

# Süt Çocukluğu Döneminde Barsak Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

## Determination of Intestinal Enzyme Activities During Infancy Period

Emel Örün, Songül Yalçın\*, İncilay Lay\*\*, Arzu Dursun\*\*\*, Asuman Özkara\*\*

Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

\*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sosyal Pediatri Ünitesi, Ankara, Türkiye

\*\*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

\*\*\*Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye



### Öz

**Giriş:** Barsak enzim aktiviteleri barsak florasında yaşayan bakterilerin varlığını ve metabolik aktivitelerini yansıtan dolaylı belirteçlerdir. Çalışmanın amacı, dışkıda beta ( $\beta$ )-glukuronidaz,  $\beta$ -glukozidaz ve üreaz enzimlerinin aktivite düzeylerini 6 haftalık ve 8 aylık bebeklerde ölçmek ve düzeyleri etkileyen faktörleri belirlemektir. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 100 sağlıklı 6 haftalık bebekler dahil edildi. Tüm bebeklerden dışkı örneği alındı. Dışkı örneklerinin 17'si partikülsüz olduğu için değerlendirme dışı bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen bebeklerin 35'inden 8. ayda ikinci dışkı örneği alındı. Bebeklerin 25'inin hem 6 haftalık hem de 8 aylık dışkı örnekleri vardı. Alınan dışkı örneklerinde üreaz,  $\beta$ -glukuronidaz ve  $\beta$ -glukozidaz enzim aktiviteleri ( $\text{nmol/dk}^{-1}/\text{mg-protein}^{-1}$ ) ölçüldü.

**Bulgular:** Tekrarlanan ölçümlerde üreaz ve  $\beta$ -glukuronidaz düzeyleri zaman içinde azalırken,  $\beta$ -glukozidaz düzeyleri artmaktaydı. Prematüre doğan bebeklerin 8. ay  $\beta$ -glukuronidaz enzim aktivitesi daha yüksekti. Anne sütünü ilk 1 saatte almaya başlayan ve biberon kullanan bebeklerde altıncı haftadaki üreaz aktivitesi daha düşüktü. Sadece anne sütü alma durumu barsak enzim aktivitesini etkilemedi. **Sonuç:** İntestinal enzim aktiviteleri süt çocukluğu döneminde yapılanma aşamasında olan mikrofloranın fonksiyonelliğini dolaylı olarak göstermesi açısından önemlidir. Bununla birlikte enzim aktivitelerinin yaşa bağlı olarak değişkenlik göstermesi nedeniyle düzeyini etkileyen faktörlerin tanımlanması güçleşmektedir.

### Anahtar kelimeler

Barsak enzim aktivitesi, üreaz, beta-glukuronidaz, beta-glukozidaz

### Keywords

Intestinal enzyme activity, urease, beta-glucuronidase, beta-glucosidase

Geliş Tarihi/Received : 21.06.2015

Kabul Tarihi/Accepted : 12.04.2016

DOI:10.4274/jcp.43434

Yazışma Adresi/Address for Correspondence:

Dr. Emel Örün, Özel Çankaya Yaşam Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye  
Tel.: +90 533 520 72 98  
E-posta: emelorum@hotmail.com

© Güncel Pediatri Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.  
© The Journal of Current Pediatrics, published by Galenos Publishing.

### Abstract

**Introduction:** Intestinal enzyme activities are indirect indicators that reflect the existence and metabolic activity of bacteria living in the intestinal flora. The purpose of the study was to measure fecal beta ( $\beta$ )-glucuronidase,  $\beta$ -glucosidase and urease enzyme activities and to determine the factors that affect levels in 6 week old and 8 month old babies.

**Materials and Methods:** The study comprised 100 healthy infants at 6 weeks of age. Feces samples were collected from all infants. However, 17 of the feces samples were not included due to the lack of particles in the feces. The same samples were also taken from 35 infants at 8 months of age. Twenty-five of the infants had given feces samples at both 6 weeks and 8 months of age. Urease,  $\beta$ -glucuronidase and  $\beta$ -glucosidase enzyme activities ( $\text{nmol/min}^{-1}/\text{mg-protein}^{-1}$ ) were measured.

**Results:** In repeated measures, the levels of  $\beta$ -glucuronidase and urease declined over time and  $\beta$ -glucosidase levels increased. At 8 months of age, higher

$\beta$ -glucuronidase levels were obtained in premature infants. At 6 weeks of age, lower levels of urease were measured in babies who were started breastfeeding at the first hour of life and were bottle-fed. Exclusive breastfeeding had no influence on the intestinal enzyme activities.

