu durumda görülen nöbetleri ve hiperekstabilite durumunu açıklayabilir (29).

İzole astrositlerin glutamata maruz kalması hücre şişmesine neden olduğu için, akut karaciğer yetmezliğinde görülen hepatik ensefalopatideki beyin ödeminin artmış ekstraselüler glutamata bağlı olabileceği savunulmaktadır (30).

**c- Gamma amino butirik asit hipotezi :** Gamma amino butirik asit (GABA) beynin ana inhibitör nörotransmitteridir. Glutamat dehidrojenaz enzimi vasıtasıyla presinaptik nöronlarda glutamattan sentezlenir, veziküllerin içinde depolanır. Post sinaptik membranlarda spesifik GABA reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir. Benzodiazepinler ile barbitüratlar da bu reseptörlere bağlanır. Bağırsak bakterileri tarafından sentezlenen GABA portal ven ile karaciğere gelerek metabolize edilir. Kronik karaciğer hastalığında porto-sistemik şantlar nedeniyle sistemik dolaşıma geçerek kan düzeyi yükselir. Çalışmalarda HE'de BOS'da GABA düzeylerinin ve beyinde GABA reseptörlerinin arttığı saptanmıştır. Bu da HE'li hastaların barbitüratlara ve benzodiazepinlere artmış hassasiyetini izah eder. Benzodiazepin reseptör antagonisti flumazenilin en azından bir kısım hastadaki geçici olsa bile olumlu etkisi, bu hipotezi desteklemektedir (22, 31, 32).

Bunlara rağmen Lavoie ve arkadaşlarının (33) yaptığı bir çalışmada HE'de beyin GABA düzeylerinde artış olmadığı gözlenmiştir.



**d- Sinerjik nörotoksin hipotezi** : Hepatik ensefalopati patogenezi açıklamaya yönelik bir diğer hipotez olan sinerjistik nörotoksin hipotezinde nörotoksin olarak amonyak dışında merkaptanlar, kısa zincirli yağ asitleri ve fenoller de sorumlu tutulmaktadır. Metanetiol ve dimetil sülfid gibi merkaptanlar, metioninin bağırsaktaki bakteriler tarafından metabolize edilmesiyle oluşmaktadır. Fenol bileşikleri ise tirozin ve fenilalanin gibi aromatik aminoasitlerin yıkılması ile meydana gelmektedir. Bu maddelerin hiçbiri tek başına ensefalopati veya koma tablosu oluşturamayacağı buna karşın sinerjik etkileri ile subensefalopati veya subkoma tablosu oluşturdukları ileri sürülmektedir. Hepatik yetmezlik olgularında merkaptan, kısa zincirli yağ asitleri ve fenol bileşiklerinin periferik kanda arttığı gösterilmiştir, fakat plazma ve beyin merkaptan düzeyi ile HE evreleri arasında zayıf bir ilişki olduğu saptanmıştır (25, 34).

**e- Yalancı nörotransmitter hipotezi** : Karaciğer hastalarında dallanmış zincirli aminoasitlerin (losin, izolosin, valin) düzeyleri azalmakta, aromatik aminoasitlerin (fenilalanin, tirozin, triptofan) ve metioninin düzeyleri artmaktadır. Metionin ve aromatik aminoasitlerin yıkıma uğradıkları başlıca tek yer karaciğerdir. Buna karşılık dallanmış zincirli aminoasitler (DZAA) daha çok kaslarda yıkıma uğrarlar. Bu nedenle karaciğer hastalıklarında plazmada metionin, tirozin, fenilalanin ve seratonin düzeyleri yükselir. Hem dallı zincirli aminoasitler hemde aromatik aminoasitler (AAA) kan beyin bariyerinin aşılmasında ortak bir taşıyıcı protein kullanırlar.

Hepatik ensefalopatide plazma düzeyleri karakteristik artan AAA'lerin kan beyin bariyerinden geçişi artar. Aromatik aminoasitler arasında fenilalanin ve tirozinin yüksek düzeyleri, dopamin ve noradrenalin sentezinde anahtar enzim olan tirozin hidroksilazı inhibe etmektedir. Bunun sonucu olarak katekolaminerjik nörotransmitterlerin üretiminde azalma olmaktadır. Tirozin tiramine dekarboksile olur, tiramin B oksidaz ile oktapamine dönüşür. Fenilalanin feniletilamine ve feniletanolamine dönüşür. Yalancı nörotransmitter olan oktapamin ve feniletanolamin sinapslardaki iletiminin bozulmasına sebep olur. Diğer bir AAA olan triptofanda beyinde inhibitör bir nörotransmitter olan seratonine dönüşür (22, 35).

Fanelli ve arkadaşları (36) normal köpeklere karotis yoluyla AAA infüzyonu uygulayarak koma oluşturup daha sonra bu köpeklere DZAA'lerden zenginleştirilmiş aminoasit solüsyonu vererek koma belirtilerinin gerilediğini göstermişlerdir. Bunun

yanında beyindeki katekolaminler ve inhibitör düzeyleri ile HE arasında bir ilişki ortaya koyamayan çalışmalarda mevcuttur (37).

*f- Hepatik Ensefalopati ve Mangenez* : Mangenez nörotoksitesitesi ile HE arasında benzerlikler vardır. Her iki durumda da nükleer manyetik rezonans görüntülerinde globus pallidusta hiperintens sinyaller görülmektedir, fakat ensefalopatide olmayan sirotik hastalarda da aynı değişiklikler saptanır. Mangenez barsaklardan emilir ve karaciğerden safra yolu ile atılır. Bu durum mangenezin karaciğer hastalığında birikme nedenini ortaya koymaktadır. Mangenez depolanmasının HE'de ekstrapiramidal bulgulara katkısı olduğu düşünülmeyle birlikte kesin olarak kanıtlanmamıştır ve araştırmalar sürmektedir (38, 39).

Sonuç olarak HE patogenezini tek bir biyokimyasal değişikliklerle açıklanamayacağı kesindir. Meydana gelen değişiklikler çok sayıda faktörün HE gelişimine katkıda bulunduğunu göstermektedir.

## **Tedavi**

Hepatik ensefalopati tedavi prensipleri;

- 1- Kolaylaştırıcı etkenlerin tedavisi.
- 2- Bağırsaklardan azotlu maddelerin emilmesinin engellenmesi.
- 3- Portokaval şantlardan aşırı kan akışının engellenmesi.
- 4- Hedef organa (MSS) ve hipotezlere yönelik tedavi.

Bu yaklaşımlara başlamadan önce, uygun oksijenasyon, uygun sıvı ve elektrolit tedavisinin sağlanması, sıvı yüklenmesi ve böbrek yetmezliğinin önlenmesi gerekir. Hepatik ensefalopati hastalarında pulmoner komplikasyonlar sık görülmektedir. Özellikle evre 3-4 ensefalopatili hastalarda hava yolunun entübasyonu gerekebilir. Hipoglisemi de sık görülen bir durumdur ve sıkı kan şekeri kontrolü ile düzeltilmezse ölümcül sonuçlara yol açabilir. Hepatik rezervi azalmış olan hastalarda rutin K vitamini tedavisi önerilmekle birlikte yeterli olmamakta ve koagülopatinin düzeltilmesi için taze donmuş plazmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

**a- Kolaylaştırıcı etkenlerin tedavisi :** Hepatik ensefalopati ile gelen her hastada olası kolaylaştırıcı etken araştırılmalıdır, eğer saptanırsa tedavi edilmeli ya da ortadan kaldırılmalıdır. Hepatik ensefalopatiyi kolaylaştıran bir çok neden tanımlanmıştır (14).

**Tablo 2 :** Hepatik ensefalopatiyi kolaylaştırıcı nedenler

Enfeksiyon
Üst gastrointestinal sistem kanaması
Uygun olmayan diüretik tedavisi
Elektrolit düzensizliği
İshal, kusma
Böbrek yetmezliği
Hipoksi
Anemi
Hipotansiyon
Sedatif/ hipnotik ilaçlar
Kabızlık
Aşırı parasentez
Tıbbi veya cerrahi portakaval şant uygulaması
Protein alımında artış

Enfeksiyon HE’de önemli mortalite ve morbidite sebebidir. Karaciğer yetmezliğindeki enfeksiyon bulguları ile HE gidişi arasında güçlü ilişki olduğu gösterilmiştir (40).

Karaciğer retikuloendotelial sistemin en önemli organıdır ve bakteriyel enfeksiyon hepatik yetmezliğin bilinen bir komplikasyonudur ve %15-47 oranında görülebilir. Dekompanse sirotik hastalarda enfeksiyon gelişme oranı kompanse sirotik hastalarla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Karaciğer yetmezliklerinde başlıca üriner sistem enfeksiyonları, spontane bakteriyel peritonit ve pnömoni görülür. Enfeksiyonlarda %70-80 sebep gram negatif basiller ve bunlardan da

*Escherica coli*'dir. Gram pozitif bakteri enfeksiyonları daha çok invaziv girişimler ve uzun süre antibiyotik tedavisi sonucu oluşmaktadır (7, 8).

Karaciğer yetmezliğinde enfeksiyonlar sıklıkla hastaların kendi mikroflorası ile oluşmaktadır. Genel durumu kötü, sepsis veya çoklu organ yetmezliğindeki hastalarda septik odağın bulunamaması çoğunlukla bu enfeksiyonların bağırsak kanalındaki mikroorganizmalar tarafından oluştuğunun belirtisidir (9).

***b-Bağırsaklardan azotlu maddelerin emilmesinin engellenmesi*** : Hepatik ensefalopatiden sorumlu toksinler, bağırsak bakterilerinden kaynaklandığı için bağırsak temizliği tedavinin temelini oluşturmaktadır. Kolon temizliği lümendeki amonyak içeriğini ve bakteri sayısını azaltmaktadır. Bunun için değişik laksatifler kullanılabilir, fakat emilmeyen disakkaritler tercih edilir, çünkü bu tür laksatifler azotlu bileşiklerin oluşumunu azaltmakta ve atılımını artırmaktadır.

Diyetle protein kısıtlaması HE tedavisinde çok önemlidir. Akut HE durumunda diyet ile protein alımı tamamen kaldırılmalı ve klinik tablonun düzelmesine göre aşama aşama artırılmalıdır. Bitkisel kaynaklı proteinler hayvansal kaynaklı proteinlere tercih edimelidir. Kontrollü çalışmalar göstermiştir ki bitkisel kökenli beslenme, HE'yi kötüleştirmeden azot dengesinde kademeli bir iyileşme yapmaktadır. Aynı zamanda, bitkisel kökenli diyetlerin bir başka yararı, kolondaki bakteriler tarafından metabolize edildiklerinde absorbe edilemeyen liflerin ortaya çıkmasıdır. Absorbe olmayan bu lifler bağırsaktan azotlu ürünlerin uzaklaştırılmasını artırmaktadır (2, 41).

Emilmeyen disakkaritler: İnsan bağırsak mukozasında sentetik disakkaritleri parçalayacak olan enzim yoktur. Bu nedenle sentetik bir disakkarit olan laktuloz ( $\beta$ -galaktosidofruktoz) ağız yolu ile alındığında değişmeden çekuma kadar ilerler. Kolon florasındaki üreaz negatif *Laktobasiller* tarafından laktik asit ve asetik asit ve ayrıca formik aside metabolize olur. Kolonda bu organik asitlerin birikimi ile bağırsak lümen içi pH'sı düşer, bunun sonucu olarak da bağırsak florası değişir. *E. Coli* gibi amonyak üreten bakteriler azalırken, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus* gibi daha az amonyak oluşturan bakteriler artar. Sonuç olarak, amonyağın plazma seviyeleri ve ürenin total vücut havuzu azalır (2-4).

Düşük pH'da amonyak çözünmeyen amonyum iyonu şekline dönüşerek bağırsaklardan dışarı atılır. Diğer taraftan laktulozun oluşturduğu osmatik ishal nedeniyle amonyağın emilimi ve üretimi azalır. Benzer mekanizma ile etki; kolon florası tarafından metabolize edilen fakat emilmeyen diğer disakkaritler için de geçerlidir. Oral ya da nazogastrik tüp yoluyla verilen doz; günlük 2-3 kez yumuşak dışkılamayı temin edecek şekilde ayarlanır. Komadaki ya da ince barsak ileus tablosundaki hastalara ise laktuloz lavman şeklinde uygulanır (5, 42). Amonyakda azalma yapan laktulozun yapılan bir çalışmada GABA oranını % 46 azalttığı gösterilmiştir (43).

Kronik tedavide gaz, ishal ve kolik tarzında ağrı en sık görülen şikayetlerdir. Laktuloz ishal ve elektrolit düzeylerinde dengesizliğe yol açabilir (5). Pai ve arkadaşları (44) yaptığı bir çalışmada sirozlu hastalarda laktuloz kullanımı sonrası %30 hastada şişkinlik ve gaz, %20 hastada bulantı şikayeti tespit etmişlerdir.

Antibiyotikler; HE olgularında, bağırsaklardaki bakteriyel floranın azaltılması amacıyla geniş etkili, fakat bağırsaktan emilimi az olan antibiyotikler kullanılmalıdır. Ağız yolu ile alındığında neomisin bağırsakta amonyak oluşumunu azaltır, oldukça az emilmesine rağmen işitme kaybı ve böbrek hasarı yapabilir. En önemli yan etkileri ise bağırsakta besinlerin emilim işlevinde bozulma ve dirençli bakteriyel enfeksiyonlardır. Bu nedenle akut vakalarda 5-7 gün kullanılmalıdır. Günde dört kez ağız yolu ile alınan metronidazol, neomisin kadar etkilidir. Bu da MSS üzerine toksik olduğu için uzun süre kullanılmamalıdır (6, 45).

**c- Portal-Sistemik şanta bağlı kan akımının azaltılması :** Spontane veya iatrojenik (portakaval şant cerrahisi, transjuguler intrehepatik portosistemik şant uygulamasında) oluşan geniş bir portakaval şant HE oluşmasını kolaylaştırır ve kronik HE gelişimine neden olur. Spontane geniş bir şanta balon ile oklüzyon ya da sklerozan madde enjeksiyonu yararlı olabilir. Bu durumda özofagus varis kanaması riski oldukça yüksektir (46).

#### ***d- Hedef organa ve hipotezlere yönelik tedavi :***

1 - *Amonyak hipotezi*: Hepatik ensefalopatide sodyum benzoatın özellikle yüksek amonyak seviyesi ile seyreden olgularda yararlı olduğu düşünülmektedir. Benzoat, amonyak dahil azotlu madde yıkım ürünlerinin böbrekle atılmasını sağlamaktadır. Üre siklusu enzimleri için bir kofaktör olan çinko; artmış üriner atılım ve malnutrisyondan dolayı sirotik hastalıklarda sıklıkla eksiktir. Çinko desteği ile karaciğer ornitin karboksilaz aktivitesi artırılarak kan amonyak düzeyinin azaldığını gösteren yayınlar vardır (47, 48).

Ornitin-aspartat kombinasyonu karaciğerde amonyak yıkımını hızlandırır. Ornitin hem üre döngüsü enzimlerini uyarmakta hem de kendisi substrat olarak yer alarak amonyak yıkımını artırmaktadır. Aspartat ise glutamin sentezini ve amonyağın atılımını artırır (49).

L-karnitin esansiyel bir aminoasit olan lizinin yıkım ürünüdür. L-karnitin de amonyak yıkımını artırmaktadır. Yapılan çalışmalarda olumlu etkisi görülmüştür, yeterli insan çalışması yoktur (50).

2 - *Yalancı nörotransmitter hipotezi* : Dopaminerjik nörotransmisyonun HE'de azaldığına dair veriler mevcuttur. Dopamin kan-beyin bariyerini geçmediği için akut HE'li hastalarda levodopa tedavi amacıyla uygulanmış ve hastalarda geçici bir uyanıklık elde edilmiştir, fakat yararlanan hasta sayısı çok sınırlı kalmıştır ve etki geçicidir. Ancak kronik HE'li hastalarda ekstrapramidal bulguların tedavisinde levodopa ve bromokriptinin rolleri olabilir. Uzun etkili dopamin reseptör agonisti olan bromokriptin, özellikle protein kısıtlamasına ve laktuloz tedavisine yanıt vermeyen kronik HE'li hastaların bazılarında yararlı olabilmektedir (51).

