

T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**DENEYSEL SİROZDA
BAKTERİYEL TRANSLOKASYON ÜZERİNE
PENTOKSİFİLİNİN ETKİSİ**

Dr. İdil HALLAÇ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÜLKÜ SARITAŞ**

2007-İSPARTA

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasındaki sonsuz destek ve katkılarından dolayı sevgili tez hocam sayın Prof. Dr. Ülkü SARITAŞ'a, ihtisas sürem boyunca faydalandığım saygıdeğer hocalarım: Prof. Dr. Tuğerul SEZER'e, Prof. Dr. Mehmet İŐLER'e, Prof. Dr. Numan TAMER'e, Prof. Dr. Ülkü SARITAŞ'a, Prof. Dr. Yıldırın SONGÜR'e, Doç. Dr. Ercan TUNÇ'a, Doç. Dr. Hasan Őenol COŐKUN'a, Doç. Dr. Cem KOŐKAR'a, Yard. Doç. Dr. Mehmet Őahin'e, Yard. Doç. Dr. Gũçhan ALANOĞLU'na, Yard. Doç. Dr. Z. Dilek AYDIN'a, Yard. Doç. Dr. Altuğ Őenol'a teŐekkürü borç bilirim.

Tezimin hazırlanmasında yardımcı olan tüm dahiliye, enfeksiyon hastalıkları, mikrobiyoloji, biyokimya, histoloji, farmokoloji, halk sağlığı ABD larındaki hocalarım, doktor arkadaşlarım ve personele, hayvan labaratuvarı sorumlusu ve personellerine teşekkür ederim. İhtisas sürem boyunca zevkle çalıŐmamı ve ortamı sevmemi sağlayan tüm hocalarıma, doktor arkadaşlarıma ve dahiliye servisinde çalıŐan tüm personele ve SDÜTF Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanması sırasında özellikle rat bakımı ve beslenmesindeki desteklerinden dolayı kardeşlerim Elif ve Senem Hallaç'a, deney aşamasındaki büyük desteğinden dolayı sevgili ağabeyimiz Dr Hasan Dinelek'e, destek ve yardımlarından dolayı kardeşim Ramazan Hallaç'a, arkadaşlarım Dr Sema S. Göksu'ya, Dr Kamuran AktaŐ'a, bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan ve ihtisas sürem boyunca beni hiç yalnız bırakmayan annem ve babama teşekkür ederim.

Dr İdil Hallaç

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Siroz ve Bakteriyel Translokasyon.....	2
2.1.1 Barsakta Bakteriyel Aşırı Çoğalma.....	3
2.1.2 Sistemik İmmun Savunmadaki Yetersizlikler.....	4
2.1.3 Lokal (Asitteki) İmmun Savunma Yetersizlikleri.....	4
2.1.4 Barsak Mukozal Bariyeri.....	4
2.1.5 Nitrik Oksitin BT daki Rolü.....	5
2.2 Bakteriyel Translokasyonun Saptanması.....	6
2.2.1 Klasik Yöntemler.....	6
2.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	7
2.3 Bakteriyel Translokasyonun Yol Açtığı Komplikasyonlar.....	8
2.3.1 Spontan Bakteriyel Peritonit.....	8
2.3.2 Hepatopulmoner Sendrom.....	8
2.3.3 Hepatorenal Sendrom.....	9
2.4 Bakteriyel Translokasyonun Önlenmesi.....	10
2.4.1 İntestinal Dekontaminasyon.....	10
2.4.2 Barsak Mukozal Bariyerin Sağlanması.....	11
2.5 Deneysel Siroz.....	12
3. MATERYAL VE METOD.....	14
3.1-Anestezi ve Cerrahi İşlem.....	15
3.2-Tedavi.....	18
3.3 Doku Örneklemesi.....	18
3.4 Örneklerin Değerlendirilmesi.....	19
3.4.1 Mikrobiyolojik Değerlendirme.....	19
3.4.2 Histopatolojik Değerlendirme.....	20
3.4.5 TNF- α Ölçümü.....	20
3.5 İstatistiksel Analiz.....	20

4- BULGULAR.....	21
4.1- Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları.....	21
4.2 Mikrobiyolojik Sonuçlar.....	26
4.2.1 Karaciğerde Üreme.....	26
4.2.2 Peritonda Üreme.....	29
4.2.3 MLN da Üreme.....	31
4.2.4 Kanda Üreme.....	34
4.2.5 Tüm Üremeler.....	36
4.3 Serum TNF- α Düzeyleri.....	36
5- TARTIŞMA.....	38
6- SONUÇ.....	44
7- ÖZET.....	45
8- SUMMARY.....	47
9- KAYNAKLAR.....	49

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bakteriyel translokasyon (BT) canlı bakterinin, barsak lümeninden barsak dışı sahalara, esas olarak mezenterik lenf nodlarına (MLN) geçmesidir (1). Sirozlu hastalarda; sitokin aracılı vazoaaktif maddelerin (nitrik oksit, glukagon gibi) fazlalığı nedeniyle mezenterlerde dilatasyona bağlı mezenter geçirgenliğinin artması ve barsak hipomotilitesine bağlı aşırı bakteri çoğalması sonucu olarak BT riski artmıştır. Sirozda BT; hiperdinamik sirkulasyon, hepatopulmoner sendrom, spontan bakteriyel peritonit ve hepatorenal sendroma (HRS) yol açar (1). Spontan bakteriyel peritonit sirozlu hastalarda asitin barsak bakterileriyle enfekte olması sonucu oluşur ve tedavi edilmezse HRS a yol açar.

Sirozda BT un engellenmesi; sitokin inhibisyonu ile mezenter geçirgenliğin azaltılması, intestinal transit hızlandırılarak ve barsak lümeni dekontamine edilerek barsak aşırı çoğalmasının engellenmesi ile olur. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan ajanlardan birisi laktulozdur.

Laktulozun bakteriyel translokasyonu azalttığı daha önceki klinik ve deneysel çalışmalar ile gösterilmiştir. Laktuloz intestinal transiti hızlandırarak bakteriyel aşırı çoğalmayı engeller (2). Mezenterik geçirgenlik üzerine etkisi bulunmamaktadır. Kontrolsüz kullanımı ishale neden olarak sıvı kaybı ve elektrolit bozukluğu sonucu sirozlu hastada hepatik ensefalopati ve hepatorenal sendrom gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir.

Pentoksifilin, tümör nekroz faktörü (TNF) α inhibitörüdür. Makrofajlardan TNF- α salınımını suprese ederek nitrik oksit (NO) inhibisyonu ile mezenter geçirgenliği önlemektedir (3). Hemorajik şok (4) ve intestinal obstruksiyondan sonra pentoksifilinin mekanik etkiden bağımsız olarak sistemik sitokin inhibisyonu yoluyla bakteriyel translokasyonu engellediği gösterilmiştir (5). Benzer mekanizma ile pentoksifilin sirozda da BT u azaltarak hiperdinamik sirkülasyonu ve bunun sonucu oluşan sirozun diğer komplikasyonlarını önleyebilir. Bu hipotezden hareketle deneysel sirozda TNF- α inhibisyonu yolu ile NO yapımını azaltan ve dolayısıyla hiperdinamik sirkülasyon ve mezenter geçirgenliği düzeltebilecek etkide olan pentoksifilinin BT üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Siroz ve Bakteriyel Translokasyon

Bakteriyel translokasyon canlı bakterinin, barsak lümeninden barsak dışı sahalara, esas olarak mezenterik lenf nodlarına (MLN) geçmesidir. Bakteriyel translokasyon oluşmasına zemin hazırlayan en önemli patolojik durumlar şok, sepsis, travma, yanıklar, aşırı antibiyotik kullanımı, intestinal radyasyon, malnutrisyon, immün supresyon, tıkanma ikteri ve sirozdur. Asiti olan sirozlu hastalarda canlı bakteri nötrofil ve makrofajlar içerisinde barsak duvarından geçer, MLN nda kolonize olduktan sonra kana ve oradan da asite geçer (1). Asite geçen canlı bakteri sirozlularda hücrel ve hümoral immün yanıtın bozulması sonucu nötrofil ve makrofaj fonksiyonlarında bozulma nedeniyle temizlenemez ve spontan bakteriyel peritonit meydana gelir (1).

Deneyel siroz modellerinde BT sıklığı %37-83 oranında bildirilmektedir. Bakteriyel translokasyonun spontan bakteriyel peritonit gelişimi ile ilişkili olduğu deneyel siroz modellerinde gösterilmiştir (6). Bakteri kültürlerinin genetik kimlik belirlenmesi MLN ve asitten üretilen bakterilerin aynı olduğunu göstermiştir (7). Laparotomi yapılan dekompanze sirozlu hastalarda barsak kaynaklı bakterilerin %30 oranında MLN a geçtiği gösterilmiştir. Bu oran kompanze sirozlu hastalarda ve nonsirozik portal hipertansiyonda %10 dan az bildirilmektedir (8). Bakteriyel translokasyon oluşumunda rol oynayan mekanizmalar; lokal ve sistemik immün savunmadaki yetersizlikler, barsakta bakteriyel aşırı çoğalma ve barsak mukoza bariyerinin bozulmasıdır (1).

Sirozda BT oluşumunda yukarıda sayılan faktörlerin her üçü de rol oynamaktadır. Barsakta bakteriyel aşırı çoğalma önemli bir faktör olmakla birlikte tek başına yeterli değildir (9). Bakteriyel translokasyonu oluşturan diğer faktörler; barsak mukozal bariyerinde yapısal (10) veya fonksiyonel zararlanma (11) ile lokal ve sistemik immün yetmezliktir (1).

Sirozda barsak mukozasında konjesyon ve ödem gibi yapısal değişiklikler deneyel olarak gösterilmiştir (12). Laparotomi yapılan sirotik hastaların barsak mukozalarının biyopsisinde ödem, inflamasyon ve vasküler değişikliklerle

intersellüler boşlukların genişlemiş olduğu gösterilmiştir (13). Sirozda BT da barsak mukozasının permeabilite artışı Tc 99m dietilenetriaminpentaasetikası (DTPA) in üriner atılımı kullanılarak gösterilmiştir (11). Sirozda intestinal bariyerdeki bozulma portal hipertansiyon sonucu oluşan staza bağlıdır. Stazın yol açtığı permeabilitedeki artış barsaktaki bakterinin barsak dışı alanlara geçişini kolaylaştırır (1).

Diğer yandan portal hipertansiyona bağlı lokal hipoksi sonucu intestinal mukozada oksidatif hasar oluşur (14). Mukozal oksidatif hasar intestinal permeabilitedeki hasarlanmaya katkıda bulunur (15). İntestinal permeabilitedeki hasarlanmanın da BT a yol açtığı gösterilmiştir (16). Sonuçta; sirozda mukozal bariyerdeki hasarlanma, intestinal permeabilite artışı, aşırı bakteri çoğalması, lokal ve sistemik immun defektler BT a yol açar (17). Sirozda sıkça görülen endotoksemi BT sonucunda oluşur (18).

2.1.1 Barsakta Bakteriyel Aşırı Çoğalma

Sirozda aerobik gram (-) bakterilerin intestinal aşırı çoğalması deneysel ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir. İntestinal bakteriyel aşırı çoğalma BT ve spontan bakteriyel peritonite yol açar (19). İntestinal floradaki gram (-) aerobik bakterilerin antibiyotikler ile inhibisyonunun spontan bakteriyel peritonit insidansını azaltması bu hipotezi destekler (20).

Sirozda intestinal transit süresinin uzaması barsakta aşırı bakteri çoğalmasından sorumlu olan esas faktördür. Prokinetik bir ilaç olan sisaprid verilerek intestinal transitin hızlandırıldığı asitli sirotik ratlarda BT ve bakteriyel aşırı çoğalma azalmıştır (21). Asiti olan sirotik ratlarda propranolol ile β adrenerjik blokaj sonucu hızlanmış intestinal transit, bakteriyel aşırı çoğalmayı ve BT u azaltmıştır (22). Laktuloz intestinal transiti hızlandırarak bakteriyel aşırı çoğalmayı engellemektedir (2).

Sirozda ince barsak motilitesinde azalmanın sebebi tam olarak bilinmemekle birlikte, artmış adrenerjik aktivite, aşırı NO sentezi, intestinal duvarın yapısal hasarı ve intestinal oksidatif hasar suçlanmaktadır (23). İnce barsak motilitesinde azalma ve intestinal staz sonucu oluşan bakteriyel aşırı çoğalma kısır döngü şeklinde intestinal motiliteyi tekrar bozabilir (24).

2.1.2 Sistemik İmmun Savunmadaki Yetersizlikler

Mezenterik lenf nodlarına bakteri transloke olduktan sonra ya direkt olarak lenf nodundan asite veya daha sıklıkla da kan yoluyla asite geçer. Sirozda; retiküloendotelyal sistem (RES) aktivitesinde bozukluk, nötrofil ve makrofaj fonksiyonlarında defektler, serum kompleman ve fibronektin gibi opsonik aktiviteli diğer protein seviyelerindeki eksiklikler, BT u kolaylaştırır (19). RES fagositik aktivitesinde görülen bozukluğun fonksiyonel olabileceği veya intrahepatik şantlara bağlı olabileceği düşünülmektedir (25). Fagosit aktivitesindeki bozuklukların bakteriyemi ve spontan bakteriyel peritonit gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dekompanse sirozda serum kompleman seviyesi düşüktür. Serum kompleman seviyeleri düşük sirotik hastaların spontan bakteriyel peritonit gelişimine daha yatkın olduğu görülmüştür (26).

2.1.3 Lokal (Asitteki) İmmun Savunma Yetersizlikleri

Asit total protein seviyesi düşük olan sirotik hastalarda (< 10-15 g/L), total protein seviyesi daha yüksek olan sirotik hastalara göre daha çok spontan bakteriyel peritonit görülmüştür (27). Sirozda genellikle asit total protein düzeyi düşüktür. Gergin asitli hastalarda fazla miktarda sıvı toplanmasına bağlı dilüsyon sonucu asit total protein içeriği daha da düşer ve bu hastalarda spontan bakteriyel peritonit gelişme riski daha fazladır. Ayrıca sirozda hem kompleman faktörlerinin sentezi azalmıştır hem de enterik bakteriler ve onların ürünleri ile kompleman fiksasyonuna bağlı kompleman düzeyi düşüktür (28). Sonuçta kompleman düzeyi, asit proteini ve opsonik aktivitesi düşük olan sirozlu hastalar asite geçen bakterileri temizleyemediklerinden spontan bakteriyel peritonit geliştirmeye daha yatkındırlar (29).

2.1.4 Barsak Mukozal Bariyeri

İntestinal mukozal bariyer intestinal bakterinin penetrasyonuna karşı fiziksel ve salgısal koruyucu öğeler içerir. Epitelyal goblet hücreler tarafından fazla miktarda (3L/gün) sekrete edilen musinin oluşturduğu membran, negatif yüklü glikoproteinleri

içerir ve mikrovillus membranı ile bakterinin direkt temasını önler. Mukozal sekresyonlar bakteriyi efektif olarak bağlayıp mukozaya geçişini ve kolonize olmasını önleyen IgA dan zengindir. Bu sekretuar IgA sadece mikrobial girişi engellemez, aynı zamanda toksinleri ve enfeksiyöz mikroorganizmaları nötralize eder ve IgA ya bağlı antijenleri ve mikroorganizmaları aktif olarak lamina propriadan lümeneye taşır (30).

