

Askorbik asitin mide içi aşırı bakteri çoğalımı ve nitrit oluşumu üzerine etkisi

Effect of ascorbic acid on intragastric bacterial overgrowth and nitrite formation

Dr. Levent Demirtürk¹, Dr. Saadddedin Hülagü², Dr. Melih Özel³, Dr. Mehmet Altın³, Dr. Ömer Kocabeyoğlu⁴, Dr. A. Kemal Gürbüz⁵, Dr. İlhan Birinci⁶, Dr. Özkan Özbaş⁷, Dr. Ali Özcan⁷, Dr. Hüseyin Baloglu⁸,

GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği¹ Çorlu Askeri Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği², GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği³, Mikrobiyoloji Bölümü⁴, İç Hastalıkları Kliniği⁵, Mikrobiyoloji Bölümü⁶, Biyokimya Bölümü⁷, Patoloji Bölümü⁸

ÖZET: Mide asit sekresyonunun inhibisyonu mide içi aşırı bakteri çoğalmasına ve karsinojen bir N-nitroso bileşiği öncüsü olan nitrit formasyonuna neden olmaktadır. Önceki bir çalışmamızda omeprazolün asit baskılayan ilaçlarla kısa süreli tedavi uygulanan duodenal ülserli hastaların % 66.7'sinde mide içi aşırı bakteri çoğalımına neden olduğunu göstermiştik. Bu çalışmada omeprazolle tedavi edilen hastalarda askorbik asitin mide içi aşırı bakteri çoğalımına etkisini araştırdık. Omeprazol (20 mg/gün) ve oral vitamin C (2 gr/gün) ile 3 hafta süre ile tedavi edilen 22 hastanın tedavi öncesi ve sonrasında, nitrit oluşumunun tespiti ve mikrobiyolojik kültür için mide sıvıları ve beraberinde boğaz kültürleri alındı. Tedavi sonrasında hastaların % 18.2'sinde mide içi bakteriyel aşırı çoğalma saptandı. Önceki çalışmamızda bu oran % 66.7 idi ($p < 0.05$). Ne tedavi öncesi ne de tedavi sonrasında bu hasta grubunda pozitif boğaz kültürü saptanmadı. Bakteri aşırı çoğalması olan hastaların mide sıvılarında bulunan bakteri suşları fekal tip bakterilerdi. Tedavi sonrası mide içi nitrit oluşumu aynı zamanda bakteriyel aşırı çoğalmanın da saptandığı, yalnız 1 hastada (% 4.5) gözlemlendi. Ülser tedavisinde tedaviye askorbik asit eklenmesinin omeprazolün neden olduğu aşırı bakteri çoğalımı ve nitrit oluşumunun önlenmesinde yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler : Askorbik asit, duodenal ülser, mide içi aşırı bakteri çoğalımı

GİRİŞ

Mide asit salınımının inhibe edilmesinin mide içinde aşırı bakteri çoğalmasına neden olduğu ve bu bakterilerin de nitratın potansiyel karsinojen N-nitrojen bileşiklerinin öncüsü olan nitrite dönüşümünde rol oynadığı bildirilmektedir (1-3). Güçlü asit inhibe edici etkisi olan omeprazolün mide içi aşırı bakteri çoğalımı ve nitrit oluşumuna etkileri ise daha önce yaptığımız bir çalışmada ve diğer bazı çalışmalarla da ortaya konmuştur (4-5).

Duodenal ülser tedavisinde kullanılan asit baskılayıcı ilaçların standart dozlarda mide içinde aşırı

SUMMARY: Inhibition of gastric acid secretion leads to intragastric bacterial overgrowth and formation of nitrite, a carcinogenic N-nitroso-compound precursor. Ascorbic acid has been reported to prevent the formation of N-nitroso compounds by reacting with nitrite. In a previous study, we reported that omeprazole caused intragastric bacterial overgrowth in 66.7 % of the patients with duodenal ulcers after short-term treatment with acid reducing drugs. In the present study we have evaluated the effects of ascorbic acid on intragastric bacterial overgrowth in patients treated with omeprazole. In 22 patients treated with omeprazole (20 mg daily) and orally vitamin C (2 gr. daily) for 3 weeks, gastric juice was obtained for the assesment of nitrite and microbiological culture along with a throat swab for microbiological culture, before and after treatment. Intragastric bacterial overgrowth was found in 18.2 % of the patients after treatment. In our previous trial this ratio was 66.7 % ($p < 0.05$). Neither before nor after treatment there were positive cultures of throat swabs in this group of patients. The bacteria species found in the gastric juices of patients with bacterial overgrowth following treatment were fecal type bacteria. Intragastric nitrite after treatment was found in only one patient (4.5 %) who also had bacterial overgrowth. We believe that addition of ascorbic acid to treatment will help to prevent intragastric bacterial overgrowth and nitrite formation caused by omeprazole in ulcer treatment.