**Conclusions:** In early infancy period when microflora is structured, intestinal enzyme activities are important that show indirectly functionality of the microflora. However, it is difficult to highlight what affects the levels of intestinal enzymes because activities vary according to the age.

## Giriş

Kompleks bir ekosistem olan insan barsak mikroflorası hem barsakta zararlı bakterilerin çoğalmasını engeller hem de yiyeceklerin sindirim işlemlerinde rol oynar. Barsakta trilyonlarca bulunan flora bakterileri çok çeşitlidir ve farklı enzim aktiviteleri gösterir (1). Bir mikroorganizmanın barsakta hakim olması sonucu bakterinin enzim aktivitesini arttırarak gastrointestinal sistemin fonksiyonlarını (intestinal bariyer, immüne yanıt gibi) etkileyebileceği düşünülmektedir. Enflamatuvar barsak hastalığı, irritabl barsak sendromu, atopik dermatit, romatoid artrit ve ankilozan spondilit, kolon kanseri gibi hastalıklarda normal intestinal mikrofloranın ve aktivitesinin hasta olmayan bireylerden farklı olduğunu gösteren çalışmalar vardır (2,3). Günümüzde barsak mikroflorasında bulunan bakteriler kültür, floresan in situ hibridizasyon, polimeraz zincir reaksiyonu, sekanslama (16S ribozomal ribonükleik asit ampikonlarının direk sekanslanması, pirosequencing ve microbiome shotgun sekanslaması) yöntemleri ile saptanmakta, direk mikroflorada bulunan bakteriler koloni sayıları ile ifade edilebilmektedir.

Dışkı enzim aktiviteleri kolon florasında yaşayan bakterilerin varlığını ve metabolik aktivitelerini yansıtan dolaylı bir belirteçtir. Mikrofloranın niceliksel kompozisyonunu ve etkileşimini göstermesi açısından değerlidir (3). Dışkıda ölçülebilen enzimler arasında beta ( $\beta$ )-glukuronidaz,  $\beta$ -glukozidaz ve üreaz yer almaktadır (4,5).  $\beta$ -glukozidaz ve üreaz bazı bakteri türlerinin ürettiği yapısal enzimlerdir ve barsakta bu bakterilerin varlığını yansıtır. Buna karşılık  $\beta$ -glukuronidaz substratı varlığında indüklenen, bakterinin metabolik durumunu yansıtan bir enzimdir (6).  $\beta$ -glukuronidaz ve  $\beta$ -glukozidaz aktivitesinin artması toksik ve karsinojenik maddelerin enterohepatik sirkülasyona geçme olasılığının arttığını gösterir (4). Üreaz üreten mikroflora bakterileri arasında *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium* ve *Fusobacterium* türleri yer alır (7).  $\beta$ -glukuronidaz üreten mikroorganizmalar *Lactobacillus* türleri,

*Clostridium* türleri, *Peptostreptococci* ve *Escherichia Coli*;  $\beta$ -glukozidaz üreten mikroorganizmalar *Bifidobacterium*, *Bacteriodes* ve *Clostridium* türleridir.

Yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde dışkı enzim aktivitesini etkileyen faktörleri inceleyen sınırlı sayıda çalışma vardır (5,7,8). İlk çalışma sonuçları dışkı barsak enzim aktivitesinin beslenme şekli (anne sütü ve formüla) ve fizyolojik olgunlaşma ile yaşla değiştiği yönünde olmuştur (5,7). Dışkı barsak enzimlerinin aktivitesinin doğum şekli (vajinal doğum ve sezaryen) ve antibiyotik kullanımı ile etkilendiğini gösteren çalışmalar da vardır (5,7-9).

Çalışmamızın amacı bebeklerde dışkı enzim aktivitelerinin ( $\beta$ -glukuronidaz,  $\beta$ -glukozidaz ve üreaz) anne sütü aldıkları dönemde (6 haftalıkken) ve tamamlayıcı beslenmeye geçtikten sonraki dönemde (8. ayda) nasıl değiştiğini ve bu değişimi etkileyen anneye ait (yaş, eğitim, sigara kullanımı, anemi vb.) ve bebeğe ait (cinsiyet, doğum haftası, doğum ağırlığı, doğum şekli, beslenme şekli, emzik kullanımı, D vitamini kullanımı vb.) faktörleri belirlemektir. Ayrıca bakteri enzim aktivitesi ile büyüme parametreleri arasında ilişki varlığı araştırılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 100 sağlıklı 6 haftalık bebek alındı. Altı haftalıkken alınan dışkı örneklerinin 17'si partikülsüz olması nedeni ile analiz yapılmadı. Çalışmaya alınan çocukların 35'inden 8. ayda ikinci dışkı örneği alındı. Çocukların 25'inin hem 6 haftalık hem de 8 aylık dışkı örnekleri vardı.