Barsak epiteli geçirgenliğinin olmayışı ve antimikrobiyal peptit ve proteinleri üretmesi nedeni ile en önemli mukozal bariyerdir. Özelleşmiş hücreler arası bağlantı kompleksleri permeabilite yolları sağlarken adezyonu da devam ettirir ve hücreler arası iletişime izin verir. Apikolateral epitelyal yüzeydeki sıkı bağlantılar 2kd kadar küçük moleküllerin parasellüler geçişini engeller, böylelikle sadece bakterinin transepitelyal geçişi değil lipopolisakkarid gibi makromoleküllerin geçişi de engellenir. Sirozda; interselüler aralıkların genişlemesi, vasküler konjesyon, ödem, fibromuskuler proliferasyon, azalmış villus/ kript oranı, kalınlaşmış muskularis mukoza ve inflamasyon gibi barsak mukozanın yapısal değişiklikleri tanımlanmıştır (31). Sirozlu hastalarda özellikle sepsisli olanlarda, intestinal permeabilite artışı fonksiyonel çalışmalarla gösterilmiştir. İntestinal permeabilite artışından proinflamatuvar sitokinler ve NO sorumludur (31).

İntestinal bariyerin bozulması sonucu barsak lümeninden barsak dışı alanlara bakteri transloke olur ve spontan bakteriyel peritonit gelişir (31).

2.1.5 Nitrik Oksitin BT daki Rolü

Siroz ve portal hipertansiyonda hiperdinamik sirkülasyon görülür. Bunun başlıca sebebi özellikle splanknik dolaşımda meydana gelen arteriyel vazodilatasyondur. Vazokonstriktörlere yanıtızsızlık sonucu vasküler kontraktilitenin bozulması ve NO gibi endotel kökenli vazodilatörlerin aşırı üretimi sonucu splanknik alanda arteriyel vazodilatasyon meydana gelir (3).

Nitrik oksitin aşırı üretiminin intestinal epitel bütünlüğünü bozduğu gösterilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda NO gastrik mukozal hasarı indüklemesinin yanında, rat kolonik epitel hücrelerinin canlılığını azaltır, epiteldeki sıkı bağlantıları ve aktin iskeleti bozar, adenosin trifosfat formasyonunu engeller ve böylelikle intestinal

permeabiliteyi artırır. Endotoksemi, hemorajik şok, iskemi reperfüzyon hasarı veya termal hasar indüklenbilir NO sentaz (iNOS) üzerinden BT a yol açar (32).

Bakteriyel translokasyon saptanan sirotik ratlarda vasküler reaktivite ileri derecede bozulmuştur ve bu büyük ölçüde NO in endotelial aşırı salınmasına bağlanmıştır. Endotelial aşırı NO üretiminin iNOS kaynaklı ve TNF- α aracılı olduğu gösterilmiştir (32).

2.2 Bakteriyel Translokasyonun Saptanması

2.2.1 Klasik Yöntemler

Deney hayvanlarında bakteriyel translokasyonun saptanması için kullanılan yöntemler, barsaktan uzak bölgelerdeki organ ya da dokulardan kültür yaparak canlı bakterilerin gösterilmesi şeklinde olabileceği gibi, radyoizotop ile işaretli bakterinin/endotoksinin enterik yolla verilir organlarda radyoaktivitenin ölçümü ile de olabilir (31).

Kültür için alınan MLN, barsak, karaciğer örnekleri hemotoksilen-eozin ile boyanarak direkt mikroskopta bakılır ya da dokular steril koşullarda homojenize edildikten sonra, 24-48 saat inkübasyona bırakılıp kanlı agar ve Mc-Conkey besi yerlerine ekim yapıldıktan 24 saat sonra dokularda gram başına düşen bakteri kolonisi sayılır . Transloke olan bakterinin kanda saptanması için steril olarak alınan kan örneği, kan kültür şişelerine ekilir, üreme olan şişelerden kanlı agar ve eosin metilen blue (EMB) besiyerlerine aktarılan bakteriler klasik yöntemlerle tanımlanabilir (33). Ancak bu yöntemler hastalarda translokasyonu saptamak için uygun değildir. Günlük pratikte hastalarda BT doku kültürleri ile değerlendirilemez. Hastalarda daha çok BT unyol açtığı komplikasyonların sonuçları kan kültürleri, periton sıvısı kültürleri ile değerlendirilir. Bu sebeple çalışmamızda BT değerlendirilmesi için deneysel model tercih edilmiştir.

Enfeksiyon etkeninin laboratuvar tanısı klasik olarak etkenin uygun kültür ortamında üretilmesi esasına dayanır. Ancak her etken kültürde üretilmez veya tüberkülozda olduğu gibi çok uzun zamanda üretilir. Özgül antijen ya da

antikorların ELISA yöntemiyle gösterilmesinde yalancı negatif veya yalancı pozitif sonuçlar çıkabilir. Bu durumlar tanı ve tedaviyi geciktirir (31).

2.2.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Son yıllarda mikroorganizmaların nükleik asidini gösterme temeline dayanan PCR yöntemi kullanıma girmiştir. Her mikroorganizmanın nükleik asit yapısında sadece kendisine ait dizilimler bulunur ve bu dizilimler adeta onun kimliği gibidir. Bu nedenle PCR yöntemi son derece özgüdür. Yani ortak antijenik özellikten kaynaklanan çapraz reaksiyonlar ve bunların neden olduğu yalancı negatif ve pozitif sonuçlara rastlanmaz. Canlı ya da ölü, bir tek etkeni bile saptayabilir. Nükleik asitler son derece stabil bir yapıya sahip olduklarından, örneklerin uygun koşullarda alınması, laboratuvara uygun koşullarda gönderilmesi gibi sorunlardan etkilenmez (31).

PCR tekniğinde alınan örnekte bulunduğu sanılan etkenin nükleik asit dizisinin sadece ona ait olan kısmı çoğaltılır. Böylece her bir tek DNA parçası kendi karşılığını sentezler. Bu işlem 30-40 defa yapılarak DNA sayısı milyonlara ulaşır. Daha sonra etkene özgül nükleik asit dizisinin karşılığı olan ve elde hazır olarak bulunan radyoaktif ya da enzimle işaretli DNA dizisi (prob) aynı ortama konur. Prob DNA' nın özgül kısmına bağlanıp bantlar oluşturur ve bu durum fotoğraflanır. PCR yönteminin bakteriyel translokasyonda klasik kan kültüründen daha sensitif olduğu bildirilmiştir (34). Ancak pahalı ve daha zahmetli olması nedeniyle çalışmada tercih edilmemiştir.

2.3 Bakteriyel Translokasyonun Yol Açtığı Komplikasyonlar

Sirozda bakteriyel translokasyon; hiperdinamik sirkulasyon, spontan bakteriyel peritonit ve bunların neden olduğu hepatopulmoner sendrom ve hepatorenal sendrom gibi ölümcül komplikasyonlara yol açar.

2.3.1 Spontan Bakteriyel Peritonit

Gergin asitli dekompanse sirozlu hastalarda barsak kaynaklı enfeksiyonlar özellikle spontan bakteriyel peritonit sık görülür (2). Spontan bakteriyel peritonit sirotik hastalarda gelişen en sık ve ciddi enfeksiyondur. İlk olarak 1960 larda Conn tarafından tanımlanmıştır. Oluşumunda birçok mekanizma rol oynar. Lokal ve sistemik immun savunma mekanizmalarındaki bozuklular ve asit total protein seviyesinin 1 gr/dl altında olması en önemli faktörlerdir. Spontan bakteriyel peritonit epizotlarının çoğunda asitte enterik orijinli aerobik gram (-) basil bulunması bakterinin hastanın kendi florasından geldiğini göstermektedir (1). Spontan bakteriyel peritonit patogenezindeki esas basamaklar; bakterinin barsak lümeninden translokasyonu, sistemik ve lokal immun defanstaki yetersizlikler ve asitteki antimikrobiyal aktivitedeki eksiklerdir (35).

2.3.2 Hepatopulmoner Sendrom

Hepatopulmoner sendrom (HPS), kronik karaciğer hastalığı (sıklıkla siroz) varlığında hipoksemi, alveoloarteriyal gradient artışı ve intrapulmoner vasküler dilatasyon ile karakterize bir klinik tablodur (36). Sirozlu hastalarda görülen siyanoz ve çomak parmak gibi muayene bulguları HPS a bağlıdır. Hipoksemi HPS lu hastalardaki en karakteristik bulgudur ve sirozlu hastaların üçte birinde görülür. Hipoksemi intrapulmoner vasodilatasyona bağlıdır. Alveolar ventilasyon, perfüzyon bozukluğu, alveolo-kapiller oksijen difüzyon bozukluğu ve vasküler yapılarda sağdan sola şant görülür. Patolojide NO suçlanmıştır (37). Çalışmalarda hayvan ve insanların ekspirasyon havasında artmış bulunan NO; akciğerlerde NO in artmış üretimini göstermiştir (38). Akciğerlerde artmış NO de intrapulmoner

vasodilatasyon ve HPS un sebebidir (39). NO artmış üretimi endotelin I (ET-1) artışına bağlı olabilir. Plazmadaki artmış ET1 seviyeleri pulmoner mikrosirkülasyondaki artmış endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) seviyeleri ve arteryal gaz anormallikleri ile ilişkilidir (40). Hemoglobin NO için düzenleyici görev yapar (41). Hemoglobinin vasküler düz kasta NO salınımını ve onun vasodilatasyon yapıcı etkisini engellediği ve NO i inaktive ettiği daha önceki çalışmalarla gösterilmiştir. Bir hipotez de NO in hormon olarak etki ettiğidir (40). Yeni çalışmalar NO in iskemik dokularda aktifleştğini göstermiştir, hemoglobin NO bioaktivitesi için depo ve araç olabilir (43).

Endotoksin ile stimüle olmuş kupfer hücrelerinden TNF- α aşırı üretiminin ve NO salınımının HPS patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (44).

Hepatopulmoner sendrom patogeneğinde hiperdinamik sirkülasyon anahtar rol oynar. Hiperdinamik sirkülasyon etyolojisinde iki potent vazodilatatör olan NO ve TNF- α önemli rol oynar (45).

2.3.3 Hepatorenal Sendrom

Hepatorenal sendrom (HRS), karaciğer hastalığı varlığında, endojen vazoaktif sistem aktivitesi ile sistemik hemodinamik değişiklikler ve renal dolaşımda belirgin vazokonstriksiyon sonucu oluşan fonksiyonel renal yetmezlikle karakterizedir. Prognozu oldukça kötüdür. Spontan bakteriyel peritonit sonrası HRS gelişme riski oldukça yüksektir. Spontan bakteriyel peritonitli hastalarda albuminle beraber antibiyotik verilmesinin HRS u engelleyebileceği yeni çalışmalarla gösterilmiştir (46). Patogeneindeki asıl mekanizma splanknik dolaşımdaki arteriyel vazodilatasyondur. Renal dolaşımda vazokonstriksiyon görülür. HRS; BT ve ona bağlı spontan bakteriyel peritonit, NO kaynaklı hiperdinamik sirküler durum, splanknik vazodilatasyon ve renal vazokonstriksiyon sonucu oluşur (45).

2.4 Bakteriyel Translokasyonun Önlenmesi

Sirozda mukozal bariyerdeki hasarlanma, intestinal permeabilite artışı, aşırı bakteri çoğalması, lokal ve sistemik immün defektler BT a ve endotoksemiye yol açar (16).

Sirozda BT un önlenmesi, bakteriyel aşırı çoğalmanın ve mezenter geçirgenliğin önlenmesi temellerine dayanır.

Barsakta bakteriyel aşırı çoğalmanın engellenmesi, antibiyotikler ile barsak florasının dekontaminasyonu ve mekanik etkili ilaçlarla intestinal transitin hızlandırılmasıyla olur. Mezenter geçirgenliğin engellenmesi ise ilgili sitokinlerin inhibisyonu ile mümkündür.

2.4.1 İntestinal Dekontaminasyon

Norfloksasin

Norfloksasin ile selektif barsak dekontaminasyonu spontan bakteriyel peritonit ataklarının engellenmesinde (sekonder proflaksi) (47) veya spontan bakteriyel peritonit için yüksek risk taşıyan sirozlu hastalarda ilk atağın önlenmesinde (primer proflaksi) (48) başarı ile uygulanmaktadır. Fakat zamanla dirençli bakterilerin gelişimi ve kolonize olup enfeksiyon kaynağı olmaları ile norfloksasinin spontan bakteriyel peritoniti engelleme etkisi azalabilir. Bu etkinin azalması özellikle uzun dönem proflaktik tedavi alan hastalarda belirgindir (49).

Sisaprid

Metoklopramidin piperidinil benzamid türevidir. Prokinetik ajanlar arasında antidopaminerjik etkileri olmayan tek ajandır, etkilerini myenterik pleksusun post ganglionik sinir sonlanmalarından asetil kolin salgılanmasını artırarak yapar. Klinik ve deneysel çalışmalar sisaprid alımının intestinal trakt boyunca motor aktiviteyi stimüle ettiğini ve barsak transit zamanını kısalttığını kanıtlamıştır (50). Asitli sirotik ratlarda yedi günlük sisaprid tedavisi sonrası jejenumdaki gram (+) ve gram (-) bakteri sayısının ve sisaprid tedavisi ile BT un azaldığı gösterilmiştir. Sisaprid alımının jejenumda aşırı bakteri çoğalmasını engelleyerek BT yi azaltabileceği, bunu da

prokinetik etkisi ile yaptığı bildirilmektedir (22). Ancak ciddi kardiyak yan etkilerinin olması nedeni ile kullanımı yasaklanmıştır (2).

Laktuloz

Barsak aşırı bakteri çoğalmasını engelleyerek BT u önleyen bunu da intestinal transit zamanını kısaltarak yapan diğer ajan da laktulozdur (51). Laktuloz sentetik bir disakkarittir. İnsan enterositlerinin mikrovillus membranlarında laktulozu hidrolize edecek disakkaridaz yoktur. Laktuloz barsaktan emilmez (52). Kolon bakteriyel florası ile kısa zincirli yağ asitlerine ve çeşitli gazlara fermente edilir. Böylelikle primer etki yeri kolondur (53). Sisaprid gibi şiddetli yan etkilere neden olmaz (54). Laktulozun sirozda barsak aşırı bakteri çoğalmasını ve BT u azalttığı, endotoksin seviyelerini düşürdüğü ve böylece barsak kaynaklı enfeksiyonları engelliyebildiği gösterilmiştir (2).

2.4.2 Barsak Mukozal Bariyerin Sağlanması

Bakteriyel translokasyonda önemli bir mekanizma da barsak mukozal bariyerinin hasarı ve mezenter geçirgenlik artışıdır. Sitokin aracılı bu mekanizmaya yönelik alınacak önlemlerle BT engellenmesi daha etkin şekilde sağlanacaktır.

Ksantin oksidaz inhibitörleri

Ksantin oksidaz aşırı salınımına bağlı enterosit oksidatif hasarı barsak mukozal hasarına yol açmaktadır. Deneysel olarak ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinolün enterosit hasarını ve dolayısıyla BT u azalttığı gösterilmiştir (55).

Mezenter geçirgenlikte suçlanan major sitokin aracılı mekanizma TNF- α üzerinden NO salınımıdır. Bu mekanizmaya yönelik hedef tedavi pentoksifilin ile sağlanabilir.

Pentoksifilin

Nonspesifik fosfodiesteraz inhibitörüdür. Makrofajlardan TNF- α salınımını suprese ederek NO inhibisyonu ile mezenter geçirgenliği önlemektedir (3). Bunu

intraselüler siklik adenosin 3' 5' monofosfat ve siklik guanosin 3'5' monofosfat konsantrasyonlarını artırarak yapar.