Dallı zincirli aminoasit infüzyonunun hastalarda yarar sağlayacağını düşünmek mantıklıdır. Fakat rastgele kontrollü çalışmalarda hastalarda ne düzelme olmuş ne de ölüm oranı üzerine yararlı etkisi olduğu gösterilmiştir. Mevcut veriler dallı zincirli aminoasitlerin HE tedavisinde kullanılmasını desteklemiyorsa da proteinli besinleri tolere edemeyen sirotik hastalarda azot dengesinin düzelmesine katkı sağlamak bakımından önemli bir role sahiptirler (52).

3 -*GABA hipotezi* : Hepatik ensefalopatinin benzodiazepin reseptör antagonisti flumazenil ile tedavisinde olumlu etkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat flumazenilin kısa yarı ömrü nedeni ile tedavi etkisi kısa sürelidir (33).

## BAKTERİ GÖÇÜ

Bakteri göçü, canlı enterik bakterilerin epitelyal hücre bariyerinden mezenterik lenf nodlarına ve diğer uzak organ bölgelerine göçü olarak tanımlanır . Bakteri göçünün terminal ileumdan olduğu kabul edilmektedir. Olayın mekanizmasında fagositler tarafından lümen içi bakterilerinin bağırsak dışına taşındığını temel alan “fagositik transport mekanizması” kabul görmektedir. Göçe uğrayan *Escheria coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcuslar*’ın çoğu fagositoza direnç gösteren, akyuvarların içinde de çoğalabilen kısmi anaeropik gram negatif bakterilerdir (53, 54).

### Bakteriyel göçe neden olan faktörler

**Tablo 3** : Bakteri göçüne neden olan faktörler

1. Aşırı bakteriyel artış
2. Konağın bağışıklık cevabı
3. Bağırsak geçirgenliğinin artması
4. Endotoksinler
5. İyonizan radyasyon
6. Travma
7. Yanık
8. Yetersiz beslenme
9. Hemorajik şok
10. Salgısal immunoglobulin A
11. Bağırsak tıkanıklığı
12. İskemi
13. Total Parenteral Nutrisyon

**1. Aşırı bakteriyel artış :** Sağlıklı farelerde *E. Coli* gibi bağırsak içi bakteriler, sürekli olarak çok düşük oranlarda sağlam mukoza epitelinden göç etmekle birlikte lamina propriadan geçişleri sırasında yada mezenterik lenf nodunda (MLN) öldürülmektedir. Bu nedenle MLN, karaciğer, dalakta doku kültürleri ile bakteri üretilmez. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarla bağırsak florasındaki aşırı artışın bakteri göçüne yol açtığı gösterilmiştir (58).

**2. Konağın bağışıklık cevabı :** Bakteri göçü sadece bakterilerin gastro intestinal sistemden bağırsak dışı bölgelere fiziksel olarak geçişini değil aynı zamanda bu bölgelerdeki canlılığını da kapsar. Bu nedenle konağın bağışıklık cevabı bakteri göçü gelişimini önleyen önemli bir faktördür. Mukozal bariyerden geçen canlı bakteriler bağırsak duvarından geçişleri sırasında veya MLN, dalak, karaciğer gibi bağırsak dışı organlardaki savunma mekanizmaları tarafından imha edilecek olursa klasik doku kültürleri ile üretilmezler. Çekum ve ileum florası patojenlere karşı özgül olarak karşı koyma yeteğine sahiptir. Bu bölgenin florasına anaeroplara hakimdir ve florayı bakteri göçüne engel olacak şekilde dengede tutarlar (56, 57).

**3. Bağırsak geçirgenliğinin artması :** Lümen içi bakterilerin göç edebilmesi için önce bağırsak mukozasına yapışarak bağırsak epiteline girmesi, sonra lamina propriadan geçerek bağırsak dışına taşınması gerekir. Bakterilerin bağırsak göçü ile dokudan temizlenmesi arasında bir denge vardır. Normal şartlarda bakteriler az da olsa bağırsak bariyerini geçebilmektedir ancak, bağırsak immün sistemi bunların sistemik dolaşıma geçmesini engellemektedir. Flora bakterilerinin göçünde bağırsak duvarı histopatolojik olarak normaldir. Patojen bakterilerin göç edebilmesi için mukozal geçirgenliğinin artmış olması gerekir. Yanık, şok, endotoksinler, damardan beslenme, proteinden kısıtlı beslenme ve en önemlisi iskemi nedeniyle bağırsak bütünlüğü bozulurken, bağırsak geçirgenliğide artar (54, 58).

**4. Endotoksinler :** Endotoksin az miktarda ise portal sistemle karaciğere giderek Kuppfer hücreleri tarafından tesirsiz hale getirilir. Fakat miktar çoksa bağışıklık sistemini, kompleman sistemini ve Kuppfer hücre fonksiyonlarını bozarak sistemik endotoksemiye sebep olur. Parenteral verilen endotoksinin çekal bakteri



miktarını artırdığı, çekum ve ileum mukozasında dökülme yaptığı, bağırsak bakterilerinin MLN'a göçüne sebep olduğu gösterilmiştir (59).

**5. İyonizan Radyasyon :** X-ışınının bağışıklık sistemini baskılayarak ve bağırsak mukozasına zarar vererek bakteri göçüne yol açtığı, deneysel çalışmalardaki doku ve kan örneklerinde bağırsak kaynaklı bakteri saptamak suretiyle gösterilmiştir (60).

**6. Travma :** Travma bağırsak iskemisine yol açarak bakteri göçü ve çoklu organ yetmezliğine kadar giden sürece sebep olduğu gösterilmiştir (53).

**7. Yanık :** Yanık ile oluşan travmanın bağırsak mukozasına zarar vererek bakteri göçüne sebep olduğu deneysel çalışmalarda belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada %20 yanık oluşturulan sıçanlara oral yolla verilen *E.coli*'nin bir saat sonra kanda PCR yöntemiyle %60, kan kültürü yöntemiyle %43 oranında tespit edildiği bildirilmiştir (53).

**8. Yetersiz beslenme :** Açlıkta konak bağışıklık savunma mekanizması zayıflar, villuslar ince ve künt bir hal alır. Protein eksikliğinde bağırsak bakterilerinde aşırı çoğalma, bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde azalma olur (53).

**9. Salgısal immünoglobulin A :** Salgısal İmmünoglobulin A (sIgA) bağırsak lümenindeki bakterilerin mukozal hücrelere yapışmasını önleyen esas koruyucu mekanizmadır ve ağızdan beslenme sIgA için başlıca uyarıcıdır. Anne sütü alamayan preterm veya term bebekler özellikle bağırsak kaynaklı sepsise yatkındırlar (53).

**10. Hemorajik şok :** Hemorajik şok mukozal hasara yol açarak bakteri göçüne sebep olur. Hemorajik şoktaki mukozal hasarda reperfüzyon sürecinde meydana gelen ksantin oksidaz yoluyla oluşan serbest oksijen radikalleri aracıdır (58).

**11. Bağırsak tıkanıklığı :** Barsaklardaki normal peristaltik hareketler lümendeki bakterilerin mukozaya yapışmalarına zaman tanımaz. Mukusun kaygan olması da bakterilerin mukozaya yapışmasına engel olur. Bağırsak tıkanıklığında peristaltizmin bozulması, mukusun azalmasına ve bakterilerin mukoza ile uzun süre ilişkide olmasına

yol açar. Tıkanıklıkta lümen içi staz ve sıvı birikimi bağırsak bakteri popülasyonunu artırır. Aynı zamanda mukozal geçirgenlik artar. Tıkanıklıkta oluşan lümen içi basınç artışı, villöz kan akımını azaltarak seçici bağırsak iskemisi de meydana getirir (56).

**12. İskemi** : Bağırsak iskemisinin mukozal zedelenmeye yol açan doku hipoksisi oluşturarak bağırsakta hasar yaptığı bilinmektedir. İskemi bağırsakta şu sırayla hasar meydana getirir; kapiller geçirgenliğin artması, mukozal geçirgenliğin artması, mukozal hasar, transmural hasar (53).

**13. Total parenteral nütrisyon (TPN)** : Total parenteral nutrisyon bağırsakta mukozal atrofiye neden olarak bakteri göçü ve sepsise neden olabilir. Total parenteral nutrisyon uygulanan organizma enteral beslenmenin immünoglobulinleri uyarıcı etkisinden mahrumdur (53).

## SACCHAROMYCES BOULARDII

*Saccharomyces boulardii* (SB), *Endomyces* ailesinden elipsoit yapıda bir maya mantarıdır. Antibiyotiklere karşı genetik olarak dirençli, antifungal ajanlara ise duyarlıdır. *Saccharomyces boulardii*, Çin hindi'nde yerli halkın ishal tedavisinde kullandığı, tropikal meyvenin kabuğundan izole edilmiştir. Üremesi için en uygun sıcaklık 30 °C'nin üzerindedir. Bu ısı derecesi bağırsak içi ısı ile uyum göstermektedir (12, 61).

Bağırsaklardan emilmez ve dışkıdan elde edilebilir. Bağırsakta çoğalamaz ve kalıcı kolonizasyon söz konusu değildir. *S. boulardii*'nin ağızdan alımının kesilmesinden bir hafta sonra dışkıda saptanamaz. Sıçanlarla yapılan bir çalışmada 50 mg tek doz SB'nin ağız yolu ile uygulanmasından 1 saat sonra ileumda gösterilmiştir. Canlı hücrenin yarılanma süresi yaklaşık altı saattir ve tedavide günde en az bir kez uygulanması gerekmektedir. Sindirim kanalında SB'nin çoğaldığına dair bir bulgu elde edilememiştir (61-64).

*Saccharomyces boulardii* klinikte çeşitli ishal ve kolitlerde ve sindirim sisteminin deneysel enfeksiyonlarında koruyucu ya da tedavi edici etkiye sahiptir.

Hayvan deneylerinde enterotoksijenik *Escherichia coli*'ye bağlı ishalde, klindamisin tedavisi sırasında görülen *Clostridium difficile* ishalinde, *Entamoeba histolytica*'ya bağlı bağırsak amebiazisi ve antibiyotik tedavi sonrasında gelişen bağırsak kandidiyazisi tedavilerinde etkili olduğu gösterilmiş ve 1950'lerin başından itibaren klinikte kullanılmaya başlanılmıştır (12).

*Saccharomyces boulardii* etkisini dört değişik mekanizma üzerinden gösterir.

**a) Bağışıklık sisteminin uyarılması :** Maya hücre duvarı ekstrelerinin non-spesifik immün yanıtı (fagositoz ve kompleman sistemini) stimüle ettiği bilinmektedir. İnvitro olarak SB, C3a ve C5a gibi kemotaksik faktörlerin salınımıyla serum komplemanını aktive etmekte ve polinükleer hücrelerle birlikte monositlerin gücünü hızlandırmaktadır. İnvivo olarak SB uygulananın, deneysel sistemik bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (65-68). Buts ve arkadaşları (69) sıçanlarla yaptıkları çalışmada SB'nin bağırsak villus ve kript hücrelerinde sekretuar Ig A seviyelerini artırdığını göstermişlerdir.

Gönüllülerde yapılan bir çalışmada ise SB'nin enterosit olgunlaşması üzerine olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (70).

**b) Patojen mikroorganizmaların çoğalmasının engellemesi :** Bioterapotik ajanlar patojen mikroorganizmaların profilerasyonunu engelleyerek kolonizasyon direncinin yeniden oluşması için zaman kazandırır (71). Mikrobiyal antagonizma etkisi ile kültür ortamında *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Candida albicans* gibi çeşitli patojenik mikroorganizmaların büyüme ve çoğalmasını önlediği gösterilmiştir (72).

İnvivo olarak da *Candida*'ya karşı güçlü antagonistik etki göstererek dışkıdaki miktarını azaltığı saptanmıştır. Bu etki, normal bağırsak florasında bulunmadığı halde canlılığını kaybetmeden bağırsaktan geçen bir mikroorganizmanın tedavi amacı ile kullanıldığı tek örnektir (73).

**c) Patojenik toksinlerle etkileşim, toksinlerin bağırsaktaki reseptörlerine bağlanması engellenmesi :** *Saccharomyces boulardii*'nin bu etkisi, oluşturulan

deneysel modellere göre farklı şekilde etkisini gösterir. Hayvan deneylerinde bakteri toksinlerinin üretimini önleyici etkisi ile *Esheria coli* enterotoksinine bağılı ishali, kolera toksinine bağılı su ve sodyum atılımını ve *Clostridium difficile* sitotoksininin üretimini azalttığı gösterilmiştir (72, 74, 75). Toksine bağılı patogeneizde SB'nin koruyucu etkisi proteaz oluşumuna bağılı olabilir. Bu proteazlar *C. difficile* toksininin reseptör bölgesine yapıyor olabilirler (76). *Saccharomyces boulardii*'nin sıçanlarda deneysel oluşturulan ileum tıkanıklığı modelinde sıvı sekresyonunu ve mannitol geçirgenliğini azalttığı gösterilmiştir (77).

**d) Bağırsaklarda enzimatik aktivite değişikliği :** *Saccharomyces boulardii*'nin ağız yolu ile alımı bağırsak epitelindeki laktaz, sukraz ve maltazın etkisini artırmaktadır. Bağırsak disakkaridazlarının etkisini artırıcı özelliği ise bazı tip ishallerin tedavinde önemlidir (78).

*Saccharomyces boulardii* klinikte; antibiyotiğe bağılı ishal ve seyahat edenlerde görülen ishal olgularında önleyici amaçlı; erişkin ve çocuklarda görülen akut enfeksiyöz ishal, *Human İmmunodeficiency Virüs* (HIV) olgularında görülen ishal, spastik kolit ile beraber görülen ishal ve nasogastrik sonda ile devamlı olarak beslenen hastalarda görülen ishalde ise tedavi amaçlı kullanılmaktadır (71, 79-81).

İnsan ve hayvan çalışmalarında SB tedavisinin toksik etkisine rastlanmamıştır. Ancak son zamanlarda immün sistemi baskı altında olan hastalarda sistemik yayılım ile fungemi gelişebileceğini gösteren klinik veriler elde edilmiştir (82).

Bağırsakta SB'nin patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engellemesi, bağırsakta immün sistemi tetikleme ve bağırsak mukozası üzerinde olumlu etkilerinin olması nedeni ile bakteriyel göçü azalttığını gösteren deneysel çalışmalar yapılmıştır (83).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 2005 yılı Mart ayında İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde yapıldı. Çalışmada ortalama vücut ağırlıkları  $143,1 \pm 22,35$  gram ve yaşları iki aylık olan Wistar cinsi otuz beş adet dişi sıçan kullanıldı. Çalışmamızda İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde üretilen sıçanlar kullanıldı. Tüm hayvanlar sıcaklık ve ışık kontrollü bir laboratuvarında (12 saat gece/12 saat gündüz) yiyecek ve suya rahatlıkla ulaşmalarını sağlayacak kafeslerde tutuldular. Çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan onay (2004/31) alındı.

### Hayvan Modeli

Bu çalışmada bir sülfür bileşiği olan ve sitokrom p450 sistemini etkileyerek hepatoksisite oluşturan thioacetamid akut hepatik ensefalopati oluşturmak için kullanıldı. Thioacetamid (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO. USA) 0. ve 24. saatte 600 mg/kg periton içine verilerek hepatik ensefalopati oluşturuldu (15).

Sıçanlar 7'şer adetlik beş gruba ayrıldılar ;

1. Grup : Kontrol Grubu
2. Grub : Thioacetamid Grubu (TAA) : Bu gruba sadece thioacetamid verildi.
3. Grub : Laktuloz Grubu (TAA+LAK) : Bu gruba thioacetamid ve laktuloz verildi
4. Grub : *Saccharomyces boulardii* Grubu (TAA+SB) : Bu gruba thioacetamid ve *Saccharomyces boulardii* verildi.
5. Grub : Laktuloz ve *Saccharomyces booulardi* Grubu (TAA+LAK+SB) : Bu gruba thioacetamid ile birlikte laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* verildi.

