

Deneysel Akut Nekrotizan Pankreatit Modelinde Düşük Doz Lipopolisakkarid Ön Tedavisinin Bakteriyel Translokasyona Etkisi

THE EFFECT OF LOW DOSES LIPOPOLYSACCHARIDE PRETREATMENT IN THE PREVENTION OF BACTERIAL TRANSLOCATION IN ACUTE NECROTIZING PANCREATITIS

Dr.Can KÜÇÜK*, Dr.Işın SOYUER**, Dr.Abdulkadir BEDİRLİ*,
Dr.Selma GÖKAHMETOĞLU***, Dr.Mehmet Ali DENEME*, Dr.Murat TELLİ****

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi *Genel Cerrahi, **Patoloji, ***Mikrobiyoloji ABD, KAYSERİ

ÖZET

Amaç: Deneysel akut nekrotizan pankreatit oluşturulan ratlarda düşük doz Lipopolisakkarid (LPS) ön tedavisinin pankreatit şiddetine ve bakteriyel translokasyona olan etkileri araştırıldı.

Durum değerlendirmesi: Akut nekrotizan pankreatitte bakteriyel translokasyonun(BT) ve buna bağlı olarak gelişen septik komplikasyonların mortalite ve morbiditeyi artırdığı bilinmektedir. Bu translokasyon ve komplikasyonlarda rol oynayan LPS ile son yıllarda çok düşük dozlarda ön tedavi yapılmasının yararları üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Buna rağmen LPS ön tedavisinin nekrotizan pankreatitte bakteriyel translokasyonu nasıl etkilediği bilinmemektedir.

Yöntem: Denekler sham, kontrol ve LPS olmak üzere üç gruba ayrıldı. Cerrahi girişimden 24 saat önce LPS grubundaki ratlara 50mg/kg LPS, diğer gruplara ise 1 ml % 0.09 NaCl intraperitoneal olarak verildi. Kontrol ve LPS gruplarının biliopankreatik kanallarına (BPK) % 5'lik tauroglikolik asit, sham grubuna ise % 0.09 NaCl 1.5 mL/kg/rat olmak üzere 10 dakikada infüze edildi. 24 saat sonra yapılan relaparatomide BT tayini için portal ve sistemik kan, karaciğer, mezenter lenf nodu, dalak ve çekumdan gaita örnekleri alındı. Pankreas ıslak/kuru ağırlık oranı ve histopatolojik değerlendirme amacıyla eksize edildi. Sistemik kandan hazırlanan serumda endotoksin, TNF- α , AST, ALT, LDH ve amilaz düzeyleri ölçüldü.

Çıkarımlar: Pankreatit oluşturulan LPS ve kontrol gruplarında; ortalama histolojik skor ile serum AST, ALT, LDH, amilaz düzeyleri ile pankreas ıslak/kuru ağırlık oranları sham grubuna oranla daha yüksekti ($p < 0.01$). Bütün bu değerler açısından LPS ve kontrol grupları arasında ise istatistiksel olarak bir fark yoktu ($p > 0.05$). Serum endotoksin ve TNF- α seviyeleri ile BT oranları LPS ve kontrol gruplarında sham grubuna oranla yüksekti ($p < 0.01$). Fakat bu değerler LPS grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük seviyelerdeydi ($p < 0.01$).

Sonuçlar: Ratlarda Na-Tauroglukolat ile oluşturulan ANP modelinde düşük doz LPS ön tedavisi pankreatitin şiddetinde histopatolojik ve biyokimyasal yönlerden iyileştirici bir etkisi olmamasına rağmen; serum endotoksin ve TNF- α düzeyleriyle birlikte BT oranı da azalmıştır.

Anahtar kelimeler: Lipopolisakkarid, nekrotizan pankreatit, bakteriyel translokasyon

SUMMARY

This study was aimed to examine whether low dose LPS could affect bacterial translocation (BT) in acute pancreatitis (AP). Rats were divided into three groups, LPS, control and sham groups. AP was induced in LPS and control groups by pressure injection of 5% taurocholate into the biliopancreatic duct (1.5

mL/kg). LPS rats received LPS (50 mg/kg, intraperitoneally); control and sham rats received a similar volume of normal saline as placebo 24 hours before the induction of pancreatitis. At 24 hours postoperatively, blood was drawn from periphery and portal ven for culture, serum AST, ALT, LDH, amylase, endotoxin and TNF-alpha (TNF- α) determinations. Specimens from MLNs, spleen, liver and cecum were harvested for culture. There was no difference in serum AST, ALT, LDH and amylase levels and the mean pancreatic histology score between LPS and control ($p>0.05$), respectively. All these parameters were significantly higher in the LPS and control groups compared with sham group ($p<0.01$). Serum TNF- α and endotoxin level were higher in control and LPS groups compared with sham group ($p<0.01$) and were lower in the LPS group compared with control group ($p<0.01$). Two of 7 LPS rats had BT to MLNs, compared with 6 of 7 rats in control. Four of 7 LPS rats had BT to distant sites such as spleen, liver, and/or blood, compared with 7 of 7 rats in control. Low dose LPS treatment decreases bacterial spread to distant sites, increases serum TNF- α and endotoxin levels but does not reduce serum amylase, AST, ALT, LDH levels or ameliorate pancreatic damage in rats with AP.