Key words : Ascorbic acid, duodenal ulcer, intragastric bacterial overgrowth.

bakteriyel çoğalma yapıp yapmadıklarını araştırdığımız önceki bir çalışmamızda toplam 72 hastaya 3 hafta süre ile omeprazol 20 mg/gün ($n=24$), veya ranitidin 300 mg/gün ($n=28$) ya da sukralfat 2 x 1 gr ($n=20$) vermiş ve tedavi sonrasında omeprazol ve ranitidin sukralfata göre anlamlı bir şekilde daha fazla oranda mide içi aşırı bakteri çoğalımı ya yol açtığını saptamıştık (4). Ayrıca omeprazol ranitidine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla aşırı bakteri çoğalımına (sırası ile % 66.7 ve % 21.4) ve nitrit oluşumuna (sırası ile % 50 ve % 21.4) neden olmuştuk.

C vitamininin indirgenmiş formu olan askorbik asit, nitrat ile reaksiyona girer ve nitratı nitroz okside dönüştürür, kendisi de dehidroaskorbik asite okside olur. Askorbik asitin bu etkisi ile in vitro ve in vivo olarak nitrosamin oluşumunu engellediği gösterilmiştir (6-9). Ayrıca, mide içi bakteriyel aşırı çoğalma saptanan hipoklorhidri hastalarda askorbid asik konsantrasyonu da düşük olarak saptanmıştır (7).

Biz de daha önceki çalışmamızda mide içi bakteri aşırı çoğalmasına neden olduğunu saptadığımız omeprazol tedavisine askorbik asit eklenmesinin mide içi aşırı bakteri çoğalımı ve nitrit oluşumuna etkisini araştırmayı amaçladık ve aynı doz ve süre ile uygulanan omeprazole ek olarak askorbik asit verdiğimiz hastalarda mide içi bakteri çoğalımı ve nitrit oluşumunu gözlemledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hastalar : Bu çalışma, Mart 1995 - Eylül 1995 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği'nde, endoskopik inceleme sırasında aktif duodenum ülseri tespit edilen 22 hastaya uygulandı. Tanı sırasında ve 4 hafta öncesine kadar antiülser tedavi ve antibiyotik kullananlar ile mide ameliyatı geçirenler veya mide malignitesi olan hastalar çalışma dışında bırakıldılar.

Gastroduodenal Endoskopi ve Mide Sıvısı Analizleri : Üst gastrointestinal endoskopi 12 saatlik açlık sonrasında Olympus GIF K20 endoskop kullanılarak yapıldı. Her hastadan fundusta birikmiş mide sıvısından steril enjektör ve teflon kanül kullanılarak iki örnek alındı. Birinci örnek kültür çalışması için, ikinci örnek nitrit tayini için kullanıldı. Ayrıca her hastadan tedavi öncesi korpus biyopsisi yapıldı. Endoskopun ve teflon kanülün dezenfeksiyonu % 10 süksinik asit aldehid ve dimetoksitetrahidrofur (Gigasept) içerisinde 15-30 dakika bekletilerek sağlandı. Antiseptik sıvının teflon kanülün içerisinde enjektörle çekilip aynı süre bekletilmesi ile de kanülün iç dezenfeksiyonu sağlandı. Daha sonra içerisinden serum fizyolojik geçirildi. Bu sıvıdan kültür için örnekler alınarak sterilizasyonun uygunluğu teyid edildi.