Rastgele-kontrollü deneysel bir çalışma yapıldı.

Kontrol grubu dışındaki diğer gruplara thioacetamid 600 mg/kg 0. ve 24. saatte periton içine verilerek hepatik ensefalopati oluşturuldu. Hepatik ensefalopati oluşturulan gruplara %5 Dekstroz + %0.45 salin + KCl (20 mEq/l) içeren serum thioacetamidin ilk enjeksiyonundan sonra 12 saatte bir ve % 0.9 izotonikten oluşan serum thioacetamidin son enjeksiyonundan sonra her 4 saatte bir 25 ml/kg dozunda periton içine destek amaçlı verildi (15). Orogastrik kanül ile 3. gruba laktuloz (Duphalac-Eczacıbaşı) 2 ml/kg/doz 12, 24, 36. ve 48. saatte verildi (84). Orogastrik kanül ile 4. gruba *Saccharomyces boulardii* (Reflor-Sanofi) 200 mg/g/doz 12, 24, 36, 48. saatte verildi (85). Orogastrik kanül ile 5. gruba. 12, 24, 36. 48. saatte *Saccharomyces boulardii* 200 mg/g/doz ve laktuloz 2 ml/kg/doz verildi. Sıçanlara 72 saat standart laboratuvar yiyeceği ve su verildi. Sıçanların bakım verildiği oda sıcaklığı 24±3 °C olarak sabit tutulmaya çalışıldı.

#### **Nörolojik Muayene ve Hepatik Ensefalopati Evrelemesi**

Sıçanlar ilk 24 saatte 12 saatte bir, 24 saat sonrasında testin sonlandırıldığı 72 saate kadar 4 saatte bir nörolojik muayene yapılarak takip edildi. Nörolojik muayenede sıçanların davranışsal refleksleri kullanıldı.

**Tablo 4 :** Sıçanlarda nörolojik muayene değerlendirilmesinde kullanılan davranışsal refleksler

Kuyruk çekme refleksi
İşitsel ürkütme refleksi
Baş sallama refleksi
Korneal refleks
Doğrulma refleksi
Denge Testi
Yakalama
Yerleştirme

Her bir davranış testi 4 üzerinden puanlandırıldı. Kontrol grubu ile aynı etkiyi gösteriyorsa 4 puan verildi. Kontrol grubunun %50-75'i kadar performans 3 puan hepatik ensefalopati evre 1, %25-50 performans 2 puan evre 2, %1-25 performans 1 puan evre 3 , cevap alınamazsa 0 puan evre 4 olarak puanlandırıldı.

### **Kan Örnekleme**

Çalışma başında ve sonunda kan örnekleri alındı. Tüm hayvanlara çalışma başında 75 mg/kg ketamin anestezisi altında kuyruk uç kısmına 0,5 cm kesi yapıldı, sızan kan insülin enjektörü ile toplanarak Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST) ve amonyak için 1 ml kan örneği alındı. Çalışma sonu için evre 4 hepatik ensefalopati oluşan sıçanlarda bu dönemde ve kalan tüm sıçanlara thioacetamidin 72. saatinde xylazin hidroklorür 8 mg ve ketamin 75 mg/kg anestezisi altında AST, ALT, amonyak ve kan kültürü için intrakardiak 2 ml kan alındı.

### **Biyokimyasal Değerlendirme**

Sıçanlardan çalışma başı ve sonunda alınan kan örneklerinin biyokimyasal değerleri İnönü Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında çalışıldı. Çalışmada AST ve ALT'nin ölçümünde kullanılan ticari kitler Olymus firmasından sağlandı. Amonyak ölçümünde kullanılan biyokimyasal maddeler; sodyum-nitrozoprusiyat, fenol, amonyum sülfat, disodyumhidrojenfosfat, sodyum hidroksit ve sodyum hipoklorit Merk firmasından, triklorasetik asit J.T. Backer firmasından sağlandı.

#### **a) Alanin aminotransferaz ve Aspartat aminotransferaz ölçümü**

Serum AST ve ALT seviyeleri kolorimetrik yöntemle Olympus firmasına ait ticari kitleri kullanılarak AU 640 cihazında çalışıldı.

## b) Amonyak Ölçümü

Kanda amonyak seviyeleri kolorimetrik Berthelot (indophenol) reaksiyonu kullanılarak ölçüldü.

Amonyak ölçümünde kullanılan reaktifler :

- 1- Fenol : 10 g fenol ve 50 mg sodyum-nitrozoprusiyat ( $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})\text{NO}$ ) suda çözüldü ve 1 l'ye tamamlandı.
- 2- Standart : Amonyak standartıdır. 0,0472 g amonyum sülfat ( $\text{NH}_4$ )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 l distile suda çözüldü. Bu çözelti 10,000 µg % NH<sub>3</sub>-N (% amonyak azotu) ihtiva eder. 100-500 µg % oranında olan bir seri standart uygun olarak seyreltildi.
- 3- Hipoklorit: 90 g disodyumhidrojenfosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ve 10 g sodyum hidroksit (NaOH) suda çözüldü. Sonra 10 ml % 5'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisi ilave edildi. Son hacim 1 l oldu.
- 4- Triklorasetik asit (TCA): Triklorasetik asitin 10 gramı 100 ml distile suda çözüldü.

Amonyak ölçümünde kullanılan metot :

- 1- Otuzbeş adet kapaklı tüp alındı bunlara 250 µl TCA kondu ve buz içinde örneklerin alınacağı laboratuvara gönderildi. Su banyosu 37 °C dereceye ayarlandı.
- 2- Deneklerden 250 µl kan alındı ve tüplere konuldu. Tüpler çalkalanarak homojenizasyonu sağlandı.
- 3- Tüpler 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısım dikkatlice alınıp başka bir tüpe alındı.
- 4- Birer adet kör ve standart tüpü hazırlandı. Kör tüpüne 250 µl distile su ve 250 µl TCA kondu. Standart tüpüne 250 µl standart ve 250 µl TCA kondu. Hazırlanan tüpler parafilmle kapatılarak çalkalandı.
- 5- Bir kör, bir standart ve iki adet numuneler için biyokimya tüpü hazırlandı ve yanlarına bir de su tüpü ilave edildi.
- 6- Kör, standart ve numunelerden 0,25'er ml biyokimya tüplerine aktarıldı.
- 7- Tüplerin hepsine 1,2 ml fenol ve 1,2 ml hipoklorit reaktifi ilave edildi. Parafilm ile kapatılarak çalkalandıktan sonra 37 °C derecedeki su banyosuna kondu ve 30 dakika



bekledikten sonra suya karşı 625 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okuma yapıldı.

Amonyak değerinin hesaplanması :

$$\text{NH}_3\% = \frac{\text{Numune optik dansimetresi (OD) - K r OD}}{\text{Standart OD - K r OD}} \times 200 \mu\text{g/dl}$$

Erişkinlerde normal değerler: % 20 - %123  $\mu\text{g/dl}$  arası.

### **Mikrobiyolojik alışma**

Sıçanlardan alınan örneklerin mikrobiyolojik alışmaları İnönü Universitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapıldı. Kullanılan besiyerleri, koagülaz ve katalaz testi için numuneler  niversitemizde oluşturuldu. Bactec kan kültür vasatları Becton Dickinson firmasından, basitrasine duyarlılık testi, üç ęekerli demir agar ve Metilret-Vogesproskover testi (MR-VP) kitleri Oxoid firmasından, Api 20 E testi kitleri Biomeriux firmasından temin edildi.

Tüm grupta bulunan sıçanlara xylazin hidroklorür 8 mg ve ketamin 75 mg/kg ile anestezi sağlandıktan sonra cilt temizliği % 10 povidon iodin ile yapıldı ve steril örtüler ile saha koruması sağlandı. Öncelikle göğüs bölgesi açıldı ve kan kültürü için steril enjektörle intrakardiyak 1 ml kan alındı. Organlardaki  rnekleme için orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı ve her organ için ayrı steril cerrahi alet kullanılarak sırası ile mezenterik lenf nodu, dalak dokusu ve ileum içeriği örnekleri alındı.

Kan kültürü için steril şartlarda intrakardiyak 1 ml alınan kan Bactec kan vasatına ekildikten sonra Bactec 9240 otomasyon sistemine konuldu. Ertesi gün kan kültürü pozitif sinyal alınanlardan; kanlı agar, okolatalı agar, Eosin Methylene Blue (EMB), sabora besiyerine pasaj yapıldı.

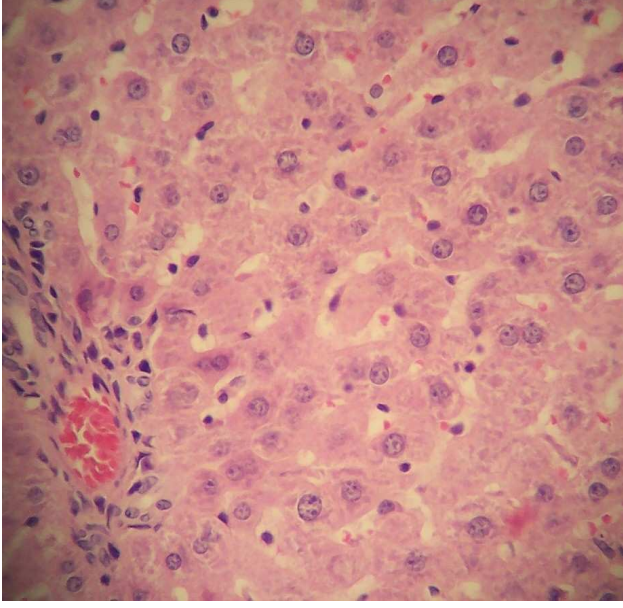
Dalak ve lenf nodundan alınan bir gram doku 5 ml steril serum fizyolojik ile homojenize edildi ve ondan 10  $\mu\text{l}$  sıvı alınarak koyun kanlı agar, okolatalı agar, EMB, sabora besiyerine ekim yapıldı. İleumdan alınan 1 g bağırsak içeriği, 1 ml steril serum fizyolojik ile sulandırıldı ve oluşan karışımdan 0.01 ml alınarak

kanlı agar, okolatalı agar, EMB, sabora besiyerine ekim yapıldı ve 37°C'de 24 saat etüvde bekletildi. Ertesi gün üreyen mikroorganizmaların kolonilerinden gram boyama yapıldı. Gram boyama sonucuna göre mantar veya gram (+), gram (-) bakteri tanımı yapıldı. Gram (+)'lerin tanısında katalaz, koagülaz, basitrasine duyarlılık testi kullanıldı ve stafilokok türlerin tanısı kondu. Gram (-) bakteriler için üç şekerli demir agar, indol, sitrat, MR-VP biyokimyasal testleri ile primer tanı kondu. Tanıyı desteklemek için Api 20 E testi yapıldı. Üreyen bakterilerin koloni sayısı bildirildi ve antibiogram yapıldı.

### **Histopatolojik İnceleme**

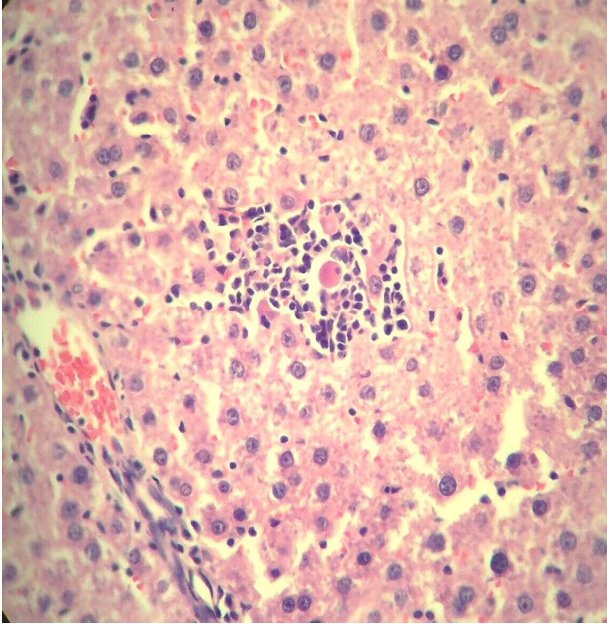
Kontrol ve deney grubu hayvanlarından çıkarılan karaciğer örnekleri % 10'luk formaldehit ile tespit edildi. Örneklerden İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında parafin blokları hazırlandı. Alınan bloklar hemotoksilen ve eosin ile boyandı. Bloklardaki normal karaciğer dokusu, fokal nekroz, zonal nekroz ve birleşen nekroz görünümleri tespit edildi (86). Normal karaciğer dokusu 0 derece, fokal nekroz 1 derece, zonal nekroz 2 derece, birleşen nekroz 3 derece olarak kabul edildi.

**1. Normal karaciğer dokusu :** Terminal portal venüller ve hepatik arter dalları küçük safra kanalları ile portal alanlarda bulunurlar. Bu alanlardan hem arter hemde portal venöz damarlar terminal hepatik venüle ulaşmak üzere karaciğer parankimini geçerler. Damarsal yapılar ve parankim arasındaki ilişki güncel olarak Rapoport'un asinüs modeli ile açıklanmaktadır. Buna göre asinüsün merkezi portal ven ve hepatik arterin uç noktaları ile en az oksijenlenen bölge olarak kabul edilir. Bu modele göre klasik lobül yapısında lobülün merkezi olarak kabul edilen terminal hepatik venül çevresi en az oksijenlenen zon 3, portal aralığa daha yakın olan bölge zon 1, ikisinin arası zon 2 olarak adlandırılır. Karaciğer parankimi ise birbiri ile birleşen plakalar halinde sinuzoidal bir ağ ile ayrılan hepatositlerden oluşmuştur.



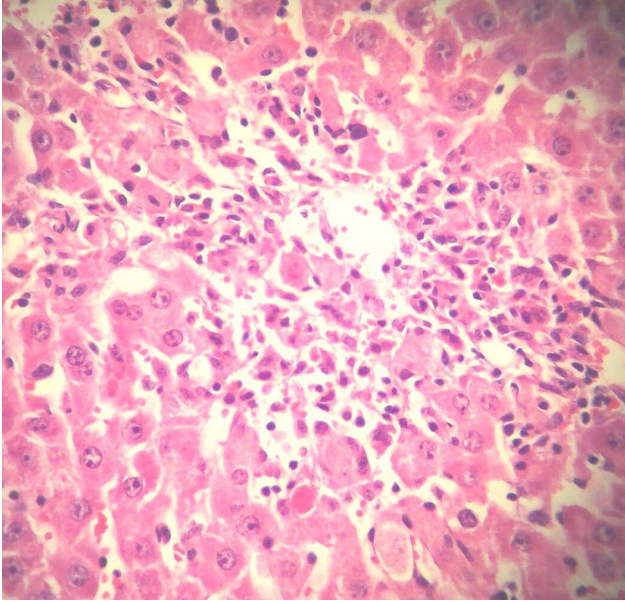
**Şekil 1** : Portal aralıktan terminal hepatik venül (santral ven)'e doğru düzenli olarak yer alan karaciğer parankimi (Hematoksilen eozin X 200).

**2. Fokal nekroz** : Tek tek veya küçük gruplar halinde hepatositlerin nekrozudur. Nekrotik hücrelerin çabuk kayboluşu nedeniyle bu gelişme daha çok iltihabi hücrelerin gruplaşması ve karaciğer hücre kordonunun bozulması ile anlaşılır.