Pentoksifilin rapor edilen diğer etkileri; monosit kemoreaktan protein-1, interlökin 6, interlökin 8 ve makrofaj inflamatuvar protein Ia ve Ib inhibisyonu , endotelial hücre üzerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunun azaltılması, nötrofil aktivasyonunun baskılanması, lenfosit ve monosit proliferasyonunun, lökositlerin bağlanma ve migrasyonunun engellenmesini içerir. Pentoksifilin periferal arteriyel hastalık tedavisinde geniş olarak kullanılmaktadır. Ayrıca pentoksifilin inflamatuvar sürecin inhibisyonunda rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır (3).

Koledok bağlanarak siroz oluşturulan ratlarda splanknik ve sistemik vazodilatasyon ile hiperdinamik sirkülasyon oluşur. Nitrik oksit sentaz inhibitörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda hiperdinamik sirkülasyon ve hepatopulmoner sendromun gelişmesinde esas rolün pulmoner ve sistemik damarlardaki NO aşırı üretimi olduğu gösterilmiştir (3).

TNF- α mikroorganizmalar veya bakteriyel duvar ürünleri ile stimüle olan ve inflamatuvar cevapta mononükleer hücrelerce salınan proinflamatuvar bir stokindir. Sirozlu hayvan ve insanlarda TNF- α konsantrasyonu artar. TNF- α inhibisyonu vasküler NO aşırı üretimini azaltarak hiperdinamik sirkülasyonu engeller (3). Böylelikle mezenterik geçirgenlik önlenerek BT etkin şekilde engellenebilir.

2.5 Deneysel Siroz

Deneysel siroz karaciğerde fibrozis geliştirilerek oluşturulmaktadır. Karaciğerde fibrozis ya tıkanma sarılığı oluşturularak ya da ilaçlarla meydana getirilir. Tıkanma sarılığı ortak safra kanalı (koledok) bağlanarak oluşturulur. Deney hayvanı olarak seçilen ratlarda koledok bağlandıktan 28 gün sonra siroz geliştiği gösterilmiştir (56).

İlaçlarla deneysel siroz oluşturmada yaygın olarak kullanılan ilaç karbon tetra klorür (CCl₄) dür. Rat başına 0.5 ml %20 lik CCl₄ subkutan enjeksiyonu, haftada iki kere olmak üzere sekiz hafta boyunca yapıldığında ratlarda karaciğer fibrozisi ve siroz olduğu gösterilmiştir (57).

Schistosoma mansoni serkalyalarının perkutan enjeksiyonu sonrasında 12 haftada karaciğer fibrozisi görülmektedir (58). Deneysel çalışmalarda en sık kullanılan model koledok bağlanarak oluşturulan siroz olduğundan çalışmamızda bu model kullanılmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarında Eylül 2005-Kasım 2005 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu (SDÜAF) tarafından desteklendi (Proje no: 991-Tu-05).

Çalışmada ağırlıkları ortalama 150-200 gram olan Wistar-albino tipi erişkin erkek ratlar kullanıldı. Deneysel siroz modeli koledok bağlanarak oluşturuldu (55). Hayvanların deney süresince istedikleri kadar standart fare yemi ve çeşme suyu ile beslenmelerine izin verildi. Her kafeste beş adet olmak üzere laboratuvar koşullarına uyum sağlamaları beklendikten sonra, rastlantısal olarak gruplara ayrıldılar.

Deney için toplam 80 rat alındı. Kırk rata koledok ligasyonu, sham grubu olan 40 rata aynı septik koşullara maruz kalmaları açısından sadece laparotomi yapıldı. Siroz oluşması için 28 gün beklendi. Yirmi sekiz gün tamamlandığında koledok ligasyonu yapılan ratların hepsinde sarılık gelişti. Bu gruptan siroz geliştiğini makroskopik ve mikroskopik kanıtlamak için rastgele üç rat seçilerek kurban edildi ve karaciğerleri alındı. Her üçünde de asit gelişmişti. Karaciğerler sirotik görünümdeydi. Histopatolojik incelemede de siroz saptandı.

Yirmi sekiz günlük dönemde ligasyon yapılan gruptan 7 rat öldü. Sham grubundan ise ölen rat olmadı. Ligasyon yapılan gruptan geriye kalan 33 rat ve sham grubundaki 40 rat BT tedavisi için rastgele 4 er gruptan 8 gruba ayrıldı.

Birinci grup: 8 rat, koledok ligasyonu ve on gün süre (22) ile ilaçsız takip edildi. 2. grup: 9 rat, koledok ligasyonu ve on gün süre ile 1gr /kg /gün laktuloz (2) verildi. 3. grup: 8 rat, koledok ligasyonu ve on gün süre ile 10 mg /kg / gün pentoksifilin (3) verildi. 4. grup: 8 rat koledok ligasyonu ve on gün süre ile 1gr /kg /gün laktuloz ve 10 mg /kg / gün pentoksifilin verildi. 5. grup: 10 rat, laparotomi ve on gün süre ile ilaçsız takip edildi. 6. grup: 10 rat, laparotomi ve on gün süre ile 1gr /kg /gün laktuloz verildi. 7. grup: 10 rat, laparotomi ve on gün süre ile 10 mg /kg /gün pentoksifilin verildi. 8. grup: 10 rat, laparotomi ve on gün süre ile 1gr /kg / gün laktuloz ve 10 mg /kg /gün pentoksifilin verildi. (Tablo 1.1)

Deney tamamlandıktan sonra tüm ratlar anestezi altında sakrifiye edildi. KC, MLN, periton dokuları çıkarıldı ve kan örnekleri alındı. Bu işlem dokuların nekroze olmaması için anestezi altında yapıldı. KC, MLN , peritondan alınan örnekler bakteriyel translokasyonu değerlendirmek için uygun besi yerlerine ve kan, kan kültürü şişelerine ekildi. Alınan kan örneklerinden TNF- α ölçüldü. KC örneklerinin histopatolojik incelemesi yapıldı.

Tablo-1: Deney şeması

Grup	Rat Sayısı	Yapılan işlem	Verilen ilaç
I	n= 8	Koledok bağlama	İlaçsız
II	n= 9	Koledok bağlama	Laktuloz
III	n= 8	Koledok bağlama	Pentoksifilin
IV	n= 8	Koledok bağlama	Laktuloz+ Pentoksifilin
V	n= 10	Laparotomi	İlaçsız
VI	n= 10	Laparotomi	Laktuloz
VII	n= 10	Laparotomi	Pentoksifilin
VIII	n= 10	Laparotomi	Laktuloz+ Pentoksifilin

3.1-Anestezi ve Cerrahi İşlem

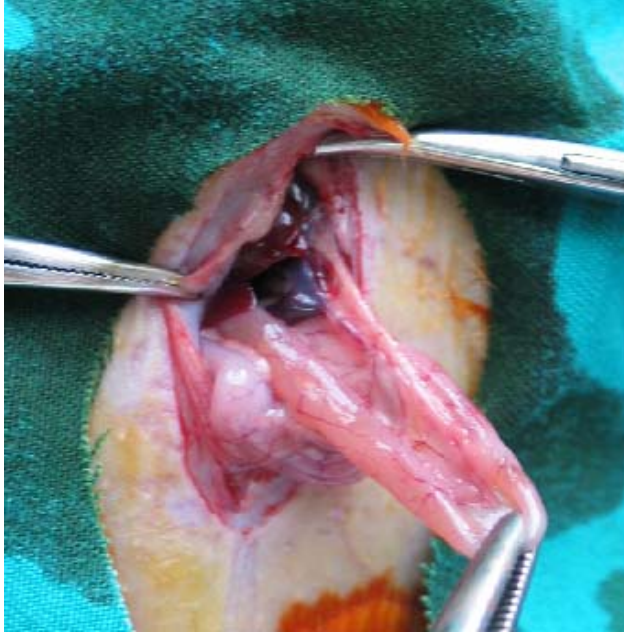
Tüm cerrahi işlemlerde genel anestezi oluşturmak amacı ile 100 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar flk, Parke-Davis, Morris Plains) ve 25 mg/kg konsantrasyonunda Xylazine HCl (Rompun flk, Bayer) ratların sağ arka bacaklarından intramusküler olarak uygulandı.

Anesteziyi takiben tüm hayvanların karın bölgesi tıraş edilip, % 10 povidon iodine ile bölge temizliği yapıldı. Supin pozisyona getirilen ratlar yalnızca insizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril yeşil ile örtüldü (Şekil 1). Ksifoidin hemen altından başlanarak yaklaşık 3 cm'lik orta hat insizyon ile cilt ve cilt altı dokular geçilerek batına ulaşıldı. Sham grubunda koledok bulunup yalnızca mobilize edildi. Koledok ligasyonu uygulanan ratlarda porta hepatis bulunarak koledok kanalı izole olarak disseke (Şekil 2) edildikten sonra pankreasın hemen üzerinden 4/0

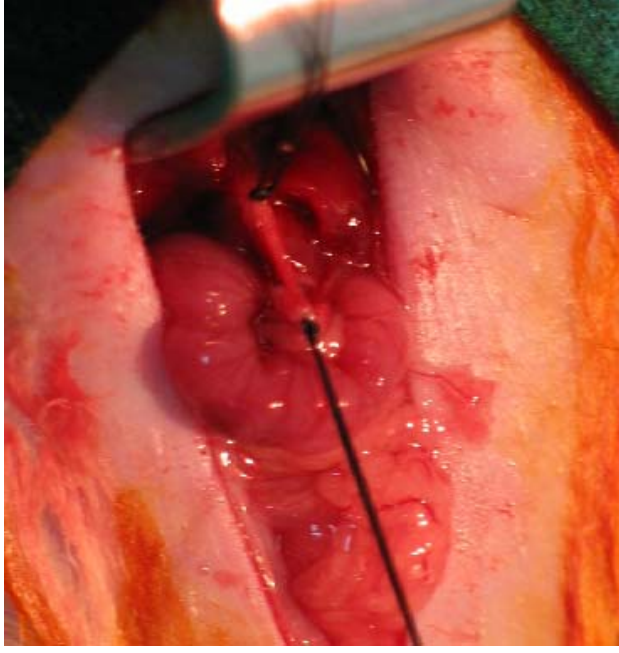
ipeklerle iki kez bağlandı (Şekil 3) ve rekanalizasyonu engellemek amacı ile iki düğümün arasından eksize edildi. Karın ön duvarı 3/0 vicryl, cilt 4/0 prolenle kapatıldı (Şekil 4).



Şekil-1: Karın tıraş edilip povidon iyodur ile silindi ve steril örtü ile örtüldü.



Şekil-2: Laparotomi sonrası porta hepatis bulunarak koledok kanalı izole edildi.



Şekil-3: İzole edilen koledok 4/0 ipek ile iki yerden bağlandı ve rekanalizasyonu engellemek amacıyla arasından kesildi.



Şekil-4: Karın ön duvarı 3/0 vicryl, cilt 4/0 prolenle kapatıldı.

3.2-Tedavi

Bütün grupların deney süresi boyunca istedikleri kadar standart fare yemi ve çeşme suyu almalarına izin verildi. Koledok bağlama ve laparotomi yapıp, 28 gün tamamlandıktan sonra laparotomi yapılan ve koledok bağlanan ratlardan birer gruba herhangi bir tedavi uygulanmadı, laparotomi yapılan ratlardan ve koledok bağlanan ratlardan birer gruba on gün süre ile günde bir kez, sabahları, beslenme tüpü ile (feeding tube, ch:6 Bıçakçılar) gastrik entübasyon yapılarak 10 mg/kg/gün dozunda pentoksifilin (Trental tbl, Sanofi Aventis), birer gruba 10 gün süreyle aynı şekilde 1gr/kg/gün laktuloz (Duphalac susp), birer gruba da 10 gün süre ile 10 mg/kg/gün pentoksifilin ile birlikte 1 gr/kg/gün laktuloz verildi.

3.3 Doku Örnekleme

Örnekleme işlemleri tüm gruplarda aynı olup, alınan örneklerin nekroze olmaması, değerlendirmeleri etkilememesi için, 100 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar flk Parke-Davis, Morris Plains) ve 25 mg/kg konsantrasyonunda Xylazine HCl (Rompun flk , Bayer) anestezisi altında gerçekleştirildi. Yine operasyon sahası % 10 povidon iyodur ile temizlendikten sonra yalnızca insizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril olarak örtüldü. Eski insizyon hattı kullanılarak yapılan laparatomiden sonra Vena Porta'dan kan kültürü ve TNF α düzeyi ölçümü için kan örnekleri alındı. KC, MLN ve peritondan kültür için örnekler alındı. Patolojik inceleme için karaciğer örneği çıkarıldı.

Kültür için alınan KC, MLN, peritona ait dokular steril penset yardımıyla çift bıçak yöntemiyle ezilerek homojenize edilip, önceden hazırlanan Eosin-Metilen-Blue (EMB) agar ve kanlı agar besiyerlerine konuldular.

Kültür için alınan 1cc kan hemen Pedi-Bac T aerobik kültür şişelerine steriliteye dikkat edilerek konuldu. Bu şişe hemin, menadrin ve pridoksin ilavesi ile 2 ml'ye tamamlanmış beyin-kalp infüzyonu ve antikoagülan olarak SPS (sodium polianetol sülfonat) ihtiva etmekteydi. Bu şişelerin altında bulunan CO₂ e duyarlı kalorimetrik bir madde pozitif kültürde sarı renge dönüşmektedir.

Histopatolojik inceleme için yüzeyi serum fizyolojik ile hafifçe yıkanan

karaciğerden alınan doku örnekleri %10 luk nötral formaldehit solusyonu ile fikse edildi.

TNF- α ölçümü için alınan kanlar dakikada 4000 devirde 3 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldıktan sonra çalışmanın yapılacağı güne kadar -20 °C'de saklandı. Bütün bu örnekleme işlemleri her bir rat için 5-10 dakika içerisinde tamamlandı.

3.4 Örneklerin Değerlendirilmesi

3.4.1 Mikrobiyolojik Değerlendirme

EMB agar ve kanlı agar besi yerlerine pasajları yapılan doku örnekleri 48-72 saat 37 °C'de inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmalar geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlandı.

Kan kültürü için Pedi-BacT aerob kan kültür şişesine alınan örnekler, BacT/Alert otomatize kan kültür sisteminde değerlendirildi. Ekim yapılan şişeler 35-37 °C'de enkübe edilip sürekli çalkalanarak 10 dk aralarla izlendi. Sıvı kültür şişelerinde oluşan CO₂ üretimi sürekli olarak kalorimetrik prensibe göre ölçüldü ve cihazın her hücresindeki reflektometreler tarafından sürekli izlendi. Pozitif şişe saptandığında görüntülü ve sesli mesaj ile pozitifliği belirlendi. Bu sistemde pozitiflik saptanan şişelerden kanlı agar ve EMB agar plaklarına pasaj yapılarak 37 °C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen mikroorganizmalar geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlandı. Yedi gün içerisinde pozitiflik sinyali vermeyen örnekler negatif kabul edildi.

Bakteri türleri belirlendi. Üreyen bakterilerin gram boyaması yapıldı. Koloni sayıları belirlendi. Bir koloni 1000 CFU/ml (CFU= colony forming unit: ml deki koloni sayısı) bakteri olarak belirtildi. Tek bir bakteri koloni üremesi ve *Escherichia coli* (*E.coli*), *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), Klebsiella, Proteus, Enterokok türlerinin üremeleri anlamlı kabul edildi.

3.4.2 Histopatolojik Değerlendirme

Yüzde onluk nötral formaldehit solüsyonunda tespit edilen karaciğere ait doku örnekleri rutin takip yöntemlerinden sonra parafin içine bloklandı. Elde edilen bloklardan mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Elde edilen kesitler hemotoksilen-eozin ile boyandı. Daha sonra BX50 Olympus marka foto mikroskopta resimleri çekilerek değerlendirildi.