Keywords: Lipopolysaccharide, necrotizing pancreatitis, bacterial translocation

Akut pankreatit çeşitli etyolojik faktörlerin etkisiyle pankreas içindeki enzimlerin hiperaktivasyonu sonucu pankreasın ani başlayan hasarıyla kendini belli eden nonenfeksiyon inflamasyonudur. Tanımlanmasının üzerinden yaklaşık 100 yıl geçmesine ve birçok klinik ve deneysel çalışmadan elde edilen geniş bilgi birikimine rağmen, akut pankreatitin etyolojisi, patogenezi ve tedavisi halen tartışma konusudur. Günümüzde yüksek mortalite ve morbidite oranlarıyla ciddiyetini sürdürmektedir. Akut pankreatit de mortalite oranı %5-10'larda seyrederken bu oran akut nekrotizan pankreatit (ANP) de % 6-45'lere ulaşır (1,2).

ANP de gelişebilen septik komplikasyonlar önemli bir mortalite nedenidir (1,2). Bu hastalarda gelişen pankreatik enfeksiyonlardan izole edilen bakteriler intestinal kaynaklıdır. Çalışmalar barsak lümenindeki bakterilerin çeşitli faktörlerin yardımıyla lümen dışına çıkarak mezenter lenf nodlarına, kan dolaşımına ve peritoneal kaviteye geçtiğini göstermiştir. Bakteriyel translokasyon (BT) olarak adlandırılan bu geçiş pankreatitdeki septik komplikasyonların birçoğundan ve multipl organ yetmezliği (MOY) gelişiminden sorumlu tutulmuştur (3,4,5).

Lipopolisakarid (LPS, endotoksin) gram negatif bakterilerin hücre duvarının dış yapısını oluşturan glikolipid yapısında bir maddedir. İnflamasyonda çeşitli hücrel ve humoral mediatörlerin aktivasyonu sonucu bakteri hücre duvarının haraplanmasıyla ortaya çıkar (6). LPS serbest oksijen radikalleri ve sitokinlerle birlikte sepsis ve MOY gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (7, 8). Akut pankreatit etyopatogeneziinde rolü olduğu bilinmesine rağmen bu rol tam olarak açıklığa

kavuşmamıştır (9,10). LPS ratlara 10 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak verildiğinde pankreatik aciner hücrelere direkt olarak etki ederek pankreatik hasar meydana getirirken, 30-40 mg/kg arasında yüksek dozlarda ise sepsis ve MOY yol açar (11, 12). Bütün bu bilgilere rağmen son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda deneysel serülein pankreatitinde çok düşük doz LPS ön tedavisiyle pankreatitin şiddetinin ve bakteriyel translokasyonun azaltılabileceği iddia edilmektedir (9, 13,14, 15). Serüleinle indüklenen pankreatit tipi akut ödematöz pankreatit olup özellikle pankreatitin akciğer komplikasyonlarının araştırılmasında ideal bir modeldir. Oysa Na Tauroglukat'ın retrograt olarak pankreatik kanala yüksek basınçta infüzyonu ise nekrotizan pankreatit için ideal bir modeldir. Nekrotizan pankreatit de gelişen enfeksiyöz komplikasyonlar sık araştırılmasına rağmen literatürde ANP modelinde düşük doz LPS ön tedavisinin rolü net olarak belli değildir. Bu nedenle bu çalışmada deneysel ANP modelinde düşük doz LPS ön tedavisinin BT gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Hakan Çetin-saya Deneysel Araştırma Merkezinde (DEKAM) gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr olan 21 adet erkek Wistar-Albino tipi rat kullanıldı. Ratlar çalışma süresince yiyeceğine serbestçe ulaşımı sağlanan kafeslerde standart rat yemi ve su ile beslendiler. Denekler sham, kontrol ve LPS grupları olmak üzere yedişer ratlık üç gruba ayrıldı.

