

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**PERİTONİTE BAĞLI AKCİĞER HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA İNTRAPERİTONEAL OLARAK
PROBİYOTİK UYGULANMASININ SONUÇLARI**

(Deneysel Çalışma)

UZMANLIK TEZİ

Dr.Tuğçe KARAÇAY

Tez Yöneticisi

Doç.Dr.Mehmet Yamaç ERHAN

MANİSA-2009

İÇİNDEKİLER

Sayfa

I. GİRİŞ-AMAÇ

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Peritonit	4
II.1.a. Peritonun Anatomisi ve Fizyolojisi.....	7
II.1.b. Peritonit Fizyopatolojisi	8
II.1.c. Peritonit Bakteriyolojisi.....	9
II.1.d. Sekonder Peritonit Tedavi Stratejileri.....	10
II.1.e. Peritonitte Hemodinamik Değişiklikler	11
II.1. f. Peritonitti Oksijen Metabolizması Değişiklikleri.....	12
II. 2. Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS)	14
II.2.a. ARDS Fizyopatolojisi.....	14
II.2.b. ARDS Tanısı.....	16
II.2.c. ARDS Klinik Seyiri	18
II.2.d. Nitrik Oksit.....	18
II.2.e. Myeloperoksidaz Yapısı ve Özellikleri	21
II.2. f. Malondialdehid Yapısı ve Özellikleri	22
II.3. Probiyotikler	23

III. GEREÇ VE YÖNTEM

III.1.Hayvan Grupları.....	27
III.2.Laktik asid Bakteri Karışımı	28
III.3.Bakteri Solüsyonlarının Hazırlanması... ..	28
III.4.Cerrahi Teknik	29
III.5.Histolojik Çalışma.....	30
III.5.a. Doku Toplama ve Fiksasyon.....	30
III.5.b. Histokimyasal Çalışma	30
III.5.c. İmmunhistokimyasal Çalışma.....	31
III.5.d. Biyokimyasal Analiz	32
III.5.e. Myeloperoksidaz Ölçümü.....	32
III.5.f. Malondialdehid Ölçümü.....	32
III.5.g. Nitrik Oksit Ölçümü.....	33
III.6. İstatiksel Değerlendirme.....	33

IV. BULGULAR

IV.1. Histokimyasal Bulgular.....	34
IV.2.İmmunhistokimyasal Bulgular	37
IV.3.Myeloperoksidaz Bulguları.....	38
IV.4.Malondealdehid Bulguları.....	38
IV.5.Nitrik Oksit Bulguları.....	39

V. TARTIŞMA ve SONUÇ.....

VI. ÖZET.....

VII. İNGİLİZCE ÖZET

VIII. KAYNAKLAR.....

KISALTMALAR

LAB	Laktik Asid Bakterileri
MODS	Multipl Organ Yetmezliği Sendromu
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrom
ÇLP	Çekal Ligasyon Perforasyon
NO	Nitrik Oksid
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksid Sentetaz
LPS	Lipopolisakkarit
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentetaz
cGMP	Guanozin 3,5-siklik Monofosfat
MPO	Myeloperoksidaz
PNL	Polinükleer Lenfosit
MDA	Malondialdehid
S2000F	Synbiotic 2000 Forte™
i.m.	İntramuskuler
GRAS	Generally Recognised As Safe
DAB	Diaminobenzidine

H-E	Hemotoxylen Eosin
PBS	Fosfat Bazlı Salin Solüsyonu
LMPO	Akciğer Dokusu Myeloperoksidazı
LMDA	Akciğer Dokusu Malondialdehidi
LNO	Akciğer Dokusu Nitrik Oksidi
SNO	Serum Nirtik Oksit

Uzmanlık eğitimim boyunca değerli bilgilerini, tecrübelerini ve kıymetli zamanlarını benden esirgemeyip, 6 yıl süren bu zorlu eğitimi tamamlamamda büyük emekleri olan hocalarım ; Prof.Dr.Teoman COŞKUN, Prof.Dr. Mustafa TİRELİ, Doç.Dr.M.Yamaç ERHAN, Doç.Dr.Yavuz KAYA, Doç.Dr.Hasan AYDEDE, Doç.Dr.Aslan SAKARYA, Doç.Dr.Eray KARA'ya;

Tezimin hazırlanmasında ki yardım ve desteklerinden dolayı, başta tez danışman hocam Doç.Dr.M.Yamaç ERHAN olmak üzere; Doç.Dr. Seda VATANSEVER, Doç.Dr.Fatma TANELİ, ve Yard.Doç.Dr. HÖRİ GAZİ'ye;

Çoğu günler ailemden çok beraber olduğum, her zaman neşeli ama bazen zor zamanlar geçirdiğimiz, yerleri asla doldurulamaz uzman ve asistan arkadaşlarıma;

Asistanlığım boyunca yaptıkları yardımları ve paylaştığımız güzel anıları hiçbir zaman unutamayacağım tüm cerrahi hemşireleri, sekreterleri ve personeline;

Hayata henüz gözümü açmamışken benim için fedakarlık yapmaya başlamış olan ve hala yapmaya devam eden annem Semuran Canki, her zaman yanımda olan ablam Banu Kalfa, desteği ve hoşgörüsü hiç bitmeyen eşim Levent Karaçay ve elbette hayatıma mutluluk katan, şükür etmeyi öğreten oğlum Yağız'a

SEVGİLERİMİ, SAYGILARIMI ve TEŞEKKÜRLERİMİ sunarım

Dr.Tuğçe KARAÇAY

GİRİŞ

Sekonder peritonitler, karın içi bir organın perforasyonu veya nekrozu sonucu meydana gelen kontaminasyonun neden olduğu karın içi enfeksiyondur. Önleyici tedbirlerin (antibiyotik kullanımı, barsak hazırlığı, v.b.) yaygın olarak kullanılmasına rağmen günümüzde de tüm dünyada yoğun bakım servislerinde önemli bir mortalite ve morbidite sebebi olmaya devam etmektedir(1-3). Geçmişten günümüze bir çok geniş spektrumlu antibiyotik, sekonder peritonit tedavisinde denendi; ancak üzücü olarak küçük bir başarı elde edilebilindi. Geçtiğimiz birkaç yıl içinde ise yüz güldürücü bir gelişme olarak, çeşitli Laktik asid bakterilerinin (LAB), klinik olarak inflamasyon ve enfeksiyon üzerine efektif etkileri olduğu gösterildi (4-9).

Sekonder peritonitlerde tedavi prensiplerinin başında, cerrahi ile periton boşluğunu temizlemek ve hastanın durumuna göre tedavi edici prosedürü uygulamak gelir. Gelişmiş cerrahi teknikler, geniş spektrumlu antibiyotikler, ileri teknolojilerle donatılmış yoğun bakım şartlarına rağmen, peritonitlerin hala önemli bir mortalite sebebi olması nedeni ile, bu konuda sağ kalımı arttıracak çalışmalar devam etmektedir.

TNF, IL ve benzeri sitokinler ile inflamatuvar hücrelerin sepsis ve buna bağlı gelişen Multipl Organ Yetmezliği Sendromu (MODS) fizyopatolojisinde ki yerlerinin belirlenmiş olması araştırmacıları hücreler üzerinden, inflamatuvar sürece etki edilmesi üzerine çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir (10,11). Sepsiste ilk etkilenen organlardan olan akciğerlere, Akut Respiratuvar Distress Sendromu (ARDS) oluşmadan müdahale edilebilme düşüncesi günümüzde de birçok çalışmanın amacıdır.

ARDS'nin fizyopatolojisi göz önüne alındığında enflamatuar süreç üzerinden uygulanacak tedavileri araştırmak, böylece ARDS'ye bağlı mortaliteyi düşürmek, birçok araştırmacının odak noktası olmuştur.

Günümüze kadar yapılan çalışmalar da, probiyotik bakterilerin fagositlerin aktivitesini arttırma, sitokin yanıtını düzenlenme, barsak epitelyum hücrelerine nütrisyonel destek hazırlama, nitrik oksit yapımını stimüle etme, endotoksin oluşumunu azaltma gibi özellikleri gösterilmiştir (4). Bu çalışma peritonite bağlı ARDS tablosunun intraperitoneal Laktobasil uygulanması ile baskılanır hipotezinden yola çıkarak planlandı.

Bu bilgiler ışığında çalışmada Çekal Ligasyon-Perforasyon (ÇLP) yöntemi ile sekonder peritonit ve buna bağlı akciğer hasarı oluşturulan ratlara, intraperitoneal yolla probiyotik uygulanmasının sonuçlarının araştırılması amaçlandı.

II.GENEL BİLGİLER

II.1. PERİTONİT

Peritonit halen cerrahların karşılaştıkları majör enfeksiyöz problemlerden biridir. Tüm gelişen teknoloji ve tedavi yöntemlerine rağmen, mortalitesi kabul edilemeyecek kadar yüksektir.

Peritoneal kavitenin mikrobiyal kontaminasyonuna intraabdominal enfeksiyon adı verilir. Herhangi bir uyarının peritonda meydana getirdiği uyarıya ise peritonit denir (12). Peritonit intraabdominal enfeksiyonların en ciddi olanıdır (13).

Primer peritonit: Peritonun karın içi herhangi bir organda hastalık olmadan, doğrudan doğruya hematogen yolla gelen bakterilerle enfekte olmasına denir.

Sekonder peritonit: Akut intraabdominal enfeksiyonların en sık görülen şeklidir(14). Sekonder intraabdominal enfeksiyonlara genellikle, gastro-intestinal veya genitoüriner sistemin mukozal bariyer bütünlüğünün, bozulması ile intraabdominal kavitenin kirlenmesi neden olur (15). Gastro-intestinal sistemin ve diğer karın içi organların nekrotik lezyonları %80 olguda; karın içi ameliyat sonrası (postoperatif peritonit) %10-30 olguda neden olarak görülür. Organlara göre mortalite oranı değişmekte birlikte, genel olarak mortalite %30 (Apendisit %13, Safra yolları %16, mide-duodenum %22, kolon %37) civarındadır. Hastaların yandaş hastalıklarının bulunması mortaliteyi artırır (Geçirilmiş MI \geq %60, KBY \geq 55, DM \geq 40) (16).

Tersiyer peritonit: Her ne kadar tanımı kesinlik kazanmamışsa da primer veya sekonder peritonitin yeterli düzeyde tedavi edilmesine karşın konakçının süregelen bir enflamatuvar yanıtının olmasıdır.

Peritonit akut, subakut, kronik olabileceği gibi, jeneralize veya lokalize de olabilir. İntraabdominal enfeksiyon yaygın peritonit şeklinde, ya da sınırlı nırsa intraabdominal abse şeklinde karşımıza çıkabilir (17). Genel olarak peritonit sınıflamasına bakacak olursak;

1. Primer Peritonit

- a. Çocuklarda ve yaşlılarda spontan peritonit
- b. Periton diyalizine bağlı peritonit
- c. Tüberküloz peritonit
- d. Diğerleri

2. Sekonder Peritonit

A. Gastrointestinal perforasyon

- a. Apendisit
- b. Gastroduodonal ülser perforasyonu
- c. Kanser perforasyonu
- d. Safra kesesi perforasyonu
- e. Diğer perforasyonlar

B. İntestinal İskemiye bağlı perforasyonlar

- a. Mezenterik oklüzyon
- b. Strangüle herni

C. Postoperatif Peritonit

- a. Anostomoz kaçağı
- b. Sütür ayrışması
- c. Kör ans kaçağı
- d. Gözden kaçan iatrojenik yaralanmalar

D. Posttravmatik Peritonit

- a. Penetran yaralanma sonrası peritonit
- b. Kunt karın travması sonrası peritonit

E. Pelvik Peritonit

- a. Septik abortus
- b. Puerperal sepsis
- c. Salfenjit (Gonore,Chlamidya)
- d. Pürülan prostatit

3. Tersiyer Peritonit

- a. Patojensiz peritonit
- b. Mantar peritoniti
- c. Patojenitesi düşük bakterilerin yaptığı peritonit

4. Diğer Peritonitler

- a. Periyodik peritonit (Ailevi Akdeniz Ateşi)
- b. Kurşun zehirlenmesine bağlı peritonit
- c. Porfiri peritoniti
- d. Talk peritoniti
- e. Yabancı cisim peritoniti
- f. Granülomatöz peritonitler
- g. İlaça bağlı peritonitler

5. İntraabdominal Abseler

II.1.a. Peritonun Anatomi ve Fizyolojisi

Karın boşluğu organlar ve onların ligamentleri ile kesin olmayan bölümlere ayrılır. Örneğin; transvers kolon ve mezosuyla suprakolik ve infrakolik alanlara bölünür. Büyük ve küçük omental boşluk foramen Winslow ile birbirine bağlanır. Morrison poşu veya sağ subhepatik alan yukarı doğru subfrenik alana; aşağı doğru ise sağ parakolik mesafe ile inguinal bölgeye ulaşır. İnfrakolik alan mezenter kökü ile sağ ve sol olarak ikiye ayrılır. Çıkan ve inen kolonların lateralindeki çukurlar, ise sağ ve sol parakolik boşluklardır. Parakolik boşluklar, direkt Douglas çukuruna açılır. Sağ parakolik mesafe suprakolik ve infrakolik alanları birbirine bağlar. Sağ ve sol subdiafragmatik, sağ ve sol hepatik alanlar da perihepatik mesafeleri oluşturur. Bu anatomik boşlukların ve bunların birbirleri ile ilişkilerinin iyi bilinmesi, enfeksiyonun dağılım alanlarının ve abse formasyonu gelişiminin anlaşılması açısından cerrahlar için çok önemlidir.

Karın boşluğu periton ile örtülüdür. Periton, en altta submezotelyal bağ doku (elastik ve kollojen lifler içerir; lenfatik, damar ve sinir açısından zengin), ortada bazal membran ve en üstte de tek katlı mezotel hücrelerden oluşur. Peritonun pariyetal ve viseral olmak üzere iki yaprağı vardır. Pariyetal periton, karın ön ve arka duvarı, diafragma ve pelvik tabanı örter, medulla spinalisten gelen somatik sinirlerle inerve edilir. Embriyonel gelişim sırasında karın organları peritoneal kese içine doğru geliştiklerinden, üzerleri peritonla örtülür ve bu periton yaprağı viseral periton olarak adlandırılır. Viseral periton, vertebranın her iki tarafından çıktıktan sonra, organlara ulaşan otonom sinirlerle inerve edilir.