Çalışma Düzeni : Hastaların tamamına 3 hafta süre ile 20 mg/gün sabahları tek doz halinde omeprazol ile birlikte günde iki kez 1 gr C vitamini oral yoldan verildi. Üçüncü haftada endoskopik incelemeler tekrar edildi. Tanı sırasında ve tedavinin üçüncü haftasındaki endoskopik incelemelerde mide sıvısından kültür ve nitrit incelemeleri için örnekler

alındı. Ayrıca her hastadan tedavi öncesi ve sonrasında boğaz kültürleri alındı. Mide sıvısı ve boğaz kültürlerinde koloni sayımı yapıldı ve 10^5 (cfu/ml) (cfu= colony forming unit) üzerindeki değerler mide içi aşırı çoğalma için ve boğaz kültürü için pozitif kabul edildi. Üreyen bakterinin nitrit pozitif olup olmadığı belirlendi. Mide sıvısında nitrit tayini biyokimya bölümünde dipstick yöntemi ile gerçekleştirildi. Korpus biyopsisi ile atrofik gastritin olmadığı teyid edildi.

Tedavi sonrası mide içi bakteri çoğalımı ve nitrit oluşumu oranları, bir önceki çalışmada omeprazol ile tedavi edilen hastalarda gözlenen oranlar ile karşılaştırıldı (4).

İstatistiksel İncelemeler : Gerek tedavi öncesi ve sonrası mide içi bakteri aşırı çoğalması ve nitrit oluşumu ile ilgili farklılıkların ortaya konulması için, gerekse bir önceki çalışmada saptanan mide içi bakteri aşırı çoğalması ve nitrit oluşumu oranları ile ilgili karşılaştırmaların yapılması için X^2 (Ki kare) testi kullanıldı. Gerekli olduğunda "Fisher's exact test" uygulandı.

BULGULAR

Çalışma grubundaki hastaların cinsiyet dağılımı ve yaş ortalamaları Tablo 1'de görülmektedir. Hastaların tamamı çalışmayı tamamlamış ve çalışma dışı bırakılan hasta olmamıştır.

Tablo 1. Hastaların Cinsiyet ve Yaş Dağılımları

	K	E	T
Hasta Sayısı	6	16	22
Yaş Ortalaması	43.6	34.6	37.1
(yaş aralığı)	(36 - 54)	(20 - 63)	(20 - 63)

Boğaz kültürlerinin incelemesinde gerek tedavi öncesi gerek tedavi sonrası hiç bir hastada 10^5 cfu/ml üzerinde koloni üremesi gözlemlenmedi. Tedavi öncesi yapılan mide sıvısı incelemelerinde de nitrit pozitif olan hasta saptanmadı. Tedaviye alınan 22 hastanın 2'sinin (% 9.1) mide sıvısında tedavi öncesinde oral yolla bulaşıcılığı olan bakteriyel kolonizasyon mevcuttu. Tedavi sonrasında ise birisi tedavi öncesi bakteriyel aşırı çoğalma saptanmış olan hasta olmak üzere 4 hastada aşırı bakteriyel çoğalma ($> 10^5$ cfu/ml) (% 18.2) saptandı. Tedavi öncesinde yalnızca oral bakterilerin ürettiği hasta da dahil bu 4 hastada tedavi sonrasında hem oral hem enterik kökenli bakteriler üretildi.

Tedavi öncesi yapılan mide sıvısı incelemelerinde nitrit pozitif olan hasta saptanmadı. Tedavi sonrasında ise aşırı bakteri çoğalımı saptanan dört hastadan birinde (% 4.5) nitrit pozitifliği gözlemlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Mide Sıvısı Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
Nitrit Pozitif Hasta Sayısı	-	1/22 % 4.5
Aşırı Bakteriyel Çoğalma	2/22 % 9.1	4/22 % 18.2

Mide sıvılarında 10^5 cfu/ml altında bakteri kolonisi saptanan hastalar değerlendirilmeye alınmadı. Gerek tedavi öncesi gerekse tedavi sonrası hiçbir hastanın boğaz kültürlerinde $> 10^5$ cfu/ml üzerinde bakteri üremesi saptanmadı.

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası bakteriyel aşırı çoğalma ve nitrit pozitiflik oranları karşılaştırıldığında arada istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Bir önceki çalışmamızda (4) omeprazol kullanımı ile % 66.7 olguda mide içi aşırı bakteri çoğalımı görülmüşken, bu çalışmada mide içi aşırı bakteri çoğalımı % 18.2 olguda saptandı. Bu iki sonuç arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p < 0.05$). İki çalışmanın sonuçları nitrit oluşumu açısından karşılaştırıldığında bir önceki çalışmada tedavi sonrası mide içi nitrit oluşumu % 50 olguda görülürken, bu çalışmada % 4.5 olguda saptandı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p < 0.05$).