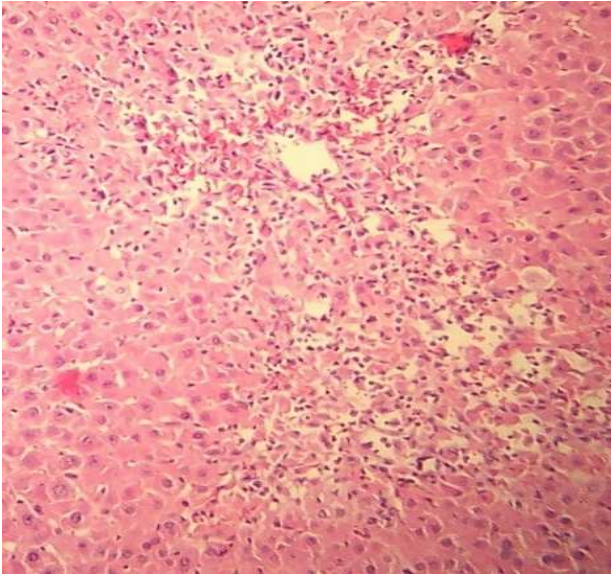
**Şekil 2** : Portal aralık ve santral ven arası yerleşim gösteren, inflamatuvar hücrelerle kaplanmış küçük nekroz alanı fokal nekroz (Hematoksilen eozin X200).

**3. Zonal nekroz :** Karaciğer lobüllerinin hepsinin veya bir bölgesini etkileyen nekrozdur.



**Şekil 3 :** Parankim içinde bir bölgeyi (zon) tümüyle tutmuş olan nekroz alanı ve inflamatuvar hücrelerin bu alanda toplanması zonal nekroz (Hematoksilen eozin X200).

**4. Birleşen nekroz :** Bu histolojik yapı daha ciddi bir harabiyeti gösterir. Birbirleriyle birleşen hepatosit gruplarının yıkımı olarak tanımlanır. Akut hepatit ile birlikte olabilir veya çok az inflamasyonla beraber olabilir. En ağır şekli ile yaygın karaciğer nekrozuna yol açabilir.



**Şekil 4 :** Karaciğer parankimi içinde iki bölgeyi (zon) etkileyerek birbiriyle bütünleşmekte olan geniş nekroz alanı ve burada izlenen inflamatuvar hücre yığılması birleşen nekroz (Hematoksilen eozin X200).

## **İstatistiksel Yöntem**

Bu çalışmada gruptaki değişkenler Shapiro Wilk normallik testi ile test edildi. Normal dağılım göstermediği saptandı ( $p>0.05$ ). Bu nedenle istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden; Kruskal-Wallis Varyans, Wilcoxon test ve Tukey testi kullanıldı. Kruskal-Wallis Varyansı grup karşılaştırılması, Wilcoxon testi grup içi değişiminin değerlendirilmesinde, Tukey testi grupların ikili karşılaştırılmasında kullanıldı.

## BULGULAR

Sıçanlardan thioacetamid verilen gruplarda değişik derecelerde hepatik ensefalopati oluştuğu görüldü. Çalışmada kullanılan veriler ayrı ayrı olarak belirlendi ve gruplar teker teker birbirleriyle karşılaştırıldı.

### Sıçanların ortalama vücut ağırlıkları

Sıçanların vücut ağırlıkları kaydedildi ve grupların ortalamaları tespit edildi. Grupların ortalama vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 5:** Sıçanların vücut ağırlıklarına göre gruplara dağılımı

Gruplar	Ortalama vücut ağırlığı (g)
Kontrol (n=7)	163±5,5
TAA (n=7)	156±6,9
TAA+LAK (n=7)	164±6,7
TAA+SB (n=7)	161±7
TAA+LAK+SB (n=7)	160±7,6

### Ölüm zamanları

Sıçanlardan hastalık nedeni ile ölenler tespit edildi, kalan sıçanlar çalışmanın sonlandırıldığı 72. saatte anestezi sonrası öldürüldü. Thioacetamid verilen gruplarda TAA+SB grubu dışında, ölüm zamanları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hayatta

kalma süresinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubu dışında diğer gruplar arasında ölüm zamanı açısından istatistiksel fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 6:** Sıçanların ölüm zamanlarının gruplara dağılımı

Gruplar	Ortalama ölüm zamanı (saat)	Karşılaştırılan gruplar	p değeri
Kontrol (n=7)	72±0	TAA	0,000**
		TAA+LAK	0,014*
		TAA+SB	0,302
		TAA+LAK+SB	0,033*
TAA (n=7)	39±5,1	Kontrol	0,000**
		TAA+LAK	0,741
		TAA+SB	0,085
		TAA+LAK+SB	0,531
TAA+LAK (n=7)	48±5,1	Kontrol	0,014*
		TAA	0,741
		TAA+SB	0,728
		TAA+LAK+SB	0,999
TAA+SB (n=7)	52±5,2	Kontrol	0,302
		TAA	0,085
		TAA+LAK	0,728
		TAA+LAK+SB	0,894
TAA+LAK+SB (n=7)	50±5,3	Kontrol	0,033*
		TAA	0,531
		TAA+LAK	0,999
		TAA+SB	0,894

\* $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi

\*\* $p < 0.001$  anlamlı kabul edildi

## Mortalite

Thioacetamid verilen gruplarda, kontrol grubuna göre mortalitede istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu dışındaki diğer gruplar arasında mortalite açısından istatistiksel fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Laktuloz ve SB tedavisinin mortalite üzerine etkisi görülmedi.

**Tablo 7 :** Sıçanların mortalite ve hayatta kalma oranlarına göre gruplara dağılımı

Gruplar	Mortalite oranı	Hayatta kalma oranı (%)
Kontrol (n=7)	0/7	100
TAA (n=7)	7/7	0
TAA+LAK (n=7)	6/7	14,3
TAA+SB (n=7)	5/7	28,6
TAA+LAK+SB (n=7)	6/7	14,3

## Hepatik Ensefalopati Evresi

Çalışmada thioacetamid uygulanan gruplardaki tüm sıçanlarda ağır karaciğer yetmezliği gözlemlendi. Çalışmanın sonuna kadar TAA grubundaki sıçanların hepsinde hepatik ensefalopati evre 4 gözlemlendi. Diğer gruplarda değişik derecelerde hepatik ensefalopati evreleri saptandı. Thioacetamid verilen tüm gruplarda kontrol grubuna göre hepatik ensefalopati evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu dışındaki gruplar arasında hepatik ensefalopati evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 8 :** Thioacetamide bağlı gelişen akut hepatik yetmezlikte 72 saat sonunda hepatik ensefalopati evrelerinin gruplara dağılımı

HE Evre	Kontrol (n=7)	TAA (n=7)	TAA+LAK (n=7)	TAA+SB (n=7)	TAA+LAK+ SB (n=7)
Evre 1	0	0	0	0	0
Evre 2	0	0	1	1	1
Evre 3	0	0	0	1	1
Evre 4	0	7	6	5	5



**Tablo 9 :** Hepatik ensefalopati evrelerinin gruplara dağılımı

<b>Gruplar</b>	<b>HE evresi</b>	<b>Karşılaştırılan gruplar</b>	<b>p değeri</b>
Kontrol (n=7)	0	TAA	0,000**
		TAA+LAK	0,000**
		TAA+SB	0,000**
		TAA+LAK+SB	0,000**
TAA (n=7)	4	Kontrol	0,000**
		TAA+LAK	0,910
		TAA+SB	0,330
		TAA+LAK+SB	0,991
TAA+LAK (n=7)	3,2	Kontrol	0,000**
		TAA	0,991
		TAA+SB	0,680
		TAA+LAK+SB	0,998
TAA+SB (n=7)	2,8	Kontrol	0,000**
		TAA	0,330
		TAA+LAK	0,680
		TAA+LAK+SB	0,684
TAA+LAK+SB (n=7)	3,2	Kontrol	0,000**
		TAA	0,991
		TAA+LAK	0,998
		TAA+SB	0,684

\*p<0.05 anlamlı kabul edildi

\*\*p<0.001 anlamlı kabul edildi

## Biyokimyasal sonuçlar

### a) Amonyak düzeyi

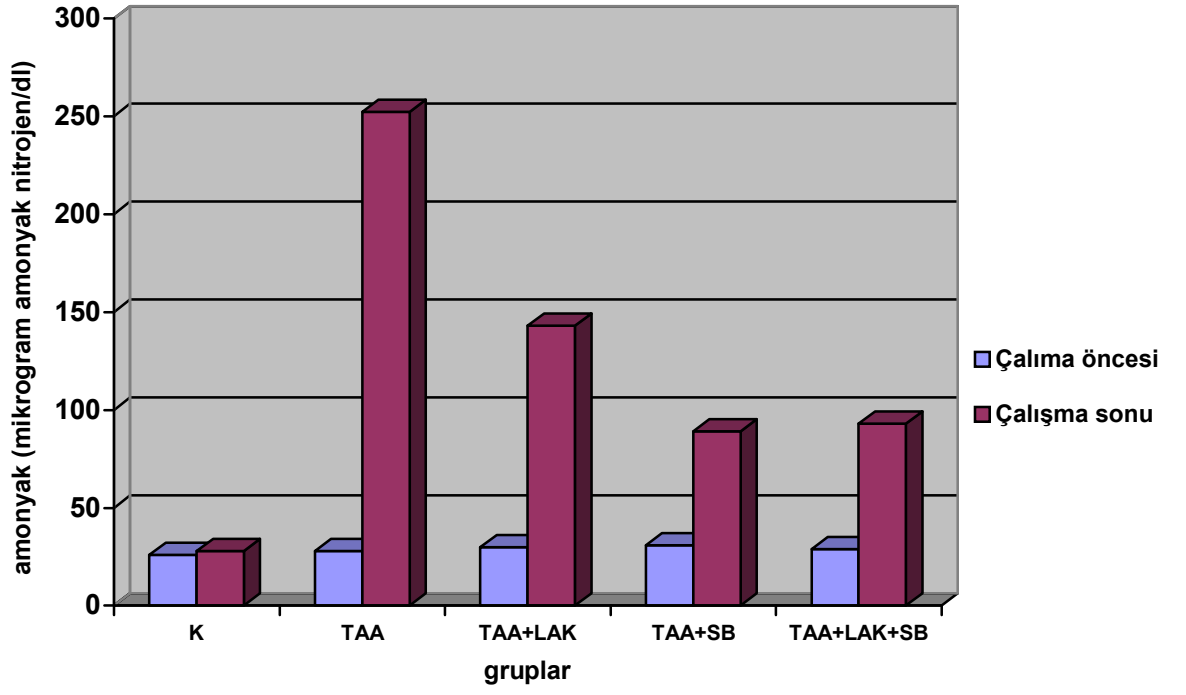
Thioacetamid uygulamadan önce ölçülen serum amonyak seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ( $p<0.05$ ). Çalışma sonunda TAA, TAA+LAK gruplarında ölçülen serum amonyak seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ( $p>0.05$ ). Laktuloz tedavisi verilen grupta çalışma sonundaki amonyak seviyelerinde TAA grubuna göre azalma ve kontrol grubuna göre artış istatistiksel olarak anlamlı saptandı ( $p<0.05$ ). *Saccharomyces boulardii* ve laktuloz tedavisinin tekli ve beraber verildiği gruplarda çalışma sonu amonyak düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). *Saccharomyces boulardii* tedavisi verilen grupta sadece TAA grubuna göre çalışma sonu amonyak seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ( $p<0.05$ ). Laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisinin birlikte verildiği grupta sadece TAA grubuna göre amonyak seviyelerinde anlamlı düşüş saptandı ( $p<0.05$ ).

**Tablo 10 :** Sıçanların thioacetamid uygulama öncesi ve çalışma sonu serum amonyak seviyelerine göre gruplara dağılımı

Gruplar	Thioacetamid uygulama öncesi serum amonyak seviyeleri ( $\mu\text{g}$ amonyak nitrojen/dl )	Çalışma sonu serum amonyak seviyeleri ( $\mu\text{g}$ amonyak nitrojen/dl)	p değeri
Kontrol (n=7)	26 $\pm$ 1,4	28 $\pm$ 3	0,519
TAA (n=7)	28 $\pm$ 2,9	252 $\pm$ 32	0,001**
TAA+LAK (n=7)	30 $\pm$ 3	143 $\pm$ 9	0,000**
TAA+SB (n=7)	31 $\pm$ 3,7	89 $\pm$ 23	0,050*
TAA+LAK+SB (n=7)	29 $\pm$ 2,5	93 $\pm$ 20	0,024*

\* $p<0.05$  anlamlı kabul edildi

\*\* $p<0.001$  anlamlı kabul edildi



Şekil 5: Serum amonyak seviyelerinin gruplara dağılımı

**Tablo 11** : Sıçanların çalışma sonu serum amonyak seviyelerinin gruplara dağılımı

Gruplar	Amonyak seviyeleri ( $\mu\text{g}$ amonyak nitrojen/dl)	Karşılaştırılan gruplar	p değeri
Kontrol (n=7)	28 $\pm$ 3	TAA	0,000***
		TAA+LAK	0,003**
		TAA+SB	0,342
		TAA+LAK+SB	0,225
TAA (n=7)	252 $\pm$ 32	Kontrol	0,000***
		TAA+LAK	0,003**
		TAA+SB	0,000***
		TAA+LAK+SB	0,000***
TAA+LAK (n=7)	143 $\pm$ 9	Kontrol	0,003**
		TAA	0,003**
		TAA+SB	0,356
		TAA+LAK+SB	0,502
TAA+SB (n=7)	89 $\pm$ 23	Kontrol	0,342
		TAA	0,000***
		TAA+LAK	0,356
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+LAK+SB (n=7)	93 $\pm$ 20	Kontrol	0,225
		TAA	0,000***
		TAA+LAK	0,502
		TAA+SB	1,000

\*p<0.05 anlamlı kabul edildi

\*\*p<0.01 anlamlı kabul edildi

\*\*\*p<0.001 anlamlı kabul edildi

### **b) Aspartat Aminotransferaz seviyesi**

Thioacetamid uygulamadan önce ölçülen serum AST seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Thioacetamid grubunda çalışma sonunda ölçülen serum AST seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ( $p<0.05$ ). Laktuloz ve SB tedavisi verilen gruplarda çalışma sonu ölçülen serum AST seviyelerinde istatistiksel olarak TAA grubuna göre

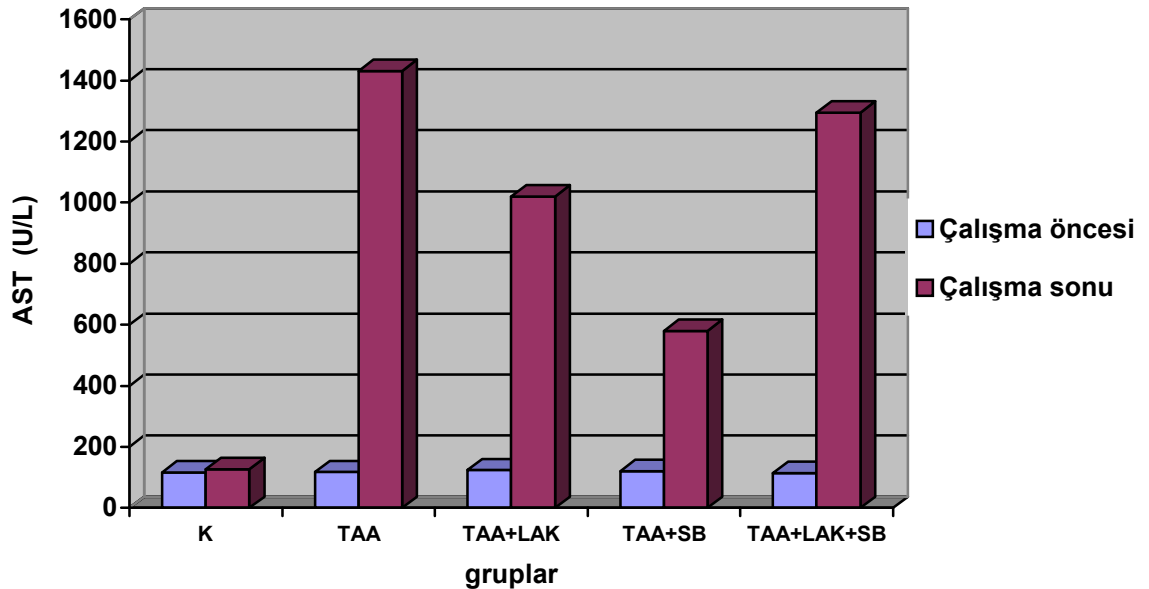
anlamli düşüş ve kontrol grubuna göre anlamli artış saptanmadı ( $p>0.05$ ). Laktuloz ve SB tedavisi birlikte verilen grupta tekli tedavi verilen gruplara göre çalışma sonu serum AST düzeylerinde istatistiksel olarak anlamli fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 12:** Sıçanların thioacetamid uygulama öncesi ve çalışma sonu serum AST seviyelerine göre gruplara dağılımı