Periton, emilim yüzeyi çok geniş olan yarı geçirgen bir zardır. Normal koşullarda 50-75 ml civarında lenf özelliğinde bir sıvı salgılar. Bu sıvı tüm periton yüzeyinden salgılanır ancak emilimi pariyetal peritondan ve özellikle de diafragmatik yüzden olur. Peritonun anatomik yüzey alanı kişinin dış

vücut yüzey alanı kadardır (normal bir erişkinde yaklaşık 1.8 m²). Ancak fonksiyonel yüzey, hesaplanan anatomik yüzeyden daha küçüktür. Diafragmatik yüzde, stomata olarak adlandırılan ve lakünelara (diafragmatik lenf kanalları) açılan, 4-12 µ çapında porlar bulunur. Lakünelar substernal lenf nodlarına oradan da torasik duktusa açılır. Lakünelardan akış tek yönlü ve peritondan sistemik dolaşıma doğrudur. Lakünelardan çapı büyük partiküller de dahil, şekil değiştirerek geçebilirler. Karın içindeki sıvı ve partiküller önce parakolik mesafelere, oradan da diafragma doğru hareket eder. Diaframanın relaksasyonu sırasında stomatalar açılır, sıvı ve partikülleri içine alır. Karın içi pozitif, toraks içi negatif basınçların da etkisi ile torasik lenfatiklere doğru akar. İliak fossalardaki sıvı ve partiküller bu yolla 20 dakika gibi bir sürede subklavian vene ulaşır. Bu mekanizma peritonitte sistemik belirtilerin neden erkenden ortaya çıktığını açıklar (17).

II.1.b. Peritonit Fizyopatolojisi

Karın içindeki herhangi bir organın perforasyonu ya da enflamasyonu, sistemik enflamatuvar yanıtı uyarır. İlk olarak mast hücreleri ve makrofajlardan histamin ve prostaglandinler salınır, bunlar vasodilatasyona ve peritoneal damarlarda permabilite artışına yol açarlar. Bunu komplemanlar, immun globulinler, pıhtılaşma faktörleri ve fibrinden zengin aşırı sıvı eksüdasyonu takip eder. 4-6 saat sonra nötrofil girişi olur. Bununla beraber Lökotrien B₄ (makrofaj, mast hücreleri ve nötrofillerden) ve kompleman aktivasyonu sonucu, C_{5a} gibi kemotaksinler gelişir. Tüm bunlar, fagositik hücreler ve komplemanın enfeksiyonu kontrol için çalışacağı enflamatuvar ortamı hazırlarlar. Kompleman ürünleri ve lökotrienler, enflamasyon alanına nötrofil göçünü sağlayan mediatörler olarak bilinirler.

Bakteriyel peritonitin erken safhasında, peritoneal kaviteyi bakterilerden temizlemede kabul edilen diyafragmatik lenfatikler, peritoneal makrofajlar ve nötrofillerin girişidir ki; bunlar enflamatuvar stimulusa cevap sırasında olu-

şurlar (18). Bunlardan diafragmatik lenfatikler ve makrofajlar, bakteriyel kontaminasyonun temizlenmesinde ana rolü oynarlar.

Peritoneal mezotelyal hücreler, fibrinolitik aktiviteleri dolayısıyla peritonitte önemlidir (19, 20). İnsanda pıhtılaşma sisteminin esas mekanizması, plazma protein plazminojenidir. Plazminojen aktivatörü olarak bilinen moleküller, plazminojeni plazmine çevirirler. Bu, fibrinin parçalanıp, fibrin parçalanma ürünlerinin oluşumunu katalize eder ve pıhtı lizisini artırır. Normalde mezotelyal hücreler, plazminojen aktivatörlerinin zengin kaynağıdır. Bu, peritoneal kavitedeki kanın pıhtılaşmamasının nedenidir. Travma, iskemi ve enfeksiyonda mezotelin fibrinolitik aktivitesinde bariz azalma olur. Bu durumlarda hasarlanmış hücrelerden tromboplastinlerin salınımı, intrinsek yolla sonraki pıhtılaşmayı sağlar. Pıhtılaşma sistemindeki bu durum, postoperatif adezyon oluşum mekanizmasını açıklamaya yardımcıdır. Peritonit sırasında fibrin adezyonlarının oluşumu, enfeksiyonun lokalize edilmesine yardımcıdır ve bu fonksiyon, sonraki peritoneal fibrinolitik aktivite-nin inhibisyonunu sağlar. Deneysel olarak bakteri, pıhtı ile örtüldüğünde ve pıhtı peritoneal kaviteye yerleştirildiğinde bu nadir olarak ölüme neden olur. Ancak bakteri intraperitoneal olarak serbest infüze edilirse genellikle fetaldir.

Peritoneal enflamasyon, aslında sistemik enflamasyonla aynı humoral ve hücresele yanıtı kullanır. Ancak her iki yanıt da, fonksiyonel olarak ayrı kompartmanlarda oluşur.

II.1.c. Peritonit Bakteriyolojisi

İntraabdominal enfeksiyonların çoğu polimikrobiyaldir. Sadece komplike olmayan akut kolesistitler, pankreas enfeksiyonları ve primer peritonitler monobakteriyeldir (21). Bizim çalışmamızın konusu olan sekonder peritonitler, gastrointestinal sistem kaynaklı polimikrobiyal enfeksiyonlardır. Kontaminasyonun yaygınlığı ve ciddiyeti sadece perforasyonun büyüklüğüne değil,

lokalizasyonuna da bağlıdır. Vücudun bakteriyel peritonite verdiği sistemik enflamatuvar yanıtın şiddeti, bazı faktörlerden etkilenir. Bu faktörler; peritonda kirlenmeye yol açan bakterilerin virülansı, kirlenmenin yaygınlığı ve süresi ile ortamda enfeksiyonun büyüüp yaygınlaşmasına yardımcı olabilecek mukus, fibrin, hemoglobin, safra gibi maddelerin varlığıdır. Bu maddeler enfeksiyon gelişimine yardım edici bir etki gösterebilir. Perforasyon olgularında normal barsak florasının dağılımı önem kazanmaktadır. Klinik enfeksiyonlarda en sık izole edilen bakteriler; E.coli, Enterobacter, Klebsiella ve Pseudomonas türleridir. En sık rastlanan anaerob bakteri Bacteroides fragilis'dir (22).

II.1.d. Sekonder Peritonit Tedavi Stratejileri

Sekonder peritonitlerin asıl tedavisi, cerrahi olmakla beraber metabolik ihtiyacı karşılamaya yönelik destek tedavisi ve antibiyoterapi tedavinin ayrılmaz bir parçasıdır.

1. Tıbbi destek tedavisi; amaç, hastanın bozulan fizyolojik durumunun düzeltilmesi ve stabilizasyonunu sağlamaktır. Bu amaca yönelik olarak yakın monitorizasyon ile parenteral sıvı replasmanı, total parenteral nütrisyon ve oksijen desteği uygulanmalıdır.

2. Antibiyotik tedavisi; aerob ve anaerob bakterilere yönelik, ya antibiyotik kombinasyonu ya da tek başına geniş spektrumlu bir antibiyotik ile yapılmaktadır.

3. Cerrahi tedavi; enfeksiyon kaynağının ortadan kaldırılması, peritonun temizlenmesi, peritondaki bakteri sayısının en aza indirilmesi, peritondaki toksik materyal ve sitokinleri, tüm nekrotik materyal ve püyü uzaklaştırıp böylece sistemik hasarın kontrol edilmesi amaçlanmaktadır (14, 23).

Sekonder peritonitte cerrahi girişim yöntemleri:

- Klasik tek seanslı girişim; drenajlı ve drenajsız
- Alternatif işlemler
 - Radikal periton debridmanı
 - İntraoperatif + postoperatif devamlı yıkama
 - Abdomenin açık bırakılması
 - Planlı Relaparatomiler

Etkili kaynak kontrolünden sonra, uygun antibiyoterapi yapılan gecikilmemiş vakalarda sekonder peritonitlerin tedavisi oldukça başarılıdır ve mortalite %5 civarındadır. Aksi hallerde ise mortalite %40'a kadar çıkar (24).

II.1.e. Peritonitte Hemodinamik Değişiklikler

Arteriolar düz kaslardaki hücre seviyesinde vasküler tonus ve vasküler bütünlük kaybı, kapiller endotelin hiperpermeabilitesi ve intravasküler volümün transüda tarzda kaçışı, kardiyopulmoner komplikasyonların temel sebebinin oluşturmaktadır (25). Hipotansiyon ve şok, bakteriyel sepsisin iki önemli klinik bulgusudur. Sepsise bağlı hipotansiyonun nedeni büyük ölçüde kan akımı ve kan volümündeki jeneralize dağılım bozukluğu ve kısmen de diffuz kapiller kaçaktır (26). Septik şokun erken döneminde sistemik vasküler direnç genellikle artmıştır. Kardiyak output düşük olabilir. Sıvı replasmanından sonra, tipik olarak kardiyak output artıp sistemik vasküler direnç azalır. Normal veya artmış kardiyak output ve azalmış sistemik vasküler direnç, septik şokun kardiyojenik , ekstrakardiyak obstrüktif ve hipovolemik şoklardan ayırt edilmesini sağlar. Vasküler tonusun azalması ve kapiller kaçış nedeni ile venöz bölümde hareketlenme, kardiyak output ve kalp hızında artış görülmektedir. Bu cevaplar sonucunda ateş, flushing ve taşikardi ile karakter-

rize sıcak şok gelişmiş olur. İleri safhalarda vasküler tonusta azalma, venöz dönüşte azalma ve bunlara bağlı olarak dolaşım yetmezliği görülür. Spesifik myokardiyal disfonksiyon ve preloaddaki azalmaya bağlı kalp yetmezliği ve soğuk şok gelişir (25). Bu vasküler tonustaki regülasyon bozukluğu, nitrik oksit, lipopolisakkarit (LPS) ve enflamatuar sitokinlerin ortaya çıkmasına neden olur. Bunlar, endotele zarar vererek nitrik oksit sentez ve salınımına zemin hazırlarlar. Açığa çıkan nitrik oksit ise; çözünebilir guanilat siklaz üzerinden düz kas hücrelerini etkileyerek cGMP artımına neden olur. Bu da düz kas gevşemesine ve vasküler tonusun azalmasına yol açar. Bu reaksiyon hem sepsisli hastalarda hem de deneysel sepsislerde izlenmiştir (25). Ağır sepsisli hastalarda 24 saat içinde miyokard fonksiyon bozukluğuna bağlı bulgular (artmış diastol sonu ve sistolik ventriküler volüm, azalmış ejeksiyon fraksiyonu) gelişir. Azalmış ejeksiyon fraksiyonuna rağmen, ventriküler dilatasyonla stroke volüm kompanse edilerek kardiyak output sürdürülür. Myokard disfonksiyonu da hipotansiyona katkıda bulunmaktadır; ancak bununla beraber refrakter hipotansiyonun sebebi, genellikle azalmış sistemik vasküler dirençtir. Ölüm tek başına kardiyak disfonksiyondan çok, refrakter hipotansiyon ve multipl organ yetmezliği nedeni ile olur.

II.1.f Peritonitte Oksijen Metabolizması Değişiklikleri

Peritonitli hastalarda, oksijen dağılımında, doku seviyesinde ölçülebilen defekt görülür. Kompanse endotoksemide, oksijen dağılımı artar ancak; oksijenin dokulara alımında zorluklar görülür. Hücre boyutunda anaerobik metabolizma artar, buna bağlı olarak da serum laktat seviyesi yükselir. Anaerobik koşullarda oksijen alımı, oksijen dağılımından bağımsız hale gelmektedir. Çünkü dokular, yalnızca kendilerinin enerji gereksinimini karşılayacak kadar oksijen tüketirler (26). Hipoksi, volüm replasmanı yetersiz

ve düşük kardiyak outputlu septik hastalarda, doku hasarına yol açar. Septik tablodaki hastalarda, vücuttaki kan dağılımı kalp, beyin, iskelet kasları, dalak ve böbreklere doğru eğilim göstermektedir. Özellik taşıyan dokularda oksijen dağılımında defekt görülmekte ve hipoperfüzyon sonucu lokal alanlarda doku nekrozu ve buna bağlı sistemik organ yetmezliği görülmektedir.(27)

II.2. Akut Respiratuar Distres Sendromu (ARDS)

İlk olarak 1967 yılında Asbaug ve arkadaşları tarafından tarif edilen ARDS multi organ yetmezliğinin pulmoner komponentidir ve sepsisin sistemik cevabı olarak ortaya çıkmaktadır (28). ARDS, akciğere direkt veya indirekt bir etki ile gelişen, radyolojik olarak yaygın pulmoner infiltrasyon, kompliansta azalma, pulmoner konjesyon ve oksijen transportunda bozulma ile karakterize akut solunum sıkıntısıdır. Sepsisli hastalarda, barsaktaki anaerob gram(-) bakterilerden ortaya çıkan endotoksinlere karşı mukozal bariyer çalışmamaktadır ve hepatik fonksiyonlar zarar görmüşlerdir. Bu duruma cevaben salınan humoral ve hücrel mediyatörler, ARDS patofizyolojisinin sebebidirler. Direkt bağlantısı olmasa da gastrik içeriğin aspirasyonu, pnömoni, gibi ciddi enfeksiyonlar, travmaya eşlik eden kan kaybı, hipotansiyon, ve masif kan transfüzyonu gibi olaylara akciğerin gösterdiği cevaplar, ARDS gelişimini hızlandırmaktadır. Tedavi, gastrointestinal sisteme ait anormal kolonizasyonun ve endotoksin havuzunun boşaltılmasına yöneliktir (28).

II.2.a. ARDS Fiziopatolojisi

ARDS'nin başlangıç döneminde sepsis gibi hazırlayıcı bir olay hem bağışıklık hücrelerinin, hem de diğerlerinin artmasına ve çeşitli mediatör ve sitokinlerin salınmasına neden olur. TNF α ve IL1, bunlar arasında sayılabilir. Daha sonra nötrofiller gibi efektör hücreler aktif hale gelir, bir araya toplanır ve hedef organlarda birikir. Bu hedef organlar arasında akciğerler de vardır. Monositler ve diğer hücre tiplerinden kaynaklanan IL8, nötrofil aktivasyo-

nunda önemli rol oynar. Efektör hücreler, akciğerlerde bir kez toplandığı zaman oksijen metabolitlerini ve proteazları aktive ederler. Bunlar da hasar fazı sırasındaki hücrel bozukluğa sebep olurlar.

