

Deneysel Barsak Obstrüksiyonunda Nitrik Oksitin Bakteriyel Translokasyona Etkisi

EFFECT OF NITRIC OXIDE ON BACTERIAL TRANSLOCATION IN EXPERIMENTAL INTESTINAL OBSTRUCTION

Dr.Adnan HASANOĞLU*, Dr.Kemal KARADAŞ*, Dr.Yusuf TÜRKÖZ**,
Dr.İ.Halil ÖZEROL***, Dr.M.Sait TEKEREKOĞLU***, Dr.N.Engin AYDIN****, Dr.Ertuğrul ERTAŞ*

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Turgut Özal Tıp Merkezi, (*)Genel Cerrahi, (**)Biyokimya,
(***)Mikrobiyoloji ve (****)Patoloji Anabilim Dalları, MALATYA

ÖZET

Amaç: Deneysel barsak obstrüksiyonu oluşturulan ratlarda, nitrik oksit (NO^{*})'in bakteriyel translokasyon (BT) üzerine etkilerinin araştırılması.

Durum değerlendirilmesi: BT, endojen bakterilerin gastrointestinal sistemden mezenterik lenf bezlerine ve diğer organlara yayılması olarak tarif edilmekte ve çeşitli organ yetersizliği olan hastalarda görülen sepsisin nedeni olabileceği ileri sürülmektedir. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda, genellikle lipopolisakkarit verilerek oluşturulan BT incelenmiş olup barsak obstrüksiyonunun BT' a katkısı konusunda bilinenler azdır.

Yöntem: Wistar türü 40 rat, dört gruba ayrıldı. I. gruba sadece laparotomi, II. gruba barsak obstrüksiyonu, III. gruba barsak obstrüksiyonu + L-NAME (L-N⁶-nitro-L-arginine methyl ester) ve IV. gruba barsak obstrüksiyonu + aminoguanidin uygulandı. Operasyondan 24 saat sonra alınan örneklerde bakteriyolojik, patolojik ve kan NO tetkikleri yapıldı.

Çıkarımlar: Obstrüksiyonlu barsak kısmının histopatolojik incelenmesinde, grup III' de ülser oluşumu grup II ve IV' e göre daha azdı (p<0.05). BT ile mukoza hasarı arasında bir korelasyon tespit edilemedi. Grup I, II, III ve IV' den elde edilen organ homojenatlarından yapılan bakteriyel kültürlerde, sırasıyla %0, %46.6, %73.3 ve %90 üreme görüldü. Translokasyonun %82 oranında enterik orijinli Gram negatif bakterilerden oluştuğu belirlendi. Grup 1-4' te, kan nitrik oksit düzeyleri, sırasıyla 14.0±3.3, 31.2±7.6, 12.2±2.5 ve 10.5±1.8 µmol/L olarak ölçüldü.

Sonuç: Loop obstrüksiyonunda, NO^{*} sentezi stimüle olmakta ve NO^{*} düzeyindeki azalmaya paralel olarak BT oranı ve dokularda üretilen bakteri sayısı artmaktadır. NO, mukozal bariyer fonksiyonunu bozabilmekle birlikte; artan NO^{*}' in antibakteriyel etkisinin daha ön planda olacağı, bu koruyucu etki ile de bakteriyel translokasyonu azaltabileceği kanatına varıldı.

Anahtar kelimeler: Barsak obstrüksiyonu, nitrik oksit, bakteriyel translokasyon

SUMMARY

Bacterial translocation is defined as the passage of endogenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs that suggested to be the cause of sepsis in patient with multiple organ failure. The aim of this study was to investigate the antibacterial effect of nitric oxide by using nitric oxide synthetase enzyme inhibitors such as L-NAME and aminoguanidin in the obstructive intestinal rat model. Fourty rats were divided into four groups. The first one was control group and had only laparotomy. Intestinal obstruction was performed to second group, intestinal obstruction + L-NAME (L-N⁶-nitro-L-arginine methyl ester) were applied to third group. Fourth group had intestinal obstruction and aminoguanidin was injected to them. According to the histopathological study of the intestine, group III demonstrated less ulceration than groups II and IV (p<0.05). Mucosal damage and bacterial translocation showed no correlation according to the results. The incidence of bacterial

translocation was 46.6% in group II, 73.3% in group III and 90% in group IV. Eighty two percent of isolated bacteria was typical enteric Gram negative organisms. Bacterial translocation was not observed in control group. Plasma nitric oxide levels of groups were 14.0 ± 3.3 , 31.2 ± 7.6 , 12.2 ± 2.5 , and 10.5 ± 1.8 $\mu\text{mol/L}$, respectively. As a conclusion; nitric oxide can damage mucosal integrity that may increase bacterial translocation but the antibacterial effect of nitric oxide may be more effective and nitric oxide can decrease the translocation of bacteria from gut.