Bebekler doğum ağırlığı açısından 2,500 gramdan küçük doğanlar ve 2,500 gram ve üstü doğanlar olarak ikiye ayrıldı. Doğum haftası açısından gestasyon haftası 37 haftadan kısa olanlar ve 37 hafta ve sonrasında doğanlar olarak ikiye ayrıldı. "Sadece anne sütü" verme durumu ilk 1,5 ay içinde bebeğe anne sütü dışında başka bir sıvı ve yiyecek verilmemiş olması olarak tanımlandı.

Dünya Sağlık Örgütü, Çok Merkezli Büyüme Eğrileri kullanılarak bebeklerin doğum ağırlığı, 1,5 ay ve 8. ay ağırlık ve boy kilo ölçümleri ile vücut kitle indeksi z skorları hesaplandı (10).

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden etik kurul onayı alındı. Tüm bebeklerin ailesinden çalışmaya alınmadan önce çalışma hakkında bilgi verilip onam formu imzalatıldı.

#### *Barsak Enzim Aktivitesinin Ölçümünde Kullanılan Metotlar*

Her bir dışkı örneği analiz edilinceye kadar -20 °C'de dondurularak saklandı. Ölçümler örnekler toplandıktan sonraki iki ay içinde yapıldı. Dışkı enzim aktivitesi ölçümünde işlem basamakları aşağıda belirtilmiştir (11-13).

**1. Gaitanın Hazırlanması:** Taze gaita örnekleri önceden tartılmış tüplere konularak 1:10 (w/v) oranında 0,1 M pH 7,0 potasyum fosfat tamponu ile karıştırıldı. Otuz saniye sonikasyonun ardından 2000 xg'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. pH, protein tayini ve enzim analizi için kullanıldı.

**2. pH Tayini:** pH kağıdı kullanılarak süpernatanda ölçüldü.

**3. Lowry Yöntemi ile Protein Tayini:** 10 uL süpernatant 140 uL su ile karıştırıldı. Üzerine 3 mL alkalin bakır çözeltisi (50 mL 0,1 N NaOH içinde çözülmüş %2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ile 1 mL %1 sodyum veya potasyum tartrat içinde çözülmüş %0,5 CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O karıştırıldı) eklendi. On beş dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 1:1 v/v olarak seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisinden 0,3 mL eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığında 1 saat inkübasyonun ardından oluşan mavi-mor renk 750 nm'de spektrofotometrede okundu. Standart olarak sığır serum albumini kullanıldı.

**4. Üreaz Enzimi Aktivite Tayini:** 1 mL 0,02 M pH 7,4 potasyum fosfat tamponu içinde hazırlanmış 10 mM üre ile 0,2 mL süpernatant karıştırıldı. 37 °C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra, tüpler buz içine alınarak reaksiyon durduruldu. Oluşan amonyak 0,01 N HCl ile titre edilerek parçalanmış üre miktarı üzerinden enzim aktivitesi tayin edildi.

**5. β-glukuronidaz Enzimi Aktivite Tayini:** 1 mL 0,1 M pH 7,0 potasyum fosfat tamponu içinde hazırlanmış 0,5 mM p-nitrofenil β-D-glukuronid ile 0,1 mL süpernatant karıştırıldı. 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Reaksiyon 4 mL 0,1 N NaOH ile durduruldu.

Açığa çıkan p-nitrofenol 405 nm'de okundu. Standart olarak p-nitrofenol kullanıldı. Sonuçlar nmol/dakika/mg gaita proteini olarak ifade edildi.

**6. β-glukozidaz Enzimi Aktivite Tayini:** 1 mL 0,1 M pH 7,0 potasyum fosfat tamponu içinde hazırlanmış 1 mM p-nitrofenil β-D-glukosid ile 0,1 mL süpernatant karıştırıldı. 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Reaksiyon 5 mL 0,1 N NaOH ile durduruldu. Açığa çıkan p-nitrofenol 405 nm'de okundu. Standart olarak p-nitrofenol kullanıldı. Sonuçlar nmol/dakika/mg gaita proteini olarak ifade edildi.