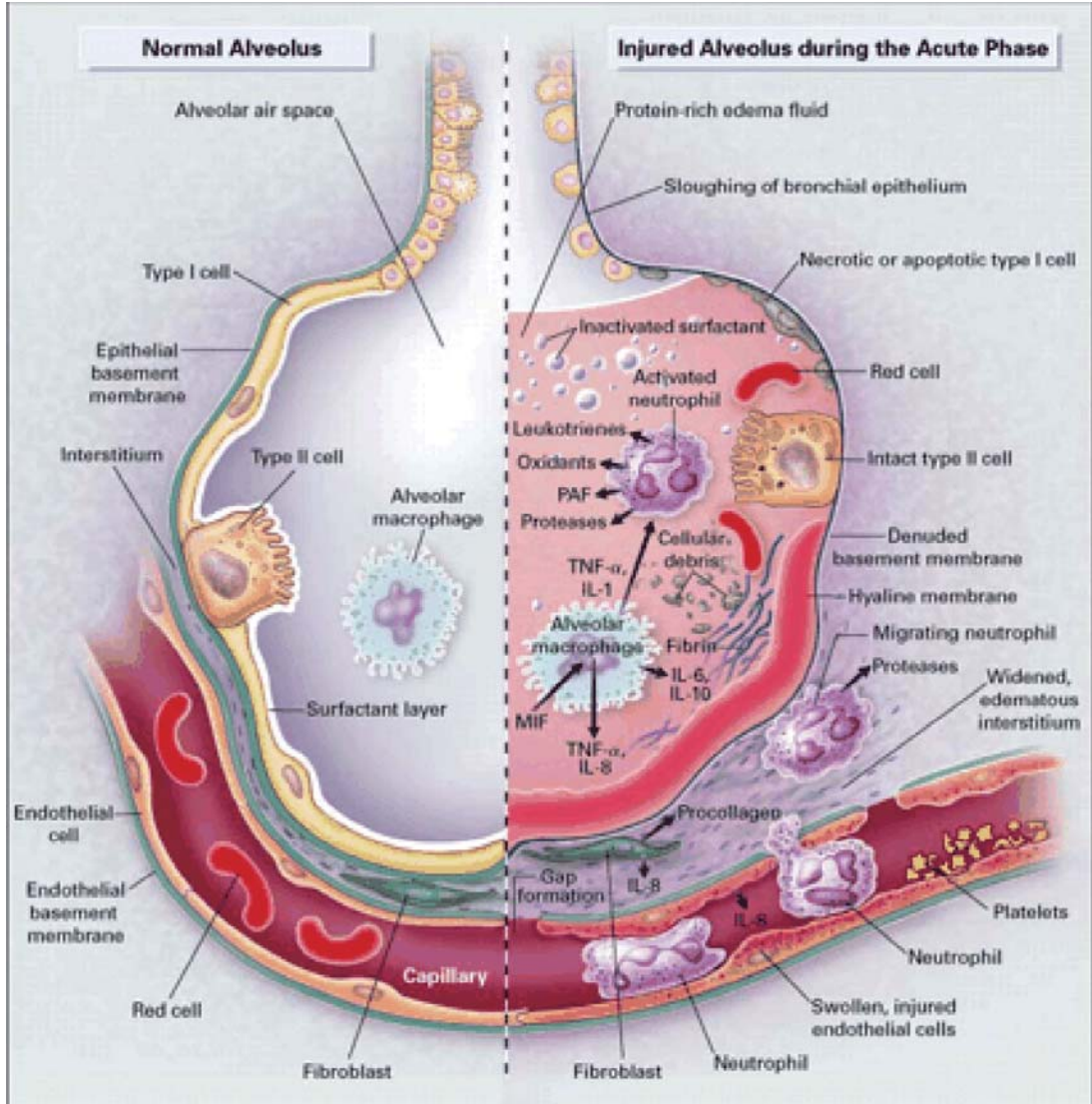
ARDS'nin patofizyolojik belirticisi, proteinler için artmış vasküler permabilitedir. Alveolokapiller membran boyunca sıvı akımı Starling dengesi ile hesaplanmaktadır. ARDS'de hidrostatik basınç gradyenti, daha fazla osmotik gradyente karşı koyamamakta ve alveole doğru akım görülmektedir. Pulmoner kapiller basınçlardaki hafif yükselmeler bile (sepsis durumunda intravasküler sıvı uygulamasında artış ve/veya myokard depresyonu nedeniyle) intertisyel ve alveolar ödemde, büyük miktarda artış ortaya çıkarır. Kompansatuar mekanizmaların gelişmesi (pulmoner lenf drenajının artması) ile intertisyel ödem gelişmekte ve alveoller proteinöz sıvı ile dolmaktadır. Normal alveolar stabilize edici madde olan sülfaktanın, üretim ve fonksiyonu etkilenmektedir (28). İntraalveolar protein koagülasyonu ve buna bağlı alveolar epitelyum hücrelerinin (Tip I pnömositler) nekrozu görülür. Tip II pnömositlerin hasarlanması yüzünden, sülfaktan sentezinin azalması nedeniyle, alveol hasarı daha da artar. Ayrıca mevcut sülfaktanın hacmi, bileşimi ve metabolizmasında da bozulmalar olduğundan dolayı alveol kollapsı gelişir (29). Fibrozis, fibroblast gibi intertisyel enflamatuar hücrelerin birikmesi ile olaydan sonraki 7 gün içinde başlar. Bununla eş zamanlı olarak da pulmoner dolaşımda (vazokontrüksiyon ve pulmoner hipertansiyon ile beraber) trombotik ve mikroembolik hadise oluşur. Küçük hava yolu kompresyonu ve alveolar kollaps nedeni ile akciğer volümünde düşme görülür. Komplians azalır ve fibrozis ilerler. Alveolde yeni şantlar açılır ve hipoksemi gelişir. Daha sonra pulmoner kapiller yatakta obliterasyon ve buna bağlı ventilasyon perfüzyon bozukluğu ve ölü boşlukta artma görülür. Her ne kadar akciğerin atelektazik ve sıvı dolu bölgeleri bir bütün olarak akciğerin kompliansında azalmaya katkıda bulunsa bile, sağlam akciğer kısımları normal mekanik ve gaz değişim özelliklerini sürdürürler. Buna karşın; azalmış pulmoner komplians nedeniyle inspirasyon basınçlarının artması gerekmektedir. Dolayısıyla solunum kasları daha çok çalışır ve solunum işinde artma olur.

II.2.b. ARDS Tanısı

ARDS' ye ait spesifik bulgu olmamasına rağmen, bazı kriterler tanı için önemlidir. Amerika-Avrupa Konsensus Birliği'ne göre bu kriterler;

- 1) Daha önceden bulunan kronik pulmoner hastalık veya sol ventrikül yetmezliği,
- 2) Solunum hızının dakikada 20'den fazla oluşu,
- 3) Pulmoner veya sistemik hastalık hikayesi olmaması,
- 4) Akciğer röntgeninde diffuz pulmoner infiltrasyonun görülmesi,
- 5) Fizyolojik ölçümlerde hipokseminin ($FiO_2 > 0,6$ iken $PaO_2 < 50$ mmHg altında), azalmış torasik kapasitenin (< 50 l/cmH₂O) ve artmış şant fraksiyonunun saptanması (30).

Akut akciğer hasarının derecesinin belirlenmesinde, oksijenizasyon (PO_2/FiO_2 oranı), akciğer filmi, solunum kompliyansı (tidal volüm/hava yolu basıncı-PEEP) ve uygulanması gereken PEEP (PEEP skoru) dikkate alınarak 0-4 arası skor verilen bir değerlendirme kullanılabilir (31).



Şekil 1. Normal alveol (sol taraf) ve ARDS'nin akut fazında hasarlanmış alveol (Sağ taraf) (29)

II.2.c. ARDS Klinik Seyiri

FAZ 1: Erken dönemde hastalarda takipne ve dispne vardır, akciğer filmi normaldir.

FAZ 2: Bronkokonstrüksiyon ve solunum işinde artma olur. Giderek artan siyanoz, hipoksi ve akciğer filminde küçük değişiklikler vardır.

FAZ 3: İnatçı hipoksi (FiO_2 %50 iken $PO_2 < 60$ mmHg) ile karakterize solunum yetmezliği, akciğer kompliyansında belirgin azalma (< 50 cmH₂O), radyolojik olarak iki taraflı diffuz parenkimal infiltrasyon gelişir ve pulmoner kapiller basınç 18 mmHg'dan küçüktür.

FAZ 4: Hipoksi oksijen tedavisine cevap vermez, metabolik ve solunumsal asidoz gelişir (32).

ARDS geliştikten sonra, kardiyak fonksiyon yetersizliği nedeniyle mortalite yüksektir. ARDS ile birlikte gelişen karaciğer yetmezliği mortaliteyi %100'e çıkarır. Böbrekler, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem ve kan tablosu değişik derecelerde etkilenir. Bu organlardan herhangi üçünün 7 günden uzun süreli yetmezliği %98 mortalite ile beraberdir (33).

II.2.d. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksidin akut ve kronik enflamasyon, sistemik enflamatuvar yanıt ve sepsiste rol oynadığını gösteren birçok çalışma vardır. Nitrik oksit vazodilatasyonu artırır, ödem oluşturur ve hassas sinir uçlarını etkiler (34). Tüm bu etkiler, enflamatuvar yanıtın önemli göstergelerindedir.

Otokrin ve parakrin bir hücrel ajan olan NO, normal fizyolojik koşullar ile birçok patofizyolojik durumda, hemostazın sürdürülmesinde önemli bir etkidir. Memelilerde NO'nun varlığı ilk kez 1916'da gösterilmiş, 1985'de ise aktive makrofajlarda NO salgılandığı bulunmuştur (34).

Nitrik oksit, suda ve yağda çözünebilen, solüsyon içinde yarılanma ömrü 30 saniye olan, nitrit ve nitrate okside olabilen renksiz ve stabil bir

gazdır. Tiol grupları ile reaksiyona girerek gerektiği zamanlarda kullanılmak üzere depolanır. NO, L-argininden strilün oluşumu sırasında, L-argininin guanidin nitrojen grubunun hidrosilasyonu ile oluşan ara ürünüdür. Bu reaksiyon, bir dizi Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) enzimi tarafından katalize edilir. Nitrik oksit sentaz enzimleri, yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olmak üzere iki gruba ayrılır. cNOS , vasküler endotelde (eNOS), nöronlarda (nNOS) ve plateletlerde bulunur (35). iNOS kardiyomyositler, hepatositler, nöronlar, mikrogial hücreler, nötrofiller, vasküler endotel ve düz kas hücrelerinde bulunur. cNOS enzimleri, ortamdaki Ca konsantrasyonlarından etkilenirken, iNOS enzimleri etkilenmez.

Nitrik oksit, pankreasın asiner hücrelerinde guanozin 3.5-siklik monofosfat (cGMP) sentezini düzenler. Guanozin 3.5-siklik monofosfat, böbrekler ile düz kasların gevşemesi, ve enterotoksinlerle ilişkili olarak ince bağırsağa sıvı salınımını etkiler (34).

Normal fizyolojik koşullarda; NO konsantrasyonları 100-500 nM düzeylerindeyken endotoksin, α -interferon, IL-1, TNF- α gibi ajanlarla iNOS'un tetiklenmesi sonucunda, düzeyleri yaklaşık 10 kat artar. Hastalık ve sonuçlarına bağlı olarak NO zararlı veya yararlı etkiler gösterebilir (36). Nitrik oksidin serbest oksijen radikalleriyle etkileşimi ve antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalardan elde edilen sonuçlar, çelişkilidir. Aktif makrofajların mikrosidal aktivitelerini, NO aracılığıyla gösterdikleri ileri sürülmekle birlikte, doğru mediatörün NO'dan üretilen nitrojen dioksit (NO₂) gibi ikincil bir oksidan madde olabileceği düşünülmektedir (36). Süperoksidi bağladığı için, NO'nun serbest radikalleri temizleyen koruyucu bir faktör olduğu düşünülmektedir. Süperoksit ile NO reaksiyonunun ürünü olan peroksinitrit (ONOO⁻) ise güçlü ve yarılanma ömrü uzun bir oksidandır. Organizmada peroksinitrit, hidroksil radikali gibi davranan hidrosinitrite (HOONO) dönüşür. Hidrosinitritin parçalanmasıyla yüksek konsantrasyonlarda NO₂ oluşur. Bu reaktif nitrojen bileşikleri; lipidler, DNA, tioller, aminoasitler ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarını bozar, membran bütünlüğüne zarar verir ve DNA mutasyonuna neden olabilir (37). Bunların sonucunda, lipid peroksidasyonu başlar. Artmış nitrik oksit aktivitesi ile ilişkili olan bazı

hastalıklar şunlardır; Septik şok, reperfüzyon hasarı, gastroözofageal reflü, ülseratif kolit, diabetes mellitus, graft versus host reaksiyonu ve allograft rejeksiyonu (36).

Glikokortikoid ve NOS inhibitörleri ile yapılan tedaviler, enflamasyonun şiddetinin azaltılmasında etkili olmaktadır. Bakteriyel endotoksinler iNOS'u uyarır ve düz kas hücrelerinde NO sentezini artırarak venlerde kan göllenmesine ve ödem oluşmasına yol açar. Nitrik oksidin intestinal mukozal kan akımını, mukozal devamlılığı etkileme mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da, defansı sağlayan madde olduğuna inanılır (37). Nitrik oksidin, bakteriyel translokasyonun patofizyolojisinde rolü olduğunu gösteren deneysel çalışmalar vardır. Ayrıca NO inhibitörleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, endotoksine bağlı intestinal hasarın ve plazmaya geçişin arttığı da gösterilmiştir.

Biyolojik sistemlerde üretilen yüksek konsantrasyonlardaki NO'nun zararlı etkileri, üç mekanizma ile gerçekleşir. Bunlardan ilki, NO oksijene benzer şekilde hücre içine geçerek, paylaşılmamış elektronu bulunan bir molekül olduğu için, hücre içinde proteinlerin yapısında bulunan demir gibi geçiş metallerine bağlanması ve ortama serbest demir salınmasına neden olmasıdır. İkincisi, otooksidasyon ile N-nitroso bileşiklerini oluşturarak DNA'ya zarar veren N₂O₃ oluşturmasıdır. Son olarak da nitrik oksit, oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek DNA, proteinler ve hücre membran lipidlerini okside eden peroksinitrit üretir (36). Sepsis gibi patolojik durumlarda, mitokondride oksijen kullanımı ve DNA sentezinin değiştiği bilinmektedir (41). Çoklu organ yetmezliği, ağır sepsisin bir özelliğidir. Etyolojide doku hipoksisinin rol oynadığı düşünülmekle birlikte, kesin mekanizma henüz bilinmemektedir. Nitrik oksit tek başına veya serbest oksijen radikalleriyle birlikte sitotoksik olabilir ve çoklu organ yetmezliğinde rol oynayabilir (38).

II.2.e. Myeloperoksidaz Yapısı ve Özellikleri

Myeloperoksidaz (MPO) enflamasyon ve oksidatif stresin göstergesi olup, memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzimdir, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Enzimin I, II ve III olarak tanımlanmış 3 tipi mevcuttur. Kristal yapısı X ışınlarıyla incelenmiş olup, her MPO molekülünün 2 alt birimden oluştuğu tespit edilmiştir. Toplam molekül ağırlığı 140000D olup, iki uzun iki de kısa poliopeptit zinciri vardır. MPO 1940'lı yıllarda Verdoperoksidaz olarak anılmakta iken sonradan Myeloperoksidaz olarak isimlendirilmiştir. Bir çok enzimde olduğu gibi spesifik inhibitörü de bildirilmiştir; Asidik olarak da bilinen bu inhibitör MPO aktivitelerini bloke etmektedir (39).