TARTIŞMA

Mide içi aşırı bakteri çoğalması, bu bakteriler tarafından diyetle bulunan nitratların nitritlere çevrilmesindeki rolleri nedeniyle önem taşımaktadır. Zira nitritler de mide karsinomu etyolojisinde rol oynayabileceği belirtilen N-nitroso bileşiklerinin öncüsüdür (10-12).

Duodenal ülser tedavisinde omeprazolün kullanıldığı olgularda mide içi bakteri aşırı çoğalmasının ve nitrit oluşumunun daha yüksek oranlarda gözlemlendiği, bu etkisinin de güçlü bir asit inhibitörü olmasına bağlı olduğu bildirilmektedir (2,5,13,14). Biz de daha önce yaptığımız bir çalışmada (4) kısa süreli omeprazol kullanımının % 66.7 olguda mide içinde bakteri aşırı çoğalmasına, % 50 olguda da

mide içi nitrit oluşumuna neden olduğunu gözledik.

C vitamininin indirgenmiş formu olan askorbik asitin gerek mide içindeki mutajenik aktiviteyi azaltarak, gerekse karsinojen maddelerin oluşumuna engel olarak mide kanserine karşı koruyucu etki oluşturduğuna dair bulgular vardır. Hipoklorhidri- li hastalarda mide içi askorbik asit düzeylerinin de beklenenden düşük olduğu ortaya konulmuştur (6,7,8,15).

Sobala ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada intestinal metaplazili hastalarda mide içi askorbik asit düzeylerinin anlamlı şekilde düşük olduğu gösterilmiştir (16).

Zhang ve arkadaşları, mide kanseri insidensinin oldukça yüksek olduğu Çin'de bir bölgede prekanse- röz gastrik lezyonları olan 600'den fazla erişkinde retinol, beta karoten, askorbik asit, alfa tokoferol, selenyum, ferritin, bakır ve çinkonun serum düzeylerini araştırmışlar ve intestinal metaplazili birey- lerde serum beta karoten ve askorbik asit düzeyle- rinin belirgin olarak düşük olduğunu saptamışlardır (17).

Schorah ve arkadaşları askorbik asitin mide içi ve serum düzeylerini incelemişler, normal bireylerde mide içi askorbik asit düzeyinin serumdakinden daha yüksek olduğunu, mide patolojilerinin de mi- de içi sekresyon oranını etkileyerek mide içi askor- bik asit düzeylerinin azalmasına neden olduğunu göstermişlerdir (18).

Reed ve arkadaşları yüksek mide kanseri riski olan 62 hasta ile yaptıkları çalışmada günde 4 gr askor- bik asit verilen hastalarda mide içi nitrit ve N- nitrozo bileşiklerinin oluşumunun anlamlı bir şekil- de azaldığını ortaya koymuşlardır (19).

Gastrik pH ile mide sıvısında izole edilen bakteri- yel koloni sayısı arasında yakın bir korelasyon ol- duğu bilinmektedir (7). Askorbik asitin gastrik pH'yı azalttığı gerçeği göz önünde bulunduruldu- ğunda nitratlara etkisi dışında, bakteriyel çoğalma- ya engel olması da beklenmelidir.

Biz de çalışmamızda omeprazol ile birlikte verilen askorbik asitin, mide içinde bakteri aşırı çoğalmasın- ı ve mide içi nitrit oluşumunu anlamlı bir şekilde engellediğini saptadık. Önceki çalışmamızda ome- prazolün yalnız başına verildiği olgularda mide içi aşırı bakteri çoğalması oranını % 66.7 olarak saptar- ken, tedaviye askorbik asit eklenmesi ile bu oranı % 18.2 olarak saptadık. Bu iki oran arasındaki fark anlamlıdır ($p < 0.05$).

Nitrit pozitifliği yönünden, önceki çalışma sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında da sonuçlar arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur. Bir önceki çalışmada % 50 olan tedavi sonrası mide içi nitrit pozitifliği bu çalışmada % 4.5 olarak saptanmıştır ($p < 0.05$).