#### *İstatistiksel Analiz*

Veriler SPSS-Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) versiyon 17.0 programına kaydedilerek analiz edildi. Verilerin dağılımları Kolmogorov Smirnow testi ile incelendi. Dışkı enzim düzeyleri normal dağılıma uymadığı için ortanca ve 25-75 persentil değerleri hesaplandı. Bağımsız iki grup arasındaki farkın karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, üç grup arasındaki farkın karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Dışkı enzim aktivitesinin 6. hafta ve 8. ay değerlerinin zaman içindeki değişimi veriler normal dağılıma uymadığı için nonparametrik bağımlı iki grup ortancalarını karşılaştıran Wilcoxon testi kullanıldı. Antropometrik ölçümlerin z skorları ile dışkı enzim aktivitelerinin ilişkisi spearman korelasyon testi ile analiz edildi. P<0,05 olduğunda gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### **Bulgular**

Dışkı enzim aktiviteleri 83 bebekte 6 haftalıkken, 35 bebekte 8 aylıkken ölçüldü (Tablo 1). Bir buçuk aylıkken ortanca üreaz (25-75 persentil): 0,97 (0,66-1,41) (nmol/dakika/mg-gaita) iken, 8. ayda 0,7 (0,43-0,89) (nmol/dakika/mg-gaita) idi. Zaman içindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,027). Bir buçuk aylıkken ortanca β-glukuronidaz (25-75 persentil): 11,8 (8,22-17,8) (nmol/dakika/mg-gaita) iken, 8. ayda 6,94 (3,78-10,4) (nmol/dakika/mg-gaita) idi. Zaman içindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,001). Bir buçuk aylıkken ortanca beta-glukozidaz (25-75 persentil): 6,13 (3,95-7,95) nmol/mg-protein/dk iken, 8. ayda 8,83 (5,07-11,65) (nmol/dakika/mg-gaita) idi. Zaman içindeki artma istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,012).

Anne-bebek çiftinin özellikleri ile 6 hafta-8. ay dışkı enzim düzeyleri (ürez,  $\beta$ -glukuronidaz,  $\beta$ -glukozidaz) arasındaki ilişki incelendiğinde anne yaşı, eğitimi, postpartum maternal anemi, gebelikte ve 6. haftada sigara kullanımı, cinsiyet, doğum ağırlığı, doğum şekli bakımından farklı olmadığı görüldü (Tablo 2). Doğum haftası 37 haftadan küçük olanların 8. ay  $\beta$ -glukuronidaz düzeyi 37 haftadan büyük olanlardan daha yüksekti ( $p=0,008$ ).

Bebeklerin beslenme durumları ile dışkı enzim aktiviteleri ilişkisine bakıldığında 6. haftada sadece anne sütü alma durumu, emzik kullanımı, D vitamini kullanımı ile dışkı enzim aktiviteleri arasında ilişki olmadığı görüldü. Bununla birlikte anne sütünü doğumdan sonraki ilk 1 saat içinde alan bebeklerin 6. hafta ürez ortanca değerleri almayan bebeklere göre daha düşüktü (0,87; 1,2 nmol/dakika/mg-gaita sırası ile  $p=0,017$ ). Biberon kullanan bebeklerde ürez ortanca değerleri kullanmayanlara göre daha düşüktü (0,85; 1,12 nmol/dakika/mg-gaita  $p=0,026$ ).

Antropometrik ölçümlerin z skorları ile dışkı enzim aktivitelerinin ilişkisi incelendiğinde 6. hafta  $\beta$ -glukuronidaz enzim aktivitesi ile 8. ay yaşa göre ağırlık z skoru, yaşa göre vücut kitle indeksi ve boya göre ağırlık z skoru arasında negatif korelasyon saptandı (sırası ile  $r_s=-0,288$   $p=0,038$ ;  $r_s=-0,314$   $p=0,023$ ;  $r_s=-0,296$   $p=0,033$ ). Diğer antropometrik ölçümlerle dışkı enzim aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilemedi (Tablo 3).

## Tartışma

Farklı yaş gruplarında hangi tür bakterinin ağırlıklı olarak mikroflora hakim olduğu kullanılan tanı yöntemine göre değişmekle beraber klasik olarak