MPO'nun *Escherihia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus* ve *Actinobacillus actinomyetem-comitains* üzerine kesin bakterisidal etkisi vardır (41).

Bir çalışmada, *Klebsiella pnömonia* ile infekte edilen farelerin periton sıvılarında, MPO aktivitesini gösteren bir belirteç olan 3-klorotirosin seviyeleri artmış olarak bulunmuştur (42). Benzer olarak Yao ve arkadaşları Zymosan ile peritonit geliştirilen ratların asit sıvılarında MPO aktivitesinin arttığını göstermişlerdir (43).

Nötrofiller ve monositler bakterilerin öldürülmesi için, hem oksijen bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmaları kullanırlar. Oksijen bağımlı mekanizmalar, MPO sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan bir başka sistemi içerirler. MPO, fagositik hücrelerde bulunan bir enzimdir (44). Polimorf nüveli lökositlerin (PNL) azurofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. Diğer enflamatuvar hücreler olan monosit ve makrofajlarda çok az miktarda bulunur veya hiç bulunmaz. Bu yüzden MPO aktivitesinin ölçümü dokuya PNL toplanmasını göstermede oldukça yararlıdır (45).

Myeloperoksidazın görevi, nötrofiller tarafından fagosite edilen bakterileri sindirecek ürünleri oluşturan bazı tepkimeleri katalizlemektir. Nötrofillerin

mikrobisid aktivitesinde MPO'nun rolü, hidrojen peroksidin varlığında halojenleri oksitleyerek hipohalöz asitleri oluşturmaktır. Hipohalöz asitler ve serbest radikaller mikroorganizmalara karşı toksiktir (46).

Nötrofillerin aktivasyonu büyük miktarda O₂⁻, H₂O₂ ve OH⁻ salınımına neden olur. Bunların MPO ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan HOCL ve N-kloraminler sitotoksik etkiyi başlatır. Ayrıca nötrofil sitoplazmasındaki granüllerde bulunan proteaz yapısındaki enzimler de (elastaz, kollajenaz ve katepsin) doku hasarına katkıda bulunur (47).

II.2. f. Malondialdehid Yapısı ve Özellikleri

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Reaktif oksijen radikalleri ile hücre membran fosfolipidlerinin yapısını oluşturan poliansatüre yağ asitleri, reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini oluşturur. Bu olaya lipid peroksidasyonu denir. Lipid hidroperoksidasyonu sonucu aldehit, pentan, etan gibi ürünler oluşur. Bunlardan en toksik olanı aldehitlerdir. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. Dokudaki ve kandaki MDA seviyesi lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. MDA, hücre için çok toksik bir molekül olup aynı zamanda mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşik olarak kabul edilir. Bu özellikleri ışığında lipid peroksidasyon ana ürünü olan MDA oksidatif stresin şiddeti ve niteliğinin incelenmesinde kullanılan belirleyicilerden biridir. Malondialdehid yükselmesi, serbest oksijen radikallerinin etkisi ile artmış lipid peroksidasyonunu gösterir.

II.3. Probiyotikler

Normal ve sağlıklı bir bireyin intestinal florasında yaklaşık 500 farklı mikroorganizma dinamik bir denge içerisinde yaşamaktadır. Bu denge stres, diyet değişikliği, yaşlılık, antibiyotik kullanımı nedenleriyle zararlı mikroorganizmalar lehine bozulabilir. Böyle durumlarda dengenin tekrar toparlanması için gene mikroorganizmalardan yararlanılabilir. Barsak florasında bulunan, probiyotikler olarak isimlendirilen bu mikroorganizmaların canlıyı patojenlerden korumak, sindirime yardımcı enzimler üretmek ve savunma mekanizmasını desteklemek gibi yararlı etkileri vardır. Probiyotiklerden en önemlileri Lactobacillus, Enterococcus ve Bifidobacterium cinsleridir .

Flora bakterilerinin canlılar üzerindeki olumlu etkileri ilk kez 1908 yılında Nobel ödüllü araştırmacı Elie Metchnikoff tarafından fermente gıda tükemi fazla olan Bulgar çiftçilerin sağlıklı ve uzun ömürlü olmalarının farkedilmesi ile ortaya atıldı. Mazisinin bu kadar eski olmasına rağmen bu yönde çalışmalar ancak son 10 yılda hız kazanmıştır. Probiyotik kelimesi Latince kökenlidir ve "yaşam için " anlamına gelmektedir. Bu isim ilk kez 1965 yılında Lily ve Stillwell adlı araştırmacılar tarafından diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeleri tanımlamak için kullanılmıştır (48). 1974 yılında Parker probiyotik kelimesinin tanımını; intestinal sistemin mikrobiyal dengesine katkıda bulunan madde ve organizmalar olarak geliştirmiştir. Son olarak ise avrupalı bilim adamları tarafından insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan probiyotikler; vücuda alındığında konakçının gastrointestinal florasına olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlamıştır (49). Probiyotik ürünler denince ise içerisinde konakçı sağlığı üzerine olumlu

etkileri olan mikroorganizmaları içeren, çeşitli enzim, vitamin ve aroma bileşenleri ile desteklenen diyet destekleyicileri anlaşılmaktadır.

Probiyotik olarak üretilen mikroorganizmalar FDA tarafından GRAS (Generally Recognised As Safe) olarak tanımlanmış mikroorganizmalardır. Probiyotik amaçla kullanılacak bakterilerin, konakçı canlıya hiçbir zararı bulunmamalıdır. Bu çalışma dahilinde kullanılan Laktobasil cinslerinin probiyotik özelliği kanıtlanmış ve FDA tarafından GRAS olarak kabul edilmiştir. Laktik asit bakterileri içerisinde yer alan Lactobasillus cinsi üyeleri: düzgün ya da kıvrımlı uzun çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen ve gram pozitif mikroorganizmalardır. Enerji ve karbon kaynağı olarak karbonhidratların yanı sıra nükleotidler, amino asitler ve vitaminlere de ihtiyaç duyarlar. Laktobasiller başlangıç pH'sı 6,4-6,5 olan az asidik besiyerlerinde iyi gelişirler. Optimum gelişme mikroaerofilik ve anaerobik koşullarda olur ve karbondioksit konsantrasyonunun artması gelişmeyi teşvik eder (50).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak isimlendirilebilmesi için aranan özellikler şunlardır:

- Alındığı anda yeterli sayıda canlı mikroorganizma içermeli,
- Gastrointestinal sistemde geçici olarak kolonize olabilmeli,
- Normal florayı bozmadan patojen bakterileri etkilemeli,
- Patojenlerin çoğalmasına karşı antagonist olarak asit, hidrojen peroksit ve bakteriosin üretmeli,
- Güvenli olmalı, invazif olmamalı, karsinojenik ve patojenik özellik taşımamalı,
- Sağlığı olumlu etkileyecek şekilde mukozal immun sistemi ve mümkünse sistemik immun sistemi uyarabilmeli (51).

Probiyotik mikroorganizmaların konakçı canlıya muhtemel etki mekanizmaları şu şekilde özetlenebilir:

1. İnhibe edici maddeler üreterek: Probiyotikler gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalar üzerine etkili birçok madde üretmektedirler. Bunlardan bazıları organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosin ve bakteriosin benzeri maddelerdir.

2. Tutunma bölgelerini bloke ederek: Probiyotikler tutunma bölgeleri için bakterilerle yarışa girerler ve intestinal sisteme yerleşmelerine engel olurlar.

3. Besin maddeleri için rekabete girerek: Probiyotikler patojenler için de gerekli olan besin maddelerini tüketerek, onların sistemde uzun süre kalmalarını engellemektedirler. Ancak bu mekanizmanın kanıtlanabilmesi için in-vivo verilere ihtiyaç vardır.

4. Toksin reseptörlerini yıkarak: Bu mekanizma hayvanlarda S.boulardii'nin intestinal mukozada bulunan C.defficile'nin toksin reseptörlerini parçalayarak konakçıyı koruması nedeni ile ortaya atılmıştır (52).

5. Bağışıklık sisteminin güçlendirirerek: Son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin spesifik ve nonspesifik bağışıklık sistemini güçlendirerek intestinal hastalıklara karşı konakçıyı koruduğunu ortaya koymuştur (53). Bu mekanizma tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen spesifik hücre duvarı komponentlerinin ve hücre yüzeylerinin adjuvan etki gösterdiği ve humoral immun yanıtı güçlendirdiği düşünülmektedir.

Probiyotiklerin immun sistem üzerindeki etkilerini, zararlı enflamatuvar yanıt oluşturmada yapmaları oldukça önemlidir.

Probiyotikler:

- Mukoza ilişkili lenfoid dokuyu aktive ederler,
- Tip 1 T Helper hücrelerini stimüle ederler,
- Fagositlerin ve Natural Killer hücrelerinin aktivitesini artırırlar,
- NO yapımını stimüle ederler,
- Sitokin yanıtını düzenlerler,
- Büyüme ve regenerasyonu stimüle ederler,
- Apoptozisi stimüle ederler,
- Antioksidan etkileri stimüle ederler,
- Endotoksin oluşumunu azaltırlar,
- IgA yapımını stimüle ederler, IgE yapımını baskırlar (54, 55, 56).

Laktobasillerin hidrojen peroksit ve pH düşmesine sebep olan asidik son ürünlerinin birikimi, Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri de içine alan geniş bir inhibitör etki meydana getirmektedir. Zayıf asitlerin düşük pH'da, nötral pH'ya göre daha fazla antimikrobiyal etkiye sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu durumda asetik asit düşük pH ortamı sağlayarak bakteri gelişimini önler ve yapılan çalışmalar asetik asit ve laktik asit karışımının sinerjistik etki ile özellikle *Salmonella typhirium* gelişmesini azaltığı gösterilmiştir.

Probiyotik bakterilerin canlıların barsaklarında bulunmaları halinde, bağışıklık sistemini uyardıkları ve kuvvetlendirdikleri belirtilmiştir (57). Probiyotik özellikteki laktik asit bakteri suşları ile fermente edilen süt ürünlerinin tüketilmesiyle, bağışıklığı arttıran peptidlerin üretiminde artış olduğu ve bunlardan bazılarının antitümör özelliğe sahip oldukları belirlenmiştir. Bağışıklık sisteminin uyarılması yoluyla serumda IgA gibi antikorların artması sonucunda virus, *Clostridium*, *E. coli* gibi patojenlere karşı vücudun dirençliliğinin arttığı kaydedilmiştir (58). Son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin, spesifik ve spesifik olmayan bağışıklık sistemini güçlendirerek, bağırsak hastalıklarına karşı konakçıyı koruduğunu ortaya koymuştur (59). Barsaklarda aminlerin ve amonyağın emilmesini zorlaştırırlar. Bu da kanser oluşumunda, tansiyon ve kolesterolün yükselişinde etkili olan nitrozaminlerin serumda artışına neden olur. Probiyotik bakteriler enterik bakterilerin aktivitelerini engelleyerek, serumda nitrozaminlerin artışını dolaylı olarak önlerler. İstenmeyen birçok bakteri türünün, barsaklarda gıdalarla alınan karsinojenlerin öncül maddelerini aktive eden enzimleri üreterek, aktif kanserojen maddelerin oluşumuna neden oldukları belirtilmiştir. Probiyotik bakteriler, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ederek bu enzimlerin oluşmasını engellerler. Araştırmalar, diyetin bileşiminde bulunan besinlere bağlı olarak kanser oluşumunun arttığını veya azaldığını göstermiştir (60).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Ege Üniversitesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarı'nda, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneylei Yerel Etik Kurulu'nun 16.06.2009 tarihli 112-1 numaralı onay kararı ile yapıldı.

Çalışmada ortalama ağırlıkları 250-300 gr kırk adet, erkek, Wistar albino rat rastgele seçildi ve dört gruba ayrıldı. Tüm hayvanlar su içmekte ve %4,5 organik lifli rat besini yemekte serbest bırakıldı.

II.1.Hayvan Grupları

- Grup I : Çekal Ligasyon Perforasyon (ÇLP) uygulanan ratlara 1 ml serum fizyolojikte çözünmüş dört çeşit LAB'ın 10^{11} adeti (1 ml) intraperitoneal olarak uygulandı.
- Grup II : ÇLP uygulanan ratlara 1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.
- Grup III : Sadece laparotomi yapıp, ÇLP uygulanmayan kontrol grubuna, 1ml serum fizyolojikte çözünmüş dört çeşit LAB'ın 10^{11} (1 ml) adeti intraperitoneal olarak uygulandı.
- Grup IV: Sadece laparotomi yapıp, ÇLP uygulanmayan kontrol grubuna 1ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.

Akciğer hasarı; akciğer dokusunda Polimorfonükleer Lökosit (PNL) infiltrasyon düzeyi, Myeloperoksidaz (MPO), Malondialdehid (MDA), Nitrik oksit (NO), indüklenbilir Nitrik Oksit Sentetaz (iNOS), endotelial Nitrik Oksit Sentetaz (eNOS) düzeyleri; kan örneklerinde NO düzeyleri tespit edilerek gösterildi ve tedavi uygulanan gruplarla uygulanmayan grupların sonuçları karşılaştırıldı.

III.2.Laktik asid Bakteri Karışımı

Çalışma için LAB karışımı Synbiotic 2000 Forte™ (S2000F) diye isimlendirilen, sinbiyotik bir kompozisyonla hazırlandı. Karışımda dört çeşit LAB kullanıldı ki bunlar; 10^{11} *Pediococcus pentosaceus* 5-33:3, 10^{11} *Leuconostac mesenterioides* 32-77:1, 10^{11} *Lactobacillus paracasei* subparacasei 19 ve 10^{11} *Lactobacillus plantarum* 2362. Her dozda 400 milyar LAB bulunmaktadır. Ek olarak karışımda dört biyoaktif organik lif; 2,5 g β Glukan, 2,5 g inulin, 2,5 g pektin ve 2,5 g dayanıklı nişasta; yani her dozda toplam 10 gr olacak şekilde LAB dışı lif bulunmaktadır. Bu karışım 350 den fazla insan ve 180 den fazla bitki türü üzerinde yapılan geniş çalışmalardan sonra Lund Üniversitesi'nde, mikrobiyolog Ljungh ve Kruszevska (61, 62) tarafından geliştirildi.

Dört LAB'da farklı fonksiyonlara sahipler ve aynı kombinasyona konulduklarında da birbirlerinin potansiyalize edici/sinerjist etki gösteriyorlar. S2000F , Medipharm Kageröd Sweden ve Des Monies, Iowa USA tarafından üretilmektedir.