Histopatolojik incelemede:

Karaciğerde parankimin ve stromanın durumu, aşağıdaki parametrelere göre yarı nitel (semi-quantitative) şekilde değerlendirildi:

- Mononükleer hücre infiltrasyonu
- Fibrozis
- Nekroz

Bu değişiklikler; - (yok), + (az), ++ (orta) ve +++ (çok) olarak derecelendirildi (59).

3.4.5 TNF- α Ölçümü

Gruplardaki her ratın -20 °C'de saklanan serumları TNF- α ölçümünden bir saat önce çıkarılıp, TNF- α düzeyleri BioSource rat spesifik immunoassay kit (BioSource Europe S.A. Rue de l' Industrie, Belgium) ile ELISA yöntemi ile ölçüldü. Numuneler birer kere standartlar ikişer kere çalışıldı. Referans aralığı verilmedi. Grupların aritmetik ortalaması alındı.

3.5 İstatistiksel Analiz

Deney sonunda gruplara göre elde edilen mikrobiyolojik, histopatolojik veriler ve TNF α düzeylerini karşılaştırmak için tanımlayıcı istatistik, Mann Whitney U, Kruskal Wallis, Chi-Square testi kullanıldı. P<0.05 değerler anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS (SPSS 10.0 for Windows, Chicago, İL, USA) programında yapıldı.

4-BULGULAR

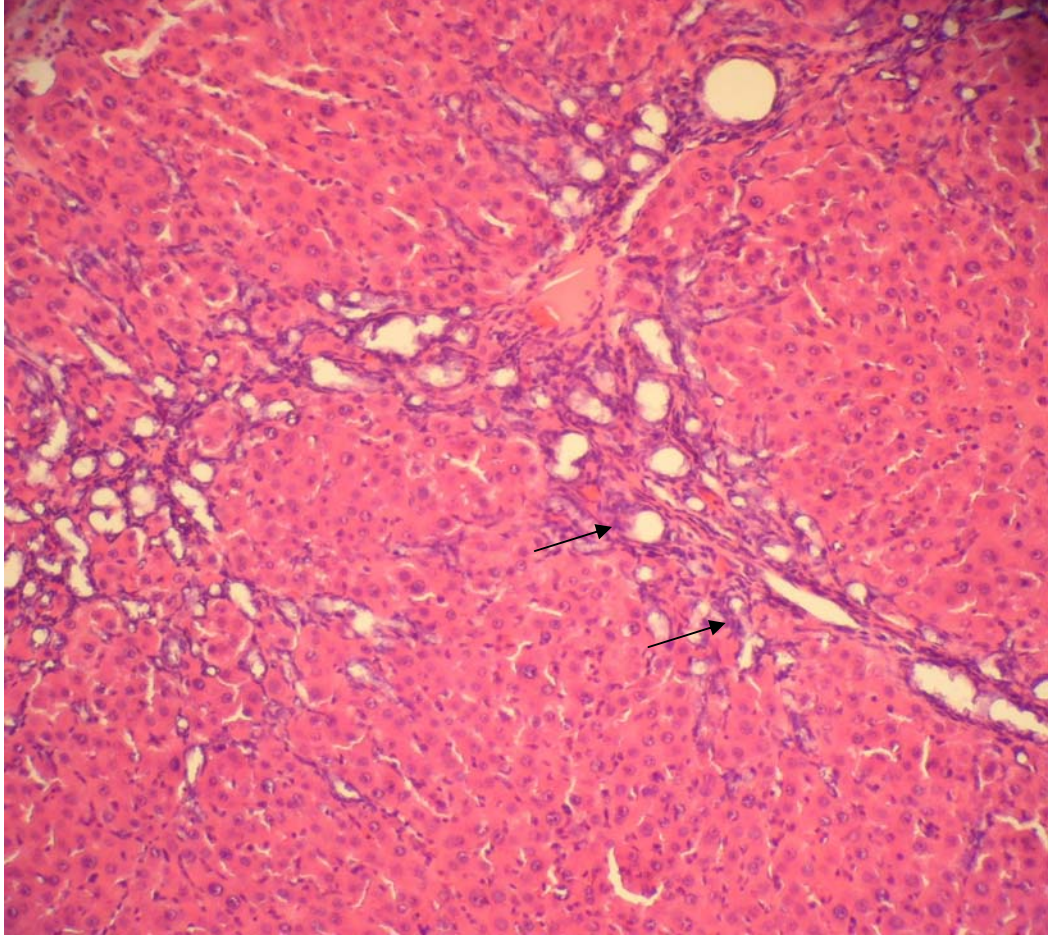
Birinci grupta 31., 33. ve 38. günlerde 3 rat , 2. grupta 35. günde 2 rat 37. günde 1 rat , 3.grupta 32. ve 37. günlerde 2 rat , 4.grupta 34. günde 1, 35. günde 2 rat ilaç verilmesini takiben öldü. Ölüm nedeninin aspirasyon olduğu düşünüldü.

Beşinci grupta göz enfeksiyonu sonucu sepsis olan bir rat 32. günde öldü. Altıncı grupta 30., 36., 37. ve 38. günlerde 4 rat, 8.grupta 29., 33. ve 38. günlerde 3 rat ilaç verilmesini takiben aspirasyona bağlı öldü.

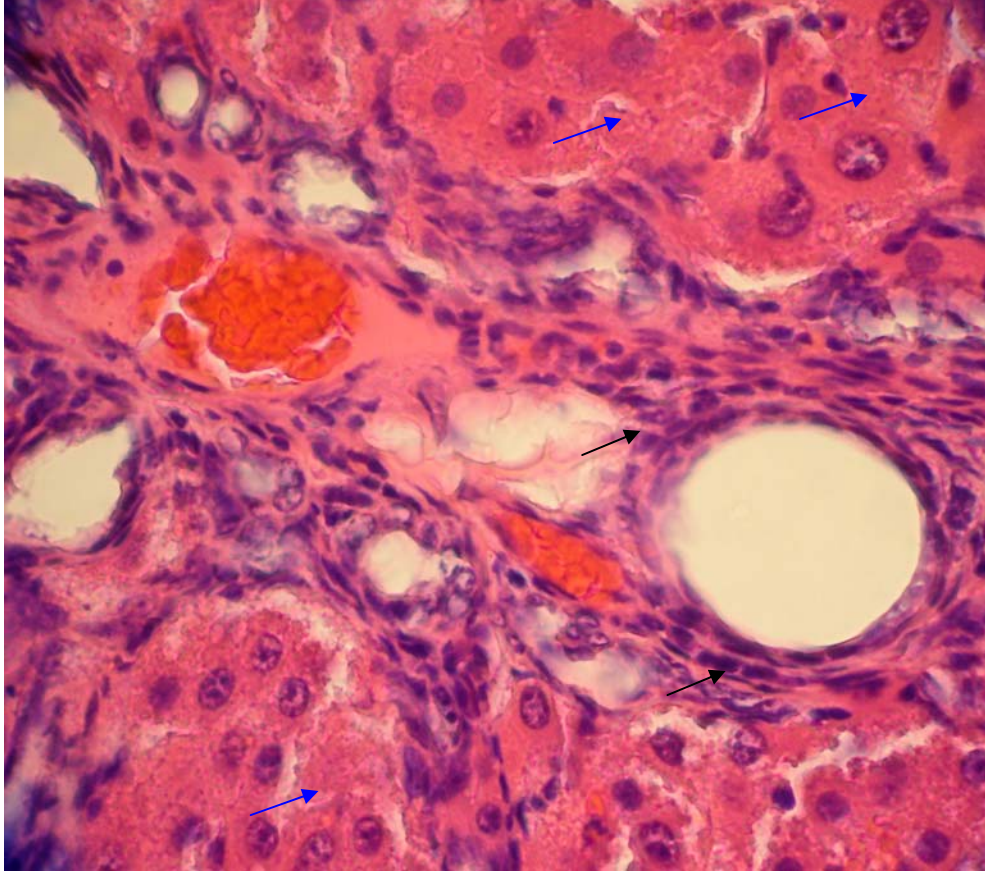
Sonuçta 1. grupta beş rat, 2. grupta altı rat, 3. grupta altı rat, 4. grupta beş rat, 5. grupta dokuz rat, 6. grupta altı rat, 7. grupta on rat, 8. grupta 7 rat olmak üzere toplam elli dört rat ile çalışma tamamlandı.

4.1-Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

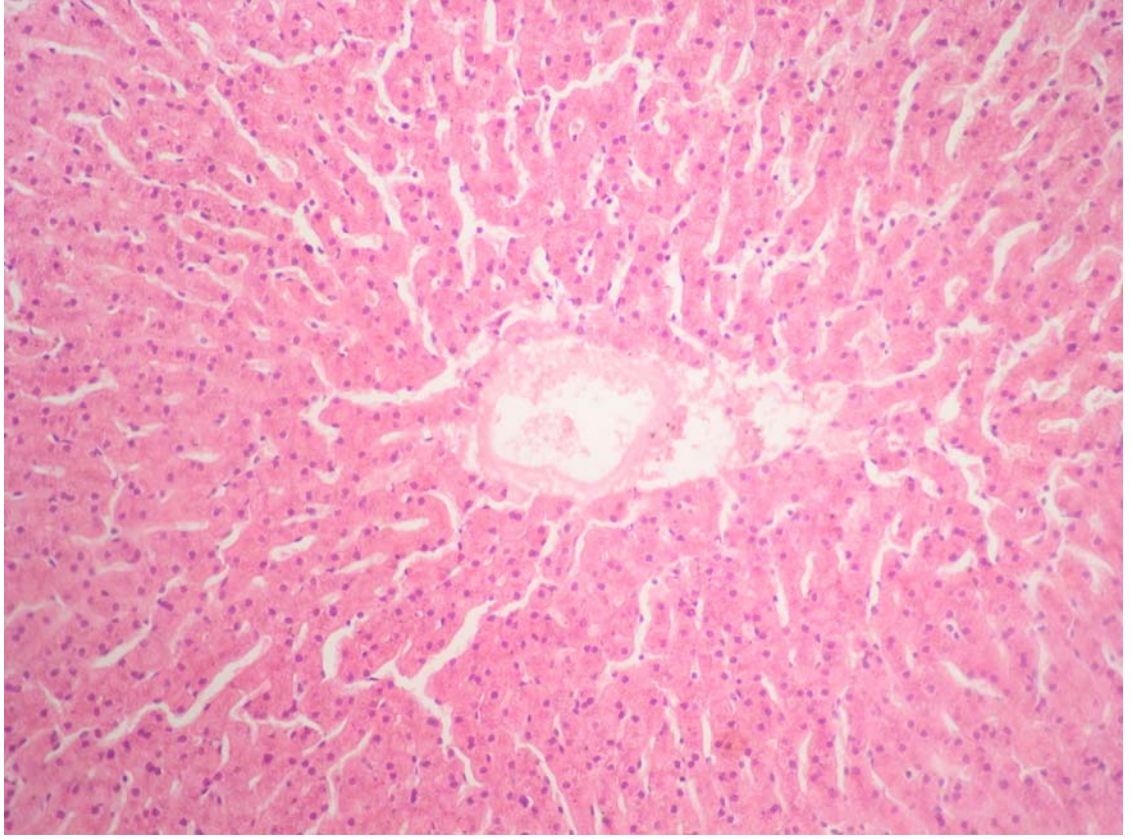
Gerek laparotomi ve gerekse koledok bağlanan gruplara ait karaciğer örnekleri ışık mikroskobu ile incelendi. Hepatositlere ve stromaya ait değişiklikler değerlendirildi. Fibrozis, mononükleer hücre (MNH) infiltrasyonu ve nekroz yönünden koledok bağlanan gruplar laparotomi grubu ile karşılaştırıldı. (Şekil 5,6,7,8) Fibrozis, MNH infiltrasyonu ve nekroz koledok bağlanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştı ($p<0.05$) (Tablo 2,3,4)



Şekil-5 Koledok bağlanan gruptan rastgele seçilmiş bir ratın karaciğer örneğinin histopatolojik incelemesinde mononükleer hücre infiltrasyonu (siyah oklar) (HE X 10)



Şekil-6 Koledok bağlanan gruptan rastgele seçilmiş bir ratın karaciğer örneğinin histopatolojik incelemesinde mononükleer hücre infiltrasyonu (siyah oklar) ve nekroz alanları (mavi oklar) (HE X 40)



Şekil-7 Sham grubunda karaciğer örneğinin histopatolojik incelemesinde normal karaciğer histolojisi (HE X 10)

Tablo-2 Koledok bağlanan ratlar ile sham grubunda histopatolojik değerlendirilmede karaciğerde fibrozis oranları

Fibrozis	Koledok bağlanan ratlar n (%)	Sham grubu n (%)
Yok (0)	0	16 (50)
Az(+)	5 (22.8)	14 (43.7)
Orta (++)	15 (68.2)	2 (6.3)
Çok(+++)	2 (9)	0
Toplam fibrozis	22 (100)*	16 (50)

* Fibrozis koledok bağlanan ratlarda anlamlı artmıştı (Eğimde ki kare $p<0,05$)

Tablo-3 Koledok bağlanan ratlar ile sham grubunda histopatolojik değerlendirilmede karaciğerde MNH infiltrasyonu

MNH infiltrasyonu	Koledok bağlanan ratlar n (%)	Sham grubu n (%)
Yok (0)	0	19 (59.4)
Az(+)	2 (9.1)	7 (21.8)
Orta (++)	9 (40.9)	6 (18.8)
Çok(+++)	11 (50)	0
Toplam MNH	22 (100)*	13 (40.6)

* MNH infiltrasyonu koledok bağlanan ratlarda anlamlı artmıştı (Eğimde ki kare $p<0,05$)

Tablo-4 Koledok bağlanan ratlar ile sham grubunda histopatolojik değerlendirilmede karaciğerde nekroz

Nekroz	Koledok bağlanan ratlar	Sham grubu
	n (%)	n (%)
Yok (0)	1 (4.5)	16 (50)
Az(+)	5 (22.75)	8 (25)
Orta (++)	11 (50)	8 (25)
Çok(+++)	5 (22.75)	0
Toplam nekroz	21 (95)*	16 (50)

* Nekroz koledok bağlanan ratlarda anlamlı artmıştı (Eğimde ki kare $p<0,05$)

4.2 Mikrobiyolojik Sonuçlar

4.2.1 Karaciğerde Üreme

Karaciğer doku kültürlerinde üreme değerlendirildiğinde koledok bağlanan 22 ratın 13 ünde (% 59.1), laparotomi yapılan 32 ratın 3 ünde (% 9.4) üreme oldu. Koledok bağlanan ratlarda KC de üreme laparotomi yapılan ratlardan istatistiksel olarak fazlaydı ($p<0.005$). Karaciğerde üreyen bakteriler *S. aureus*, *E.Coli*, *Klebsiella Oxytaca* (*K. Oxytaca*) ve enterokoktu. Karaciğerde en çok üreyen bakteri gram (+) ve *S. aureus* olup üreme oranı (% 20.4) diğer bakterilerin üreme oranlarından istatistiksel olarak fazlaydı ($p= 0.001$).

Her bir grupta üreme oranları, bakteri türleri ve koloni sayıları aşağıdaki gibiydi:

Birinci gruptaki 5 ratın hepsinde (% 100) KC de üreme oldu, üreyen bakteri türleri *S. aureus* ve *E. coli*'ydi. Beş ratın üçünde *S. aureus* (% 60), ikisinde *E. coli* (% 40) üredi. *S.aureus* koloni sayıları 30, 10, 10, *E. coli*'nin koloni sayıları 20 ve 8 di. Bu grupta KC de üreyen bakterilerin % 60 ı gram (+) ve hepsi *S.aureus*' tu.