Cerrahi girişimden 24 saat önce LPS grubundaki ratlara 50mg/kg LPS (from Escherichia coli, Sero-

type 0111:B4) 1 ml serum fizyolojik ile çözülerek intraperitoneal olarak verildi. Sham ve kontrol grubundaki ratlara ise 1 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak verildi. Çalışmadan 12 saat önce ratlar aç bırakıldı. Cerrahi girişim sırasında tüm gruplarda intramüsküler 20 mg/kg ketamin (Ketalar®, Parke-Davis, ABD) verilerek anestezi sağlandı. Ratların karın bölgeleri traş edildikten sonra povidon iyot solüsyonu ile temizlendi. Steril şartlar altında orta hat kesi ile karına girildi. Tüm ratlarda duodenum ve ortak biliopankreatik kanal (BPK) ortaya konduktan sonra duodenuma 24 G intraket ile antimezenterik yüzeyden girildi. Ampulla vateri çok dikkatli bir şekilde geçildikten sonra kanül 4-5 mm kadar ilerletilerek BPK kanülize edildi. Kanülasyon esnasında BPK yaralanması, duodenal veya intrapancreatik hematoma gelişen ratlar çalışma dışında tutuldu. İntrahepatik safra yollarına reflüyü önlemek için koledokun proksimalinden safra yolu mikrobuloğ ile kleplendi. Duodenuma geri akımı engellemek için distal BPK 4/0 polipropilen ile geçici olarak bağlandı. BPK içerisindeki kanüle bir infüzyon pompası (Lifecare®5000 infusion system 1.6 series, Abboth Laboratories, Nort Chicago, USA) takılarak BPK içerisine kontrol ve LPS gruplarında % 5'lik tauroglikolik asit (Tauroglycocholic acid sodium salt, Merck, Almanya) 1.5 mL/kg/rat olmak üzere 10 dakikada infüze edildi. Sham grubuna ise aynı miktarda ve aynı sürede serum fizyolojik infüzyonu yapıldı. Infüzyon işleminin sonunda BPK distalindeki sutür alınıp koledok proksimalindeki mikrobuloğ serbestlendi. Kanül çıkarıldıktan sonra geri kaçışı engellemek için duodenumdaki kanülün giriş yeri 6/0 PDS ile suture edildi. Karın tabakaları 4/0 ipekle çift kat olarak kapatılıp ratlar kafeslerine yerleştirildi. Postoperatif 24 saat sonra ratlara intramüsküler 20 mg/kg ketamin verildikten sonra eski insizyon açılarak karına girildi. Biyokimyasal testler ve aerobik-anaerobik kan kültürü amacıyla 2'şer ml portal ve sistemik kan örneği alınıp ratlar sakrifiye edildi. Bakteriyal translokasyonu değerlendirmek için karaciğer, mezenter lenf nodu, dalak ve çekal içerik örnekleri steril kaplara alındı. Pankreas çevre yapılarından serbestleştirilerek total olarak çıkarıldı ve ıslak/kuru ağırlık oranı, kültür çalışması ve histopatolojik değerlendirme amacıyla üç eşit parçaya ayrıldı.

Hazırlanan serumda Konelab 60i otoanalizörle aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH) ve amilaz çalışıldı.

Endotoksin Ölçümü

Serum endotoksin varlığı Limulus Amebocyte Lysate ölçüm kiti (Sigma Chemical Company, StLouis, MO, USA) kullanarak kantitatif olarak tespit edildi.

TNF- α Ölçümü

Plazma TNF- α düzeyi 96 ölçümlük microtitre rat TNF- α kiti (BioSource International, Inc., Camarillo, CA, USA) kullanılarak ELİSA (enzyme-linked immunosorbent assay) metoduyla mililitrede pikogram (pg/mL) olarak ölçüldü.

Bakteriyel Translokasyon Tayini

Karaciğer, dalak ve MLN örnekleri % 0.09 NaCl ile homojenize edildi. Aerob kültürler kanlı ve Eozin-Metilen Blue (EMB) agarda 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Anaerob kültürler için anaerobik kanlı agara yapılan ekimler Gas-Pak Jar da 37°C'de 24 saat bekletildi. Kan örnekleri 37°C'de 7 gün boyunca kültüre edildi. Pozitif kültürlerde kanlı ve EMB agara ekim yapıldı. Daha sonra üreyen bakteriler standart bakteriyolojik yöntemlerle tiplendirildi.

Pankreatik doku ödemi

Islak/kuru ağırlık oranı için ayrılan pankreas dokusu hemen tartılarak kaydedildi. Bu parça daha sonra otoklavda 120 C sıcaklıkta 12 saat bekletilerek kurutulup yeniden tartıldı. Islak/kuru ağırlık oranı % olarak bulunarak pankreatik doku ödeminin derecesi saptandı.