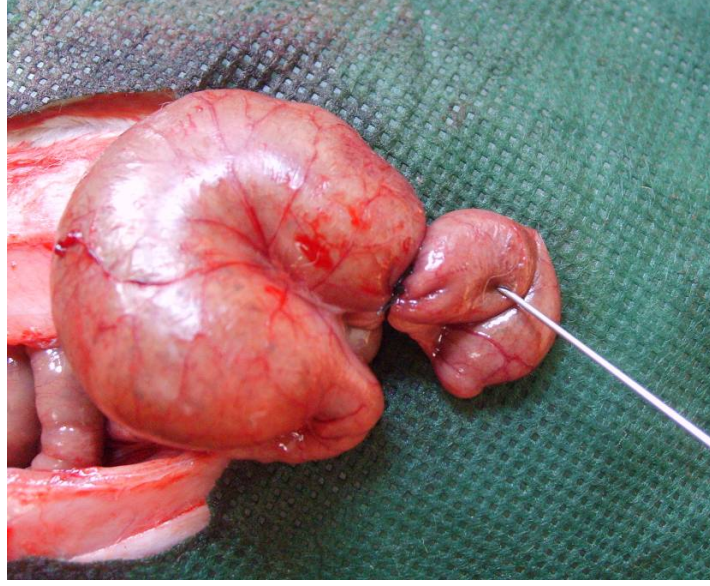
III.3.Bakteri Solüsyonlarının Hazırlanması

Lactobacillus paracasei, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostac mesenterioides* stok kültürleri ve *Pediococcus pentosaceus* türleri Medipharm, Kageröd Sweden'dan temin edildi. Hazırlanış prosedürü CBÜ Bakteriyoloji Laboratuvarı, Manisa/Türkiye'de uygulandı. Her LAB türünün kültüründe BACTEC 9120 sistemi (Becton Dickonson, USA) kullanıldı ve alt kültürler

BACTEC şişelerinden, MRS Agar (Oxoid, UK) kullanılarak hazırlandı. Petriler bir gece microaerofilik ortamda 37°C'de inkübe edildi. Her bakteriyel koloni steril serum fizyolojik solüsyonu içinde ayrı ayrı tüplere yerleştirildi. Bakteriler, tüpler santrifüj edildikten sonra toplandı ve serum fizyolojik solüsyonu ile üç kez yıkandı. Daha sonra 1 ml'de 10¹¹ bakteri olacak şekilde serum fizyolojik solüsyonları içine tekrar ayrıldılar. Bakteri konsantrasyonları spektrometre (UV 1601, Shimadzu Corporation, Japan) ile ilk ölçümlerde 620 nm yoğunlukta ölçüldü. Bakteriyel karışım elde etmek için her 10¹¹ CFU/ml'lik LAB türü tüpünden 0,25 ml solüsyon alınarak, tek tüpte karıştırıldı ve 1 ml'lik LAB karışımı elde edildi. Stok kültürler, MRS Agarda 4°C'de saklandı. Deney yapılacağı zaman bu petrilere genç kültürler tekrar elde edildi.

III.4.Cerrahi Teknik

Tüm hayvanlara 75 mg/kg Ketamine (Ketelar, Eczacıbaşı, Türkiye) intramuskuler (i.m.) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rhompun %2, Bayer, Almanya) i.m. uygulanarak anestezi sağlandı. Batın orta hatta yaklaşık 3 cm kesi yapılarak peritoneal boşluğa girildi. Akciğer hasarına sebep olacak olan peritonit Chaudry ve arkadaşları (63) tarafından tarif edilen çekal ligasyon ve perforasyon tekniğinin bir modifikasyonu uygulanarak oluşturuldu (Resim 1). Batına girildikten sonra çekum bulundu ve insizyonun arasından çıkartıldı. Mesenterin avasküler kısmına insizyon yapılarak çekum ileoçekal valv yakınında 3/0 ipek suturele bağlandı ve intestinal devamlılık önleildi. 18 gauge iğne kullanılarak çekum antimesenterik yüzünden iki kez perfore edildi, sonrasında kolon tekrar abdomene yerleştirildi. Daha sonra 1 ml saline solüsyonu veya 1 ml LAB karışım solüsyonu batına verilerek abdominal insizyon kapatıldı. 24 saat sonra hayvanlar tekrar opere edildi ve batın açılarak intrakardiyak kan örnekleri ve akciğer doku örnekleri alındı. Örnekleme prosedüründen sonra hayvanlar sakrifiye edildi ve dokular çalışma için saklandı.



Resim 1 : Çekal Ligasyon-Perforasyon Tekniği

III.5.Histolojik Çalışma

III.5.a. Doku Toplama ve Fiksasyon

Akciğer dokusu örnekleri 48 saat %10 formalinde fikse edildi. Daha sonra musluk suyuyla yıkandı ve rutin parafinizasyon işlemi uygulandı. 5µ kalınlığında kesitler alınarak, bloklar hem histokimyasal hem de immunohistokimyasal çalışma için hazırlandı.

III.5.b. Histokimyasal Çalışma

Parçalar bir gece 60°C ısı altında tutularak deparafinize edildiler ve daha sonra bir saat Xylene'e batırıldılar. %100, %95, %80, %70 ve %60'lık etanol serilerinde her konsantrasyonda 2 dakika bekletilip sonra musluk suyunda yıkanarak rehidrate edildiler. Parçalar Hemotoxylin-Eosin (H-E:01562E, 0162, Surgipath, Bretton) ile muamele edildiler. Kesitler lam üzerine entellen (UN 1866, Merck) kullanılarak yerleştirildi ve lamel ile üzerleri kapatılarak Olympus BX-40 (Tokyo, JAPAN) ışık mikroskobu altında incelenerek fotoğrafları çekildi.

III.5.c. İmmunhistokimyasal Çalışma

Parçalar 60°C'de bir gece inkübe edilip Xylene içerisinde 30 dakikada deparafinize edildiler. Artan yüzdeli etanol serilerinde ıslatıldıktan sonra distile su ve fosfat bazlı salin solüsyonunda (PBS) 10 dakika yıkandılar. Daha sonra 37°C'de 15 dakika boyunca 50nm Tris buffer'da (pH:7,5), %2 tripsine maruz bırakıldılar ve sonra PBS ile yıkanarak, özel bir kalemle (IM 3580, İmmunotech, France) işaretlendiler ve endojenöz peroksidaz ile hibridizasyon amaçlanarak, 15 dakika %3 H₂O₂ solüsyonunda inkübasyondan sonra PBS ile yıkandılar ve 1 saat bloklama solüsyonunda (TA-125-UB, Lab Vision, Fremot, CA) inkübe edildiler. Örnekler iNOS (iNOS-1:100 dilüsyon, RB-1605, Neomarks, Fremont, CA) ve eNOS (eNOS-1:200 dilüsyon RB-1711, Neomarks, Fremont, CA) belirlenmesi için primer antibodyler ile, 18 saat; biyolojik olarak küçültülmüş IgG (Zymed tarafından kullanıma hazır sunulur) ile ise 30 dakika inkübe edildiler. Ardından üç kez PBS ve Streptavidin-peroksidaz konjugat (Zymed tarafından kullanıma hazır sunulur) (85-9043 Histostatın-Plus Bulk Kits, Zymed, San Francisco, CA) ile 30 dakika yıkandıktan sonra, tekrar PBS ile yıkandılar. Daha sonra parçalar immuno durumunun izlenebilmesi için 5 dakika boyunca Diaminobenzidine (DAB) içeren solüsyonda ve son olarak 3 dakika Mayer'in Hemotoksilin (72804E, Microm, Walldrof, Germany) solüsyonunda inkübe edildiler. Sonra üç kez distile su ile yıkanarak medium (AML060, SCYTEK Laboratuarları, Logen, UTAH, USA) ile lam üzerine yerleştirildiler. Negatif immunohistokimyasal kontrol örnekleri de daha önce tarif edildiği gibi hazırlandı ancak primer antibody yerine tavşan ve fare IgG'leri ile inkübe edildiler. İşaretlenme yoğunluğu aşağıdaki cetvele göre belirlendi ;

Hafif: (+), Orta: (++) , Güçlü: (+++)

III.5.d. Biyokimyasal Analiz

İntrakardiyak kan örnekleri 4°C'de santrifüj edildi ve plazmaları ayrılarak -70°C'de saklandı. Akciğer dokusunun protein konsantrasyonları ve MPO, MDA ve NO değerlerinin kantitatif ölçümünün yapılması için Lowry'in metodu kullanıldı.

III.5.e. Myeloperoksidaz Ölçümü

Akciğer dokularındaki PNL infiltrasyonunun ölçümü için doku MPO düzeylerine bakıldı. Örnekler alındıktan sonra iki kez soğuk serum fizyolojik ile yıkandı ve sıvı nitrojende dondurularak biyokimyasal analize dek -80°C'de saklandılar. Donma derecesinde % 0,5 Hexadeyl-tirmehly amonyom bromid içeren 50 nM Potasyum fosfat solüsyonunda pH 6 da iki dakika süre ile 5000 rpm'de homojenize edildiler. Homojenat +4°C'de, 60 dakika, 5000xg'de santrifüj edildi ve supernatant kısmı örnek olarak kullanıldı. MPO aktivitesi 25 nM 4-aminoantipyrine/%2 ferol solüsyonu kullanılarak tespit edildi. Absorbans değişiklikleri 510 nM'de her dakika kaydedildi. Bir ünite MPO aktivitesi 25°C'de 1µmol H₂O₂ azaltan enzim aktivitesi olarak belirlendi. Akciğer doku örneklerinde protein mU/g, serum örneklerinde ise U/l olarak belirtildi.

III.5.f. Malondialdehid Ölçümü

Akciğer dokusundaki lipid peroksidasyonu, MDA düzeyi ölçülerek saptandı. Homojenat 20 mg kuru donmuş dokuya 1,5 ml soğuk %0,001 hidroksi tolvén ve %0,07 sodyum dodocyl sülfat içeren salin solüsyonunda , Potter tipi cam homojenizer kullanılarak biçimlendirildi. Salin hidrotoluen solüsyonu her kullanımdan önce 10 dakika nitrojen gazı ile havalandırıldı. Homojenatın hemoglobin kontaminasyonundan kurtulması için, 3/2 oranında etanol/kloroform karışımına maruz bırakıldı. MDA ölçümü Thiobarbütirik asid ile kolometrik reaksiyon kullanılarak ölçüldü. Homojenatın protein konsantrasyonu Lowry metodu ile hesaplandı. Akciğerin MDA konsantrasyonu nmol/mg

protein olarak saptandı. Serum MDA konsantrasyonu ise Yagi metodu kullanılarak nmol/ml olarak hesaplandı.

III.5.g. Nitrik Oksit Ölçümü

Nitrit (NO₂) ve Nitrat (NO₃) dokulardaki NO ürünleridir. Bu nedenle akciğer doku örneklerinde stabil NO metabolitlerinin (NO₂ ve NO₃) konsantrasyonları ölçüldü. Nitrit ve nitrat ölçümleri Griess reaksiyonuna dayanır. Örnekler Smogyi ajanı ile deproteinize edildiler. Total nitrit saptanması için; örnekler nitrit ve nitrata ulaşmak için gliserin içerisinde pH 9,7'de kopperize cadminyumla muamele edildi. Temizleme işleminden sonra örnekler taze ayıraçla karıştırıldı ve spektrometrede total nitrit konsantrasyonları ölçüldü. Sodyum nitratın seri dilüsyonlarında standart eğri elde edildi. Denklem çözülmesinde bilinmeyen örnek konsantrasyonlarının toplamı kullanıldı. Sonuçlar, akciğer dokusunda nmol/mg protein ve serum örnekleri için µmol/ml olarak belirlendi.

III.6. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 16.0 for Windows" (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) paket programı kullanılarak yapıldı. Parametrik verilerin kendi içerisindeki dağılımlarının istatistiksel analizi tek yönlü varyans analiz testi olan ANOVA ile, gruplar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi Post Hoc çoklu karşılaştırma testi olan TUKEY ile yapıldı. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

IV.1. Histokimyasal Bulgular

Akciğer dokusundaki polimorfonükleer lökosit (PNL) ve makrofaj infiltrasyonu LAB uygulanmayan sham grubunda (Grup 4) tüm diğer gruplara göre anlamlı derecede fazlaydı. PNL infiltrasyonu, özellikle tedavi uygulanmayan ÇLP grubunda (Grup 2) yüksek ve LAB ile tedavi uygulanan Grup 1 ve Grup3 de ise anlamlı derecede az saptandı. LAB ile tedavi edilen hayvanlarda PNL infiltrasyonunun çok az olmasına ek olarak intertisyel alanda genişleme de izlenmedi (Resim 2). Akciğer dokusunda ki PNL infiltrasyonu mikroskopik olarak Hafif: + , Orta: ++ , Güçlü: +++ olarak derecelendirildi. İstatistiksel analiz yapılırken PNL infiltrasyonu olmayan örneklere 0; + olanlara 1; ++ olanlara 2 ve +++ olanlara 3 sayısal değeri verildi (Tablo 1, Grafik 1).