İkinci gruptaki 6 ratın dördünde (% 66.7) KC de üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S. aureus* olup koloni sayıları 150, 4, 10 ve 4 tü. Bu grupta KC de üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Üçüncü gruptaki 6 ratın birinde (% 16.7) KC de üreme oldu ve üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus*'tu. *S.aureus* koloni sayısı ikiye. Bu grupta KC de üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Dördüncü gruptaki 5 ratın üçünde (% 60) KC de üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S.aureus* ve Enterokok'tu. Beş ratın ikisinde *S.aureus* (%40), birinde Enterokok (%20) üredi. *S.aureus* koloni sayıları 1 ve 5, Enterokok koloni sayısı 150 idi. Bu grupta KC de üreyen bakterilerin %40 ı gram (+), %20 si gram (-) ti.

Beşinci grupta KC de üreme olmadı.

Altıncı gruptaki 6 ratın ikisinde (%33.3) üreme oldu ve üreyen bakteri gram (-) olup *E.coli* ve *K. oxytaca*'ydı. Altı ratın birinde *E.coli* (% 16.7), birinde *K.oxytaca* (% 16.7) üredi. *E.coli* koloni sayısı 120, *K. oxytaca* koloni sayısı 300 dü. Bu grupta KC de gram (-) bakteri üreme oranı % 33.3 olup gram (+) üreme olmadı.

Yedinci grupta KC de üreme olmadı.

Sekizinci gruptaki 7 ratın birinde (%14.3) KC de üreme oldu ve üreyen bakteri türü *S.aureus*' tu (% 16. 7). *S.aureus* koloni sayısı 1 di. Bu grupta gram (+) bakteri üreme oranı %14.3 olup gram (-) üreme olmadı.

Gruplar arasında KC deki bakteri üreme oranları karşılaştırıldığında koledok bağlanıp pentoksifilin verilen grup 3 te KC de bakteri üremesi tedavi verilmeyen 1. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha azdı (p= 0.015). Diğer gruplar arasında KC de bakteri üremesi açısından anlamlı fark saptanmadı (p>0.05) (Tablo 6). Karaciğerde üreyen bakteri türleri yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 2 de *S.aureus* üreme oranı grup 6 dan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazlaydı (p= 0.038). Diğer gruplar arasında KC de üreyen bakteri türü ve üreyen bakterinin gram boyaması açısından anlamlı fark saptanmadı (p> 0.05). Sekiz grubun karaciğerde üreme oranları, üreyen bakteri türleri ve gram boyanma özellikleri Tablo 5 de toplu olarak gösterildi.

Tablo-5: KC de Üreme Oranları, Üreyen Bakteri Türleri ve Gram Boyanma

Grup	Üreme	S.Aureus	E.Coli	K. Oxytaca	Enterokok	Gr(+)	Gr(-)
Grup I	%100	%60	%40	0	0	%60	%40
Grup II	%66.7	%66.7	0	0	0	%66.7	0
Grup III	%16.7♦	%16.7	0	0	0	%16.7	0
Grup IV	%60	%40	0	0	%20	%40	%20
Grup V	0	0	0	0	0	0	0
Grup VI	%33.3	0	%16.7	%16.7	0	0	%33.3
Grup VII	0	0	0	0	0	0	0
Grup VIII	%14.3	%14.3	0	0	0	%14.3	0

♦Grup III te KC de bakteri üremesi Grup I e göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azdı (Mann-Whitney U p=0.015).

KC de üreyen bakterilerin koloni sayıları yönünden gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p= 0.205) (Tablo 6).

Tablo-6: KC de Üreyen Bakterilerin Koloni Sayıları

Grup	Bakteri Koloni Sayıları			
	S.aureus	E.coli	K.oxytaca	Enterokok
Grup I	30, 10, 10	20, 8		
Grup II	150, 10, 4			
Grup III	2			
Grup IV	1, 5			150
Grup V				
Grup VI		120	300	
Grup VII				
Grup VIII	1			

Gruplar arasında KC de üreyen bakterilerin koloni sayıları açısından anlamlı fark saptanmadı (Mann-Whitney U p= 0.205).

4.2.2 Peritonda Üreme

Periton doku kültürlerinde üreme değerlendirildiğinde koledok bağlanan 22 ratın 10 unda (% 45.5) laparotomi yapılan 32 ratın 5 inde (% 15.6) peritonda üreme oldu. Koledok bağlanan ratlarda peritonda üreme laparotomi yapılan ratlardan istatistiksel olarak fazlaydı ($p=0.017$). Peritonda üreyen bakteriler *S. aureus*, *E.Coli*, *K. Oxytaca*' ydı. Peritonda en çok üreyen bakteri gram (+) ve *S. aureus* ' tu. Üreme oranı % 24.1 olup diğer bakterilerin üreme oranlarından istatistiksel olarak fazlaydı ($p= 0.001$).

Her bir grupta bakteri üreme oranları, bakteri türü ve koloni sayıları aşağıdaki gibiydi:

Birinci gruptaki 5 ratın hepsinde (% 100) peritonda üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S.aureus* ve *E.coli*' ydi. Beş ratın 3 ünde *S.aureus* (% 60), 2 sinde *E.coli* (%40) üredi. *S.aureus* koloni sayıları 100, 40 ve 10, *E.coli* koloni sayıları 20 ve 3 tü. Bu grupta peritonda üreyen bakterilerin % 60 ı gram (+), % 40 ı gram (-) ti.

İkinci gruptaki 6 ratın 4 ünde (% 66.7) peritonda üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S.aureus* ve *E.coli*' ydi. Altı ratın 3 ünde *S.aureus* (% 50), 1 inde *E.coli* (% 16.7) üredi. *S.aureus* koloni sayıları 300, 1 ve 70, *E.coli* koloni sayısı 4 tü. Bu grupta peritonda üreyen bakterilerin % 50 si gram (+), % 16.7 si gram (-) ti.

Üçüncü gruptaki 6 ratın 2 sinde (% 33.3) peritonda üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus* (% 33.3) tu. *S.aureus* koloni sayıları 20 ve 6 ydı. Bu grupta gram (+) bakteri üreme oranı % 33.3 tü, gram (-) üreme olmadı.

Dördüncü gruptaki 5 ratın 2 sinde (% 40) peritonda üreme oldu, üreyen bakteri gram(+) ve *S.aureus* (% 40) tu. *S.aureus* koloni sayıları 22 ve 300 dü. Bu grupta gram (+) bakteri üreme oranı % 40 tı, gram (-) üreme olmadı.

Beşinci gruptaki 9 ratın 2 sinde (% 22.2) peritonda üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus* (% 22.2) tu. *S.aureus* koloni sayıları 6 ve 1 di. Bu grupta gram (+) bakteri üreme oranı % 22.2 idi, gram (-) üreme olmadı.

Altıncı gruptaki 6 ratın 1 inde (% 16.7) peritonda üreme oldu, üreyen bakteri gram(-) ve *K. oxytaca* (% 16.7) idi. *K. oxytaca* koloni sayısı 6 ydı. Bu grupta gram (-) bakteri üreme oranı % 16.7 idi, gram (+) üreme olmadı.

Yedinci gruptaki 10 ratın 1 inde (% 10) peritonda üreme oldu, üreyen bakteri gram (-) ve *E.coli* (% 10) idi. *E.coli* koloni sayısı 2 ydı. Bu grupta gram (-) bakteri üreme oranı % 10 du, gram (+) üreme olmadı.

Sekizinci gruptaki 7 ratın 1 inde (% 14.3) peritonda üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus* (% 14.3) tu. *S.aureus* koloni sayısı 2 ydı. Bu grupta gram (+) bakteri üreme oranı % 14.3 tü, gram (-) üreme olmadı.

Gruplar arasında peritondaki bakteri üreme oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da grup 3 te üreme oranı grup 1 den istatistiksel olarak anlamlı orana yakın değerde daha az bulundu (p=0.061). Peritonda üreyen bakteri türü ve gram boyaması yönünden gruplar karşılaştırıldıklarında anlamlı fark bulunmadı (p>0.05). Sekiz grubun peritonda üreme oranları, üreyen bakteri türü ve gram boyanma özellikleri tablo 7 de toplu olarak gösterildi.

Tablo-7: Peritonda Üreme Oranları, Üreyen Bakteri Türleri ve Gram Boyanma

Grup	Üreme	S.Aureus	E.Coli	K. Oxytaca	Enterokok	Gr(+)	Gr(-)
Grup I	%100	%60	%40	0	0	%60	%40
Grup II	%66.7	%50	%16.7	0	0	%50	%16.7
Grup III	%33.3♦	%33.3	0	0	0	%33.3	0
Grup IV	%40	%40	0	0	0	%40	0
Grup V	%22.2	%22.2	0	0	0	%22.2	0
Grup VI	%16.7	0	0	%16.7	0	0	%16.7
Grup VII	%10	0	%10	0	0	0	%10
Grup VIII	%14.3	%14.3	0	0	0	%14.3	0

♦Grup III de peritonda bakteri üreme oranı grup I den istatistiksel anlamlılığa yakın oranda az bulundu (Mann-Whitney U p=0.061)

Gruplar peritonda üreyen bakterilerin koloni sayıları açısından karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0.411) (Tablo 8).

Tablo-8: Peritonda Üreyen Bakterilerin Koloni Sayıları

Grup	Bakteri Koloni Sayıları			
	S.aureus	E.coli	K.oxytaca	Enterokok
Grup I	100, 40, 10	20, 3		
Grup II	300, 1, 70	4		
Grup III	20, 6			
Grup IV	22, 300			
Grup V	6, 1			
Grup VI			6	
Grup VII		2		
Grup VIII	2			

Gruplar arasında peritonda üreyen bakterilerin koloni sayıları açısından fark yoktu (Mann-Whitney U p=0.411).

4.2.3 MLN da Üreme

MLN nda koledok bağlanan 22 ratın 13 ünde (% 59.1), laparotomi yapılan 32 ratın 8 inde (% 25) üreme oldu. Koledok bağlanan ratlarda MLN nda üreme laparotomi yapılan ratlardan istatistiksel olarak fazlaydı (p=0.012). MLN nda üreyen bakteriler *S. aureus*, *E.Coli* ve *K. Oxytaca*' ydı. MLN nda en çok üreyen bakteri gram (+) ve *S. aureus* olup üreme oranı (% 25.9) diğer bakterilerin üreme oranlarından istatistiksel olarak fazlaydı (p=0.004). Her bir grupta üreme oranları, bakteri türleri ve koloni sayıları aşağıdaki gibiydi:

Birinci gruptaki 5 ratın hepsinde (% 100) MLN nda üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S. aureus* ve *E.coli* 'ydi. Beş ratın 3 ünde *S.aureus* (% 60), 2 sinde *E.coli* (% 40) üredi. *S.aureus* koloni sayıları 300, 100 ve 200 koloni, *E.coli* koloni sayıları 100 ve 10 du. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin % 60 ı gram (+), % 40 ı gram (-) ti.

İkinci gruptaki 6 ratın beşinde (% 83.3) MLN nda üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S.aureus* ve *E.coli* 'ydi. Altı ratın dördünde *S.aureus* (% 66.7), birinde *E.coli* (% 16.7) üredi. *S.aureus* koloni sayısı 150, 9, 1 ve 100, *E.coli* koloni sayısı 1 di. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin % 66.7 ı gram (+), % 16.7 si gram (-) ti.

Üçüncü gruptaki 6 ratın ikisinde (% 33.3) MLN nda üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus* (% 33.3) olup koloni sayıları 2, 1 di. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Dördüncü gruptaki 5 ratın birinde (%20) MLN nda üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus* (% 20) olup koloni sayısı 60 koloniydi. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Beşinci gruptaki 9 ratın üçünde (% 33.3) MLN nda üreme oldu, üreyen bakteri gram (+) ve *S.aureus* (% 33.3) olup koloni sayıları 25, 11 ve 2 ydi. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Altıncı gruptaki 6 ratın ikisinde (% 33.3) MLN nda üreme oldu, üreyen bakteri gram (-) ve *K. oxytaca* (% 33.3) olup koloni sayısı 5 ve 200 dü. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin hepsi gram (-) olup gram (+) üreme olmadı.

Yedinci gruptaki 10 ratın birinde (% 10) MLN nda üreme oldu, üreyen bakteri gram (-) ve *E.coli* (% 10) olup koloni sayısı 23 tü. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin hepsi gram (-) olup gram (+) üreme olmadı.

Sekizinci gruptaki 7 ratın ikisinde (% 28.6) MLN nda üreme oldu, üreyen bakteri türleri *S.aureus* ve *E.coli* 'ydi. 7 ratın birinde *S.aureus* (% 14.3), birinde *E.coli* (%14.3) üredi. *S.aureus* koloni sayısı 4, *E.coli* koloni sayısı 12 ydi. Bu grupta MLN nda üreyen bakterilerin % 14.3 ü gram (+), %14.3 ü gram (-) ti

Gruplar arasında MLN ndaki bakteri üreme oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da grup 3 te üreme oranı grup 1 den istatistiksel olarak anlamlı orana yakın değerde daha az bulundu (p=0.061). Mezenterik lenf nodlarında üreyen bakteri türleri yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 1 de ve grup 2 de *S.aureus* üreme oranı grup 6 dan istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazlaydı (p=0.034 ve p=0.024) MLN da üreyen bakterilerin gram boyanma

özellikleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) Sekiz grubun MLN nda üreme oranları, üreyen bakteri türü ve gram boyanma özellikleri tablo 9 da toplu olarak gösterildi.

Tablo-9: MLN da Üreme Oranları, Üreyen Bakteri Türleri ve Gram Boyanma

Grup	Üreme	S.Aureus	E.Coli	K. Oxytaca	Enterokok	Gr(+)	Gr(-)
Grup I	%100	%60	%40	0	0	%60	%40
Grup II	%83.3	%66.7	%16.7	0	0	%66.7	%16.7
Grup III	%33.3♦	%33.3	0	0	0	%33.3	0
Grup IV	%20*	%20	0	0	0	%20	0
Grup V	%33.3	%33.3	0	0	0	%33.3	0
Grup VI	%33.3	0	0	%33.3	0	0	%33.3
Grup VII	%10	0	%10	0	0	0	%10
Grup VIII	%28.6	%14.3	%14.3	0	0	%14.3	%14.3

♦Grup III te MLN nda üreme grup I den istatistiksel anlamlılığa yakın oranda az bulundu (Mann-Whitney U $p=0.061$). *Grup IV de MLN nda üreme grup I e göre istatistiksel anlamlı azdı (Mann-Whitney U $p=0.048$).

Mezenterik lenf nodlarında üreyen bakterilerin koloni sayıları yönünden gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0.303) (Tablo 10).

Tablo-10: MLN nda Üreyen Bakterilerin Koloni Sayıları

Grup	Bakteri Koloni Sayıları			
	S.aureus	E.coli	K.oxytaca	Enterokok
Grup I	300, 100, 200	100, 10		
Grup II	150, 9, 100, 1	1		
Grup III	2, 1			
Grup IV	60			
Grup V	25, 11, 2			
Grup VI			5, 200	
Grup VII		23		
Grup VIII	4	12		

Gruplar arasında MLN nda üreyen bakterilerin koloni sayıları açısından fark saptanmadı (Mann-Whitney U p=0.303)

4.2.4 Kanda Üreme

Kan kültürlerinde koledok bağlanan 22 ratın 13 ünde (% 59.1), laparotomi yapılan 32 ratın 5 inde (% 15.6) üreme oldu. Koledok bağlanan ratlarda kanda üreme laparotomi yapılan ratlardan istatistiksel olarak fazlaydı (p=0.001). Kanda üreyen bakteriler *S. aureus*, *E.Coli* ve enterokoktu. Kanda en çok üreyen bakteri gram (+) ve *S. aureus* olup üreme oranı (%24.1), diğer bakterilerin üreme oranlarından istatistiksel olarak fazlaydı (p= 0.011).