Keywords: Intestinal obstruction, nitric oxide, bacterial translocation

Gastrointestinal sistemin (GİS) sindirim, immün yanıt ve endokrin gibi fizyolojik fonksiyonları yanında, intestinal obstrüksiyon gibi bazı patolojik durumlarda da aktif bir rolü vardır. Normal floranın değişmesi, hücresel bağışıklığın bozulması, iskemik mukoza hasarı sonucu intestinal sistemin bariyerinin bozulması ve immünolojik disfonksiyonu; bakteri ve toksinlerinin mezenterik lenf nodlarına (MLN), portal veya sistemik dolaşıma geçmesine neden olur. Bu olaya "bakteriyel translokasyon" adı verilir. Bakteriyel translokasyon, yoğun bakım hastalarında sepsis ve multipl organ yetersizliklerinin gelişmesinde önemli bir role sahiptir (1,2,3,4,5,6,7).

Nitrik oksit (NO^\bullet), renksiz bir gaz olup taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeni ile bir serbest radikal moleküldür. NO^\bullet , lokalizasyonu farklı 3 enzim aracılığı ile L-argininden, vücuttaki birçok hücrede enzimatik yolla sentez edilir. Bunlar; endotelde bulunan endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS), nöronlarda bulunan nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS) ve fagositik hücrelerde bulunan indüklenebilen nitrik oksit sentetaz (iNOS) enzimleridir. Sentezlenen NO^\bullet lokal ve genel dolaşımın düzenlenmesi, sinirlerde ileti geçişinin sağlanması, trombosit agregasyonun engellenmesi, lökosit ve trombosit aktivasyonun inhibisyonu gibi çok önemli fizyolojik olaylara aktif olarak katılır. Fagositik hücrelerin bakteriyel lipopolisakkarit (LPS)'ler, interferon gama ($\text{IFN-}\gamma$) ve bazı interlökinler tarafından aktive edilmesi sonucu iNOS sentezi indüklenir. İndüksiyon sonrası üretilen NO^\bullet , bakteri ve parazit hücreleri üzerine sitostatik ve/veya sitotoksik etki gösterir (8,9,10,11). NO^\bullet üretimi, L-NAME (L-N^G-nitro-L-arginine methyl ester) ve aminoguanidin (AG) gibi NOS inhibitörleri ile engellenebilmektedir. L-NAME nonspesifik (eNOS, nNOS ve iNOS) enzimlerin, AG ise sadece iNOS enziminin inhibitörüdür. Vücutta üretilen NO^\bullet , 3 saniye gibi kısa bir sürede daha kararlı yapılar olan nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oksitlenir.

NO^\bullet 'in bakteriyel translokasyona etkisini inceleyen araştırmacıların esas hipotezleri; bakteriyel LPS'lerin, iNOS enzimlerini aktive ederek uzun süre ve aşırı miktarda NO^\bullet sentezine ve sonuçta barsak mukoza hücrelerinde, özellikle membranda oluşan hasar sonucunda bakteriyel translokasyonu arttırdığı temeline dayanır (12,13). Bu görüşün aksine, NO^\bullet 'in mukozanın bariyer fonksiyonunu koruduğu ve bakteriyel translokasyonu azalttığını bildirenler de vardır (14).

Bu çalışmada, LPS verilmeyen ratlarda oluşturulan intestinal obstrüksiyonun NO^\bullet indüksiyonu yapıp yapmadığı ve NO^\bullet 'in L-NAME veya AG ile birlikte bakteriyel translokasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. Grupların serum nitrik oksit düzeyleri, barsak mukozasının histopatolojisi ve transloke olan bakteriler incelenerek konuya açıklık getirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışma için Wistar türü, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 40 rat kullanıldı. Ratlar oda ısısında ve standart kafeslerde muhafaza edildi. Preoperatif dönemde ratlar laboratuvar yemi ve musluk suyu ile beslendi. Operasyondan sonra 24 saat süreyle ratlara sadece musluk suyu verildi. Operasyonlar, diüurnal değişikliklerin sonuca etkisini standardize etmek için öğleden önce saat 8-11 arasında yapıldı.

Operasyon öncesi ratlar 12 saat aç bırakıldı. Xylasin (5 mg/kg) ve ketamin hidroklorür (60 mg/kg) anestezisi yapıldı. Karın ön duvarı traş edildikten sonra, steril örtü ile örtüldü ve antiseptik solüsyon (Polyod, Drogsan) ile temizlendi. Orta hat kesi ile steril şartlarda laparotomi yapıldı.