Tablo 1: Akciğer PNL infiltrasyonu

GRUP	Grup1	Grup2	Grup3	Grup4
PNL İnfiltrasyonu (ort±SD)	1.10±0,73	1,70±0,67	1,10±0,73	2,70±0,48

Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası şeklinde verilmiştir

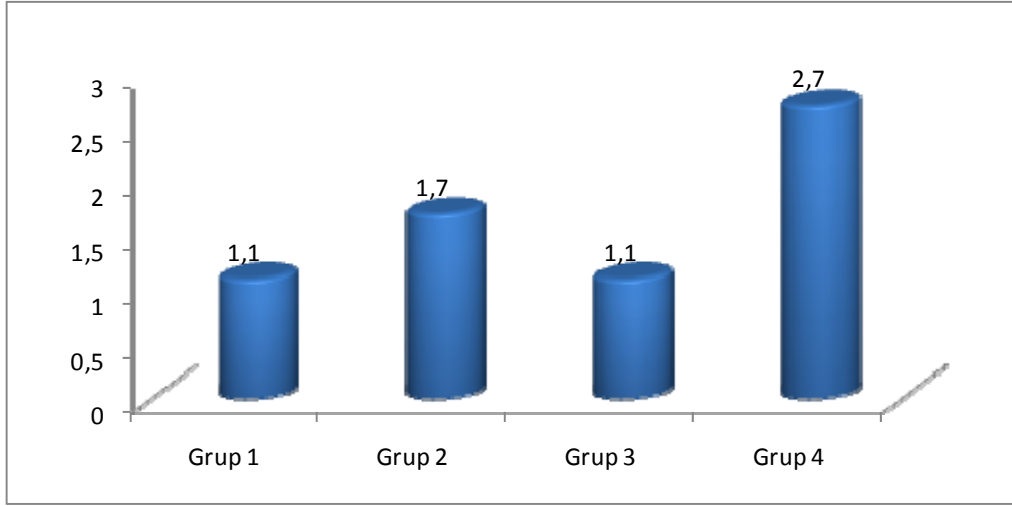
p< 0,05 Grup 1 vs 4

p< 0,05 Grup 2 vs 4

p> 0,05 Grup 2 vs 3

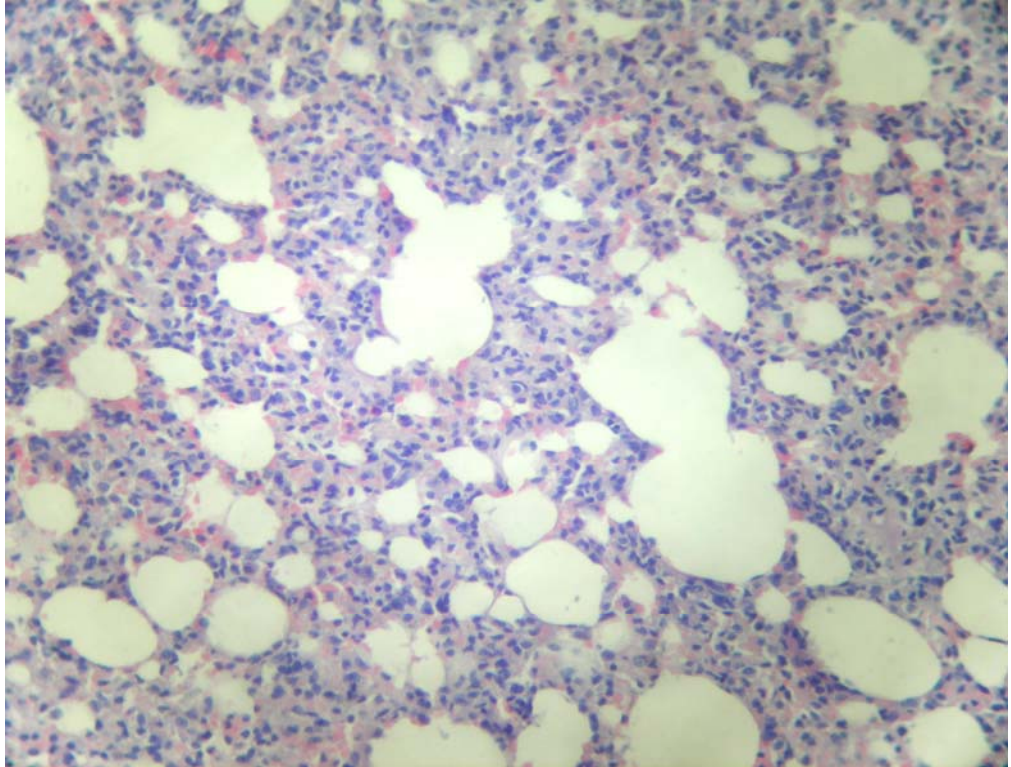
p< 0,05 grup 3 vs 4

p< 0,05 tüm gruplar arası

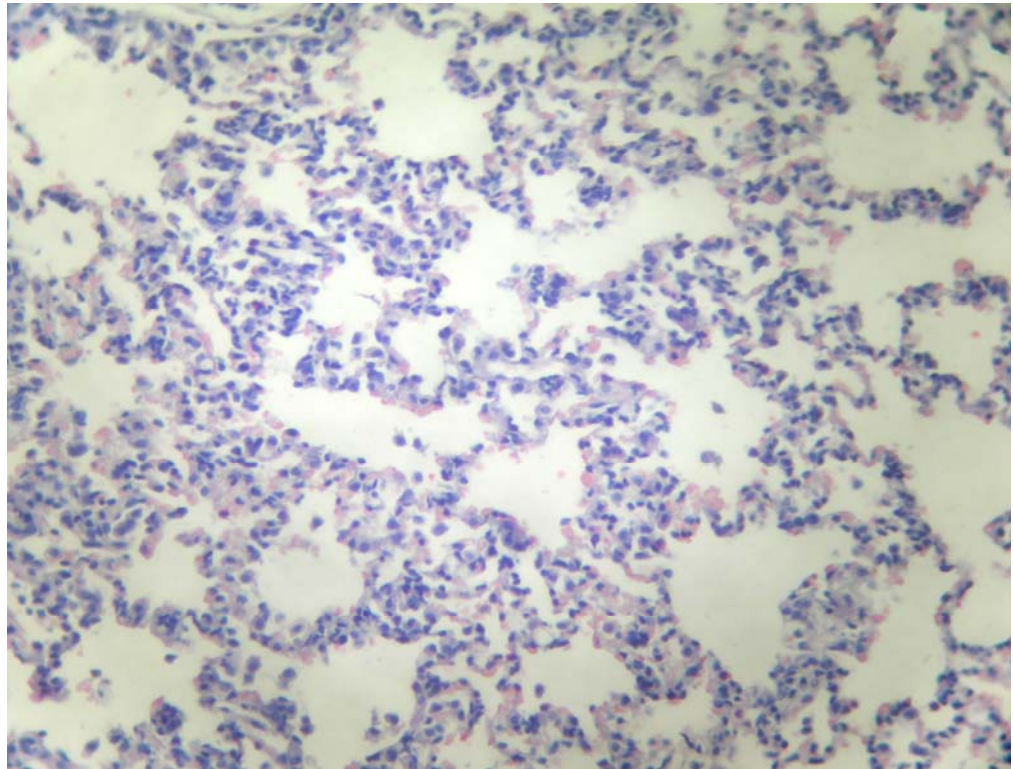


Grafik 1: Akciğer PNL infiltrasyon düzeyleri

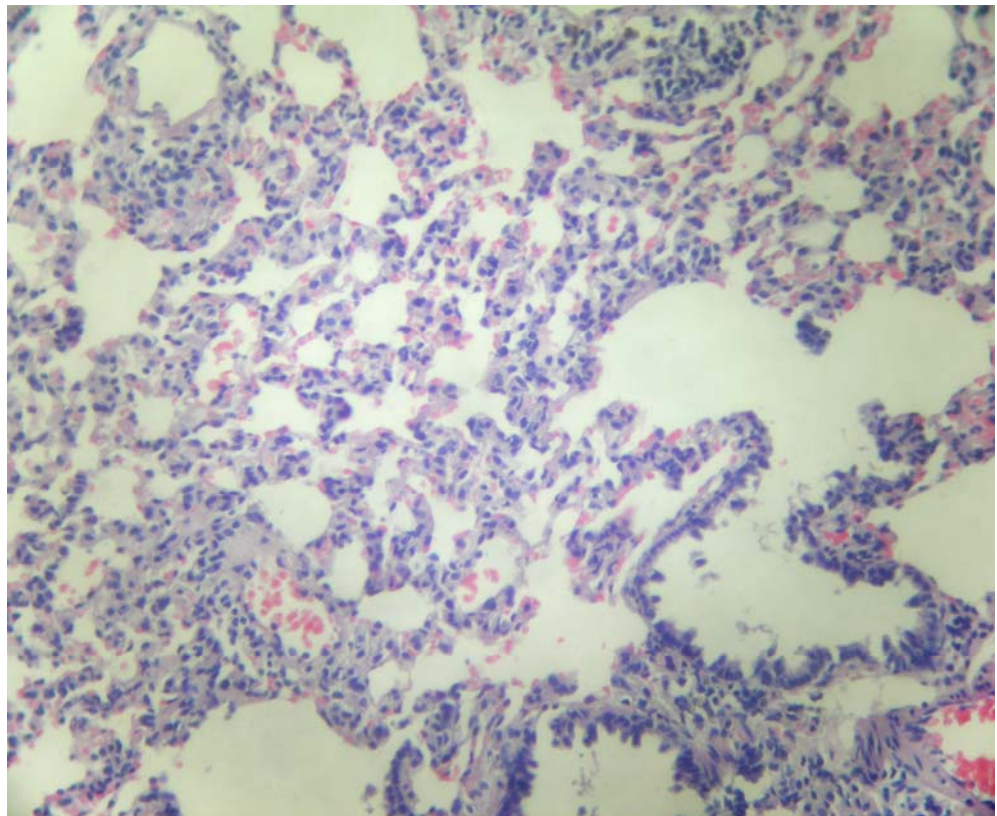
Resim-2: Akciğer dokusu Hemotoxilen Eosin boyamaları
Grup 1



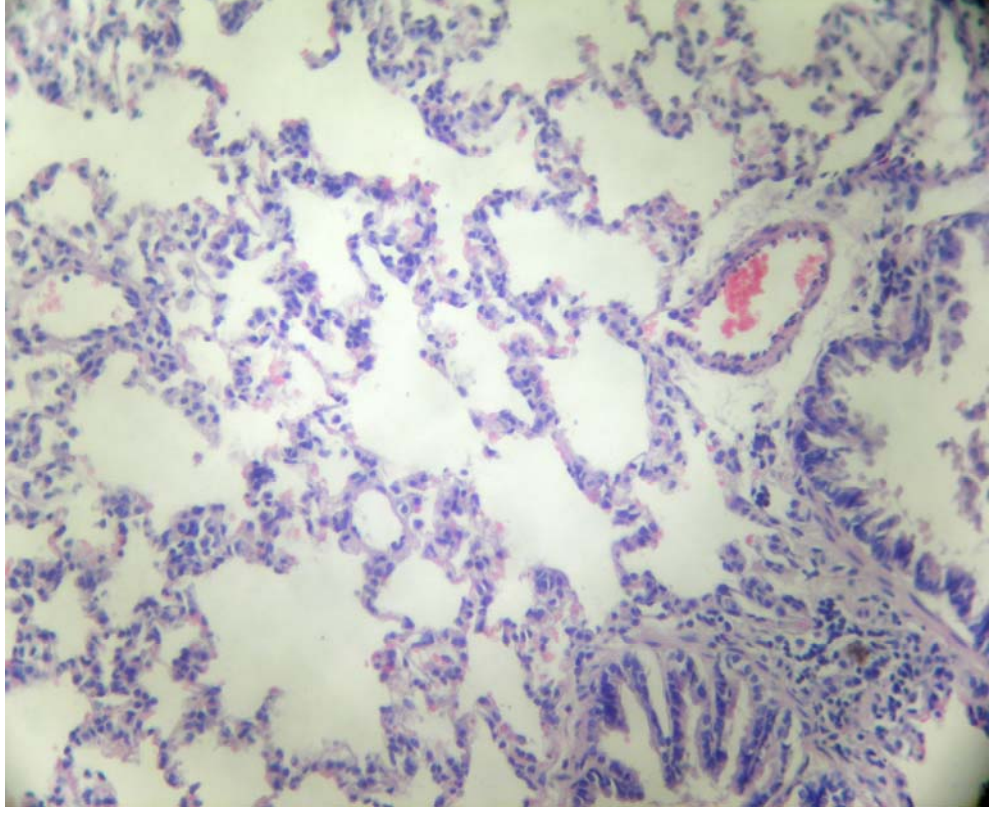
Grup 2



Grup 3



Grup 4

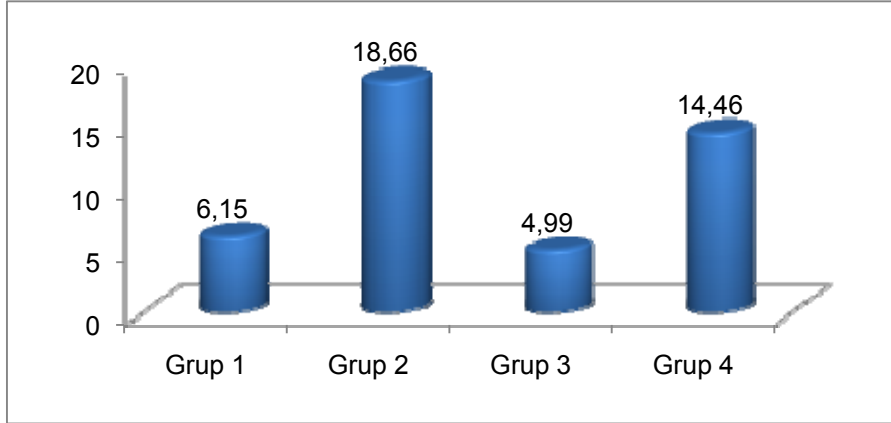


IV.2.İmmunhistokimyasal Bulgular

İmmunoreaktivite, akciğerin hem intertisyel dokusunda hem de alveolar hücrelerinde gözlemlendi. Hem iNOS hem de eNOS immün reaktiviteleri tedavi uygulanmayan ÇLP'li hayvanlarda (Grup 2) çok güçlüydü (+++), ancak kontrol grubunda (Grup 4) oldukça zayıftı (+). iNOS ve eNOS immünoreaktiviteleri kontrol grubunda da (Grup3) çok zayıftı (+) veya yoktu. LAB'ler ile tedavi uygulanan hayvanlarda (Grup 1), iNOS immünoreaktivitesi güçlü (+++) seviyede ve eNOS immünoreaktivitesi ise orta (++) seviyede saptandı. Bu hayvanlarda iNOS dağılımı özellikle akciğerin intertisyel hücrelerinde güçlü seviyede gözlemlendi.

IV.3. Myeloperoksidaz Bulguları

ÇLP uygulamasından 24 saat sonra, akciğer dokusu MPO (LMPO) aktivitesi, PNL infiltrasyon indikatörü olarak LAB ile tedavi uygulanan gruplarda anlamlı derecede düşüktü. LAB ile tedavi uygulanan 2 grubun (Grup 1 ve Grup 3) LMPO aktiviteleri ortalamaları arasında anlamlı derecede fark bulunmadı (Grafik 2).