yenidoğanın mikrobiotasında 3. haftadan itibaren *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Clostridium* cinsinden bakterilerin gözlemlendiği; anaerob hakimiyetinin (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*'lar) giderek artarak, 52. haftaya kadar varlıklarını koruduğu belirlenmiştir (14). Çalışmamızda saptanan enzim aktivitesindeki değişimler (ürez ve  $\beta$ -glukuronidaz enzim aktivitesindeki zaman içinde azalma,  $\beta$ -glukozidaz enzim aktivitesinde artma) bu klasik bilgiyi doğrular niteliktedir. Mykkanen ve ark. (5) 3 ay-2 yaş arasında bebeklerde ölçtükleri üç dışkı enzim aktivitesinin zaman içinde arttığını bildirmişlerdir. Bu durumu yaş ve erişkin diyetle geçişle ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Anne sütü ile beslenen bebeklerde mikroflora faydalı organizmalar olarak bilinen *Bifidobacteria* ve *Lactobacilli*'lerin hakimiyetindedir ve zararlı olarak tanımlanan bakterilerin üremesini baskırlar (15). Mama ile beslenen bebeklerde ise *Escherichia Coli*, *C difficile*, *Bacteroides* ve *Lactobacilli*'ler mikroflora hakimdir (16). Grönlund ve ark. (7) formüle ile beslenen bebeklerde sadece anne sütü ile beslenen bebeklere göre 1-2. ayda dışkı ürez pozitifliğini ve 6. ayda ortalama  $\beta$ -glukuronidaz aktivitesini daha yüksek bulduklarını bildirmişlerdir.

Mykkanen ve ark. (5) 3. ay-2 yaş aralığındaki bebeklerde ölçtükleri dışkı enzim aktivitelerinin anne sütü ile beslenme arasında ilişki olmadığını bulmuşlardır. Çalışmamızda bebeklerin 6 haftalıkken sadece anne sütü almalarının enzim aktivitesinden etkilenmediği saptanırken, anne sütünü ilk 1 saatten sonra almaya başlayan ve biberon kullanan bebeklerde ürez aktivitesi daha yüksek saptanmıştır. Biberon kullanımı mama kullanımı ile eş kullanılmakla

Tablo 1. Dışkı barsak enzim aktivitelerinin (nmol/dk/mg-gaita) 6. hafta (n=83) ve 8. ay (n=35) değerlerinin zaman içinde değişimi

	Yaş	Ortalama	Standart sapma	En düşük-En yüksek	Yüzdelerik değer		
					25	50	75
Ürez*	6. hafta	1,13	0,6	0,26-3,21	0,66	0,97	1,41
	8. ay	0,73	0,37	0,20-1,8	0,43	0,70	0,89
$\beta$ -glukuronidaz**	6. hafta	14,7	11,08	1,98-60,12	8,22	11,84	17,80
	8. ay	7,68	5,34	0,0-26,01	3,78	6,94	10,40
$\beta$ -glukozidaz***	6. hafta	6,92	4,62	0,38-24,40	3,95	6,13	7,95
	8. ay	9,64	6,83	0,0-30,04	5,07	8,83	11,65

\* $p=0,027$ , \*\* $p=0,001$  \*\*\* $p=0,012$

Tablo 2. Anne-bebek çiftinin özellikleri ile ortanca (25-75 persentil değer) dışkı enzim düzeyleri (üreaz;  $\beta$ -glukuronidaz ve  $\beta$ -glukozidaz (nmol/dk/mg-gaita) arasındaki ilişki