Her bir grupta üreme oranları, bakteri türleri ve koloni sayıları aşağıdaki gibiydi:

Birinci gruptaki 5 ratın hepsinde (% 100) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S. aureus* ve *E.coli* 'ydi. Beş ratın üçünde *S.aureus* (% 60), 2

sinde *E.coli* (% 40) üredi. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin % 60 ı gram (+), % 40 ı gram (-) ti.

İkinci gruptaki 6 ratın üçünde (% 50) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri gram (+) olup *S.aureus* (% 50) tu. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı..

Üçüncü gruptaki 6 ratın birinde (% 16.7) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri gram (+) olup *S.aureus* (% 16.7) tu. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Dördüncü gruptaki 5 ratın dördünde (% 80) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri türleri *S.aureus*, *E.coli* ve Enterokok 'tu. 5 ratın ikisinde *S.aureus* (% 40), birinde *E.coli* (% 20), birinde Enterokok (% 20) üredi. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin % 40 ı gram (+), % 40 ı gram (-) ti.

Beşinci gruptaki 9 ratın üçünde (% 33.3) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri gram (+) olup *S.aureus* (% 33.3) tu. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Altıncı gruptaki 6 ratın birinde (% 16.7) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri gram (-) olup *E.coli* (% 16.7) idi. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin hepsi gram (-) olup gram (+) üreme olmadı.

Yedinci gruptaki 10 ratın birinde (% 10) kanda üreme oldu ve üreyen bakteri gram (+) olup *S.aureus* (% 10) tu. Bu grupta kanda üreyen bakterilerin hepsi gram (+) olup gram (-) üreme olmadı.

Sekizinci grupta kanda üreme olmadı.

Gruplar arasında kandaki bakteri üreme oranları karşılaştırıldığında koledok bağlanıp pentoksifilin verilen grup 3 te kanda bakteri üremesi tedavi verilmeyen 1. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha azdı ($p= 0.015$). Diğer gruplar arasında kanda bakteri üremesi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) Kanda üreyen bakteri türü ve gram boyanma özellikleri yönünden gruplar karşılaştırıldıklarında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Sekiz grubun kanda üreme oranları, üreyen bakteri türü ve gram boyanma özellikleri tablo 11 de toplu olarak gösterildi.

Tablo-11: Kanda Üreme Oranları, Üreyen Bakteri Türleri ve Gram Boyanma

Grup	Üreme	S.Aureus	E.Coli	K. Oxytaca	Enterokok	Gr(+)	Gr(-)
Grup I	%100	%60	%40	0	0	%60	%40
Grup II	%50	%50	0	0	0	%50	0
Grup III	%16.7♦	%16.7	0	0	0	%16.7	0
Grup IV	%80	%40	%20	0	%20	%40	%40
Grup V	%33.3	%33.3	0	0	0	%33.3	0
Grup VI	%16.7	0	%16.7	0	0	0	%16.7
Grup VII	%10	%10	0	0	0	%10	0
Grup VIII	0	0	0	0	0	0	0

♦Grup III te kanda bakteri üremesi Grup I e göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azdı (Mann-Whitney U p= 0.015).

4.2.5 Tüm Üremeler

Tüm üremeler değerlendirildiğinde koledok bağlanan 22 ratın 17 sinde (% 77) laparotomi yapılan 32 ratın 13 ünde (% 40.6) herhangi bir bölgede üreme oldu. Koledok bağlanan ratlarda herhangi bir bölgede üreme oranı laparotomi yapılan ratlardan istatistiksel olarak fazlaydı (p=0.008).

Birinci grupta 5 ratın hepsinde (% 100), 2.grupta 6 ratın 5 inde (% 83.3), 3. grupta 6 ratın 2 sinde (% 33.3), 4. grupta 5 ratın hepsinde (% 100), 5. grupta 9 ratın 5 inde (% 55.6), 6. grupta 6 ratın 4 ünde (% 66.7),

7. grupta 10 ratın 2 sinde (% 20), 8. grupta 7 ratın 2 sinde (% 28.6) herhangi bir bölgede üreme oldu.

Gruplar arasında herhangi bir bölgedeki bakteri üreme oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmasa da grup 3 te üreme oranı grup 1 den istatistiksel olarak anlamlı orana yakın değerinde daha az bulundu (Mann-Whitney U p=0.061)

4.3 Serum TNF- α Düzeyleri

Serum TNF- α düzeyi; 1. grupta 77.27 ± 86.30 pg/ml, 2. grupta 460 ± 768.56 pg/ml , 3. grupta 70.97 ± 88.48 pg/ml , 4. grupta 176.844 ± 223.62 pg/ml, 5. grupta 202.98 ± 386.09 pg/ml , 6. grupta 70.77 ± 118.48 pg/ml, 7. grupta 114.8 ± 194.63 pg/ml, 8. grupta 149.6 ± 222.98 pg/ml idi (Tablo 12). TNF- α düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p= 0.539).

Tablo-12: Grupların serum TNF- α düzeyleri

Gruplar	TNF- α düzeyi (pg/ml)
Grup I	77.27 ± 86.30
Grup II	460 ± 768.56
Grup III	70.97 ± 88.48
Grup IV	176.844 ± 223.62
Grup V	202.98 ± 386.09
Grup VI	70.77 ± 118.48
Grup VII	114.8 ± 194.63
Grup VIII	149.6 ± 222.98

TNF- α düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Kruskal Wallis p= 0.539)

Serum TNF- α düzeyleri ile bakteriyel translokasyon arasındaki ilişki araştırıldı. Karaciğer, periton, MLN ve kanda üreme olan ve olmayan ratlarda serum TNF- α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (Sırasıyla p=0.306, p=0.776, p=0.87, p= 0.452) (Tablo 13)

Tablo-13: Karaciğer, periton, MLN ve kanda üreme olan ve olmayan ratlarda serum TNF- α düzeyleri

Bölge	Üreme olan ratlarda serum TNF- α düzeyi (pg/ml)	Üreme olmayan ratlarda serum TNF- α düzeyi (pg/ml)	p*
KC	218. 47 \pm 487. 81	142. 42 \pm 241. 67	0.306
Periton	166. 39 \pm 462. 55	164. 24 \pm 248. 33	0.776
MLN	156. 11 \pm 428. 40	170.58 \pm 257. 53	0.870
Kan	193. 36 \pm 469. 29	150. 75 \pm 240. 82	0.452

p* Mann-Whitney U

5-TARTIŞMA

Bakteriyel translokasyon canlı bakterinin, barsak lümeninden barsak dışı sahalara, esas olarak MLN a geçmesidir. Asiti olan sirozlu hastalarda canlı bakteri nötrofil ve makrofajlar içerisinde barsak duvarından geçer, MLN nda kolonize olduktan sonra kana ve oradan da asite geçer (60). Sirozda mukozal bariyerdeki hasarlanma, intestinal permeabilite artışı, aşırı bakteri çoğalması, lokal ve sistemik immün defektler BT a yol açar (18). Bakteriyel translokasyon spontan bakteriyel peritonit, hiperdinamik sirkulasyon ve bunların neden olduğu hepatopulmoner sendrom, hepatorenal sendrom gibi ölümcül komplikasyonlara yol açar.

Bakteriyel translokasyon deney hayvanlarında genel olarak translokasyon görülen KC, barsak, MLN gibi dokuların kültürleri yapılarak saptanır (33). Ancak bu yöntem hastalarda translokasyonu saptamak için uygun değildir. Günlük pratikte hastalarda BT doku kültürleri ile değerlendirilemez. Hastalarda daha çok BT un yol açtığı komplikasyonların sonuçları kan kültürleri, periton sıvısı kültürleri ile değerlendirilir. Bu sebeple çalışmamızda BT değerlendirilmesi için deneysel siroz modeli tercih edilmiştir.

Çalışmada deneysel siroz koledok bağlama ile oluşturuldu. Kırk ratın beşte biri bu aşamada öldü. Geriye kalan 33 rattan 11 i deneyin 2. aşamasında çoğu aspirasyona bağlı kaybedildi. Bunun sonucu çalışma özellikle siroz grubunda planlanan sayının yarısı kadar sayıda ratla tamamlanabildi ve bu durum da yani özellikle siroz gruplarındaki rat sayılarının az olması çalışmamızda sonuçları etkileyebilecek eksiklik olarak ortaya çıktı. Literatürde deneysel siroz modelleri ratlarda ya koledok ligasyonu ile tıkanma ikteri oluşturularak ya da karbontetraklorür (CCl₄) verilerek oluşturulmaktadır (57). Karbontetraklorür verilmesi ile siroz oluşturulurken haftada 2 kez subkutan 8 hafta boyunca CCl₄ enjeksiyonu gerekmektedir. Koledok bağlanarak siroz oluşturulması ise ratlar anestezi altında opere edilip koledokları bağlandıktan 28 gün sonra meydana gelmektedir. Bu yöntemle ratlar bir operasyon geçirseler de 4 hafta gibi kısa sürede siroz oluşmaktadır. Oysa CCl₄ verilmesinde ise 8-12 hafta gibi uzun bir süre gereklidir ve BT değerlendirilecek çalışmalar için haftada 2 kez subkutan enjeksiyon ek bir enfeksiyon kaynağı olabilir. Bu nedenle çalışmamızda deneysel siroz modeli olarak koledok bağlanması seçilmiştir. Deneysel çalışmalarda ilaçlar enteral olarak beslenme tüpü ile veya deneklerin yiyecek ve içeceklerine karıştırılarak;

parenteral olarak da sıklıkla periton içine enjekte edilerek verilmektedir. İlaçların beslenme tüpü ile verilmesi aspirasyona; yiyecek ve içeceklere karıştırılarak verilmesi istenilen miktarda ilacın verilememesine, parenteral uygulama da ek enfeksiyona neden olmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız ilaçlardan biri olan laktuloz gibi ilaçlar ise sadece enteral yoldan verildiğinde etkili olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda ilaçlar beslenme tüpü ile enteral yoldan verilmiştir.

Deneyssel sirozda BT oranı %45-75 arasında bildirilmektedir (62). Çalışmamızda siroz grubu ratlarda herhangi bir bölgede üreme dikkate alındığında BT oranı %77 olarak literatürde bildirilen değerlere benzer saptandı.

Sirozda BT un önlenmesi, bakteriyel aşırı çoğalmanın ve mezenter geçirgenliğin önlenmesi temellerine dayanır. Barsakta bakteriyel aşırı çoğalmanın engellenmesi, antibiyotikler ile barsak dekontaminasyonu ve mekanik etkili ilaçlarla intestinal transitin hızlandırılmasıyla olur. Mezenter geçirgenliğin engellemesi ise ilgili sitokinlerin inhibisyonu ile mümkündür. Enterosit oksidatif hasarını indükleyen ksantin oksidazın allopurinol ile inhibisyonu sayesinde BT un azaltıldığı gösterilmiştir (55). TNF- α salınımının pentoksifilin ile suprese edilmesiyle de mezenter geçirgenlik önlenmektedir (3).

Çalışmamızda pentoksifilin deneyssel siroz modelinde BT u azalttığı görüldü. Pentoksifilin nonspesifik fosfodiesteraz inhibitörüdür. Makrofajlardan TNF- α salınımını suprese ederek NO inhibisyonu ile mezenter geçirgenliği önlemektedir (3). Parenteral nutrisyonun indüklediği deneyssel BT modelinde pentoksifilin BT u azalttığı gösterilmiş, serum TNF- α değerleri de beraberinde pentoksifilin verilen gruplarda düşük bulunmuştur (63). Hemorajik şok tedavisinde hipertonic salin ve pentoksifilin daha önce gösterilmiş yararlı etkilerine dayanarak Lanqui ve ark. tarafından yapılan çalışmada, hemorajik şoktan sonra oluşan bakteriyel translokasyon ve akciğer hasarı incelenmiştir. Ratlar pentoksifilin, hipertonic salin solüsyonu ve ringer laktat verilerek tedavi edilmiştir. Bakteriyel translokasyonun hem pentoksifilin hem de hipertonic salin ile azaldığı gösterilmiştir. Hipertonic salin ve pentoksifilin ile tedavi edilen gruplarda akciğerlerde nötrofil infiltrasyonu ringer laktat verilenlere göre daha az bulunmuştur (4). Koçdor ve ark. ise deneyssel intestinal obstruksiyonda bakteriyel translokasyonun herhangi bir tedavi yapılmadığında MLN nda ilk 12 saatte %100, KC de %80, kanda %70 iken,

pentoksifilin 12 saat içinde bir kere enjekte edildiğinde MLN nda %20, KC de %0, kanda %0 bulmuşlardır. Hiçbir tedavi uygulanmadığında ilk 24 saat içinde MLN nda BT oranı % 90, KC de %70, kanda %80 iken, bir kere pentoksifilin enjekte edilen grupta MLN nda BT oranı %90, KC de %60, kanda %70; ilk 24 saat içinde 12 saat arayla ikinci pentoksifilin enjeksiyonu yapılan grupta MLN nda BT %40, KC de % 10, kanda %0 olarak saptanmıştır. Yazarlar pentoksifilin bir kere enjekte edildiğinde erken dönemde, iki kere enjekte edildiğinde 24 saat içinde de BT u azaltmış olmasını dolaşımda kalış süresi ile ilişkilendirmişlerdir (5). Çalışmamızda pentoksifilin verilen grupta BT, MLN nda ve peritonda anlamlıya yakın, karaciğer ve kanda anlamlı olarak azaldı. Koçdor ve ark. bizim sonuçlarımıza benzer şekilde BT u pentoksifilin uygulanan grupta MLN ndan sonraki bölgelerde daha az saptamışlardır. Bu bulgu pentoksifilin MLN ndan sonraki aşamada sistemik etki ile BT u azalttığını göstermektedir.

Çalışmamızda laktuloz ile beraber pentoksifilin verilen grupta BT; MLN nda azalmış, periton, KC ve kanda ise azalmamış olarak bulundu. Tek başına laktuloz verilen grupta hiçbir odakta BT un azalmaması; pentoksifilin grubunda ise MLN ndan sonraki aşamada BT un azalması kombine grupta BT un azalmasının hangi ilaç etkisiyle olduğunu açıklamakta zorluk yaratmaktadır. Tek başına pentoksifilin verilen grupta MLN nda BT da anlamlıya yakın azalma olması bu etkinin pentoksifiline bağlı olabileceğini düşündürse de, MLN ndan sonraki aşamada BT un azalmaması bunu desteklememektedir. Belki de her iki ilacın sinerjik etkisi ile mezenter geçirgenlikte ve barsak içi bakteri yoğunluğunda azalma sonucu MLN nda BT azalmakta, ancak pentoksifilin barsaktan absorpsiyonunun laktuloz tarafından kısmen engellenmesi ile azalan etkili ilaç düzeyi MLN ndan sonraki aşamada BT u azaltmaya yetmemektedir.