Gruplar	Thioacetamid uygulama öncesi serum AST seviyeleri (U/L)	Çalışma sonu Serum AST seviyeleri (U/L)	p değeri
Kontrol (n=7)	117±9,8	127±8	0,148
TAA (n=7)	118±6	1536±422	0,021*
TAA+LAK (n=7)	124±10	1020±117	0,000**
TAA+SB (n=7)	121±10	580±184	0,042*
TAA+LAK+SB (n=7)	115±8	1294±351	0,016*

\* $p<0.05$  anlamli kabul edildi

\*\* $p<0.001$  anlamli kabul edildi



**Şekil 6:** Serum AST seviyelerinin gruplara dağılımı

**Tablo 13** : Sıçanların çalışma sonu serum AST seviyelerinin gruplara dağılımı

<b>Gruplar</b>	<b>Çalışma sonu Serum AST seviyeleri (U/L)</b>	<b>Karşılaştırılan gruplar</b>	<b>p değeri</b>
Kontrol (n=7)	127±8	TAA TAA+LAK TAA+SB TAA+LAK+SB	0,048* 0,360 0,909 0,118
TAA (n=7)	1536±422	Kontrol TAA+LAK TAA+SB TAA+LAK+SB	0,048* 0,938 0,412 1,000
TAA+LAK (n=7)	1020±117	Kontrol TAA TAA+SB TAA+LAK+SB	0,360 0,938 0,919 0,989
TAA+SB (n=7)	580±184	Kontrol TAA TAA+LAK TAA+LAK+SB	0,909 0,412 0,919 0,601
TAA+LAK+SB (n=7)	1294±351	Kontrol TAA TAA+LAK TAA+SB	0,118 1,000 0,989 0,601

\*p<0.05 anlamlı kabul edildi

### c) Alanin Aminotransferaz seviyeleri

Thioacetamid uygulamadan önce ölçülen serum ALT seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Thioacetamid, TAA+LAK, TAA+LAK+SB gruplarında çalışma sonunda ölçülen serum ALT seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı (p<0.05).

*Saccharomyces boulardii* tedavisi verilen grupta çalışma sonundaki serum ALT seviyelerinde TAA grubuna göre istatistiksel anlamlı düşüş gözlemlendi ( $p < 0.05$ ).

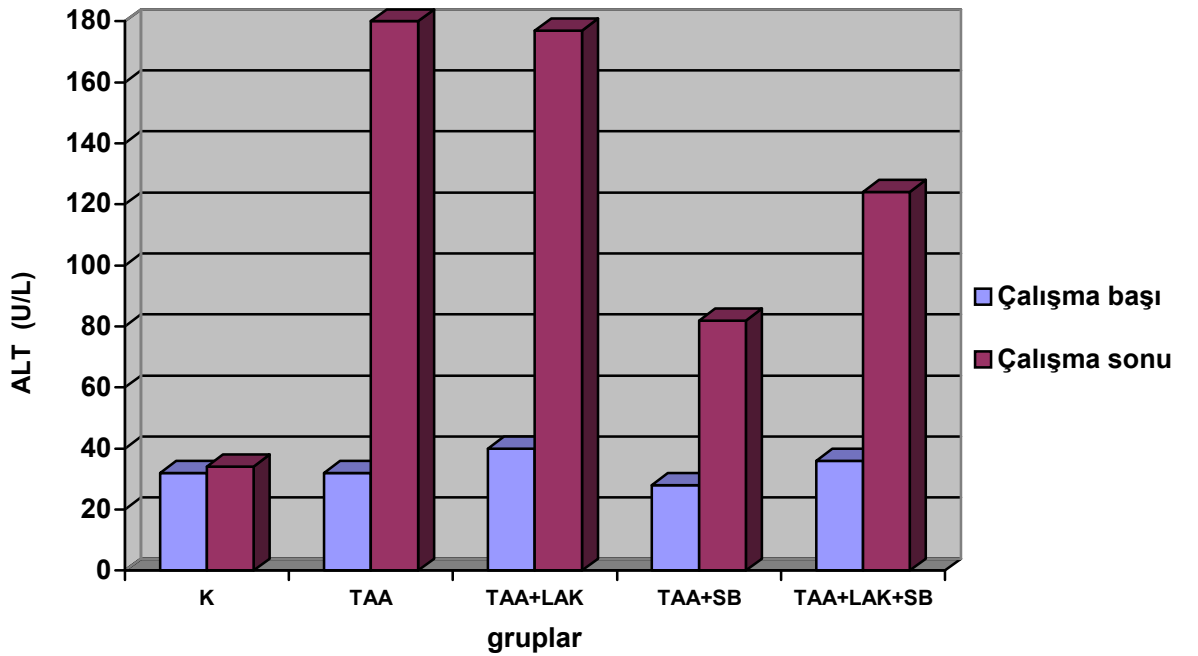
**Tablo 14 :** Sıçanların thioacetamid uygulama öncesi ve çalışma sonu serum ALT seviyelerine göre gruplara dağılımı

Gruplar	Thioacetamid uygulama öncesi serum ALT seviyeleri (U/L)	Çalışma sonu serum ALT seviyeleri (U/L)	p değeri
Kontrol (n=7)	32.7±7,3	34±6,4	0,841
TAA (n=7)	32.5±6,5	180±30	0,002**
TAA+LAK (n=7)	35.6±4	177±24,7	0,002**
TAA+SB (n=7)	28±5,9	82±21,3	0,049*
TAA+LAK+SB (n=7)	33.5±2,5	124±27	0,000***

\* $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi

\*\* $p < 0.01$  anlamlı kabul edildi

\*\*\* $p < 0.001$  anlamlı kabul edildi



**Şekil 7:** Serum ALT seviyelerinin gruplara dağılımı

**Tablo 15:** Sıçanların çalışma sonu serum ALT seviyelerinin gruplara dağılımı

Gruplar	Çalışma sonu serum ALT seviyeleri (U/L)	Karşılaştırılan gruplar	p değeri
Kontrol (n=7)	34±6,4	TAA	0,000***
		TAA+LAK	0,001**
		TAA+SB	0,606
		TAA+LAK+SB	0,037*
TAA (n=7)	180±30	Kontrol	0,000***
		TAA+LAK	1,000
		TAA+SB	0,039*
		TAA+LAK+SB	0,624
TAA+LAK (n=7)	177±24,7	Kontrol	0,001**
		TAA	1,000
		TAA+SB	0,047*
		TAA+LAK+SB	0,672
TAA+SB (n=7)	82±21,3	Kontrol	0,606
		TAA	0,039*
		TAA+LAK	0,047*
		TAA+LAK+SB	0,641
TAA+LAK+SB (n=7)	124±27	Kontrol	0,037*
		TAA	0,624
		TAA+LAK	0,672
		TAA+SB	0,641

\*p<0.05 anlamlı kabul edildi

\*\*p<0.01 anlamlı kabul edildi

\*\*\* p<0.001 anlamlı kabul edildi

### Mikrobiyoloji Sonuçları

#### a) Bakteriyel aşırı çoğalma

Bakteriyel aşırı çoğalmayı göstermek için ileum içeriğindeki ml'deki üreyen mikroorganizmaların koloni sayıları karşılaştırıldı. Thioacetamid verilen gruplarda, kontrol grubuna göre mikroorganizma koloni sayılarında istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı (p<0.01). Mikroorganizma koloni sayılarında TAA+LAK, TAA+SB ve



TAA+LAK+SB gruplarında, TAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ( $p<0.01$ ). TAA+LAK, TAA+SB ve TAA+LAK+SB grupları arasında mikroorganizma koloni sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 16 :** İleum içeriği kültürlerinde üreyen bakterilerin ortalama koloni sayılarının gruplara dağılımı

Gruplar	Escheria coli koloni sayısı ( $\times 10^3$ CFU/ml)	Karşılaştırılan gruplar	p değeri
Kontrol (n=7)	0,3±0,14	TAA	0,000**
		TAA+LAK	0,000**
		TAA+SB	0,000**
		TAA+LAK+SB	0,000**
TAA (n=7)	180,71±7,3	Kontrol	0,000**
		TAA+LAK	0,000**
		TAA+SB	0,000**
		TAA+LAK+SB	0,000**
TAA+LAK (n=7)	62,42±21	Kontrol	0,000**
		TAA	0,000**
		TAA+SB	0,998
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+SB (n=7)	59,14±17	Kontrol	0,000**
		TAA	0,000**
		TAA+LAK	0,998
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+LAK+SB (n=7)	60,12±16,1	Kontrol	0,000**
		TAA	0,000**
		TAA+LAK	1,000
		TAA+SB	1,000

\* $p<0.05$  anlamlı kabul edildi

\*\* $p<0.001$  anlamlı kabul edildi

### b) Bağırsakta üreyen mikroorganizmaların cinsi:

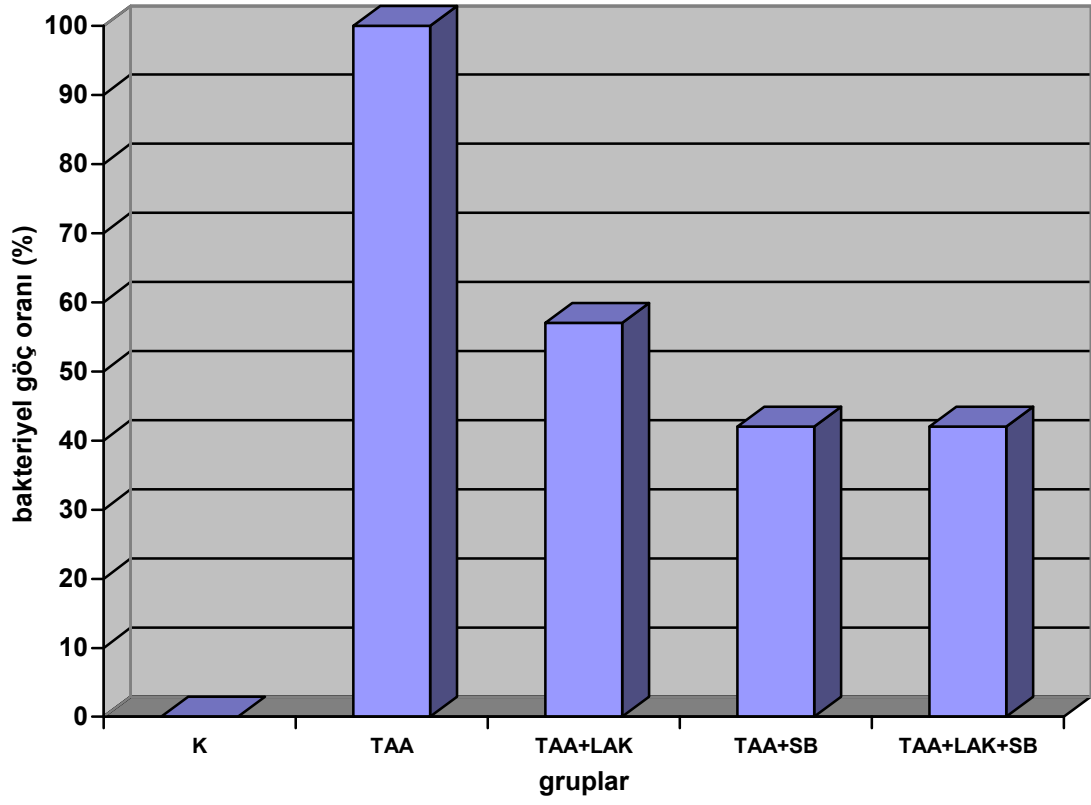
İnce bağırsakta üreyen mikroorganizmalardan ; gram (-) bakterilerden en sık *E. Coli* %54 oranında ürerken, bunu sırasıyla *Proteus* %26 , *Klebsiella* %13, Gram (+) bakterilerden ise *Stafilokok*'ların %7 oranında izlediği saptandı.

### c) Bakteriyel göç

Bakteriyel göçü göstermek amacı ile alınan MLN, dalak ve kan kültürlerinde kontrol grubunun hiç birinde üreme görülmemekle birlikte diğer gruplarda değişik sayı ve lokalizasyonda üreme gözlemlendi. Bakteri göçü açısından TAA verilen gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ( $p<0.05$ ). Kontrol grubu dışındaki gruplar arasında bakteri göçü yönüyle istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 17 :** Bakteri göçü lokalizasyonunun ve oranlarının gruplara göre dağılımı

Gruplar	MLN	Dalak	Kan	Bakteriyel göç (%)
Kontrol (n=7)	0	0	0	0/7(%0)
TAA (n=7)	7	4	5	7/7(%100)
TAA+LAK (n=7)	4	2	4	4/7(%57)
TAA+SB (n=7)	4	2	2	4/7(%57)
TAA+LAK+SB (n=7)	4	2	3	4/7(%57)



**Şekil 8 :** Bakteri göç oranlarının gruplara dağılım

**Tablo 18 :** Bakteri göç oranlarının gruplara dağılımı

Gruplar	Bakteri göçü yüzdesi	Karşılaştırılan gruplar	p değeri
Kontrol (n=7)	%0	TAA	0,001**
		TAA+LAK	0,021*
		TAA+SB	0,021*
		TAA+LAK+SB	0,021*
TAA (n=7)	%100	Kontrol	0,001**
		TAA+LAK	0,760
		TAA+SB	0,760
		TAA+LAK+SB	0,760
TAA+LAK (n=7)	%57	Kontrol	0,021*
		TAA	0,760
		TAA+SB	1,000
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+SB (n=7)	%57	Kontrol	0,021*
		TAA	0,760
		TAA+LAK	1,000
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+LAK+SB (n=7)	%57	Kontrol	0,021*
		TAA	0,760
		TAA+LAK	1,000
		TAA+SB	1,000

\*p<0.05 anlamlı kabul edildi.

\*\*p<0.01 anlamlı kabul edildi

İnce bağırsakta mantar koloni sayılarında SB dışında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. MLN, Dalak ve kan kültürlerinde mantar üremesine rastlanmadı.