Sonuç olarak, kısa süreli kullanımda bile mide içi bakteri çoğalımına neden olan omeprazolün bu etkisinin uzun vadeli sonuçları henüz bilinmemekle

birlikte, N-nitroso bileşiklerinin mide kanserinde rol oynayabileceğini ileri süren görüşler gözardı edilmemelidir. Buradan hareketle, omeprazolün neden olduğu bakteri aşırı çoğalımının uzun dönem etkileri belirleninceye kadar, komplikasyonsuz ülser tedavisinde omeprazolün seçilecek ilk ilaç olmaması gerektiği, kullanılacaksa en azından uzun süreli kullanımlarında tedaviye C vitamininin eklenmesinin doğru olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Howden CW, Hunt RH. Relationship between gastric secretion and infection. *Gut* 1987; 28: 96-107.
2. Houben G, Hooi J, Hameeteman W, et al. Intragastric bacterial growth, nitrite and nitrosamines after short term treatment of healthy subjects with various doses of acid reducing drugs. *Gastroenterology* 1994; 106 (4): A96.
3. Stockbrugger RW, Cotton PB, Eugenides N, et al. Intragastric nitrites, nitrosamines and bacterial overgrowth during cimetidine treatment. *Gut* 1982; 23: 1048-1054.
4. Demirtürk L, Hülalü S, Kocabeyli Ö, et al. Duodenal ülser tedavisinde kullanılan ilaçların standart dozlarda kısa süreli kullanımı ile mide içi bakteri çoğalımına ve nitrit oluşumuna etkileri. *Endoskop* 1996; 7: 18-24.
5. Thorens J, Froehlich F, Schwizer W, et al. Higher incidence of bacterial overgrowth during treatment with omeprazole as compared to cimetidine: a prospective randomized double-blind study. *Gastroenterology* 1994; 106 (4): A197.
6. Connor HJO, Habibzadah N, Schorah CJ, et al. Effect of increased intake of vitamin C on the mutagenic activity of gastric juice and intragastric concentrations of ascorbic acid. *Carcinogenesis* 1985; 11: 1675-1676.
7. Sobala GM, Schorah CJ, Sanderson M, et al. Ascorbic acid in the human stomach. *Gastroenterology* 1989; 97: 357-363.
8. Mirvish SS, Wallcave L, Eagen M, Shubik P. Ascorbate-nitrite reaction: possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds. *Science* 1972; 177: 65-8.
9. Ohshima H, Bereziat JC, Bartsch H. Monitoring N-nitrosoamino acids excreted in the urine and faeces of rats as an index of endogenous nitrosation. *Carcinogenesis* 1982; 3: 115-120.
10. Mirvish SS. The aetiology of gastric cancer: intragastric nitrosamide formation and other theories. *JNCI* 1983; 71: 629-47.
11. Mirvish SS. Formation of N-nitroso compounds: chemistry, kinetics and vivo occurrence. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975; 31: 325-51.
12. Calmels S, Ohshima H, Vincent P, et al. Screening of microorganisms for nitrosation catalysis at pH 7 and kinetic studies on nitrosamine formation from secondary amines by *E. coli* strains. *Carcinogenesis* 1985; 6: 911-5.
13. Mazzacca G, Sabbatini F. Inhibition of gastric acid secretion: advantages and risks in short and long-term treatment. *Ital J Gastroenterol* 1990; 22 (Suppl. 1): 11-12.
14. Fried M, Siegrist H, Frei R, et al. Duodenal bacterial overgrowth during treatment in outpatients with omeprazole. *Gut* 1994; 35: 23-26.
15. Connor HJO, Schorah CJ, Habibzadah NSAI, et al. Vitamin C in the human stomach: Relation to gastric pH, gastroduodenal disease, and possible sources. *Gut* 1989; 30: 436-442.
16. Sobala GM, Pignatelli B, Schorah CJ, et al. Levels of nitrite, nitrate, N-nitroso compounds, ascorbic acid and total bile acid in gastric juice of patients with and without precancerous conditions of stomach. *Carcinogenesis* 1991; 12: 193-198.
17. Zhang L, Blot WJ, Yu WC, et al. Serum micronutrients in relation to pre-cancerous gastric lesions. *Internatl J Cancer* 1994; 56: 650-654.
18. Schorah CJ, Sobala GM, Sanderson M, et al. Gastric juice ascorbic acid: effects of disease and implications for gastric carcinogenesis. *Am J Clin Nutr* 1991; 53 (1 Suppl.): 287S-293S.
19. Reed PL, Johnston BJ, Walters CL, Hill MJ. Effect of ascorbic acid on the intragastric environment in patients at increased risk of developing gastric cancer. *IARC Scientific Publications*. 1991; 105: 139-142.