Histolojik inceleme

Pankreas dokusu % 10'luk formalinle fiksasyondan sonra parafin içinde bloklandı. 4 mikronluk parafin kesitler hazırlanarak hematoksileneozin ile boyanarak ışık mikroskobu altında örneklerin hangi gruplardan olduğunu bilmeyen bir patolog tarafından incelendi. Pankreas dokusundaki ödem, inflamasyon ve nekroz semikantatif olarak 0'dan 4'e kadar puanlama yapılarak skorlandı (16) (Tablo1).

İstatistiksel analiz

İstatistiksel inceleme Windows altında SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Her üç grup arasındaki biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılmasında Anova ve iki grup arası karşılaştırmalarda post Anova için Scheffe testi kullanıldı. Gruplar arası histopatolojik değerlendirmenin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney testi,

TABLO 1: AKUT PANKREATİT İÇİN HİSTOLOJİK SKORLAMA

	Skor	Histopatolojik Görünüm
Ödem	0	Yok
	1	İnterlobar septalarda diffüz genişleme
	2	1+ İnterlobüler septalarda diffüz genişleme
	3	2+İnterasiner septalarda diffüz genişleme
İnflamasyon	4	3+İnterselüler septalarda diffüz genişleme
	0	Yok
	1	Duktuslar etrafında
	2	Parankim içinde (<%50 lobülde)
Nekroz	3	Parankim içinde (%51-75 lobülde)
	4	Parankim içinde (>%75 lobülde)
	0	Yok
	1	1-4 nekrotik hücre (mikroskopi sahasında)
	2	5-10 nekrotik hücre
	3	11-16 nekrotik hücre
	4	> 16 nekrotik hücre

bakteriyel translokasyonun karşılaştırılmasındaki-kare testi kullanıldı. İstatiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değeri kabul edildi (17).

SONUÇLAR

Pankreatit oluşturulan LPS ve kontrol gruplarında; serum AST, ALT, LDH, amilaz düzeyleri ile pankreas ıslak/kuru ağırlık oranları sham grubuna oranla daha yüksekti ($p < 0.01$). Bütün bu değerler açısından LPS ve kontrol grupları arasında ise istatistiksel olarak bir fark yoktu ($p > 0.05$) (tablo II).

Histopatolojik incelemede sham grubunda ödem dışında bir patolojiye rastlanmadı. Kontrol ve LPS gruplarında ise ödem, inflamasyon ve nekroz saptandı. LPS ve kontrol gruplarındaki

ortalama histolojik skor sham grubuna oranla yüksek olmakla birlikte ($p < 0.01$), LPS ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak bir fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 3).

Serum endotoksin varlığı ve TNF- α seviyeleri LPS ve kontrol gruplarında sham grubuna oranla yüksekti ($p < 0.01$). Fakat bu değerler LPS grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük seviyelerdeydi ($p < 0.01$) (Tablo 2, Tablo 4).

LPS ve kontrol gruplarında pankreatit indüksiyonundan 24 saat sonra alınan pankreas dokusunun ıslak/kuru ağırlık oranı sham grubuna oranla anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.01$); LPS ve kontrol grupları arasında ise anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$) (Tablo 2).

LPS ve kontrol gruplarında karaciğer, dalak,

TABLO 2: BİYOKİMYASAL SONUÇLARIN GRUPLAR ARASI KARŞILAŞTIRILMASI

	Sham (Ortalama \pm SD)	Kontrol (Ortalama \pm SD)	LPS (Ortalama \pm SD)	F	p*	p**	p**
Amilaz (IU/L)	971.6 \pm 118.6	4174.6 \pm 458.8	3810 \pm 530	127.7	0.000	0.000	0.279
AST (U/dl)	161.7 \pm 68	385 \pm 177	323 \pm 51	7.2	0.005	0.040	0.608
ALT (U/dl)	87 \pm 13	303 \pm 58	268 \pm 43	51.4	0.000	0.00	0.333
LDH (U/L)	430.6 \pm 47.1	2277.5 \pm 499.4	1969.3 \pm 263.7	64	0.000	0.000	0.238
TNF- α (pg/ml)	20.4 \pm 4.5	47.1 \pm 5.4	30.6 \pm 5.4	47.7	0.000	0.007	0.000
Islak/kuru (%)	27 \pm 2	52 \pm 7	45 \pm 3	55.7	0.000	0.000	0.054

* : Sham, kontrol ve LPS gruplarının karşılaştırılması (Anova)

** : Sham ve LPS grubunun karşılaştırılması (Scheffe)

***: Kontrol ve LPS grubunun karşılaştırılması (Scheffe)

TABLO 3: PANKREASIN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

	Sham Medyan (min-max)	Kontrol Medyan (min-max)	LPS Medyan (min-max)	p*	p*	p***
Ödem	1 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-2)	0.603	0.710	0.805
İnflamasyon	0 (0-0)	1 (0.5-3)	2 (0.5-3)	0.001	0.001	0.710
Nekroz	0 (0-0)	2 (0.5-4)	3 (0.5-4)	0.001	0.001	0.620