**Tablo 19 :** Bakteriyel göçte mikroorganizmaların ürediği lokalizasyona göre oranları

<b>Lokalizasyon</b>	<b>E.Coli</b>	<b>Proteus</b>	<b>Klebsiella</b>
<b>MLN</b>	%58	%30	%12
<b>Dalak</b>	%63	%23	%14
<b>Kan</b>	%57	%28	%15

### **Histopatolojik bulgular**

Patoloji örneklerindeki TAA uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre karaciğer nekroz derecelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ( $p<0.05$ ). Karaciğer nekroz derecelerinde TAA uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 20 :** Sıçanların karaciğer nekroz derecesine göre gruplara dağılımı

<b>Gruplar</b>	<b>Nekroz yok</b>	<b>Fokal nekroz</b>	<b>Zonal nekroz</b>	<b>Birleşen nekroz</b>
Kontrol (n=7)	7			
TAA (n=7)			2	5
TAA+LAK (n=7)		2	4	1
TAA+SB (n=7)		3	3	1
TAA+LAK+SB (n=7)		3	2	1

**Tablo 21** : Karaciğer nekroz derecesinin gruplara dağılımı

<b>Gruplar</b>	<b>Karaciğer nekroz derecesi</b>	<b>Karşılaştırılan gruplar</b>	<b>p değeri</b>
Kontrol (n=7)	0	TAA	0,000**
		TAA+LAK	0,000**
		TAA+SB	0,000**
		TAA+LAK+SB	0,000**
TAA (n=7)	2,7	Kontrol	0,000**
		TAA+LAK	0,152
		TAA+SB	0,152
		TAA+LAK+SB	0,152
TAA+LAK (n=7)	1,85	Kontrol	0,000**
		TAA	0,152
		TAA+SB	1,000
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+SB (n=7)	1,85	Kontrol	0,000**
		TAA	0,152
		TAA+LAK	1,000
		TAA+LAK+SB	1,000
TAA+LAK+SB (n=7)	1,85	Kontrol	0,000**
		TAA	0,152
		TAA+LAK	1,000
		TAA+SB	1,000

\*p<0.05 anlamlı kabul edildi

\*\*p<0.01 anlamlı kabul edildi

## TARTIŞMA

Hepatik ensefalopati, akut veya kronik karaciğer yetmezliği sonucu gelişen nöropsikiyatrik bulgularla karakterize, geriye döndürülebilen metabolik ensefalopatidir. Patogenezinde halen bir çok faktörün etkili olduğu tartışılmaktasına rağmen bağırsak kaynaklı nitrojenli maddelerin azalmış hepatik atılımının en önemli mekanizma olduğu düşünülmektedir. Patogenezde en önemli faktör olan amonyağın büyük kısmı; diyetteki protein ve nitrojen ürünlerinin kolondaki bakteriler tarafından parçalanması, enterohepatik dolaşıma giren ürenin bağırsaklarda bakteriyel üreaz aktivitesiyle parçalanması ve mide-barsak kanamaları nedeniyle bağırsaklarda bulunan kanın parçalanması sonucu oluşmaktadır. Bu nedenle bağırsak florası HE oluşumunda şüphesiz önemli bir faktördür. Hepatik ensefalopati tedavisinde eskiden beri kullanılan protein kısıtlaması, laktuloz ve neomisin nitrojenli toksinlerin üretimini azaltarak amonyak düzeyini düşürür, fakat hastaların tümünde etkili değildir (13, 22-24, 84).

Sentetik bir disakkarit olan laktuloz, kolon florasındaki üreaz negatif *Laktobasiller* tarafından laktik asit, asetik asit ve formik aside metabolize olur ve kolon lümen içi pH düşer. Kolon lümen içi pH'nın düşmesi bağırsak florasını değiştirir; *E. Coli* gibi amonyak üreten bakteriler azalırken, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus* gibi daha az amonyak oluşturan bakteriler artar. Düşük pH'da amonyak çözünmeyen amonyum iyonu şekline dönüşerek bağırsaktan dışarı atılır. Diğer bir taraftan laktulozun oluşturduğu osmotik diyare nedeniyle amonyağın emilimi ve üretimi azalır. Sonuç olarak amonyağın plazma seviyeleri ve ürenin total vücut havuzu azalır (2-4).

Laktuloz ile uzun dönem tedavide gaz, ishal ve kolik tarzında karın ağrısı en sık görülen şikayetlerdir. Laktuloz ishal ve elektrolit düzeylerinde dengesizliğe yol açabilir, şiddetli ishaller hipertonic dehidratasyona ve hipernatremiye sebep olabilir, oluşan hipernatremi bilinç durumunu değiştirebilir. Antibiyotikler iştihayı kayı, böbrek hasarı, bağırsaktan gıdaların yetersiz emilmesi ve dirençli bakteri enfeksiyonlarına sebep olabilirler (5, 87).

Günümüzde hepatik ensefalopati tedavisinde kullanılan tedavilerin tüm hastalarda etkili olmaması ve istenmeyen etkilere sebep olmaları nedeni ile güvenilir, yan etkisi olmayan, iyi tolere edilebilen, ucuz alternatif tedavi yöntemlerine gereksinim vardır. Bağırsak florasına benzer laktöz üreten mikroorganizmalar bir çok çalışmada kullanılmıştır. Patojen olmayan probiyotik etkinliğe sahip mikroorganizmaların hepatik ensefalopati üzerine etkinliği ile ilgili çalışmalar yapılmış olumlu sonuçlar alınmıştır. Bağırsak florasında düzenleyici etkiye sahip olan probiyotiklerin HE’de yeni tedavi seçeneği olabileceği tartışmaları gündeme gelmiştir (10, 11, 84).

Probiyotikler yararlı etki oluşturan ve konağın mikroflorasını değiştiren, canlı mikro organizmalardır. Probiyotikler, bağırsakta patojenik mikroorganizmaların büyüme ve çoğalmasını engeller. Probiyotikler; üreaz üreten bakterilerle yarışarak bu bakterilerin sayısını ve üreaz aktivitesini azaltır, bağırsakta lümen içi pH’yı azaltarak amonyak emilimini engeller ve bağırsak geçirgenliğini azaltarak serum amonyak seviyelerinde düşmeye sebep olurlar. Ayrıca probiyotikler karaciğerde enflamasyon ve oksidasif stresi azaltarak amonyak ve diğer toksinlerin karaciğerden atılımını artırır. *Bifidobacterium*, *Lactobasilli*, *Enterococcus faecium* probiyotik olarak deneysel amaçlı hepatik ensefalopatide kullanılmış ve yararlı etkileri görülmüştür (10, 88-90).

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturduğumuz HE’de, bir probiyotik olan ve daha önce HE tedavisinde kullanılmayan *Saccharomyces boulardii*; HE tedavisinde etkinliğini, laktuloza üstünlüğünü, laktuloz ve *Saccharomyces boulardii*’nin beraber kullanımının tekli tedaviye üstünlüğünü araştırmayı planladık.



Çalışmamızda sıçanlara hepatoksik etkili TAA 0. ve 24. saatinde 600 mg/kg periton içine enjekte ederek deneysel HE oluşturduk. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Neil ve arkadaşları (15) sıçanlara çalışmanın 0. ve 24. saatinde 600 mg/kg TAA enjekte ederek HE oluşturmuşlardır.

Boca ve arkadaşları (91) kronik hepatik ensefalopatide *Enterococcus*'u probiyotik olarak kullanmışlardır ve tedaviden 8-9 hafta sonra amonyak düzeylerinin normale yaklaştığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisi verilen gruplarda çalışma sonundaki amonyak düzeylerinde TAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisinin amonyağı düşürmede birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmediği gibi, birlikte kullanımı ve tekli kullanımı arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

Transaminaz düzeyleri karaciğer hücre hasarının duyarlı bir göstergesidir. Sağlam karaciğer hücrelerinde bulunan transaminazlar hücre zarının zedelenmesi ve hücre ölümü durumunda plazmaya geçerler. Lin Jia ve arkadaşları (84) TAA ile oluşturdukları hepatik ensefalopati tedavisinde laktuloz ile probiyotik kullanmışlar; serum AST ve ALT düzeylerini karşılaştırmışlardır. Thioacetamid verilen grupta AST ve ALT düzeylerinde anlamlı derecede yükselme görülmüş. Laktuloz ve probiyotik tedavisi sonrası AST ve ALT düzeylerinin normale yaklaştığını tespit etmişler. Laktuloz ve probiyotik tedavilerinin AST ve ALT düzeylerini etkileri arasında fark tespit etmemişlerdir. Bizim çalışmamızda da çalışma sonundaki AST ve ALT düzeyleri üzerinde laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisinin istatistiksel olarak anlamlı olumlu etkileri saptandı ( $p<0.05$ ). Laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisinin AST ve ALT düzeyleri üzerindeki etkilerinde birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadığı gibi, birlikte kullanımı veya tekli kullanımı arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Transaminazların probiyotik tedavisi ile düşmesi, probiyotiklerin karaciğer hücre hasarını önlediklerinin göstergesi olarak düşünüldü.

Karaciğer retikülo endotelial sistemin en önemli organıdır ve bakteriyel

enfeksiyon hepatik yetmezliğin bilinen bir komplikasyonudur. Sirozda bakteriyel enfeksiyon %15-%47 oranında görülebilir (7, 8). Oluşan enfeksiyonlar HE gelişimini ve ilerlemesini kolaylaştırmaktadır (92, 93). Enfeksiyonlarda %70-80 sebep gram negatif basillerdir. Gram negatif basillerden tespit edilen en sık etken *Escherica coli*'dir. Gram pozitif bakteri enfeksiyonları daha çok invaziv girişimler ve uzun süre antibiyotik tedavisi sonucu oluşmaktadır (94).

Yetmezlikte olan karaciğer hastalıklarında şiddetli enfeksiyona rağmen enfeksiyon odağının saptanamaması ve kan kültürlerinde bağırsak içi mikroorganizmaların sık tespit edilmesi enfeksiyon kaynağının hastaların kendi bağırsak florası olduğunu düşündürmektedir (93, 95). Karaciğer hastalıklarında pek çok etken enfeksiyon sıklığının artmasına sebep olmaktadır. Karaciğer hastalıklarında hümmoral bağışıklık fonksiyonları ve polimorfonükleer lökosit işlevlerinde bozukluk oluşmaktadır. Serum IgM'in bakteriyi öldürmedeki işlevi sirozlu hastaların %80'inde *E.coli* tipleri için yetersizdir. Bizim çalışmamızda da kan kültürlerinde en sık *E.coli* ürediğini saptamamız bu düşünceyi doğrulamaktadır (93, 96). Kompleman yetersizliği kısa sürede oluşan karaciğer hastalıklarında çok şiddetlidir. Şiddetli kompleman yokluğunda opsonizasyon da olmaz. Polimorfonükleer hücrelerin normal hareketi şiddetli karaciğer yetmezlikte azalır. Karaciğer hastalıklarında, opsonize bakterilerin hem fagositozu hemde hücre içi öldürüldüğü gösterilememiştir. Bu hücrelerde hücre içi glutasyon ve granül enzimlerinin azlığı nedeni ile bakteriyi öldürme yeteneğinde azalma görülmüştür (96, 97). Sonuçta bağırsaktaki bakterilerin diğer organlara göçü ile enfeksiyon oluşmaktadır. Deneysel çalışmalarda karaciğer yetmezliğinde %50 oranında bakteri göçü gösterilmiş ve ençok *Enterobacteriace* ve *E.coli* izole edilmiştir (98). Literatürde %70'lik karaciğer rezeksiyonundan sonra MLN ve kan kültürlerinde pozitiflik, %33 ve %38 oranında bildirilmektedir (99). Bizim çalışmamızda TAA ile oluşturulan karaciğer hasarında kan kültürlerinde %100 üreme tespit edildi.

Bağırsağın mukoza içi pH'sı bağırsağın fizyolojik cevabının, lümen içi pH'sı ise bağırsaktaki bakteriyel çevrenin ölçümü ile eş olarak değerlendirilir. Bağırsakta laktik asit mevcudiyetinin bağırsak bakteriyel popülasyonunu dengelediği ve potansiyel olarak zararlı bakterilerin artışı önlediği düşünülmektedir. Bağırsağın lümen içi pH'sı

bakterilerin metabolizmasında önemlidir. Örneğin laktobasiller asidik pH'da, klostridiumlar ise daha yüksek pH'da iyi ürerler. Bağırsak lümen içi pH'da ki değişiklikler bağırsak mikroflorasını değiştirebilir. Probiyotikler bağırsakta lümen içi pH'yı azaltarak karaciğer hastalarında bakteri aşırı çoğalmayı ve bakteri göçünü engelleyebilir (100, 101).

Bağırsak bakterilerinin aşırı derecede üreyerek kolonize olmasında bağırsak motilitésinin yavaşlamasının önemi büyüktür. Gastro intestinal sistemin motor fonksiyonu; bağırsak içeriğinin geçiş süresinde, emilimde ve bağırsak bakteriyel popülasyonunda çok önemli rol oynar. Bağırsak duvarının kanlanması azalmasında, bağırsak geçiş zamanında artmaya sebep olmaktadır. Karaciğer hastalığında bağırsak geçiş zamanında artma mekanizması tam açık değildir. Mezenterik kan akımında azalma ve intestinal mikrosirkülasyonun bozulması bağırsağa oksijenin dağıtılmasında yetersizliğe yol açmaktadır. Bu muskularis submukozada felce yol açmaktadır. Substans P, vazoaktif intestinal peptid, nöropeptid Y gibi intestinal nöropeptidler, bağırsak motilite fonksiyonunda, bağırsak sfinkterlerin gevşemesi ve kasılmasında rol oynarlar. Hepatektomi yapılarak oluşturulan deneysel karaciğer yetmezliğinde, bu faktörlerin ince ve kalın bağırsaktaki miktar ve dağılımında değişiklikler tespit edilmiş ve bunun da bağırsak hareketinde azalmaya yol açtığı görüşüne varılmıştır (102).

Bakteriyel aşırı üremenin bağırsak bariyer yetmezliğinde etkisi; bakterinin kendisi veya ürettikleri proteazların mikrovillus membran proteinlerine etkisi sonucu fırçamsı yüzeyel aktivitenin kaybı ile meydana gelmektedir (102). Bakteriyel ürünlerden en önemlisi *E.coli*'nin duvarına yerleşik lipopolisakkarit yapısındaki endotoksindir. Normal metabolizma ürünü olarak veya bakteri yıkımından sonra salınır. Artmış endotoksin konsantrasyonu enterosit birleşim yerlerinde hasara, bağırsak mukozal bariyerin geçirgenliğinde artmaya ve bakterilerin göçüne sebep olmaktadır. Büyük oranda karaciğer rezeksiyonu oluşturularak yapılan çalışmalarda *E.coli*'nin koloni sayılarının ince bağırsağın son kısmında ve çekumda, aşırı oranda arttığı gösterilmiştir (103). Albert ve arkadaşları (104) karbon tetraklorid ile oluşturdukları deneysel sirozda jejenal ve çekal içerikte, *E.coli* koloni sayısında kontrol grubuna göre artış olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da TAA ile karaciğer hasarı sonrası

ileumdan alınan içerikte bakteri koloni sayısında artış gözlemlendi. Kasravi ve arkadaşları (105) bağırsak geçirgenliğinin bariyer fonksiyon göstergesi olduğunu, karaciğer yaralanmalarında ileum ve çekumda bağırsak geçirgenliğinin arttığını ve beraberinde arteriyel kan akımının azaldığını rapor etmişlerdir. John ve arkadaşları (106) yaptıkları çalışmada *Saccharomyces boulardii*'nin enterosit olgunlaşmasını hızlandırdığını, fırçamsı yüzeyde laktaz, glukozidaz ve alkalen fosfataz aktivitelerini artırarak bağırsak mukozası bariyer fonksiyonunun korunmasına yardımcı olduğunu göstermişlerdir.

Zhang ve arkadaşları (107) karbon tetraklorid ile deneysel olarak oluşturdukları siroz modelinde, laktuloz tedavisi kullanılarak bağırsak geçirgenliğinin azaldığını, intestinal geçiş zamanının uzadığını ve sonuçta bakteriyel göçün azaldığını göstermişlerdir. Solgo ve arkadaşları (101) laktulozun geç dönemde probiyotik gibi etkiler oluşturduğunu savunmuşlardır. Laktulozun barsak içinde pH'yı düşürmesi endojen *Lactobacilli* ve *Bifidobakteriler*'in büyümesini tetiklediğini ve bunların probiyotik etkili olduğunu rapor etmiştir. Bizim çalışmamızda laktuloz tedavisi ile bağırsak içi bakteri aşırı çoğalmanın istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptandı. Çalışmamızda laktuloz tedavisi verilen grupta bakteri göçü TAA grubuna göre %42 oranında azalmakla beraber, laktuloz ve TAA gruplarının bakteri göç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark tespit edilmedi. Laktuloz tedavisi ile bakteri göçünde istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınamaması gruplardaki denek sayısının azlığına bağlı olabileceği düşünüldü. Bu çalışmaların yanında laktulozun bakteriyel göçü artırdığını gösteren çalışmalarda vardır. Billur ve arkadaşları (108) yaptıkları çalışmada şiddetli açlıkta laktuloz tedavisi ile bakteri göçünün arttığını tespit etmişlerdir. Bovee ve arkadaşları (109) çalışmalarında hayvanlara ağızdan enfekte *Salmonella enteritis* verildiğinde, laktuloz tedavisi ile bağırsak salmonella enfeksiyonlarının azaldığını fakat bağırsaktan salmonella göçünde artış olduğunu saptamışlardır.