Siroz ve portal hipertansiyonda özellikle splanknik alanda meydana gelen periferik arteriyel vazodilatasyon sonucu hiperdinamik sirkülasyon görülür. Hiperdinamik sirkülasyon ve genel vazodilatasyon; mezenterlerde vazodilatasyon sonucu mezenter geçirgenliği artırarak BT a, pulmoner vazodilatasyon sonucu hepatopulmoner sendroma yol açar. Hiperdinamik sirkülasyonda TNF- α aracılıklı NO aşırı üretimi Sieber ve ark. tarafından gösterilmiştir (64). Lee ve ark. portal hipertansif ratlarda vazokonstriktör metoksamine karşı saptanan vasküler yanıtızlık

patogenezinde NO in rol oynadığını bildirmişlerdir (65). Rabiller ve ark. sirotik ratlarda norfloksasin kullanarak gram negatif bakterilerin translokasyonunu azalttıkları çalışmada pulmoner damarlara makrofaj sekestrasyonun azaldığını, akciğer endotelial NO sentetaz salınımı ve aktivitesinin azaldığını ve hepatopulmoner sendrom şiddetinde azalma olduğunu göstermişlerdir (62). Nitrik oksit sirozda görülen arteriyel vazodilatasyon ve ilişkili olarak vasokonstriktörlere vasküler yanıtızlıkta rol alır. Bakteriyel translokasyonlu sirotik ratlarda hem MLN hem de serumda TNF- α düzeyleri artmış bulunmuştur. Weist ve ark. bu artışın TNF- α ile uyarılan bir kofaktör olan tetrahidrobiopterin artışı ile paralel olduğu göstermişlerdir (32). Tetrahidrobiopterin endotelial NO sentetaz (eNOS) yolu ile NO biyosentezini ve NO aktivitesini artırmaktadır. Bu bulgular BT da artmış TNF- α nın tetrahidrobiopterini uyararak eNOS yolu ile NO biyosentezini ve eNOS aktivitesini artırdığını ve sirozda hiperdinamik sirkülasyona neden olan vazodilatasyona yol açtığını göstermektedir (32). Çalışmamızda pentoksifilin BT u azalttığı gösterilmekle birlikte pentoksifilin verilen ve verilmeyen gruplar arasında serum TNF- α düzeyleri yönünden farklılık bulunmadı. Koçdor ve ark. intestinal obstruksiyonda da pentoksifilin ile BT un azaldığını fakat pentoksifilin verilen ve verilmeyen gruplar arası serum TNF- α düzeylerinin farklı olmadığını göstermişlerdir (5). Pentoksifilin TNF- α dışında bir yoldan BT u azaltıyor olabilir. Pentoksifilin TNF- α inhibisyonu dışında monosit kemoreaktan protein-1, interlökin 6, interlökin 8 ve makrofaj inflamatuvar protein Ia ve Ib inhibisyonu; endotelial hücre üzerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunun azalması; nötrofil aktivasyonunun azalması, lenfosit ve monosit proliferasyonunun azalması, lökositlerin bağlanma ve migrasyonunun azalması gibi BT u azaltacak pek çok etkisi bildirilmiştir. Barsak içinden MLN a geçen bakterinin klirensinin intestinal ve mezenterik makrofajlarca olduğu iyi bilinmektedir. Pentoksifilin lökositlerin migrasyon, marjınasyon ve bakteri öldürme fonksiyonlarını artırdığı gösterilmiştir. Transloke bakteri artmış mezenterik lökosit fonksiyonları ile temizlenebilir (5). Heller ve ark. pentoksifilin hemorajik şokta endotoksemi azalttığını ve bu etkiyi organların bakteriyel kolonizasyonunu azaltarak yaptığını savunmuşlardır (66).

Çalışmada tek başına laktuloz verilen grupta BT da azalma saptanmadı. Laktulozun sirozda BT u önlediği daha önceki çalışmalar ile gösterilmiştir. Clausen ve

ark. laktulozun barsak aşırı bakteri çoğalmasını engelleyerek BT u önlediğini bunu da intestinal transit zamanını kısaltarak yaptığını göstermişlerdir (51). Laktuloz sentetik bir disakkarittir. İnsan enterositlerinin mikrovillus membranlarında laktulozu hidrolize edecek disakkaridaz yoktur. Laktuloz barsaktan emilmez (52). Kolon bakteriyel florası ile kısa zincirli yağ asitlerine ve çeşitli gazlara fermente edilir. Böylelikle primer etki yeri kolondur (53). Laktulozun barsak aşırı bakteri çoğalmasını ve BT u azalttığı, endotoksin seviyelerini düşürdüğü, sirozda barsak kaynaklı enfeksiyonları engellemekte ve tedavi etmekte yararlı olabileceği Shuncaı ve ark. tarafından gösterilmiştir (2). Ancak Sánchez ve ark tarafından yapılan çalışmada laktulozun BT dan koruma oranı %100 olmadığından başka mekanizmaların da BT oluşumunda rol oynadığı düşünülmüştür (61). Bakteriyel translokasyona etki eden diğer mekanizma mezenter geçirgenliğin artmasıdır. Laktuloz barsakta aşırı bakteri çoğalmasını azaltsa da, mezenter geçirgenliğe etki etmez. Çalışmamızda tek başına laktulozun BT u önlemede etkili bulunamamış olmasının nedeni intestinal permeabilitenin aşırı artışı sonucu laktulozun emiliminin artmış olması ve barsaktaki konsantrasyonunun azalması sonucu etkisini gösterememiş olması olabilir. Sirozda hastalığın evresine paralel olarak intestinal bariyerin bozulması sonucu mezenter geçirgenliğin arttığı iyi bilinmektedir. Bu durum barsaktan emilimi olmayan bazı moleküllerin barsaktan emilimine yol açar. Bunun yanında sirozda intestinal absorpsiyon yüzeyinin azalmasına bağlı bazı moleküllerin emilimlerinin azaldığı da gösterilmiştir. Laktuloz ve mannitol oral yoldan birlikte verilerek 24 saatlik idrardaki laktuloz/mannitol oranı ölçümü ile normalde barsaktan emilmemesi gereken laktulozun emilimi ve barsaktan emildiği halde intestinal absorpsiyon yüzeyinin azalmasına bağlı olarak mannitolün yeterli emilemeyişi sonucu 24 saatlik idrarda atılan laktuloz/mannitol oranı artmaktadır (67). Campillo ve ark. sirozun evresi ile ilişkili olarak Child C sirozlu hastalarda üriner laktuloz/mannitol oranının arttığını ve bu oranın septik komplikasyonu olan hastalarda enfekte olmayan hastalarla karşılaştırıldığında daha fazla olduğu saptamışlardır (67). Pascual ve ark. asitli ve hepatik ensefalopati hastalarda üriner laktuloz/mannitol oranını bu komplikasyonu olmayanlardan daha fazla bulmuşlar, bu durumun laktulozun artmış intestinal absorpsiyonu ile ilişkili olduğunu ve intestinal permeabilite artışının karaciğer hastalığının progresyonu ile paralel gittiğini bildirmişlerdir (68). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar bize sirozun progresyonuna paralel olarak intestinal

permeabilite artmasının BT ve septik komplikasyonlara zemin hazırlamada önemli olduğunu ve laktulozun da artmış intestinal absorpsiyonuna bağlı bu komplikasyonları önlemede yetersiz kalacağını göstermektedir.

Sirozda BT da üretilen bakterilerin çoğunun barsak kökenli gram negatif bakteriler ve *E. coli* olduğu gösterilmiştir. Ancak son çalışmalarda gram pozitif bakterilerin de % 70-90 oranda transloke olduğu bildirilmektedir ve bunların da % 25 inin MRSA (metisiline dirençli *S. aureus*) olduğu gösterilmiştir (24). Rabiller A. ve ark. sirotik hastalarda BT da esas rol oynayan bakterilerin gram negatif bakteriler olduğunu belirterek deneysel sirozda gram negatif bakteri translokasyonunun norfloksasin ile engellenmesi sonucu hepatopulmoner sendrom şiddetinde azalma olduğunu bildirmişlerdir (62). Çalışmamızda gruplar arasında üreyen bakterilerin gram durumları ve bakteri türleri arasında fark bulunmadı. Zhang HY ve ark. deneysel sirozda MLN daki bakteri koloni sayısını araştırmışlar; sirotik 5 ratın 3 ünde major koloni saptarken normal kontrol grubunu oluşturan 5 ratın hepsinde gram negatif minör koloni tespit etmişler ve koloni sayısının fazla olmasının BT sonucu oluşacak bakteriyemiye etkileyeceğini bildirmişlerdir (69). Çalışmamızda gruplar arasında üreyen bakterilerin koloni sayıları yönünden fark tespit edilmemiştir.

6-SONUÇ

Deneysel siroz oluşturulan ratlarda pentoksifilin bakteriyel translokasyonu azaltmaktadır. Pentoksifilin bakteriyel translokasyonu MLN ndan daha fazla KC ve kanda azaltması etkisinin mezenter geçirgenlikten ziyade lokal ve sistemik immün yanıtla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Laktuloz ile birlikte pentoksifilin verilmesinin BT u daha fazla azaltması beklenirken bunun sağlanamamış olması muhtemelen enteral yoldan verilen pentoksifilin absorpsiyonunun birlikte verilen laktuloz tarafından engellenmesindedir. Bu nedenle pentoksifilin parenteral, laktulozun enteral yoldan verileceği yeni çalışmalar ile farklı sonuçlar elde edilebilir. Gruplar arası serum TNF- α düzeylerinin farklı bulunmayışı pentoksifilin BT u azaltıcı etkisinin diğer sitokinler yoluyla veya lökosit fonksiyonlarını artırıcı etkileriyle olabileceğini düşündürmektedir. Deneysel siroz modelinde laktuloz tek başına verildiğinde bakteriyel translokasyonu azaltmada etkili bulunmamıştır. Bunun nedeni barsak lümeninde etkili olması gereken laktulozun mezenter geçirgenliğin aşırı artışına bağlı barsaktan emilimi sonucu barsak içi yoğunluğunun azalması olabilir. Bu nedenle sirozda intestinal bariyerin bozulmasının yol açtığı BT ve ciddi septik komplikasyonları önlemede laktuloz yetersiz kalabilmektedir.

Çalışmamızda deneysel siroz modelinde pentoksifilin bakteriyel translokasyonu azalttığı gösterilmesi klinik uygulamalar için cesaret vericidir.

7-ÖZET

GİRİŞ ve AMAÇ: Bakteriyel translokasyon canlı bakterinin, barsak lümeninden barsak dışı sahalara, esas olarak mezenterik lenf nodlarına geçmesidir. Sirozlu hastalarda; mezenter geçirgenliğinin artması ve aşırı bakteri çoğalması sonucu olarak bakteriyel translokasyon riski artmıştır. İntestinal dekontaminasyon ve sistemik sitokin inhibisyonu ile bakteriyel translokasyon önlenir. Pentoksifilin sistemik sitokin inhibisyonu yapan bir ilaçtır. Hemorajik şok ve intestinal obstruksiyonda bakteriyel translokasyonu azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada deneysel siroz modelinde bakteriyel translokasyon üzerine pentoksifilin etisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD: Wistar-albino tipi ortalama 200 gram ağırlığında 80 erkek erişkin ratın kırkına deneysel siroz oluşturmak için koledok ligasyonu, kırkına laparotomi yapıldı. Yirmi sekiz gün beklendikten sonra siroz oluştuğunu göstermek için ligasyon yapılan gruptan rastgele üç rat kurban edildi, karaciğerleri makroskopik ve histopatolojik olarak incelendi. Yirmi sekiz gün sonunda ratlar toplam 8 gruba ayrıldı. Koledok bağlanan ve laparotomi yapılan ratlardan birer grup on gün süre ile ilaçsız takip edildi. Birer gruba on gün süre ile peroral 1gr/kg/gün laktuloz, birer gruba on gün süre ile peroral 10 mg/kg/gün pentoksifilin, birer gruba da peroral 1gr/kg/gün laktuloz ile birlikte 10 mg/kg/gün pentoksifilin verildi.

Deney sonunda tüm ratlar kurban edildi. Karaciğer (KC), mezenterik lenf nodları (MLN) ve periton çıkartıldı. Kan örnekleri alındı. Doku örnekleri bakteriyel translokasyonu değerlendirmek için eosin metilen blue (EMB) agar ve kanlı agar besiyerlerine ve kan, kan kültürü şişelerine ekildi. Alınan kan örneklerinden TNF- α ELISA yöntemi ile ölçüldü. KC örneklerinin histopatolojik incelemesi yapıldı.

BULGULAR: Koledok bağlanan grupta, KC de fibrozis, mononükleer hücre infiltrasyonu ve nekroz sham grubuna göre anlamlı artmıştı ($p<0.05$) Koledok bağlanıp pentoksifilin verilen grupta bakteri üremesi koledok bağlanıp ilaç verilmeyen gruba göre KC ve kanda anlamlı olarak daha azdı ($p=0.015$). Mezenterik lenf nodları ve peritonda ise bu azalma istatistiksel olarak tam anlamlı değilse de anlamlıya yakındı ($p= 0.061$). Laktuloz verilen grupta hiçbir bölgede bakteriyel üremede anlamlı azalma yoktu

($p>0.05$). Pentoksifilin ile birlikte laktuloz verilen grupta ilaç verilmeyen gruba göre MLN nda bakteri üremesinde anlamlı azalma vardı ($p=0.048$). Gruplar arasında üreyen bakterinin türü, koloni sayısı, gram boyanma özellikleri açısından fark yoktu ($p>0.05$). Grupların serum TNF- α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

SONUÇ: Deneysel siroz oluşturulan ratlarda pentoksifilin bakteriyel translokasyonu azaltmaktadır. Pentoksifilin ile BT un MLN ndan daha fazla KC ve kanda azalması ve serum TNF- α düzeylerinin değişmemesi etkisini TNF- α dan bağımsız mezenter geçirgenliği değiştirmeden lokal ve sistemik immün defans mekanizmalarını etkileyerek gösterdiğini düşündürmektedir.

Deneysel sirozda pentoksifilin ile BT un azalmasının gösterilmesi klinik çalışmaları cesaretlendirebilir.

8-SUMMARY

INTRODUCTION: Bacterial translocation consists of the passage of viable bacteria from the intestinal tract to extraintestinal sites, mainly mesenteric lymph nodes. In cirrhotic patients the risk of bacterial translocation is increased because of increased mesenteric permeability and intestinal bacterial overgrowth. Bacterial translocation could be prevented by intestinal decontamination and inhibition of systemic cytokines. Pentoxifylline is a drug which inhibits systemic cytokines. It is shown that bacterial translocation has been decreased with pentoxifylline in hemorrhagic shock and intestinal obstruction. The aim of this study is to investigate the effect of pentoxifylline on bacterial translocation in experimental cirrhosis model.

MATERIAL AND METHOD: Cirrhosis induced by common bile duct ligation in forty of eighty Wistar-albino rats weighing average of 200 grams. As the control group (sham) laparotomy has been performed to other 40 rats. After 28 waiting days that cirrhosis composed 3 rats randomly sacrificed in ligation group. Macroscopic and microscopic development of cirrhotic process were observed. At the end of 28 days animals were divided into eight groups. One of the ligation and sham group has been followed up without any drug treatment. To the other three groups peroral 1gr/kg/day lactulose, peroral 10 mg/kg/day pentoxifylline and peroral 1gr/kg/day lactulose and 10 mg/kg/day pentoxifylline was given separately.

The rats were sacrificed at the final of experiment. Liver, mesenteric lymph nodes and peritoneum was released. Blood samples were taken. Tissue samples cultured in eosin metilen blue agar and blood agar. Blood cultures were obtained. Serum TNF- α levels were measured by ELISA. Histopathologic examination of liver samples were performed.

RESULTS: In ligation group, fibrosis, mononuclear cell infiltration and necrosis were significantly higher than sham group in liver ($p < 0.05$). In the common bile duct ligated and pentoxifylline given group bacterial translocation was significantly lower than the common bile duct ligated and no drug given group at liver and blood ($p = 0.015$). At mesenteric lymph nodes and peritoneum; BT was nearly significantly lower in the ligated and pentoxifylline given group ($p = 0.061$). In the

lactulose given group, BT was not low in any area ($p>0.05$). In the pentoxifylline and lactulose given group BT was significantly lower in the mesenteric lymph nodes than the group that was given no drug ($p=0.048$). There was no significant difference between groups at bacteria family, colony numbers and gram staining type ($p>0.05$). TNF- α levels of the groups were not significantly different also ($p>0.05$).