	6. hafta				8. ay			
	n	Üreaz	$\beta$ -glukuronidaz	$\beta$ -glukozidaz	n	Üreaz	$\beta$ -glukuronidaz	$\beta$ -glukozidaz
Anne yaşı, yıl	13	0,98 (0,79-1,3)	12,3 (9,83-14,7)	5,68 (2,81-7,15)	6	0,66 (0,55-0,81)	6,23 (3,98-10,8)	8,28 (4,58-11,1)
	68	0,97 (0,65-1,4)	11,7 (8,16-18,5)	6,79 (4,12-8,13)	29	0,69 (0,39-0,98)	6,88 (3,0-10,4)	8,64 (4,62-13,2)
Anne eğitimi, yıl	59	0,87 (0,66-1,45)	11,8 (8,14-16,93)	6,0 (3,98-7,95)	24	0,71 (0,53-0,88)	7,31 (4,40-10,6)	9,02 (6,01-10,94)
	24	1,06 (0,65-1,36)	12,4 (8,36-21,7)	6,75 (3,85-8,09)	11	0,55 (0,30-0,95)	4,7 (2,91-10,1)	6,57 (4,34-18,8)
Annede Hb, g/dL	30	1,07 (0,66-1,37)	11,0 (8,65-17,0)	7,11 (3,84-8,99)	16	0,82 (0,56-0,98)	8,77 (4,90-11,6)	6,95 (3,84-18,1)
	53	0,97 (0,67-1,47)	12,6 (7,91-20,5)	5,69 (4,07-7,62)	19	0,67 (0,38-0,86)	6,49 (2,91-8,77)	9,27 (6,07-11,65)
Gebelikte sigara içme	15	0,87 (0,6-1,21)	11,0 (8,23-14,9)	6,65 (3,83-8,25)	7	0,78 (0,60-0,99)	7,64 (5,51-11,9)	7,28 (3,10-10,6)
	67	0,97 (0,67-1,44)	12,3 (8,14-20,4)	6,00 (3,95-7,73)	28	0,66 (0,42-0,88)	6,64 (3,0-10,4)	9,02 (5,17-12,4)
Sigara içme (6. hafta)	67	0,97 (0,66-1,41)	11,8 (8,14-19,1)	6,13 (3,98-8,10)	27	0,70 (0,42-0,88)	6,94 (3,19-10,3)	8,83 (5,47-12,6)
	15	0,87 (0,61-1,84)	11,0 (8,81-15,4)	6,00 (2,92-7,91)	6	0,84 (0,51-1,10)	5,84 (3,08-12,7)	5,78 (2,68-10,1)
Cinsiyet	52	0,92 (0,66-1,40)	11,7 (8,16-16,9)	5,69 (3,58-8,21)	17	0,70 (0,54-0,93)	7,64 (3,06-10,4)	9,27 (6,03-12,2)
	31	1,15 (0,66-1,45)	11,9 (8,22-19,1)	6,72 (4,63-7,83)	18	0,73 (0,30-0,90)	6,64 (4,53-10,2)	7,87 (3,13-13,12)
Doğum ağırlığı, g	5	0,87 (0,73-1,28)	8,77 (6,43-11,9)	6,0 (3,64-10,3)	3	0,63 (0,38-..)	9,56 (7,64-..)	15,9 (6,48-..)
	78	0,98 (0,66-1,44)	12,0 (8,20-18,8)	6,39 (3,92-7,92)	32	0,71 (0,45-0,89)	6,64 (3,34-10,4)	8,64 (4,52-11,3)
Doğum haftası	10	0,96 (0,84-1,58)	9,68 (7,87-16,7)	7,38 (5,58-9,49)	5	0,63 (0,57-1,0)	10,4 (9,98-17,9)*	12,6 (3,70-19,5)
	71	0,97 (0,64-1,39)	11,9 (8,22-18,8)	5,69 (3,84-7,83)	30	0,71 (0,41-0,88)	6,46 (3,13-9,10)	8,64 (4,89-11,1)
Doğum şekli	38	0,97 (0,72-1,32)	11,1 (7,89-14,9)	5,64 (3,33-7,68)	15	0,53 (0,35-0,82)	6,98 (2,91-10,3)	6,61 (4,34-11,6)
	45	1,06 (0,64-1,65)	13,0 (8,51-22,2)	6,65 (4,14-8,59)	20	0,82 (0,61-0,94)	6,72 (3,85-11,6)	9,02 (5,17-13,2)
Sadece anne sütü alma	49	0,97 (0,71-1,39)	11,8 (7,38-18,0)	6,65 (3,82-8,12)	18	0,61 (0,36-0,92)	6,82 (2,85-9,77)	8,64 (6,05-12,2)
	32	1,0 (0,64-1,66)	11,9 (8,36-17,7)	5,84 (4,03-7,82)	16	0,80 (0,56-0,93)	6,87 (4,69-10,4)	7,89 (3,21-11,1)
Emzirmeye başlama	28	0,87 (0,68-1,06)	11,8 (8,16-14,8)	4,79 (2,88-7,43)	13	0,60 (0,43-0,99)	4,70 (2,81-8,69)	5,99 (3,89-9,47)
	47	1,20 (0,67-1,84)**	11,8 (7,67-18,8)	6,78 (4,10-8,14)	19	0,72 (0,42-0,86)	7,64 (4,04-11,9)	9,93 (6,48-13,8)
Biberon kullanımı	55	1,12 (0,75-1,49)	11,8 (8,23-19,1)	6,72 (4,63-8,25)	20	0,69 (0,41-0,97)	7,27 (3,34-10,7)	9,60 (5,32-11,57)
	27	0,85 (0,6-1,07)***	11,2 (7,13-15,9)	4,91 (3,50-7,56)	13	0,81 (0,52-0,91)	6,42 (3,49-9,51)	6,57 (3,89-11,9)
Emzik kullanımı	34	1,14 (0,77-1,80)	14,7 (8,09-20,7)	6,07 (3,97-7,83)	16	0,66 (0,36-0,87)	6,42 (3,84-9,08)	7,87 (4,52-11,1)
	48	0,91 (0,62-1,26)	11,2 (8,16-14,5)	6,40 (3,58-8,06)	17	0,82 (0,52-0,99)	7,98 (3,05-11,4)	9,27 (4,30-12,2)
D vitamini kullanımı	49	1,04 (0,70-1,59)	12,3 (8,23-16,9)	6,78 (3,97-8,92)	21	0,78 (0,61-0,92)	6,94 (3,49-10,3)	9,27 (5,27-13,2)
	32	0,85 (0,65-1,29)	10,9 (7,35-20,59)	5,47 (3,46-7,82)	11	0,50 (0,29-1,02)	6,05 (2,59-10,9)	6,61 (2,58-11,3)