* : Sham, kontrol ve LPS gruplarının karşılaştırılması (Kruskal-Wallis)

** : Sham ve LPS grubunun karşılaştırılması (Mann-Whitney)

*** : Kontrol ve LPS grubunun karşılaştırılması (Mann-Whitney)

MLN, portal ve sistemik kanda bakteriyel translokasyon oranı sham grubuna oranla anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.01$). LPS ve kontrol grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise LPS grubundaki bakteriyel translokasyon oranı kontrol grubuna oranla anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0.05$) (tablo IV). Çekal florada yer alan mikroorganizmaların aerob ve anaerob izolatlarında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Kültürlerde toplam olarak 81 aerobic ve 3 anaerobic bakteri izole edildi. En sık olarak izole edilen bakteri E. coli (% 38), proteus (% 28.5) ve enterobakter (% 15.4) idi. İzole edilen 3 anaerobik bakteri arasında iki adet gram-negatif basil ve bir adet gram-pozitif basil bulunmaktaydı (Tablo 5).

TARTIŞMA

Akut pankreatit, hastalığın hafif bir formu olan interstisyel ödematöz pankreatitten en ağır formu olan ANP'e kadar geniş bir yelpaze içinde yer alan ve prognozu farklılıklar gösteren bir klinik tablodur. ANP ise akut pankreatit de ortaya çıkan morfolojik değişikliklere ek olarak intra ve peripankreatik nekroz ile vücuda salınan toksik, vazoaktif ve septik maddeler sonucu sistemik, metabolik ve lokal komplikasyonların geliştiği çok daha ağır bir klinik tablodur (1,2). Sodyum-taurokolatın pankreatik kanala retrograt enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel ANP modeli Aho ve ark tarafından standardize edilmiştir (18). Ortaya çıkan asiner nekrozun otodigesyondan çok iskemiye bağlı olduğu ve histopatolojik özelliklerinin insandaki ANP'e benzer olduğu bildirilmiştir (19). Çalışmamızda kontrol grubundaki tüm ratlarda pankreas dokusunda nekroz, yaygın ödem gibi histopatolojik değişikliklerin yanısıra oluşan biyokimyasal değişiklikler kullanılan

metodun başarıyla ANP oluşturduğunu göstermektedir.

Akut pankreatitli hastalarda mortalite ve morbiditeye yol açan önemli problemlerden biri septik komplikasyonlardır ve bunların gelişiminde bakteriyel translokasyonun çok önemli rolleri vardır (3, 4, 5). Akut deneysel pankreatit de, işaretli E. Coli' nin barsak lümeninden translokasyonu değişik çalışmalarda gösterilmiştir (5, 20). ANP'li hastalardan alınan peripankreatik aspirasyon materyalinde başta E. Coli ve enterokoklar olmak üzere gr (-) bakteriler üremektedir. Olguların yaklaşık % 35'inde ise polimikrobial enfeksiyon bulunur (1). Bu bakteriler arasında E. Coli, enterobakter ve klebsiella gibi GİS kaynaklı bakterilerin büyük çoğunluğu oluşturması translokasyonun barsak kaynaklı olduğu görüşünü desteklemektedir. Aynı şekilde bakterilerin en sık olarak mezenter lenf nodlarında izole edilmesi, bakterilerin barsaktan fagositik transportla buraya taşıdığı fikrini güçlendirmektedir (3,5,21).

Değişik araştırmacılar tarafından akut pankreatit de sepsis ve MOY gelişiminde serbest oksijen radikalleri ve sitokinlerle birlikte bakteriyel translokasyon ve LPS gibi bakteri ürünlerinin rol oynadığı belirtilmekle birlikte (7, 8); LPS'nin pankreatik hasar patogeneziindeki rolü tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (10, 22). LPS 10 mg/kg/ip gibi dozlarda verildiğinde pankreatik asiner hücrelere direk olarak etki ederek pankreatik hasar meydana getirir (11). 5 gün boyunca 10 mg/kg/ip/gün LPS verilen ratlarda çok şiddetli olmayan pankreatik doku hasarı meydana gelmiş ve serum TNF-a düzeyleri yükselmiştir (10). Yamano ve ark.nın çalışmasında serüleinle pankreatit geliştirilen ratlarda 30 mg/kg/ip LPS verilmesiyle sepsis ve MOY gelişiminin arttığı bildirilmiştir (12). Yamano'nun başka bir çalışmasında ise Na-taurogluklatla pankreatit oluşturulan ratlara 30