CONCLUSION: In the rats with experimental cirrhosis; pentoxifylline reduced the bacterial translocation. It is thought that pentoxifylline decreases BT independent of TNF- α effect, not by changing mesenteric permeability. Pentoxifylline decreases BT by acting on local and systemic immune defences as the decrease of BT with pentoxifylline observed was found more in liver and blood than in mesenteric lymph nodes. By showing the reduction of BT with pentoxifylline in experimental cirrhosis model; advanced clinical trails would be encouraged more.

9-KAYNAKLAR

- 1) Sola Ricard and Soriano Germa. Why do bacteria reach ascitic fluid? *Eur J Gastroenterol hepatol* 14:351-354 2002
- 2) Zhang Shuncai, Wang Wei, Ren Weiyang, Dai Qian, He Boming, Zhou Kang. Effects of lactulose on intestinal endotoxin and bacterial translocation in cirrhotic rats. *Chin Med J*; 116 (5) :767-771, 2003
- 3) Sztrymf B., Rabiller A., Nunes H., Savale L., Lebrech, Le Pape, V. de Montpreville, Mazmanian, Humbert and Hervé. Prevention of hepatopulmonary syndrome and hyperdynamic state by pentoxifylline in cirrhotic rats *Eur Respir J*. May; 23 (5) :752-8, 2004
- 4) Yada-Langui MM, Coimbra R, Lancellotti C, Mimica I, Garcia C, Correia N Jr, Rocha e Silva M. Hypertonic saline and pentoxifylline prevent lung injury and bacterial translocation after hemorrhagic shock. *Shock* Dec 14 (6) 594-8, 2000
- 5) Koçdor MA, Koçdor H, Gülay Z, Gökçe O. The effects of pentoxifylline on bacterial translocation after intestinal obstruction *Shock* Aug 18 (2) : 148-51, 2002
- 6) Runyon BA, Squier S, Borzio M. Translocation of gut bacteria in rats with cirrhosis to mesenteric lymph nodes partially explains the pathogenesis of spontaneous bacterial peritonitis *Hepatology* 26:1372-1378, 1994
- 7) Llovet JM, Bartoli R, Planas R, Cabre E, Jimenez M, Urban A, et al. Bacterial translocation in cirrhotic rats. Its role in the development of spontaneous bacterial peritonitis. *Gut* 35:1648-1652, 1994
- 8) Cirera I, Bauer TM, Navasa M, Vila J, Grande L, Taura P, et al. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 34:32-37, 2001
- 9) Guarner C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheikh MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *J Hepatol* 26:1372-1378, 1997
- 10) Guarner C, Soriano G. Spontaneous bacterial peritonitis. *Sem Liver Dis* 17:203-217, 1997
- 11) Perez-Panama M, Muñoz J, Albillos A, Freile I, Portero F, Santos M. Effect of propranolol on the factors promoting bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *Hepatology* 31:43-48, 2000

- 12) Llovet JM, Bartoli R, Planas R, VinÄado B, PeÄ rez J, CabreÄ E, et al. Selective intestinal decontamination with norfloxacin reduces bacterial translocation in ascitic cirrhotic rats exposed to hemorrhagic shock. *Hepatology* 23:781-787, 1999
- 13) Astaldi G, Strosselli E. Peroral biopsy of the intestinal mucosa in hepatic cirrhosis. *Am J Dig Dis* 5:603-612, 1960
- 14) Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Feierl G, Ratschek M, HoÈ llwarth ME. Allopurinol and glutamine attenuate bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common bile duct ligated growing rats. *Gut* 39:48-53, 1996
- 15) Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Feierl G, Ratschek M, HoÈ llwarth ME. The effect of vitamin C and vitamin E supplementation on bacterial translocation in chronic portal hypertensive and common-bileduct-ligated rats. *Eur Surg Res* 29:187-194, 1997
- 16) Peralta C, Chiva M, GoÄmez C, Soriano G, Llovet T, Guarner C, et al. Portal hypertension, intestinal mucosal oxidative damage and bacterial translocation in an experimental model of cirrhosis *J Hepatol* 32 :146, 2000
- 17) Guarner C, Soriano G, TomaÄs A, Bulbena O, Novella MT, BalanzoÄ J, et al. Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 18:1139-1143, 1993
- 18) Unno N, Wang H, Menconi MJ, Tytgat SH, Larkin V, Smith M, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin-induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. *Gastroenterology* 113:1246-1257, 1997
- 19) Guarner C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheikh MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *J Hepatol* 26:1372-1378, 1997
- 20) Guarner C, Soriano G. Spontaneous bacterial peritonitis. *Sem Liver Dis* 17: 203-217, 1997
- 21) Pardo A, Bartoli R, Lorenzo-ZuÄnÄ iga V, Planas R, VinÄado B, Riba J, et al. Effect of cisapride on intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhosis. *Hepatology* 31:858-863, 2000
- 22) PeÄ rez-PaÄramo M, MunÄ oz J, Albillos A, Freile I, Portero F, Santos M. Effect of propranolol on the factors promoting bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *Hepatology* 31:43-48, 2000

- 23) Peralta C, Chiva M, GoÂmez C, Soriano G, Llovet T, Guarner C, et al. Portal hypertension, intestinal mucosal oxidative damage and bacterial translocation in an experimental model of cirrhosis [abstract]. *J Hepatol* 32 (Suppl 2):S146, 2000
- 24) Almeida John, Galhenage Sumedha , Yu Jennifer, Kurtovic Jelica , Riordan Stephen M Gut flora and bacterial translocation in chronic liver disease *World J Gastroenterol* March 14;12(10):1493-1502, 2006
- 25) Rimola A, Soto R, Bory F, Arroyo V, Piera C, RodeÂ s J. Reticuloendothelial system phagocytic activity in cirrhosis and its relation to bacterial infections and prognosis. *Hepatology* 4:53-58, 1984
- 26) Bolognesi M, Merkel C, Bianco S, Angeli P, Sacerdoti D, Amodio P, et al. Clinical signicance of the evaluation of hepatic reticuloendothelial removal capacity in patients with cirrhosis. *Hepatology* 19:628-634, 1994
- 27) Runyon BA. Low-protein-concentration ascitic fluid is predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 91:1343-1346, 1986
- 28) Runyon BA. Patients with decient ascitic fluid opsonic activity are predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 8:632-635, 1988
- 29) Such J, Guarner C, EnrÃ³quez J, RodrÃ³guez JL, SereÂ s I, Vilardell F. Low C3 in cirrhotic ascites predisposes to spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 6:80-84,1988
- 30) Spaeth G, Gottwald T, Specian RD, Mainous MR, Berg RD, Deitch EA. Secretory immunoglobulin A, intestinal mucin, and mucosal permeability in nutritionally induced bacterial translocation in rats. *Ann Surg* 220:798-808, 1994
- 31) Reiner Wiest and Guadalupe Garcia-Tsao Bacterial Translocation (BT) in Cirrhosis *Hepatology* 41:422-4332,2005
- 32) Wiest R., Das S. , Cadelina, Garcia-Tsao, Milstien R.J. Groszmann Bacterial translocation in cirrhotic rats stimulates eNOS- derived NO production and impairs mesenteric vascular contractility *J. Clin. Invest.* 104: 1223-1233,1999
- 33) Genesca J, Marti R, Rojo F, Campos F, Peribanez V, Gonzalez A, et al. Increased tumour necrosis factor alpha production in mesenteric lymph nodes of cirrhotic patients with ascites. *Gut* 52:1054-1059, 2003

- 34) Such J, Frances R, Munoz C, Zapater P, Casellas JA, Cifuentes A, et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and culture-negative, nonneutrocytic ascites. *Hepatology* 36 :135-141,2002
- 35) GarcõÂa-Tsao G. Bacterial translocation: cause or consequence of decompensation in cirrhosis? *J Hepatol* 34:150-155, 2001
- 36) Krowka MJ, Cortese DA. Hepatopulmonary syndrome: current concepts in diagnostic and therapeutic considerations. *Chest* 105: 1528-1537, 1994
- 37) Sherlock S. The liver-lung interface. *Semin Respir Med* 9:247-253,1998
- 38) Cremona G, Higenbottam TW, Mayoral V, Alexander G, Demoncheaux E, Borland C, Roe P. Elevated exhaled nitric oxide in patients with hepatopulmonary syndrome. *Eur Respir J* 8: 1883-1885 , 1995
- 39) Rolla G, Brussino L, Colagrande P, Dutto L, Polizzi S, Scappaticci E, Bergerone S. Exhaled nitric oxide and oxygenation abnormalities in hepatic cirrhosis. *Hepatology*26: 842-847, 1997
- 40) Bao L, Gary A. Abrams Michael B. Fallon. Endothelin-1 in the rat bile duct ligation model of hepatopulmonary syndrome: correlation with pulmonary dysfunction. *J Hepatol* 29: 571-578, 1998
- 41) McMahon TJ, Moon RE, Luschinger BP, Carraway MS, Stone AE, Stolp BW, Gow AJ, Pawloski JR, Watke P, Singel DJ, Piantadosi CA, Stamler JS. Nitric oxide in the human respiratory cycle. *Nat Med* 8: 711-717, 2002
- 42) Paul L, Steven G. Hemoglobin as a chariot for NO bioactivity. *Nat Med* 8: 657-658, 2002
- 43) Jia L, Bonaventura J, Stamler JS. S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 380: 221-226, 1996
- 44) Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Xin-Guo Wang, Yuan-Chang Zhao, Xin Zhou, Hai-Zhen Zhao Experimental study on the role of endotoxin in the development of hepatopulmonary syndrome *World J Gastroenterol* January 28 ;11(4):567-572, 2005
- 45) Ji-Jian Wang, Gen-Wu Gao, Ren-Zhong Gao, Chang-An Liu, Xiong Ding, Zhen-Xiang Yao Effects of tumor necrosis factor, endothelin and nitric oxide on hyperdynamic circulation of rats with acute and chronic portal hypertension *World J Gastroenterol* March 1;10(5):689-693, 2004

- 46) Gines P Diagnosis and treatment of hepatorenal syndrome Dec; 14(6):945-57, 2000
- 47) Gine's P, Rimola A, Planas R, Vargas V, Marco' F, Almela M, Forna M, et al. Norfloxacin prevents spontaneous bacterial peritonitis recurrence in cirrhosis: results of a double blind, placebo-controlled trial. *Hepatology* 12:716-724, 1990
- 48) Soriano G, Guarner C, Teixido' M, Such J, Barrios J, Enri'quez J, Vilardell F. Selective intestinal decontamination prevents spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 100:477-481, 1991.
- 49) Dupeyron C, Mangeney N, Sedrati L, Campillo B, Fouet P, Leluan G. Rapid emergence of quinolone resistance in cirrhotic patients treated with norfloxacin to prevent spontaneous bacterial peritonitis. *Antimicrob Agents Chemother* 38:340-344, 1994
- 50) McCallum RW for the ACG Committee on FDA-Related Matters. Cisapride: A new class of prokinetic agent. *Am J Gastroenterol* 86: 135-149, 1991
- 51) Clausen MR, Mortensen PB Lactulose, disaccharides and colonic flora. Clinical consequences *Drugs* Jun;53(6):930-42, 1997
- 52) Huchzermeyer H, Schumann C, Lactulose a multifaceted substance *Z Gastroenterology* 35: 945-955
- 53) Watanabe A, Sakai T, Sato S. Clinical efficacy of lactulose in cirrhotic patients with and without subclinic hepatic ensephalopathy *Hepatology* 26:1410-1414, 1997
- 54) Clausen MR, Mortensen PB, Lactulose disaccharides and colonic flora .Clinical consequences. *Drugs* 53, 930-942, 1997
- 55) Laurent Spahr, Solange Bresson-Hadni, Pauline Amann, Ilse Kern, Olivier Golaz, Jean-Louis Frossard and Antoine Hadengue Allopurinol, oxidative stress and intestinal permeability in patients with cirrhosis: an open-label pilot study *Liver International* ISSN 1478-3223 2007
- 56) Motoaki Miyazono, Daling Zhu, Raphael Nemenoff, Elizabeth R. Jacobs , Ethan P. Carter Increased Epoxyeicosatrienoic Acid Formation in the Rat Kidney during Liver Cirrhosis *J Am Soc Nephrol* 14: 1766-1775, 2003
- 57) Liao JC, Lin KH, Cheng HY, Wu JB, Hsieh MT, Peng WH Actinidia rubricaulis Attenuates Hepatic Fibrosis Induced by Carbon Tetrachloride in Rats *Am J Chin Med* 35(1): 81-8, 2007

- 58) Potter JJ, Mezey E Leptin deficiency reduces but does not eliminate the development of hepatic fibrosis in mice infected with *Schistosoma mansoni* *Liver* Apr; 22(2): 173-7, 2002
- 59) Malas MA, Gokcimen A, Sulak O Growing of caecum and vermiform appendix during the fetal period *Fetal Diagnosis and Therapy* 16(3): 173-7 May-Jun 2001
- 60) Chivaa Maite, Guarnera Carlos, Peraltab Carmen, Llovetc Teresa, Go´mez Gloria, Sorianoa Germa´n and Balanzo Joaquín Intestinal mucosal oxidative damage and bacterial translocation in cirrhotic rats *European Journal of Gastroenterology Hepatology* 15:145–150, 2003
- 61) Sánchez E., Casafont F. , Guerra, Benito, and Pons-Romero Role of intestinal bacterial overgrowth and intestinal motility in bacterial translocation in experimental cirrhosis *Rev Esp Enferm Dig* 97: 805-814, 2005
- 62) Rabiller Anne , Nunes Hilario, Lebrec Didier, Tazi, Wartski, Dulmet, Libert, Mougeot, Moreau, Mazmanian, Humbert, and Hervé Prevention of Gram-Negative Translocation Reduces the Severity of Hepatopulmonary Syndrome *Am J Respir Crit Care Med* Vol 166. pp 514–517, 2002
- 63) Garcia Coret MJ, Villalba Ferrer F, Vazquez Prado A, Fuster Diana C, Ramos de Campos M, de la Morena Valenzuela E, Trullenque Peris R. [Experimental study of the immunomodulator effect of pentoxifylline in bacterial translocation produced by lipid-free parenteral nutrition *Nutr Hosp* Sep-Oct; 17(5): 223-30, 2002
- 64) Sieber, C.C., Lopez-Talavera, J.C., and Groszmann, R.J. . Role of nitric oxide in the in vitro splanchnic vascular hyporeactivity in ascitic cirrhotic rats. *Gastroenterology*. 104:1750–1754, 1993
- 65) Lee, F.Y., Albillos, A., Colombato, L.A., and Groszmann, R.J. The role of nitric oxide in the vascular hyporesponsiveness to methoxamine in portal hypertensive rats. *Hepatology*. 16:1043–1048, 1992
- 66) Heller S, Weber K, Heller A, Urbaschek R, Koch T: Pentoxifylline improves bacterial clearance during hemorrhage and endotoxemia. *Crit Care Med* 27(4): 756–763, 1999.
- 67) Campillo B, Pernet P, Bories PN, Richardet JP, Devanlay M, Aussel C. Intestinal permeability in liver cirrhosis: relationship with severe septic complications. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:755-759, 1999

- 68) Pascual S, Such J, Esteban A, Zapater P, Casellas JA, Aparicio JR, Girona E, Gutierrez A, Carnices F, Palazon JM, Sola-Vera J, Perez-Mateo M. Intestinal permeability is increased in patients with advanced cirrhosis *Hepatogastroenterology* Sep-Oct;50(53):1482-6, 2003
- 69) Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Xin-Guo Wang, Yuan-Chang Zhao, Xin Zhou, Hai-Zhen Zhao Experimental study on the role of endotoxin in the development of hepatopulmonary syndrome *World J Gastroenterol* January 28;11(4):567-572, 2005