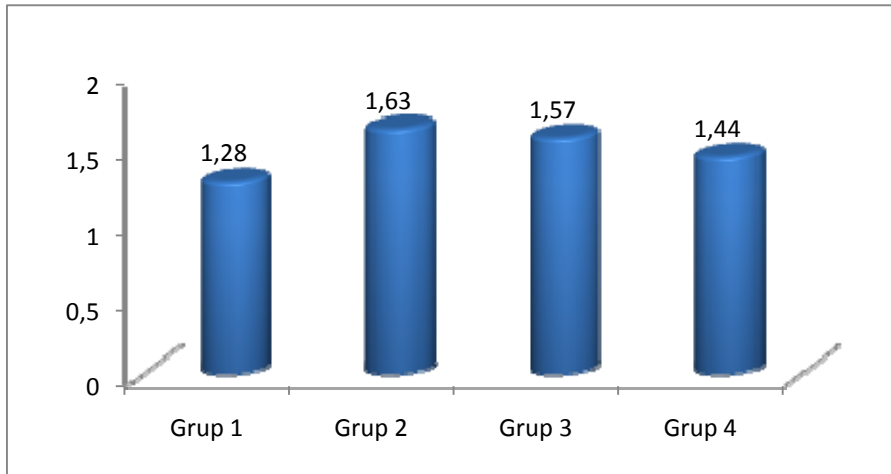
Grafik 2: Akciğer dokusu MPO Düzeyleri

$p < 0.05$ Grup 2 ile Grup 1 ve Grup 3 arası karşılaştırma

$p < 0,05$ Grup 3 ile Grup 2 ve Grup 4 arası karşılaştırma

IV.4. Malondealdehid Bulguları

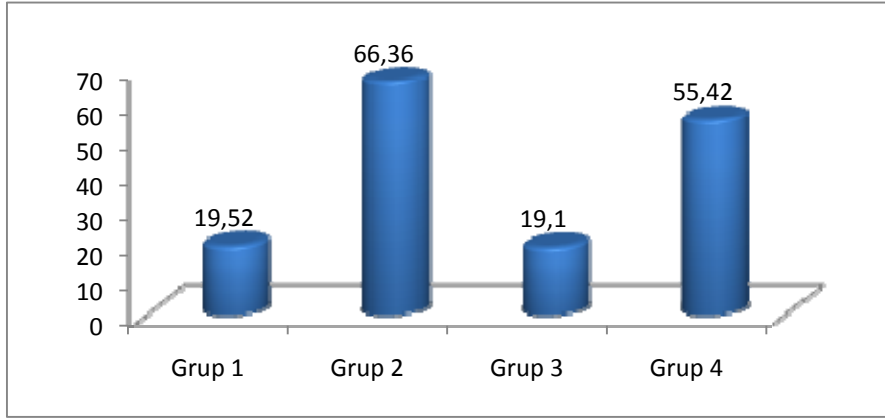
Akciğer dokusundaki MDA (LMDA) konsantrasyonu lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. LMDA düzeyi LAB ile tedavi uygulanan grupta (Grup 1) anlamlı olmamakla beraber düşüktü (Grafik 3).



Grafik 3: Akciğer dokusu MDA Düzeyleri

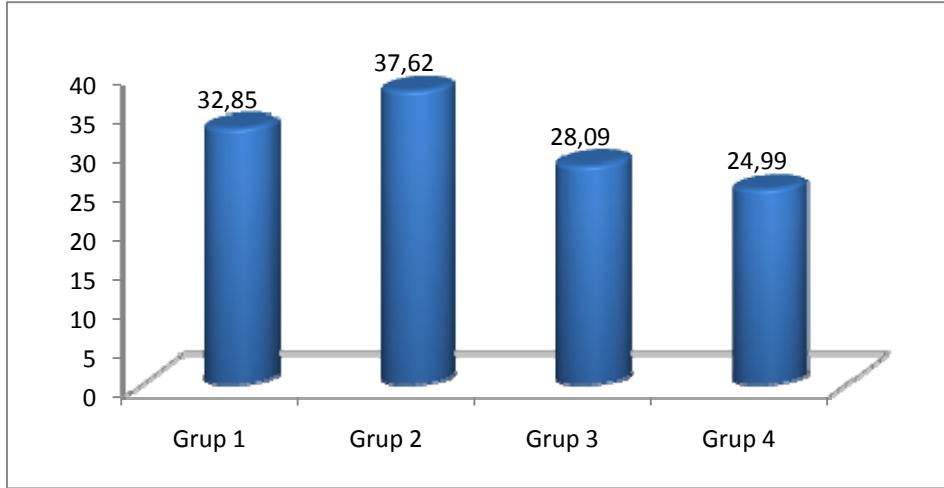
IV.5.Nitrik Oksit Bulguları

Akciğer dokusu NO (LNO) düzeyi LAB ile tedavi uygulanan grupta (Grup1) anlamlı olarak düşüktü (Grafik 4). LAB uygulanan her iki grubun (Grup1 ve Grup3) ortalama NO seviyeleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 2). Serum NO (SNO) konsantrasyonları da LAB uygulanan grupta (Grup 1) anlamlı derecede fazlaydı (Grafik 5).



Grafik 4: Akciğer dokusu NO düzeyleri

P<0.05 Grup2 ve diğer gruplar arası karşılaştırmada



Grafik 5: Serum NO Düzeyleri

Tablo 2: Serum ve Akciğer dokusu örneklerinin biyokimyasal analizi

Grup	SNO (mikromol/ml)	LMDA (nmol/mg protein)	LMPO (mU/g protein)	LNO (nmol/mg protein)
1	32.85±5.57	1.28±1.07	6.15±3.73	19.52±8.43
2	37.62±11.74**	1.63±0.78	18.66±11.01 [^]	66.36±35.06 ^μ
3	28.09±3.38	1.57±0.90	4.99±0.86 ^{^^}	19.10±10.20
4	24.99±3.03	1.44±1.01	14.46±5.38	55.42±46.20 [∞]

Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası şeklinde verilmiştir

SMDA: Serum Malondialdehid, SMPO: Serum Myeloperoksidaz, SNO: Serum Nitrik Oksit,
LMDA: Akciğer Malondialdehid, LMPO: Akciğer Myeloperoksidaz, LNO: Akciğer Nitrik Oksit

- ** p < 0.05 Grup 2 vs 3,4
[^] p < 0.05 Grup 2 vs 1,3
^{^^} p < 0.05 Grup 3 vs 2,4
^μ p < 0.05 Grup 2 vs 1,3,4
[∞] p < 0.05 Grup 4 vs 1,3

V.TARTIŞMA ve SONUÇ

Sekonder peritonitler, geniş bir etiyolojik çerçeve içerisinde tüm dünyada özellikle yoğun bakım ünitelerinde önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Peritonite sekonder gelişen sepsis ve ARDS bu morbidite ve mortalitenin önemli kısmından sorumludur (64, 65). Peritonitlerde; özellikle gastrointestinal sistem kaynaklı maddelerin (sitokinler, PNL, bakteri, vs) lenfatik yolu kullanarak akciğerlere ulaştıkları ve erken dönem akciğer hasarı oluşturdıkları bilinmektedir (66, 67, 68).

İlk kez 1967 yılında Asbaug ve arkadaşları tarafından tanımlandığından beri ARDS, birçok araştırmanın ilgi odağı olmuştur. Bu konuda yaratılan algoritmalar (uygun ve zamanında cerrahi, rezeksiyonel yaklaşımlar, diversiyon ameliyatları, lavaj ve debridman cerrahileri) peritonit tedavisinde kısa sürede yerini almıştır.

Ancak gelinen noktada; morbidite ve mortalitenin istenen düzeylere indirgenememiş olması; tedavi/tedavilerin başarısını sorgulanır kılmaktadır. Modern tıbbın tüm çabası; yoğun bakım odaklı agresif uygulamaları ve moleküler düzeye indirgenen tedavileri standart hale getirmeye çalışmaktadır. Peritonit sonrası erken dönemde gelişen ARDS tedavilerinde yaklaşım, süreç başladıktan sonra başlatılmakta ve belki de morbidite/mortalite bu nedenle beklenenden fazla ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada; sekonder peritonit modeli kullanarak ARDS oluşturmak ve peritonit başlangıcı ile eş zamanlı olarak tedavi sürecini de başlatan bir model oluşturmak hedeflendi. Bunun için de probiyotiklerin yararlı etkilerinden periton yüzeyinde de faydalanılması amaçlandı.

Probiyotikler (Laktobasiller) son yılların dikkat çekici biyolojik ajanları haline gelmişlerdir. Kullanım alanları oldukça geniş kapsamlıdır. Tıbbi anlamda öne çıktıkları konu ise immun sistem aktivasyonudur.

Geçtiğimiz yıllarda birçok klinik ve deneysel çalışma; enteral yolla ve kısmen parenteral yolla uygulanan/kullanılan Laktobasillerin; genel enflamasyonu ve enfeksiyonu anlamlı derecede baskıladığını göstermiştir (69, 70).

Laktobasil uygulamaları ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen; az sayıda çalışma LAB'lerin kullanımının periton üzerindeki etkilerine ve LAB'lerin peritona lokal olarak uygulanmasının sonuçlarına değinmiştir. Bu çalışma periton ile direkt teması sağlayacak intraperitoneal uygulama yönünden bir ilki gerçekleştirmektedir. Daha önce yapılmış çalışmalara bakıldığı zaman Lactobasiller ile insanlar üzerinde yapılmış çalışmalarda karaciğer transplantasyonu uygulanan ve postoperatif dönemde enteral Lactobasil verilen hastalarda postoperatif hastanede yatış sürelerinde anlamlı bir azalma saptanmış (71). Başka bir klinik çalışmada da pankreatitli hastalara enteral LAB uygulanmış ve bu grupta pankreas absesi ve pankreatik nekroz komplikasyonlarının LAB uygulanmayan gruba göre anlamlı olarak daha az olduğu görülmüş (72).

Literatür araştırmasında LAB'ların peritoneal yüzeylerde denenmiş olduğu ancak; metodolojisinin ve klinik yansımalarının literatüre olan katkısının sepsis ve ARDS yönünden eksikleri olduğu görüldü. Bu çalışmada Tsunoda ve arkadaşları peritonit oluşturdukları ratlarda cerrahi öncesi peritona laktobasil ektiklerinde peritonit yanıtının azaldığını gösterebilmişler (73).

Abdominal kavitenin bakteriyel kontaminasyonu genelde abdomenin penetran travmaları sonrası, abdominal cerrahi komplikasyonu olarak veya altta yatan bir barsak hastalığına bağlı olarak ortaya çıkan barsak perforasyonu ile olur. Bu nedenle intraabdominal peritonit modelini en iyi taklit eden,

cerrahi girişim ile gastrointestinal traktustaki normal bariyerlerin hasarlanması yoluyla sepsis oluşturulmasında, yaygın bir uygulama alanı bulan model ÇLP modelidir. Bu model yeni tedavi modellerinin oluşturulmasına olanak sağlama, kolay, ucuz ve tekrarlanabilir bir yöntem olma avantajlarından dolayı çalışmada tercih edildi.

Pahalı olmamaları, kolay sağlanabilmeleri, yaş, cinsiyet ve genetik kökenlerinin kontrol edilebilmesi, aynı diyetle beslenmeleri ve spesifik bir patojen içermemeleri nedeniyle ratlar üzerinde çalışılması uygun görüldü.

Çalışma kapsamındaki ratlar operasyonlardan sonra 24. saatte doku örnekleri alınarak sakrifiye edildi; çünkü çalışmanın amacına uygun olarak erken sepsis döneminde Lactobasillerin erken uygulanmasının sonuçları değerlendirildi.

Çalışmada probiyotik özellikleri FDA tarafında onaylanmış beraber buldukları ortamda sinerjistik etki gösteren her birinin farklı fonksiyonları olan dört ayrı Lactobasil suşunun kombinasyonu kullanıldı. Kullanılan karışım 350 den fazla insan ve 180 den fazla bitki türü üzerinde yapılan geniş çalışmalardan sonra Lund Üniversitesi'nde mikrobiyolog Asa Ljungh ve Kruszezwska (61,62) tarafından geliştirildi.

Çalışmada akciğer dokularının histopatolojik incelenmesinde ARDS fizyopatolojisinin temelini oluşturan dokulardaki nötrofil ve makrofaj infiltrasyonları HE boyası ile ışık mikroskobu altında incelendi. LAB uygulaması yapılmayan sham operasyonlu grupta (Grup 4) PNL ve makrofaj infiltrasyonu anlamlı derecede fazlaydı. ÇLP uygulanan ancak LAB uygulanmayan grupta da (Grup 2) PNL infiltrasyonu anlamlı derecede fazlaydı. Buna karşılık Laktobasil ile tedavi uygulanan ÇLP ve sham operasyon gruplarında (Grup1 ve Grup 3) ise PNL infiltrasyonu ve gene ARDS fizyopatolojisinde gözlemlediğimiz intertisyel alanda genişleme de anlamlı derecede azdı.

NO vazodilatasyon ve nörotransmisyonunda rol oynayan non-spesifik bir immun yanıt mediatörüdür. Lipopolisakkarit ve sitokinlere yanıt olarak, enflamatuar ve mezenkimal hücrelerce arjininden NO sentetaz enzimi tarafından sentezlenir (74). NO endojen olarak oluşturulur ve akciğerlerde seçici vazodilatatör ve bronkodilatatör etki ederek enflamasyon ve doku hasarlanmasına

yol açabilir. Bu bilgiler ışığında dokulardaki NO düzeylerinin ve iNOS ve eNOS aktivitelerinin belirlenmesi dokudaki hasarı belirlemede yol göstericidir. Çalışmada akciğer dokularındaki NO ve iNOS e NOs düzeyleri incelendi. LAB uygulanan ÇLP grubunda (Grup 1) akciğer dokusun NO düzeyleri ile serum NO düzeyleri anlamlı olarak diğer gruplara göre daha az saptandı (Tablo 1). iNOS ve eNOS aktivitelerine bakıldığı zaman ise; ÇLP uygulanıp LAB verilen grup (Grup1) ile ÇLP uygulanıp LAB verilmeyen grup (Grup2) iNOS ve eNOS aktiviteleri güçlü veya orta seviyede, ÇLP uygulanmayan gruplarda da (Grup 3 ve Grup 4) zayıf olarak saptandı.

Nötrofil sekestrasyonunun kantitatif olarak ölçülmesinde duyarlı bir gösterge olan MPO aktivitesi, akciğer dokularında LAB ile tedavi uygulanan gruplarda anlamlı derecede düşüktü (Tablo1). LAB ile tedavi edilen iki grubun LMPO aktiviteleri ortalamaları arasında anlamlı derecede bir fark bulunmadı. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerine bakıldığında ise Laktobasil tedavisi yapılan ÇLP uygulanmış grupta (Grup1) MDA düzeyleri anlamlı olmamakla beraber, diğer gruplardan daha az yüksekti. Bu sonuçlara benzer bir şekilde Tok ve arkadaşlarının deneysel peritonite bağlı akciğer hasarı modelinde Lactobasil ve lif karışımının erken dönemde enteral uygulanmasının sonuçlarında MPO aktivitesi Lactobasil ile tedavi uygulanan grupta anlamlı derecede düşük, MDA düzeyleri ise LAB ile tedavi uygulanan grupta anlamlı olarak daha az artmış bulunmuş (70).

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre LAB'ler intraperitoneal olarak peritonit hastalığının erken dönemlerinde uygulandığı zaman, hasar gelişim kaskadında, özellikle peritonite bağlı akciğer hasarı gelişiminde anlamlı derecede azalma olduğu görüldü. Günümüzde LAB'lerin cerrahi hastalar üzerindeki denemeleri oldukça kısıtlıdır; bu nedenle bu ve buna benzer çalışmaların geliştirilmesi ve sonuçlarının irdelenmesi ile Laktobasillerin klinik kullanımda yerinin olup olmadığının anlaşılmasını ümit edebiliriz.