TABLO 4: BAKTERİYEL TRANSLOKASYON SIKLIĞI VE ENDOTOKSİN VARLIĞI

	Sham*	Kontrol*	LPS*	χ^2	p
Karaciğer aerob	1	7	4	10.50	< 0.01
Karaciğer anaerob	0	0	0	0	> 0.05
Dalak aerob	0	7	4	14.13	< 0.01
Dalak anaerob	0	1	0	2.10	> 0.05
MLN aerob	1	6	2	8.17	< 0.05
MLN anaerob	0	1	1	1.11	> 0.05
Portal ven aerob	0	7	4	14.10	< 0.01
Sistemik ven aerob	1	6	3	7.25	< 0.05
Endotoksin varlığı	0	6	3	10.50	< 0.01

* Sayılar pozitif bakteri kültürü olan rat sayısını göstermektedir. Her grupta 7 rat vardır.

mg/kg/İp LPS verildiğinde serum amilaz, lipaz, SGOT, SGPT, BUN ve kreatinin düzeyleri LPS verilmeyen diğer gruba oranla daha yüksek olarak bulunmuştur (23).

Buttenschoen ve ark.nın pankreatitli hastalarda yaptıkları prospektif klinik çalışmada, endotoksinin spesifik antiendotoksin antikollarının (Ig M) oluşumunu stimule ettiği, ödematöz pankreatit de endotoksin düzeyinin hafif yüksekliğinin endotoksine spesifik İg leri geçici olarak yükselttiği gözlenmiştir (24). Nekrotizan pankreatitli hastalarda ise nekrotizan pankreatite eşlik eden şiddetli endotoksemi sonucu endotoksin antikolları yüksek düzeylerde uzun süre kalmıştır (24). Bu çalışmada görüldüğü gibi pankreatit öncesi düşük doz LPS ön tedavisiyle endotoksin antikolları düzeyini artırarak pankreatit sonrası gelişebilecek endotoksemi, BT ve dolayısıyla septik komplikasyonların önlenebileceği düşüncesiyle bazı araştırmalar yapılmıştır. Deneysel serülein pankreatitinde, çok düşük doz LPS ön tedavisiyle pankreatitin şiddetinin ve bakteriyel trans-

lokasyonun azaltılabileceği iddia edilmiştir (9, 13,14,15).

Wang ve ark yaptıkları çalışmada % 5'lik Na-tauroglukatin pankreatik kanala enjeksiyonu sonrası ANP geliştirilen ratlarda bakteriyel translokasyon araştırılmış. ANP indüksiyonunda 12 saat sonra MLN ve akciğerlerde, 24 saat sonra ise peritoneal sıvı, pankreas ve sistemik dolaşımda enterik bakterilere rastlanmıştır (5). Bu bilgiler pankreatitin erken dönemlerinde enterik bakterilerin MLN-ductus thoracicus ve sistemik dolaşım majör rotasıyla yayılımının olduğu düşüncesini desteklemektedir. Bu amaçla çalışmamızda bakteriyel translokasyonun tespiti için ratlar ANP indüksiyonundan 24 saat sonra sakrifiye edilmiş ve örnekler alınmıştır. Gerçekten de birçok çalışmacının da belirttiği gibi çalışmamızda ANP oluşturulan kontrol ve LPS gruplarında MLN, karaciğer, dalak, sistemik ve portal kan kültürlerinde sham grubuna oranla anlamlı olarak daha fazla bakteriyel translokasyon gözlenmiştir ($p < 0.01$). Buna karşın LPS grubunda bakteriyel

TABLO 5: ÜREME GÖSTEREN MİKROORGANİZMALARIN TİPLERİNE GÖRE DAĞILIMI

	N	%
Aerob	81	96.4
Escherichia coli	32	38.0
Proteus	24	28.5
Enterobakter	13	15.4
Staf. Aerous	6	7.1
Klebsiella türleri	3	3.5
Diğerleri	3	3.5
Anaerob	3	3.5
Gram-negatif basil	2	2.3
Gram-pozitif basil	1	1.1

translokasyon kontrol grubuna oranla daha az olmuştur ($p < 0.05$). ANP indüksiyonu öncesi yapılan LPS ön tedavisi bakteriyel translokasyonu azaltmıştır.

Abe ve ark çalışmasında ceruleinle pankreatit oluşturulan ratlarda 50mg/kg LPS ile ön tedavi yapılan grupta ön tedavi yapılmayan gruba oranla serum amilaz düzeylerinin ve pankreatik ödem formasyonunun azaldığını göstermişlerdir (13). Abe ve ark başka bir çalışmasında serüleinin pankreatit oluşturulan ratlarda pankreatit indüksiyonundan 30 dakika ile 12 saat kadar öncesinde çok düşük doz LPS ile (500 nanogram veya 5 microg /kg) ön tedavi yapılan grupta pankreatik ödem formasyonunun azalmasına karşılık serum amilaz yüksekliğinde ve histolojik bulgularda bir düzelme gözlenmemiştir (14).