\*p=0,008, \*\*p=0,017, \*\*\*p=0,026, Hb: Hemogloblin

Tablo 3. Büyüme parametreleri ile dışkı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki

	n	Doğum					n	8. ay				
		DAZ	YBZ	YAZ	BAZ	YVKİ		YBZ	YAZ	YVKİ	BAZ	
6. hafta	Üreaz	83	0,044	0,060	0,070	-0,037	0,007	35	-0,070	-0,246	-0,246	-0,228
	β-glukuronidaz	83	0,031	0,051	0,104	-0,051	0,011	35	0,062	-0,288*	-0,314 <sup>‡</sup>	-0,296 <sup>€</sup>
	β-glukozidaz	83	0,003	-0,017	0,085	0,097	0,129	35	-0,149	-0,136	-0,032	-0,038
8. ay	Üreaz	52	0,020	0,032	-0,040	-0,100	-0,024	33	-0,102	-0,001	0,111	0,077
	β-glukuronidaz	52	-0,211	-0,129	-0,245	-0,148	-0,206	33	-0,297	-0,274	-0,223	-0,261
	β-glukozidaz	52	-0,023	-0,109	-0,156	0,032	0,015	33	-0,144	-0,003	0,080	0,041

DAZ: Doğum ağırlığı Z skoru, YBZ: Yaşa göre boy Z skoru, YAZ: Yaşa göre ağırlık skoru, BAZ: Boya göre ağırlık Z skoru, YVKİZ: Yaşa göre vücut kitle indeksi, \*p=0,038, <sup>‡</sup>p=0,023, <sup>€</sup>p=0,033

beraber bazen emmeyen bebeklerde anneler sütlerini sağıp biberonla da verebilmektedirler. Sonucun gelişki buradan kaynaklanıyor olabilir.

Pretermilerin mikroflorası ile ilgili çalışmalarda faydalı mikroorganizmaların kolonizasyonunun geciktiği yönündedir (15). Çalışmada prematür doğan bebeklerin 8. ay β-glukuronidaz enzim aktivitesi term bebeklere göre daha yüksek saptanması mikroflora yapılanma ve fonksiyon kazanma zamanındaki farklılıktan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca çalışmamızda mikroflorayı etkilediği gösterilen hastane yatışı, yatış süresi, sepsis, nekrotizan enterokolit geçirme öyküsü, antibiyotik kullanımına dair veri toplanmamıştır. Bu nedenle prematüre bebeklerde β-glukuronidaz enzim aktivitesinin yüksekliğini mikroflora örüntüsünün niceliğine atfetmek zordur.

Doğumun sezaryen ile yapılması yenidoğan bebeklerin flora oluşumunu olumsuz etkilediği bilinmektedir (16). Bununla birlikte çalışma grubumuzda üç barsak enzim aktivitesinin de doğum şeklinden etkilenmediği görülmüştür. Grönlund ve ark.'da (7) 1,5-6. aylarda değerlendirdikleri intestinal enzim aktivitelerinin sezaryen doğum şeklinden etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Barsak florasında kompozisyon ve fonksiyonel değişikliklerin obezite ve obezite ilişkili komplikasyon gelişimine katkıda bulunduğu son yıllarda gösterilmiştir. Özellikle obez kişilerde tercih edilen yüksek yağlı diyet sonucu mikrofloranın değişime uğradığı gösterilmiştir. Barsak mikroflorasında yer alan mikroorganizmaların kompozisyonundaki değişiklik (bacteriodes azalma, firmicutes türlerinde artış) enerji depolanmasını ve yağ kitlesi gelişimini sağlayarak obeziteye neden olurlar (17).