VI.ÖZET

Probiyotiklerin intraperitoneal kullanımı ile ratlarda peritonite bağlı akciğer doku hasarı azaltılabilir.

Materyal-Metod:

40 adet Winstar albino rat 4 gruba ayrıldı ve çekal ligasyon –perforasyon modeli kullanılarak peritonite bağlı akciğer hasarı oluşturuldu. Tüm hayvanlar cerrahi esnasında probiyotik karışımı (Lactobacillus peracasei, Lactobacillus plantarum, Leuconostoc mesenterioides, Pediococcus pentasaceus) veya serum fizyolojik ile tedavi edildi. ÇLP işleminden 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edildi, elde edilen akciğer dokusu ve kan örnekleri biyokimyasal (Myeloperoksidaz, Malendialdehid , Nitrik oksid) ve immunhistokimyasal (eNOS, iNOS) metodlarla çalışıldı.

Sonuçlar:

Akciğer hasarının histolojik bulguları (nötrofil infiltrasyonu, eNOS, iNOS), probiyotiklerle tedavi edilen grup dışında tüm gruplarda gösterildi. MPO aktivitesi, probiyotik tedavisi uygulanan iki grupta anlamlı derecede düşüktü ve bu iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu. NO, probiyotik tedavi gruplarının ikisinde de akciğer dokusu ve kan örneklerinde düşük seviyelerde saptandı.

Tartışma:

Ratlara uygulanan ÇLP modeli ile oluşturulan peritonite bağlı akut akciğer hasarı, probiyotik karışımının intraperitoneal kullanımı ile azaltılabilir.

RESULTS OF INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION OF PROBIOTICS AT PERITONITIS INDUCED ACUTE LUNG INJURY IN RATS

ABSTRACT

To study if intraperitoneal administration of probiotics can reduce peritonitis-induced lung tissue injury in rats.

MATERIAL AND METHODS:

Rats were divided into four groups, and subjected to induction of peritonitis induced lung injury using cecal ligation and puncture model (CLP). All animals were treated during surgery either the probiotic composition (*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, and *Pediococcus pentosaceus*) or crystalline solution. Animals were sacrificed after 24 hrs and lung tissue and blood samples studied with histological (degree of neutrophil infiltration), biochemical; myeloperoxidase (MPO), malendialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) and immunohistochemical (eNOS, iNOS) methods.

RESULTS:

Histological signs of lung injuries (neutrophil infiltration and eNOS, iNOS) were observed in all groups except the probiotic treated groups. MPO activity was significantly lower in the two probiotic treated groups with no difference between the two probiotic treated groups. NO assays demonstrated the low levels both in the lung tissues and blood samples in the probiotic treated groups.

CONCLUSION:

Intraperitoneal administration of a probiotic composition reduced peritonitis induced acute lung injury in rats in a cecal ligation and puncture (CLP) model

KAYNAKLAR

1. Goss CH, Brower RG, Hudson LD, et al Incidence of acute lung injury in the United States. *Crit Care Med* 31:1607-1611, 2003
2. Lee WL, Downey GP: Neutrophil activation and acute lung injury. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7:1-7
3. Martin TR: Cytokines and the acute respiratory distress syndrome (ARDS): a question of balance. *Nat Med* 3:272-273, 1997
4. Bengmark S. Prospect for a new and rediscovered form of therapy: probiotic and phage. In: Andrew PW, Oystrom P, Smith GL, Stewart-Tull DE, eds. *Fighting Infection in the 21st Century*. Cambridge, MA: Blackwells, pp:97–132, 2000
5. Thorlacius H, Nobaek S, Wang DX, et al. Lactobacilli attenuate bacteremia and endotoxemia associated with severe intra-abdominal infection. *Surgery* 134:467– 473, 2003
6. Ola'h A, Bela'gyi T, Issekutz A', et al Early enteral nutrition with specific lactobacillus and fibre reduces sepsis in severe acute pancreatitis. *Br J Surg* 89:1103–1107, 2002
7. Rayes N, Hansen S, Seehofer D, et al. Early enteral supply of lactobacillus and fibre vs selective bowel decontamination (SBD)—a controlled trial in liver transplant recipients. *Transplantation* 74:123–127, 2002
8. Rayes N, Seehofer D, Theruvath T, et al. Combined perioperative enteral supply of bioactive pre- and probiotics abolishes postoperative bacterial infections in human liver transplantation—a randomised, double-blind clinical trial. *Am J Transplant* 5:125–130, 2005

9. Rayes N, Hansen S, Boucsein K, et al. Early enteral supply of fibre and lactobacilli vs parenteral nutrition—a controlled trial in major abdominal surgery patients. *Nutrition* 18:609–615, 2002
10. Kar AA. Ratlarda İntra-abdominal Sepsis modelinde uygulanan GCSF'ün akciğerler üzerine etkisi. *Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 1999*
11. Bone RC. Pathogenesis of Sepsis. *Ann Int Med* 1991;115:457-469
12. Wittmann DH. İntraabdominal infections. İntroductıon. *World J Surg* 1990;14:145-7
13. Kalafat H. İntraabdominal İnfeksiyon Kalafat H.(editör) İntraabdominal enfeksiyonlar 2005 Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005:159-84
14. Wittmann D. İntraabdominal İnfeksiyonlar. Sayek İ (editör). *Temel Cerrahi* 2. Baskı Ankara Güneş Kitabevi, 1996:1408-36
15. Thomson AE, Marshall JC, İntraabdominal İnfections in infants and children: Descriptions and Definations. *Pedr Crit Care Med* 2005;6:30-5
16. Merlino JI, Malangoni MA, Smith CM, et al. Prospective Randomised Trials Effect the Outcomes of İntraabdominal İnfections. *Ann Surg* 2001;233:859-66
17. Özmen M. İntraabdominal İnfeksiyonlara Giriş ve Genel Bilgiler, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2008;12:247-249
18. Dunn DL., Barke RA., Knight NB., et al, Role of resident macrophages, peritoneal neutrophils, and translymphatic absorption in bacterial clearance from the peritoneal cavity, *Infect Immun* 49:257, 1985.
19. Hau T., Payne WD., Simmons RL., Fibrinolytic actıvy of peritoneum during experimental peritonitis. *Surg Gynecol Obstet* 148:415, 1979
20. Raftery AT., : Effect of peritoneal trauma on peritoneal fibrinolytic activity and intraperitoneal adhesion formation. *Eur Surg Res* 13:397, 1981
21. Sayek İ, Baykal A. İntraabdominal İnfeksiyonlar Sayekİ, Çoker A., Sökmen S (editörler) *Cerrahi İnfeksiyon*. Ankara Güneş Kitabevi, 2001:310-22
22. Sözüer E. Akyıldız H. Peritonitler, *Hastane İnfeksiyonları dergisi* 2008;12:264-271
23. Chong AJ, Dellinger EP,. Current Treatment of İntraabdominal İnfections. *Surg Technol Int.* 2005;14:29-33

24. Solomskin JS, Dellinger EP, Chritou NV, et al. Result of multicenter trial comparing imipenem/cilastatin to tobramisin/clindmycin for intraabdominal infections. *Ann Surg* 1990;212:581-91
25. Lazaron V., Barke A. Gram(-) bacterial sepsis and the sepsis syndrome. *Urol Clin North Am* 1999;26:687-699
26. Marc Moss, Roland H., Ingram Jr. Acute Respiratory Distress Syndrome In: *Harrison's Internal Medicine 15 th ed.*, Braunwald E., Fauci S.A., Kasper D.L., 2001, 1523-1526
27. Ridings PC, Windsor AJC, Sugerman HJ, et al. Benefical cardiopulmonary effects of pentoxifylline in experimental sepsis are lost once septic shock is established, *Arch Surg* 1994;129:1144-1152
28. Runcie C, Ramsay G. Intraabdominal Infection: Pulmoner failure. *World J Surg* 1990;14:196-203
29. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342: 1334-1349, 2000.
30. Elman H. Capillary permability in septic patients. *Crit Care Med* 1984; 12:629-633
31. Murray JF. Mechanism of acute respiratory failure. *Am Rev Resp Dis* 115:1071,1997
32. Kayhan Z., ed; Sıkıntılı Solunum Sendromu. *Klinik Anestezi (içinde)*. Ankara, Logos Yayıncılık, 1997: 716-718
33. Knaus WA,WAGNER DP, Multipl system organ failure: epidemiyology and prognosis.*Crit Care Clin*, 5:221,1989
34. Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg* 1995;82:1598-610
35. Sarela AI, Mathie RT. The role of nitric oxide in surgical practice. *Surgery* 1996;14:154-6.
36. Kuyumcu A., Polat A., Özmen M. Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü *Ulus Travma Derg* 2004;10(3):149-159
37. Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 1995;221:220-35

38. Lai YK, Lee WC, Hu CH, et al. The mitochondria are recognition organelles of cell stress. *J Surg Res* 1996;62:90-4.
39. A.H. Develioğlu, İ.L.TANER Myeloperoksidaz'ın Özellikleri ve Periodontal Hastalıktaki Önemi, Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi Cilt 1, Sayı 1,1998
40. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension* 2004;44:381-6.
41. Miyaski K.T., Wilson, M.E, Genco RJ: Clinic of Actinobacillus actinomycetemcomitans by the Human Neutrophil Myeloperoxidase-Hydrogen Peroxide-Chloride System. *Infect Immun.* 161-165.1986.
42. Gaut JP, Byun J, Tran HD, et al. Myeloperoxidaseproduces nitrating oxidants in vivo. *J Clin Invest* 2002;109(10):1311-9.
43. Yao V, McCauley R, Cooper D, et al. Myeloperoxidase response to peritonitis in an experimental model. *ANZ J Surg.* 2003;73(12):1052-6.
44. Schultz J, Cortin R, Oddi F, et al. Myeloperoxidase of the leukocyte of normal blood. *Arch Biochem Biophys* 1965;111:73-9.
45. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinalinflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* 1984;87:1344-50.
46. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopaolojik etkileri. 1. baskı ed.: Mimoza Yayınları1995.
47. Karmeli F, Okon E, Rachmilewitz D. Sulphydryl blocker induced gastric damage is ameliorated by scavenging of free radicals. *Gut* 1996;38(6):826-31.
48. Lee Y.K., Nomoto K., Salminen S., 1999. Handbook of Probiotics. A Wiley-Interscience Publication. 211 p. Canada
49. Kneifel W. , Matilla-Sandholm T. , Wright A., 1999. Probiotic Bacteria-Detection and estimation in fermented and non-fermented dairy products. Vol.3, 1783-1789. Encyclopedia of Food Microbiology. Eds: R.K. Robinson, C.A. Batt, P.D. Patel, Academic Press.

50. Kandler O., Weiss N., 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M. E. And Holt, J.G. Vol.2, pp.1209-1234. Baltimore, MD: Williams and Wilkins
51. Coşkun T. Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotikler. Katkı Pediatri Dergisi: Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı Enstitüsü Yayını. 2004; 26:1515-197.
52. Castagliolo L., Riegler M.F. et al. 1999 *S.boulardii* protease inhibits the effects of *C.difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 67;302-307.
53. Fukusihma, Y., Kawata, Y., Hara, H., et al. 1998. Effect of probiotic formula on intestinal immunoglobulin. A production in healthy children. *Int J Food Microbiol.*, 42, 39-44.
54. Akman SA, Yağcı RV. Prebiyotik ve probiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve hastalıkları Dergisi* 2002;45:337-337
55. Benmark S. Pre-, pro- and synbiotics in critically ill patients. *Best Pract.Res Clin Gastroenterol.* 2003;17:833-848
56. Floramonti J. Theodorou V. Bueno L Probiotics: What are they? What are their effects on gut physiology? *Best Pract Res Clin Gastroenterol* '003;17:711-724
57. Mitsuoka, T., 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol*, 6, 263-268.
58. Mitsuoka, T., 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol*, 6, 263-268
59. Fukusihma, Y., Kawata, Y., Hara, H., et al. 1998. Effect of probiotic formula on intestinal immunoglobulin. A production in healthy children. *Int. J. Food Microbiol.*, 42, 39-44
60. Sanders, M.E.1999. Probiotics. *Food Technology*, Vol. 53, No. 11, 67-77.
61. Kruszewska K, Lan J , Lorca G et al. Selection of lactic acid bacteria as probiotic strains by in vitro tests. *Microecol Ther* 29:37–51, 2002

62. Ljungh Å, Lan J-G, Yamagisawa N. Isolation, selection and characteristics of *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* isolate F19. *Microb Ecol Health Dis Suppl* 3: 4–6, 2002
63. Chaudry IH, Wichterman KA, Baue AE. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotide levels. *Surgery* 85:205, 1979
64. Wickel DJ., Cheadle WG., Mercer Jones MA., et al. Poor outcome from peritonitis is caused by disease peritoneal infection. *Ann Surg* 1997; 225:744-756
65. Koçdor HE. Deneysel Sepsis modelinde Pentoksifilin myeloperoksidaz, nitric oksit ve tumor nekroz factor salınımı üzerine etkileri. Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 1998
66. Gonzalez RJ, Moore EE, Ciesla DJ. Post-hemorrhagic shock mesenteric lymph activates human pulmonary microvascular endothelium for in vitro neutrophil-mediated injury—the role of intracellular adhesion molecule-1. *J Trauma* 54:219–223, 2003
67. Deitsch EA, Shi HP, Skurnick J, et al. Mesenteric lymph from burned rats induces endothelial cell injury and activates neutrophils. *Crit Care Med* 32:533–538, 2004
68. Goodman RB, Pugin J, Lee JS, et al Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury. *Cytokine Growth Factors Rev* 14:523–535., 2003
69. Ilkgul O, Aydede H, Erhan Y, et al. Subcutaneous administration of live lactobacillus prevents sepsis-induced lung organ failure in rats. *Br J Int Care* 15:52–57, 2005
70. Tok D, Ilkgul O, Bengmark S, et al. Pretreatment with Pro-and Synbiotics reduces peritonitis-induced acute lung injury in rats. *J Trauma* 62:880-885, 2007
71. Rayese N., Seehofera D., Theruvatha T., et al. Supply of Pre- and Probiotics Reduces Bacterial Infection Rates After Liver Transplantation—A Randomized, Double-Blind Trial, *Am J Transplant* 2005; 5: 125–130
72. Olah A, Belagyi T, Issekutz A, et al. Randomized clinical trial of specific lactobacillus and fibre supplement to early enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg* 2002; 89: 1103–1107

73. Tsunoda A, Shibusawa M, Tsunoda Y, et al. Effect of *Lactobacillus casei* on a novel murine model of abdominal sepsis. *J Surg Res* 107: 37–43, 2002
74. Schaffer MR., Tandry U, Gross SS. Nitric oxide regulates wound healing. *J Surg Res* 1996;63:237-41.