Kasravi ve ark.nın yaptıkları çalışmada D-Galaktozaminle karaciğer hasarı geliştirilen ratlarda bu işlem öncesinde 3 gün boyunca endotoksin ön tedavisi yapılan grupta ön tedavi yapılmayan gruba oranla bakteriyel translokasyonun daha az olduğunu belirtmişlerdir (25).

Akut pankreatit de önemli yerleri olan serum amilaz, AST, ALT, LDH değerleri ve histopatolojik değişiklikler kontrol ve LPS grubunda sham grubuna oranla anlamlı olarak artmışken ($p < 0.01$), kontrol ve LPS grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$). Düşük doz LPS ile ön tedavi pankreatit tanısında ve/veya prognostik riskleri değerlendirmede kullanılan biyokimyasal değerler ve histopatolojik görünüm açısından bir yarar sağlamamıştır.

Akut pankreatit patogenezinde proinflamatuvar sitokinlerin önemli yerlerinin olduğu kabul edilmektedir. Doku hasarı ile oluşan inflamatuvar cevap proinflamatuvar sitokinlerde kompleks bir aktivite meydana getirir. Bu proinflamatuvar sitokinlerden biri olan TNF- α en erken aktive olan ve organizmanın inflamasyona cevabını en fazla etkileyen sitokin olması nedeniyle birçok çalışmanın odağı olmuştur (4, 26, 27). Endotoksemi, sepsis ve MOY de serum TNF- α düzeyleri artar. TNF- α pankreatit sonrası gelişen MOY de önemli rol oynar (4, 26, 27). Çalışmamızda akut nekrotizan pankreatit geliştirilen kontrol ve LPS guruplarında TNF- α seviyesi artmakla birlikte, LPS ön tedavisi yapılan gurupta TNF- α seviyesi anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Bu sonuç değişik çalışmacılar tarafından hem pankreatitde hemde endotoksemide ayrı ayrı arttığı gösterilen TNF- α düzeylerinin, çalışmamızdaki LPS ön tedavisi

yoluyla (pankreatit derecesinde azalma olmaması ve buna bağlı TNF- α düzeyinde bir düşme beklenmemesine rağmen) endotokseminin azalması nedeniyle TNF- α oluşumunun kısmen azaldığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak ratlarda Na-Tauroglukat ile oluşturulan ANP modelinde düşük doz LPS ön tedavisi pankreatitin şiddetinde histopatolojik ve biyokimyasal yönlerden iyileştirici bir etkisi olmamasına rağmen; serum endotoksin ve TNF- α düzeyleriyle birlikte BT oranı da azaltmıştır.

KAYNAKLAR

1. Beger HG, Isenmann R: Surgical management of necrotizing pancreatitis. *Surg Clin North Am* 1999; 79:783-791.
2. Oleynikov D, Cook C, Sellers B et al. Decreased mortality from necrotizing pancreatitis. *Am J Surg* 1998; 176:648-657.
3. Liu Q, Djuricin C, Rossi H, Bewsey K, Nathan C, Gattuso P, Weinstein RA, Prinz RA: The effect of Lexipafant on bacterial translocation in acute necrotizing pancreatitis in rats. *Am Surg* 1999 July;65:611-617.
4. Al-Mufti RA, Williamson RA, Mathie RT: Increased nitric oxide activity in a rat model of acute pancreatitis. *Gut* 1988; 43:564-570.
5. Wang X, Andersson R, Soltesz V, Leveau P, Ihse I: Gut origin sepsis, macrophage function, and oxygen extraction associated with acute pancreatitis in the rat. *World J Surg* 1996 Mar-Apr;20(3):299-307.
6. Ractz CR: Bacterial endotoxins: Extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol* 1993; 175:5745-5753.
7. Moran AP: Structure-bioactivity relationship of bacterial endotoxins. *J Toxicol Toxin Rev* 1994; 14: 47-83.
8. Banks PA: Medical management of acute pancreatitis and complications. In Go WLW, DiMagno EP, Gardner ID, eds. *The-Pancreas Biology, Pathology and Disease*. New York: Raven Press, 1993:593-611.
9. Jaworek J, Jachimczak B, Tomaszewska R, Konturek PC, Pawlik WW, Sendur R, Hahn EG, Stachura J, Konturek SJ: Protective action of lipopolysaccharides in rat caerulein-induced pancreatitis: role of nitric oxide. *Digestion* 2000;62(1):1-13.
10. Jaworek J; Jachimczak B, Bonior J, Kot M, Tomaszewska R, Karczewska E, Stachura J, Pawlik W, Konturek S: Protective role of endogenous nitric oxide (NO) in lipopolysaccharide-induced