Urao ve arkadaşları (110) probiyotiklerin bağırsakta enfeksiyon yapabilen bakteri sayılarını azalttığını göstermişlerdir. *Saccharomyces boulardii* bağırsakta anaerobik bakteri popülasyonunu artırmakta ve bağırsakta zararlı bakterilerin aşırı çoğalmasını engellemektedir (110, 111). Biz de çalışmamızda bağırsakta bakteri

çoğalmasının *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını tespit ettik. Özkan ve arkadaşları (85) deneysel olarak yaptıkları yanık yaralanmasında bakteri göçünü antibiyotik tedavisi ile %80, *Saccharomyces boulardii* ve antibiyotik tedavisinin birlikte verilmesi ile %37 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda *Saccharomyces boulardii* tedavisi verilen grupta bakteri göçü TAA grubuna göre %52 oranında azalmakla beraber, *Saccharomyces boulardii* ve TAA gruplarının bakteri göç oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark tespit edilmedi. *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile bakteri göçünde istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınamaması gruplardaki denek sayısının azlığına bağlı olabileceği düşünüldü.

*Saccharomyces boulardii*'nin yan etkisi şu ana kadar gösterilmemiş olmasına rağmen çok düşük oranda bazı vakalarda fungemi yapabileceği bildirilmiştir. Arnoldo ve arkadaşları (82) bağışıklık sistemi baskılanmış olan hastalarda ishal tedavisinde *Saccharomyces boulardii*'nin kullanımı sonrası kan kültürlerinde *Saccharomyces* ürediğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda sıçan kan kültürlerinde *Saccharomyces boulardii* üremesi saptanmadı.

Probiyotiklerin toksik maddeler ile oluşan karaciğer hücresindeki hasarları önleyici etkisi olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Bu etki enflamasyona neden olan enflamatuvar mediatörlerin ve karaciğer hücresindeki oksidatif stresin probiyotik tedavisi ile azalmasına bağlanmıştır. Probiyotik tedavisi ile karaciğer hücresinde hasarlanmanın azalması ve karaciğer fonksiyonlarındaki bozulmanın düzeltilmesi probiyotiklerin hepatik ensefalopati tedavisinde etkin bir seçenek olacağını düşündürmektedir (85, 112).

Lin Jia ve arkadaşları (84) TAA ile oluşturdukları deneysel minimal hepatik ensefalopatide TAA enjeksiyonundan 48 saat sonra karaciğerde enflamasyon ve nekroz tespit etmişler, laktuloz ve probiyotik tedavisi ile istatistiksel olarak karaciğer enflamasyon ve nekrozunda azalma göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisi verilen gruplarda karaciğer nekroz derecelerinde TAA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzelme saptamadık. Çalışmamızda tedavi ile

karaciğer nekrozu üzerine olumlu etki saptanmamasının daha yüksek dozda TAA kullanmamız ile ilgili olabileceği kanısındayız.

Lin Jia ve arkadaşları (84) TAA ile oluşturdukları minimal hepatik ensefalopati tedavisinde laktuloz ve probiyotik kullanmışlar. Çalışmalarında BAEP bulgularında laktuloz ve probiyotik tedavisi ile düzelme göstermişlerdir. Qing ve arkadaşları (113) minimal hepatik ensefalopati olan hastalarda probiyotik kombinasyonu kullanmışlar, %50 hastada HE'nin gerilediğini psikomotor testlerde düzelme ile tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar ile laktuloz ve probiyotik tedavilerinin hepatik ensefalopatide olumlu etkileri gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile mortalite ile hepatik ensefalopati seyri istatistiksel olarak anlamlı düzelme saptanmadı. Bizim çalışmamızda hepatik ensefalopati seyri ve mortalite oranlarında, laktuloz ve *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile olumlu sonuç saptanmamasının yüksek dozda thioacetamid kullandığımız için ağır derecede karaciğer yetmezliği oluşmasına bağlı olabileceğini düşündük.

Bizim çalışmamızda ileri derecede HE oluşturuldu ve *Saccharomyces boulardii*'nin ensefalopati seyri etkinliği gözlenmedi. Probiyotiklerin HE'de tedavisindeki etkinliği daha önce minimal hepatik ensefalopati modellerinde denenmiş ve olumlu sonuçlar saptanmıştır(84). Çalışmamız Solgo ve arkadaşlarının (10) HE'nin ileri evrelerinde probiyotik tedavilerinin etkilerinin sınırlı olduğunu ve çoklu probiyotik içeren kombine tedavilerinin ağır HE'de daha etkili olabileceği düşüncesini doğrulamaktadır.

Bizim çalışmamızın sonucunda; *Saccharomyces boulardii*'nin ağır HE tedavisinde amonyak, AST ve ALT düzeylerinin düşmesinde etkili olduğu, HE seyri ve mortaliteyi değiştirmede kanatine varılmıştır.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Thioacetamid ile oluşturulan deneysel hepatik ensefalopatide *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile amonyak düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptandı.
2. *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile karaciğer yetmezliğinde karaciğer hücre yıkımı göstergesi AST ve ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edildi.
3. Karaciğer yetmezliğinde enfeksiyon oluşumunu artıran bağırsakta bakteri aşırı çoğalmasında *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptandı. *Saccharomyces boulardii* tedavisi ile bakteri göçünde istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınamamasının gruplardaki denek sayısının azlığına bağlı olabileceği düşünüldü.
4. Ağır karaciğer yetmezliğinde *Saccharomyces boulardii* tedavisinin hepatik ensefalopati seyri, karaciğer nekrozu ve mortalite üzerine etkisi saptanmadı.
5. Laktuloz ve *Saccharomyces boulardii*'nin hepatik ensefalopati tedavisinde birbirlerine üstünlüğü saptanmadığı gibi beraber kullanımlarının farklı etkileri tespit edilemedi.
6. Probiyotikler ile yapılan çalışmalarda minimal hepatik ensefalopatide olumlu sonuçların alınması ve bizim çalışmamızda da transaminazlar ve amonyak üzerine olumlu etki görülmesi probiyotiklerin karaciğer hasarında kısmen etkili olduğunu düşündürmektedir.
7. Hepatik ensefalopatinin erken evrelerinde probiyotik tedavisi kullanımı karaciğer hasarı ve hastalığın seyri üzerinde etkili olabilir.

## ÖZET

### DENEYSEL HEPATİK ENSEFALOPATİ OLUŞTURULAN SİÇANLARDA SACHAROMYCES BOULARDII KULLANIMI

**Giriş ve Amaç :** Hepatik ensefalopati, akut veya kronik karaciğer hastalığı sonucu anormal bilinç durumu ile gelişen nöropsikiyatrik bir durumdur. Hepatik ensefalopati psikomotor bozukluklardan ağır derecede koma şeklinde değişik evrelerde seyredebilir. Hepatik ensefalopati patogenezi kesin olarak bilinmemekle birlikte, bağırsak flora metabolizması sonucu oluşan amonyağın en önemli etken olduğu düşünülmektedir. Hepatik ensefalopati tedavisinde kullanılan laktuloz ve antibiyotikler istenmeyen etkileri nedeniyle ideal tedavi yöntemi değildir. Bağırsak florası üzerinde düzenleyici etkisi olan canlı mikroorganizmaların HE patogenezindeki mekanizmaları etkileyerek ideal tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.

**Gereç ve Yöntem :** Wistar cinsi otuz beş adet dişi sıçan 7'ser adetlik 5 gruba ayrıldı. 1. grup kontrol grubu olarak belirlendi, diğer gruplara 600 mg/kg TAA 0. ve 24. saatte periton içine verilerek deneysel HE oluşturuldu. Thioacetamid verilen sıçanlardan bir gruba laktuloz, diğer bir gruba *Sacharomyces boulardii* ve son gruba laktuloz ve *Sacharomyces boulardii* tedavisi verildi. Çalışma öncesi ve sonrası amonyak, AST ve ALT düzeyleri için kan örneği alındı. Çalışma sonrası kan kültürü, ileal içerik, MLN, dalak doku kültürü ve karaciğer biyopsisi alındı.



**Bulgular :** Tioacetamid ile deneysel olarak HE oluşturuldu. Laktuloz ve *Sacharomyces boulardii* tedavisi ile amonyak, AST ve ALT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptandı (p<0.05). Laktuloz ve *Sacharomyces boulardii* tedavisi ile bağırsakta bakteriyel çoğalmada istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı (p<0.05). Bakteri göçünde laktuloz tedavisi ile %43, *Sacharomyces boulardii* tedavisi ile %58 azalma tespit edilmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Hepatik ensefalopati seyri ve mortalite üzerine laktuloz ve *Sacharomyces boulardii* tedavisinin olumlu etkileri saptanmadı. Laktuloz ve *Saccharomyces boulardii*'nin tekli veya ikili kullanımını arasında fark gözlenmedi.

**Sonuç :** *Sacharomyces boulardii*'nin ağır karaciğer yetmezliğinde transaminazları ve amonyağı düşürmede olumlu etkisi vardır.

**Anahtar Kelimeler :** Hepatik ensefalopati, bakteriyel overgrowth, bakteriyel translokasyon, probiyotik, *Saccharomyces boulardii*.

## SUMMARY

### THE USE OF SACCHAROMYCES BOULARDII FOR THE TREATMENT OF HEPATIC ENCEPHALOPATHY AN EXPERIMENTAL STUDY

**Objective :** Hepatic encephalopathy is a neuropsychiatric condition that develops with an abnormal consciousness, condition as a result of acute or chronic liver disease. Hepatic encephalopathy can be seen in stages from psychomotor abnormalities to severe coma. The pathogenesis of hepatic encephalopathy is not clear, but ammonia, which has been produced as a result of metabolism of enteric flora, has been considered as the most important factor. The lactulose and the antibiotics which were used for the treatment of the hepatic encephalopathy are not the ideal treatment methods because of undesired side effects. Living microorganisms that have a regulatory effect on the enteric flora are considered to be the ideal treatment option via affecting the mechanism of hepatic encephalopathy pathogenesis.

**Materials and methods :** Thirty-five wistar albino type female rat have been divided into 5 groups, having 7 rat in each. One group has been determined as a control group and experimental HE has been formed in other groups by giving 600 mg/kg TAA into peritonea at the beginning 0 and 24 th hours. Among the groups which TAA have been given, one has been given lactulose only, the other one has been given *Saccharomyces boulardii* only, and the other group has been given both lactulose and

*Saccharomyces boulardii* treatment. Blood samples have been taken before and after the study for the ammonia, AST and ALT levels. After the study, the blood culture, ileal content, splenic tissue culture, mesenteric lymph node (MLN) and liver biopsy have been taken.

**Results :** Experimental HE has been developed by thioacetamid. Significant decrease in the levels of ammonia, AST and ALT levels have been determined statistically with the treatment of lactulose and *Sacharomyces boulardii*. Significant decrease have been determined statistically with treatment by lactulose and *Saccharomyces boulardii* in the bacterial overgrowth. Even though a 43% decrease with lactulose treatment, and a 58% decrease with the *Saccharomyces boulardii* treatment have been observed in bacterial migration, these did not lead to a statistically significant result. No positive effects of lactulose and *Saccharomyces boulardii* treatment have been determined for the progression and mortality of HE. No difference has been observed for the single or combined treatment of lactulose and *Saccharomyces boulardii*.

**Conclusion :** *Sacharomyces boulardii* has a positive effect in decreasing liver transaminases and the ammonia levels, in severe liver failure.

**Key words :** Hepatic encephalopathy, bacterial overgrowth, bacterial translocation, probiotic, *Sacharomyces boulardii*.

## KAYNAKLAR

1. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K. Hepatic encephalopathy-definition, nomenclature, diagnosis and quantification. *Hepatology*. 2002 ; 35(3):716-721
2. Weber FL , Minco D, Fresard KM, et al. Effects of vegetable diets on nitrogen metabolism in cirrhotic subject. *Gastroenterology* 1985; 89:538-544
3. Bircher J, Muller J, Guggenheim P, et al. Treatment of acute hepatic encephalopathy with lactulose. *Lancet* 1996; 1: 890-893
4. Morenson PB. The effect of oral administered lactulose on colonic nitrogen metabolism and excretion. *Hepatology* 1992; 16: 1350-1356
5. Bird SP, Hewith D, Ratcliffe B, et al. Effect of lactulose and lactitol on protein digestion and metabolism in conventional and germ free animal models: Relevance of the results to their use in treatment of portosystemic encephalopathy. *Gut* 1990; 31:1403-1406
6. Orlandi F, Freddora V, Candelaresi T, et al. Comparison between neomycin and lactulose in 173 patients with hepatic encephalopathy a randomized clinical study. *Dig Dis SCI* 1982; 26:498-506
7. Yoshida H, Hamada T, Inuzuka S, et al. Bacterial infection in cirrhosis with and without hepatocellular carcinoma. *American Journal of Gastroenterology* 1993; 88:2067-2071
8. Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infection in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology* 1993; 18:353-358
9. Adawi D, Kasravi FB, Molin G, Jeppson B. Effect of *Lactobacillus* supplement with and without arginine on liver damage and bacterial translocation in acute liver injury model in the rat. *Hepatology* 1997; 25:642-647
10. S. F. Solga. Probiotics can treat hepatic encephalopathy. *Medical Hypotheses* 2003; 61(2):307-313
11. Ger B, Rene S, Harro T. Effect of antibiotics prebiotics and probiotic in treatment for hepatic encephalopathy. *Medical Hypotheses* 2005; 65: 64-68
12. Yılmaz GR, Çevik MY, Ünal S. *Saccharomyces boulardii*. *Flora* 2000; 5(2):2-28.
13. Sergio H, Gammal D, Jones A. Hepatic encephalopathy. *Med Clin Nort America*, 1984; 73(4):793-813
14. Shela S, James D. Diseases of the liver and biliary system. Tenth Edition. Oxford Blackwell Science Ltd. 1997: P87-102

15. Neil S, James R. McConnell F, Jorge F, Rodriguez S. Behavioral and physiological sex differences observed in an animal model of fulminant hepatic encephalopathy in the rat. *Physiology-Behavior*. 1997; 62(5):1113-1124,
16. Williams R. Classification, etiology and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 1996; 16:343-348
17. Jones EA, Schafer DF. Fulminant hepatic failure in hepatology. A textbook of Liver Diseases. Ed by D Zakim, T.D. Boyer, WB Saunders Co. Philadelphia, 1990: 460-492
18. Fraser C.C, Arieff A.I. Medical progress : Hepatic encephalopathy. *New Eng J. Med* 1995; 313: 865-873
19. Bernthal P, Hays A, Tarter RE, et al. Cerebral CT scan abnormalities in cholestatic and hepatocellular disease and their relationship to neuropsychologic test performance. *Hepatology* 1987; 7:107-9
20. Parsons-Smith B, Summer Skill WJ, Dawson A, et al. The electroencephalograph in liver disease. *Lancet* 1957; ii:867
21. Basile AS, Jones EA, Skolnick P. The pathogenesis and treatment of hepatic encephalopathy: Evidence for the involvement of benzodiazepine receptor ligands. *Pharmacol Rev* 1991; 42:27-71
22. Peter M, Farmer M, Mulakhtan T. The pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Ann Clin and Lab Sci* 1990; 20:91-97
23. Crossley IR, Wardle EN, Williams R. Biochemical Mechanism of Hepatic Encephalopathy. *Clin Sci*. 1983; 64:247-252
24. K.V. Rama Rao, M. Norenberg. Cerebral energy metabolism in hepatic encephalopathy and hyperammonemia. *Metabolik Brain Diseas*. 2001; 16:67-78
25. Yurdaydın C, Jones EA. Hepatic Encephalopathy In: 'Principles and Practice of Gastroenterology and Hepatology'de, 2. Baskı, G.Gitnick (editör). Elsevier Science Publishing Co, Inc. 1994; 885-895
26. Charmaine A, Jane C. Hepatic encephalopathy : A dynamic or static condition. *Metabolik Brain Diseas*. 2005 ; 20(3):193-203
27. Oppong KN, Barkett K, Record CO, et al. Synaptosomal glutamate transport in thioacetamide induced hepatic encephalopathy in the rat. *Hepatology* 1995; 22:553.
28. Michalak A, Rose C, Butterwoth J, Butterwoth RF. Neuroactive aminoacids and glutamate (NMDA) receptors in frontal cortex of rats with experimental acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24: 908-913
29. Ellis AJ, Proudfoot D, Wendon JA, Williams R. A controlled trial of phentoin infusion in ALF. Does subclinical fitting cause cerebral oedema. *J. Hepatol* 1997; 27:107
30. Knecht K, Michalak A, Rose C, Rothstein JD, Butterwoth RF. Decreased glutamate transporter (GLT-1) expression in frontal cortex of rats with acute liver failure. *Neurosci Lett* 1997; 229: 201-203
31. Löscher W, Kretz FJ, Tung LC, Dillenger U. Reduction of highly elevated plasma levels of GABA does not reverse hepatic coma. *Hepatogastroenterology* 1989; 36:504-505
32. Roy S, Pomier-Layrargues G, Butterwoth RF, Michel Huet P. Hepatic encephalopathy in cirrhotic and portocaval shunted dogs: Lack of changes in brain GABA