Çalışmada kullanılan 40 rattan, dört eşit grub oluşturuldu (Grup I, II, III ve IV). Grup I'deki ratlara sadece laparotomi, grup II'deki ratlara laparotomi + ileoçekal valvden itibaren birinci

TABLO 1: GRUPLARDAKİ HİSTOPATOLOJİK BULGULAR VE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ

Grup	Ödem	İltihabi hücre artışı	Ülser	Nitrik oksit ($\mu\text{mol/L}$)
I	0	0	0	14.0 \pm 3.3
II	3/10 (% 30)	3/10 (%30)	4/10 (%40)	31.2 \pm 7.6
III	9/10 (%90)	1/10 (%10)	0/10 (%0)	12.2 \pm 2.5
IV	4/10 (%40)	4/10 (%40)	2/10 (%20)	10.5 \pm 1.8

ile onuncu santimetre arasına loop obstrüksiyon, grup III'deki ratlara laparatomiden bir saat önce intraperitoneal 100 mg/kg L-NAME (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO., USA) + laparatomiden sonra grup I'deki gibi barsak obstrüksiyonu ve grup IV'deki ratlara ise operasyondan bir saat önce intraperitoneal 30 mg/kg aminoguanidin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO., USA) + laparatomide aynı yöntemle barsak obstrüksiyonu oluşturuldu. Operasyondan sonra, bu gruptaki ratların batını, resusitasyon için steril serum fizyolojik (%0.9 NaCl, 1 ml/kg) verilerek steril şartlarda kapatıldı. Bütün deneklerde sterilite kurallarına uyuldu. Bütün işlemler aynı teknikte yapıldı.

24 saat sonra bütün gruplara aynı teknikte anestezi uygulandı. Steril şartlarda laparotomi yapıldı. Karaciğer, dalak ve mezenter lenf nodlarından alınan örnekler, ağırlığı bilinen steril tüplere konulup bakteriyolojik inceleme için mikrobiyoloji laboratuvarına; obstrüksiyon oluşturulan barsak kısmından bir parça alınarak formalin içerisinde histopatolojik tetkik için patoloji laboratuvarına ve toraks açılarak direkt kalpten alınan kan örnekleri nitrik oksit düzeyini ölçmek üzere biyokimya laboratuvarına gönderildi.

Plazma Nitrik Oksit Düzeyinin Ölçülmesi

Plazma örnekleri nitrat redüktaz enzimi ile muamele edildi ve tüm nitrat (NO_3^-) nitrite (NO_2^-) çevrildi (15). Daha sonra bu nitrit Griess reaktifi ile reaksiyona sokularak pembe bir renk elde edildi. Oluşan bu rengin absorpsiyonu spek-

trofotometrede 545 nm'de ölçülerek numunelerin nitrit konsantrasyonları hesaplandı. Standart olarak sodyum nitrit kullanıldı.

Barsak Duvarının Histopatolojik İncelenmesi

Alınan barsak segmentleri % 10 nötral formalin sıvısında tespit edildi. Kesitler alınarak artan yoğunlukta alkollerde dehidre edildi ve ksilolde tutuldu. Daha sonra 56°C'deki parafinde blok haline getirildi. Rotary mikrotomda 5 μm 'lik kesitler yapılarak hematoksilin eosin ile boyandı ve ışık mikroskobu ile x40 ve x100'lük büyütme altında incelendi. Histopatolojik bulgular barsak mukozasında oluşan ödem, villüslerde iltihabi hücre artışı ve ülserleşme şeklinde değerlendirildi (16-19). Tüm gruplardaki örnekler tek tek incelendi.

Mikrobiyolojik İncelemeler

Steril şartlarda ratlardan alınan karaciğer, dalak ve mezenter parçaları tartıldıktan sonra, içinde 1 ml triptik soy broth bulunan doku öğütücüsünde homojenize edildi. Homojenize edilen bu sıvıdan 100 μL alınarak kantitatif kültür için, Eosine-Methylene Blue ve kanlı agar besiyerlerine ekim yapıldı. 35°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreme olan besiyerlerindeki mikroorganizmalar, konvansiyonel-biyokimyasal yöntemlerle tanımlandı. Sonuçlar, 1 gram doku için oluşan koloni sayısı (CFU/g) şeklinde hesaplandı (20).