- pancreatic damage (a new experimental model of acute pancreatitis). *J Physiol Pharmacol* 2000 Mar;51(1):85-102.
11. Vaccaro MI, Calvo EL, Suburo AM, Sordelli DO, Lanosa G, Iovanna JL: Lipopolysaccharide directly affects pancreatic acinar cells: implications on acute pancreatitis pathophysiology. *Dig Dis Sci.* 2000 May;45(5):915-926.
 12. Yamano M, Umeda M, Miyata K, Yamada T: Protective effects of a PAF receptor antagonist and a neutrophil elastase inhibitor on multiple organ failure induced by cerulein plus lipopolysaccharide in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998;358:253-263.
 13. Abe R, Shimosegawa T, Moriizumi S, Kikuchi Y, Kimura K, Satoh A, Koizumi M, Toyota T: Lipopolysaccharide induces manganese superoxide dismutase in the rat pancreas: its role in cerulein pancreatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 1995 Dec 26;217(3):1216-1222.
 14. Abe R, Shimosegawa T, Kimura K, Takasu A, Koizumi M, Toyota T: Lipopolysaccharide-induced desensitization to pancreatic edema formation in rat cerulein pancreatitis. *Pancreas* 1998 May;16(4):539-544.
 15. Kimura K, Shimosegawa T, Abe R, Masamune A, Satoh A, Takasu A, Koizumi M, Toyota T: Low doses of lipopolysaccharide upregulate acinar cell apoptosis in cerulein pancreatitis. *Pancreas* 1998 Aug;17(2):120-126.
 16. Rangione AJ, Kusske AM, Kwan K, Ashley SW, Reber HA, McFadden WD. Interleukin-10 reduced the severity of acute pancreatitis in rats. *Gastroenterol* 1997; 112: 960-967.
 17. Dawson – Saunders B, Trap RG. *Basic and Clinical Biostatistics. First ed, 1990, Appleton-Lange, USA.*
 18. Aho HJ, Nevalainen TJ, Aho AJ: Experimental pancreatitis in the rat: Development of pancreatic necrosis, ischemia and edema after intraductal sodium taurocholate injection. *Eur Surg Res* 1986; 15:28.
 19. Timo J, Aho HJ: Standarts of morphological evaluation and histological grading in experimental acute pancreatitis. *Eur Surg Res* 1992; 24:14-23.
 20. Medich DS, Thomas KL, Melhem MF et al: Pathogenesis of pancreatic sepsis. *Am J Surg* 1993;165:46-52.
 21. Tarpila E, Nystrom O, Franzen L et al: Bacterial translocation during acute pancreatitis in rats. *Eur J* 1993; 159: 109-111.
 22. Laine VJ, Nyman KM, Peuravuori HJ, Henriksen K, Parvinen M, Nevalainen TJ: Lipopolysaccharide induced apoptosis of rat pancreatic acinar cells. *Gut* 1996 May;38(5):747-752.
 23. Yamano M, Umeda M, Miyata K, Yamada T: Protective effect of the combined treatment of pancreatic and neutrophil elastase inhibitors on acute pancreatitis elicited by lipopolysaccharide in rats given intraductal injection of taurocholate plus trypsin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998 May;357(5):558-564.
 24. Buttenschoen K, Berger D, Hiki N, Buttenschoen DC, Vasilescu C, Chikh-Torab F, Seidelmann M, Beger HG. Endotoxin and antiendotoxin antibodies in patients with acute pancreatitis. *Eur J Surg.* 2000 Jun;166(6):459-466.
 25. Kasravi FB, Adawi D, Hagerstrand I, Molin G, Bengmark S, Jeppsson B: The effect of pretreatment with endotoxin and lactobacillus on bacterial translocation in acute liver injury. *Eur J Surg* 1996 Jul;162(7):537-544.
 26. Norman GJ, Franz MG, Fink GS et al: Decreased mortality of severe acute pancreatitis after proximal cytokine blockade. *Ann Surg* 1995; 221: 625-634.
 27. Sameshima H, Ikei S, Mori K, Yamaguchi Y, Egami H, Misumi M, Moriyasu M, Ogawa M: The role of tumor necrosis factor-alpha in the aggravation of cerulein-induced pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol* 1993 Oct;14(2):107-115.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr.Can KÜÇÜK
Erciyesevler Mah. 30 Ağustos Bulv.
Burak Apt. No:9/27 38020, KAYSERİ