Çalışmamızda büyüme parametreleri ile dışkı enzim aktivitesi arasında ilişki 6. hafta β-glukuronidaz enzim düzeyi ile 8. ay yaşa göre ağırlık z skoru, vücut kitle indeksi z skoru, boya göre ağırlık z skoru arasında ters bir korelasyon saptandı. Hayatın erken döneminde β-glukuronidaz enzim aktivitesinin az olması ilerleyen aylarda kiloluluk/obezite ihtimalini arttırdığı sonucuna ancak daha fazla sayıda olgu, uzun süreli izlem ile karıştırıcı değişkenlerin kontrol edildiği çalışmalarla varılabilir.

### Sonuç

İntestinal enzim aktiviteleri süt çocukluğu döneminde yapılanma aşamasında olan mikrofloranın fonksiyonelliğini dolaylı olarak göstermesi açısından önemlidir. Bununla birlikte yaşla beraber değişkenlik göstermesi ve tek ölçümle elde edilen değerlerin zamanla ne yönde değişeceğinin kestirilmesi zordur. Bazı büyüme parametreleri ile intestinal barsak enzimleri arasında ilişki gösterilmesinin bebeğin büyüme sürecinde ne anlam kazanacağı ileriye dönük yapılacak çalışmalarla aydınlatılabilir.

### Etik

*Etik Kurul Onayı: Alınmıştır, Hasta Onayı: Alınmıştır.*

*Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.*

### Yazarlık Katkıları

*Konsept: Songül Yalçın, Dizayn: Songül Yalçın, Veri Toplama veya İşleme: İncilay Lay, Asuman Özkara, Emel Öriin, Arzu Dursun, Analiz veya Yorumlama:*

*Emel Örün, Songül Yalçın, Literatür Arama: Emel Örün, Songül Yalçın, Yazan: Emel Örün, Songül Yalçın.*

*Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.*

*Finansal Destek: Çalışmamız için hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.*

### Kaynaklar

1. Mroczyńska M, Libudzisz Z. Beta-glucuronidase and beta-glucosidase activity of Lactobacillus and Enterococcus isolated from human feces. *Pol J Microbiol* 2010;59:265-9.
2. Mach T. Clinical usefulness of probiotics in inflammatory bowel diseases. *J Physiol Pharmacol* 2006;57(Suppl 9):23-33.
3. Malin M, Verronen P, Mykkanen H, Salminen S, Isolauri E. Increased bacterial urease activity in faeces in juvenile chronic arthritis: evidence of altered intestinal microflora? *Br J Rheumatol* 1996;35:689-94.
4. Guerin-Danan C, Chabanet C, Pedone C, Popot F, Vaissade P, Bouley C, et al. Milk fermented with yogurt cultures and Lactobacillus casei compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal microflora in healthy infants. *Am J Clin Nutr* 1998;67:111-7.
5. Mykkanen H, Tikka J, Pitkanen T, Hanninen O. Fecal bacterial enzyme activities in infants increase with age and adoption of adult-type diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997;25:312-6.
6. Drasar BS, Hill MJ. Bacterial glycosidases. In: Drasar BS, Hill MJ (eds). *Human intestinal flora*. London: Academic Press; 1974. p.54-71.
7. Grönlund MM, Salminen S, Mykkanen H, Kero P, Lehtonen OP. Development of intestinal bacterial enzymes in infants-relationship to mode of delivery and type of feeding. *APMIS* 1999;107:655-60.
8. Heavey PM, Savage SA, Parrett A, Cecchini C, Edwards CA, Rowland IR. Protein degradation products and bacterial enzyme activities in faeces of breast-fed and formula-fed infants. *Br J Nutr* 2003;89:509-15.
9. Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:19-25.
10. World Health Organization (WHO). Child Growth Standards. Available at: <http://who.int/childgrowth/software/en/>. Ulaşıma tarihi: 15.03.2015.
11. Lowry OH, Rosebrough N, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
12. Ling WH, Hänninen O. Shifting from a conventional diet to an uncooked vegan diet reversibly alters fecal hydrolytic activities in humans. *J Nutr* 1992;122:924-30.
13. Perrin-Guyomard A, Cottin S, Corpet DE, Boisseau J, Poul JM. Evaluation of residual and therapeutic doses of tetracycline in the human flora associated mice model. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001;34:125-36.
14. Badur S. Gastrointestinal Mikrobiota: Yapılanması ve immün Yanıt ile İlişkisi. İçinde: *Teoriden Kliniğe Prebiotikler, Probiyotikler* Ed: Kara A, Çoskun T. İstanbul: Akademi Yayınevi; 2014. p.75-84.
15. Westerbeek EA, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WP, van Elburg RM. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: a review of the literature. *Clin Nutr* 2006;25:361-8.
16. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118:511-21.
17. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med* 2013;34:39-58.