- uptake, brain GABA levels, brain glutamik asid decarboxylase activity and brain postsinaptik GABA reseptors. *Hepatology* 1988; 8: 845-849
- 33.** Pomier-Layrargues G, Giguene JF, Lavoie J, et al. Flumazenil in cirrhotic patiens in hepatic coma: a randomized double-blind plasebo-controlled crssover trial. *Hepatology* 1994; 19:32
- 34.** Norenberg MD. Astrocytic-Ammonia interactions in hepatic encephalopathy. *Semin Liver Dis* 1996; 16(3):245-253
- 35.** Plauth M, Egberts EH, Müller PH, Früts P. Characteristic pattern of free amino asicds in plazma and skeletel muscle in stable hepatic cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 1990; 37:135-139
- 36.** Fanelli RF, Freund H, Karause R, et al. Índication f coma in normal dogs by the infusion of aromatic amino acids and its prevention by the addtion of branched chain amino acids. *Gastroenterology* 1982; 83:664-671
- 37.** Zieve L, Doizaki WM, Zieve JF. Synergism Between mercaptans and ammonia or fatty acids in production of coma : A possible role for mercaptans in pathogenesis of hepatic coma. *J Lab Clin Med* 1974; 83:16-28
- 38.** Thuluvath PS, Edwin D, Yue CN, et al. Increased signal seen in globus pallidus in T1-weighted magnetic resonance imaging in cirrhotics are not suggestive of chronic hepatic encephalopathy. *Hepatology* 1995; 21:140
- 39.** Butterworth RF, Spahr L, Efnain S, et al. Mangesese toxicity, dopaminerjik dysfunction and hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 1995; 10:259-267.
- 40.** Bernal W. Changing patterns of caussation and the use of transplntion in the United Kingdom. *Semin Liver Dis* 2003; 23:227-238
- 41.** Fenton JC, Kniĝt ES, Huperson PL. Milland cheese diet in portal-systemic encephalopathy. *Lancet* 1996; 1:164-166
- 42.** Uribe M, Campollo O, Vargas F, et al. Acidifying enemas (lactilol and lactulose) us. nonacidifying enemas (zap water) to treat acute portal systemic encephalopathy: A double-blind, randomized clinical trial. *Hepatology* 1987; 7:639-643
- 43.** Minuk GY, Sarjeant EJ. The effect of neomycin and lactulose treatment on systemic and portal serum GABA levels in rats and pH changes on GABA binding to isolated rat hepatocytes. *Clin Invest Med.* 1988; 11(5):373-376
- 44.** Pai CH, Huang YS, Jeng WC, Chan CY, Lee SD. Treatment of porto-systemic encephalopathy with lactitol verus lactulose: A randomized controlled study. *Zhonghua Yixue Zazhi* 1995; 55:31-36
- 45.** Morgan MY, Read AE, Speller OC. Treatment of hepatic encephalopathy with metronidazole. *Gut* 1982; 23:1-7
- 46.** Potts J.R., Henderson J.M., Millikan W.J, et al. Restoration of portal venous perfusion and reversal of encephalopahy by balloon acclusion of portal-systemic shuny, *Gastroenterology* 1984; 87:208-211
- 47.** Efrati C, Masini A, Merli M, Valeriano V, Riggio O. Effect of sodium benzoate on blood ammonia response to oral glutamine challenge in cirrhotic patients: a note of caution. *Am J Gastroenterol.* 2000 ;95(12):3574-3578
- 48.** Bresci G, Parisi G, Banti S, Management of hepatic encephalopathy with oral zinc supplematation : Along term treatment. *Eur J Med* 1993; 2: 114-116
- 49.** Staedt V, Leweling H, Gladish R, et al. Effect of ornithine aspartate on plazma ammonia and plazma amino acids in patients with cirrhosis. A double-blind randomized study using a four fold crossover design. *J Hepatol* 1993; 19:424-430

- 50.** Mariano M, Giovanni P, Rampello E, Carmelo L, et al. Effect of L-carnitine in patients with hepatic encephalopathy. *World Gastroenterol* 2005; 11(45) :7197-7202
- 51.** Morgan MY, Jakobovits AW, James IM, et al. Successful use of bromocriptine in the treatment of chronic hepatic encephalopathy *Gastroenterology* 1980; 78: 663
- 52.** Horst D, Grace ND, Conn HO, et al. Comparison of dietary protein with an oral, branched chain-enriched amino acid supplement in chronic portal systemic encephalopathy; a randomized controlled trial. *Hepatology* 1984; 4: 279-287
- 53.** Edmiston CE, Condon RE. Bacterial translocation. *Surg Gynecol Obst* 1991; 173:73-83
- 54.** Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, et al. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990; 212:496-512
- 55.** Berg RD. Translocation of enteric bacteria in health and disease. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1992; 59:44-65
- 56.** Akçay MN, Çapan, Gündoğdu C, et al. Bacterial translocation in experimental intestinal obstruction. *J Int Medical Res* 1996; 24:17-26
- 57.** Kane TD, Johnson SR, Alexander JW, et al. Detection of intestinal bacterial translocation using PCR. *J Surg Research* 1996; 63:59-63
- 58.** Baker JW, Deitch EA, Li M, et al. Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut. *J Trauma* 1988; 28:896-906
- 59.** Nolon JP. Endotoxin, reticuloendothelial function, and liver injury. *Hepatology* 1981; 1:458-465
- 60.** Stein GG, Bonsak M, Liberty J, et al. Abdominal radiation causes bacterial translocation. *J Surg Res* 1989; 46:104-107
- 61.** Rolfe C. Biotherapy for antibiotic-associated and other diarrhoeas. *J Infect* 1996; 32: 1-10
- 62.** McFarland LV, Bernasconi P. *Saccharomyces boulardii*: A review of an innovative biotherapeutic agent. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1993; 6:157-71
- 63.** Blehaut H, Massot J, Emler GW, Levy RH. Disposition kinetics of *saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharm Drug Dispos* 1989; 10:353-364
- 64.** Klein SM, Elwer GW, McFarland LV, Surawicz CM, Levy RH. Recovery and elimination of the biotherapeutic agent, *Saccharomyces boulardii* in healthy human volunteers. *Pharm Res* 1993; 10:1615-1619
- 65.** Di Luzio NR. Immunopharmacology of glucan: A broad spectrum enhancer of host defence mechanism. *Pharmacol Sci* 1983; 4:344-347
- 66.** Nicoud-Bertin L, Panouse-Perrin J. Propriétés activatrices de deux préparations de levures vis à vis du complément humain. *Rev Inst Pasteur Lyon* 1986; 18:345-365
- 67.** Massot J, Desconclois M, Patte F. Effet protecteur d'un *Saccharomyces* lors d'une infection bactérienne expérimentale chez la souris. *Bull Soc Mycol Med* 1977; 6:45-48
- 68.** Seguella JP, Llanes JP. Dépression des défenses immunitaires par antibiothérapie, restauration expérimentale par un *Saccharomyces*. *Bull Soc Mycol Med* 1982; 11:343-347
- 69.** Buts JP, Bernasconi P, Vaerman JO, Dive C. Stimulation of secretory Ig A and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* 1990; 35:251-256
- 70.** Jahn HU, Ullrich R, Schneider T, Liehr RM. Immunological and trophic effects of *Saccharomyces boulardii* on the small intestine in healthy human volunteers *Digestion* 1996; 57:95-104

71. Emler GW, Surawicz CM, McFarland LV. Biottherapeutic agent. JAMA 1996; 257: 870-876
72. Vidon N, Huchet B, Rambaud JC. Influence de *Saccharomyces boulardii* sur la secretion jejunale induite chez l'erat par la toxine cholérique. Gastroenterol Clin Biol 1986; 10:13-6
73. Ducluzeau R, Bensaada M. Effect compare de l'administratation unique ou en continu de *Saccharomyces boulardii* sur l'établissement de diverses souches *Candida* dansle tractus digestif de souris gnotoxeniques. Ann Microbiol 1982; 133:491-501
74. Dias RS, Bambilra EA, Silva ME, Nicoli JR. Protective effect *Saccharomyces boulardii* againts the cholera toxin in rats. Braz J Med Biol Res 1995; 28:323-325
75. Castagliuolo I, La Mont JT, Nikulasson ST, Pothoulaksis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibitis *Clostridium difficile* toxin A effect in the rat ileum. Infect Immun 1996; 28:323-325
76. Castagiulo I, Riegler MF, Valenick L, LaMont JT, Pathoulaksis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effect of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. Infect Immun 1999; 67:302-307
77. Pothoulakis C, Kelly CP, Joshi MA, et al. *Saccharomyces boulardii* inhibitis toxin A binding and enterotoxicity in the rat ileum. Gastroenterology 1993; 104:1108-1115
78. Buts JP, Bernasconi P, Van Craynets MP, Maldague P, De Meyer R. Response of human and rat small intestinal mucosa to oral administratation of *Saccharomyces boulardii*. Pediatr Res 1986; 20:192-196
79. Mc Farland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standart antibiotics for *Clostridium difficile* disease. JAMA 1994; 271 :1913-1918
80. Kollaritsch H, Holst H, Grobara P, Wiedermann G. prophylaxe der reisediarrhoe mit *Saccharomyces boulardii*. Fortschr Med 1993; 111:153-156
81. Bleichner G, Blehaut H, Mentec H, Moyse H, Moyse D. *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in criticallt ill tubefed patients. Int Care Med 1997; 23:517-523
82. Arnoldo J. Riquelme, M, Mario A, et al. *Saccharomyces cerevisia* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment in immunocompromised patients. J Clin Gastroenterol 2003; 36 (1):41-43
83. Özkan H, İnci G.K, İlknur K. Effect of antibiotics and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in burn injury. Sury Today 2004; 34:256-260
84. Lin Jia, Mei-Hua Zhang. Comparison of probiotics and lactulose in the treatment of minimal hepatic encephalopathy in rats. World J Gastroenterol 2005; 11(6):908-911
85. Özkan H, İnci K, İlknur K. Effect on Antibiotics and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in burn injury. Surg Today 2004; 34:256-260
86. Peter J. Schewer, Jay H, WB Saunders. Practical liver biopsy interpretation. Sixth edition. American society of clinical pathologists. 2000: 113-117
87. Warren S.E, Mitas J.A, Swerd A.H. Hypernatremia in hepatic failure. JAMA 1980; 243: 1257-1260
88. Laguercio C, Abbiati R, Rinaldi M, et al. Long-term effect of *Enterococcus faecium* SF68 versus lactulose in the treatment of patients with cirrhosis and grade 1-2 hepatic encephalopathy. J. Hepatol 1995 ; 23:39-46
89. Read AE, Mc Carthy CF, Heaton KW, Laidlaw J. *Lactobacillus acidophilus* (enpac) in treatment of hepatic encephalopathy. Br Med J 1996 ; 54:1267-1269
90. Macbeth WA, Kass EH, Mcdermott WV. Treatment of hepatic encephalopathy by alteration of intestinal flora with *Lactobacillus acidophilus*. Lancet 1965; 191:399-403



91. Boca M, Vyskocil M, Mikulecky M, et al. Complex therapy of chronic hepatic encephalopathy supplemented with probiotic: comparison of two studies. *Cas Lek Cesk* 2004; 143(5):324-328
92. Yanaga K, Kanematsu T, Sugimachi K, Taknaka K. Intraperitoneal septic complications after hepatectomy. *Ann Surg* 1986; 203:148-152
93. Wyke RJ. Problems of bacterial infection in patient with liver diseases. *Gut* 1987; 26: 623-641
94. Compillo B, Richardet SP, Dupeyron C. Nasocomial spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in cirrhotic patients: Impact of isolate type on prognosis and characterictis of infection. *Clinical Infections Diseases* 2002; 35:1-10
95. Arroya V, Nasava M, Rimola A. Spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. Treatment and prophylaxis infection 1994; 22:167-175
96. Bolegnesi M, Merkel C, Bianco S, et al. Clinical significance of the evulation of hepatic reticuloendothelial removal capacity in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1994; 19: 628-634
97. Vo NM, Chi DS. Effect of hepatectomyon reticuloendothelial system of septic rats. *J Trauma* 1988; 28: 852-854
98. Garcia-Tsao G. Bacterial translocation: cause or consequence of decompensation in cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2001; 34:150-155
99. Berg RD, Wommack E, Deitch EA. Immunosupression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promotes bacterial translocation. *Arch Surg* 1988; 123 :1359-1364
100. Wang X, Wang Q, Anderson R, Bengmark S. Intramucosal pH and oxygen extraction the gastrointestinal tract after major liver resection rats. *Eur J Surg* 1993; 159:81-87
101. Steven F. S, Anna M.D. Gut flora-based therapy in liver diseases. The liver cares about the gut. *Hepatology* 2004; 39(5):1197-1200
102. Wang XD, Guo WD, Wang Q, et al. The association between enteric bacterial overgrowth and gastrointestinal motility after subtotal liver resection or portal vein obstruction in rats. *Eur J Surg* 1994; 160:153-160
103. Deitch EA, Berg RB, Specia R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg* 1987; 122:185-190
104. Albert P, Ramon B, Viente L, et al. Effect of Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation incirrhosis. *Hepatology* 2000; 31:856-863
105. Kasravi FB, Wang L, Wang XD, et al. Bacterial translocation in acute liver injury induced by D-galactosamine. *Hepatology* 1996; 23:97-99
106. John HU, Ulrich R, Schneider T, et al. Immunological and trophical effect of saccharomyces boulardii on the small intestine in healthy human volunteers. *Digestion* 1996; 57:95-104
107. Zhang S, Wang W, Ren W. Effects of lactulose on intestinal endotoxin and bacterial translocation in cirrhotic rats. *Chin Med J* 2003; 116(5):767-771
108. B. Demiroğulları, M. Cirak, A. Poyraz, K. Sönmez. Effects of lactulose and lactitol on coliform bacteria and bacterial translocation in the caecum during 72-h starvation in rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 2003; 135:249-255
109. J. Oudenhoven, S. Bruggencate, M. Wissink, R. Dietary fructo-oligosaccharides and lactulose inhibit intestinal colonisation but stimulate translocation of salmonella in rats. *Gut* 2003;52:1572-1578

- 110.** Urao M, Fujimato T, Lane GJ, Seo G, Miyano T. Does probiotics administration decrease serum endotoxin levels in infants. *J Pediatr Surg* 1999; 34:273-6
- 111.** Duffy LC. Interactions mediating bacterial translocation in the immature intestine. *J Nutr* 2000; 130(2):432-6
- 112.** Li Z, Yang S, Lin H, et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2003 ;37(2):343-50
- 113.** Qing Liu, Zhang P, Kang H, et al. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2004 ;39(5)1441-1445