İstatistiksel Analizler

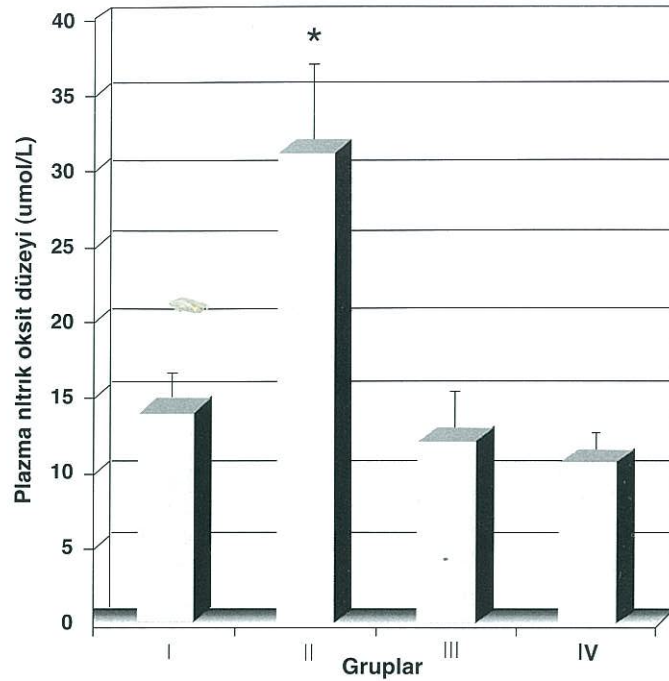
Bu çalışmada elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda "SPSS© 9.05 for Windows" (SPSS Inc. 1998-1999) programı kullanılarak "Mann-Whitney U", "Fisher Exact" ve "chi-square" testleri yapıldı.

BULGULAR

Çalışmada kullanılan 40 rat'ın ağırlığı 228 \pm 15 gr arasında idi. Deneklerin ağırlıkları, alınan kan miktarı ve resusitasyon için verilen serum fizyolojik

TABLO 2: TRANSLOKE OLAN MİKROORGANİZMA TÜRLERİ

Mikroorganizma	Sayı	%
E.coli	27	43
Klebsiela türleri	11	17
Proteus türleri	7	11
Pseudomonastürleri	7	11
KNS'lar	8	13
Candida türleri	3	5



Şekil 1: Kontrol ve deney gruplarında saptanan plazma nitrik oksit düzeyleri. Grup II'de saptanan NO[•] düzeyi ile I., III. ve IV. Grup değerleri arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmalar anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.05$).

miktarları açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Her biri 10'ar rattan oluşan grupların ortalama operasyon süresi 2 saat idi. Operasyondan sonra ölen rat olmadı. Çalışma süresince tüm deneklerde herhangi bir fiziksel veya davranışla ilgili değişiklik gözlenmedi.

Kan NO[•] düzeyleri

Kan NO[•] düzeyleri grup I'de 14.0 ± 3.3 , II'de 31.2 ± 7.6 , III'de 12.2 ± 2.5 ve IV'de 10.5 ± 1.8 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü (Grafik I).

Histopatolojik bulgular

Grup II, III ve IV'de barsak mukozasında ödem ve iltihabi hücre infiltrasyonu görüldü. Grup II ve IV'de ülser tespit edilirken III'de ülser rastlanmadı. Grup I ise tamamen normaldi (Tablo 1).

Mikrobiyolojik bulgular

Grup I'de mikroorganizma üremediği halde diğer üç grupta üreme görüldü. Gruplar genel olarak incelendiğinde; I., II., III. ve IV. grupta sırasıyla %0, %46.6, %73.3 ve %90 üreme görüldü. En fazla üreyen bakteriler *E.coli* ve *Klebsiella* türleri iken (Tablo 2) daha az oranda *Proteus*, *Pseudomonas* ve koagülaz negatif stafilokok (KNS) türü bakteriler ve *Candida* türü mantarlar da üredi. Grup II ve III'de *Candida*, gram pozitif ve negatif bakteriler tespit edilirken, grup IV'de sadece gram negatif bakteriler tespit edildi. Transloke olan mikroorganizmaların oranı gram negatifler için %82, gram pozitifler için %13 ve mantarlar için %5 olarak tespit edildi.

Bakteriyel translokasyonun lokalizasyonu, gruplara göre sırasıyla; karaciğere %0, %40, %70 ve %100, dalağa %0, %40, %70 ve %100,

TABLO 3: GRUP II'DE BAKTERİYEL TRANSLOKASYON SONUÇLARI

	E.coli	Klebsiella	Proteus	Pseudomonas	KNS	Candida	Üreme Olmayan
Karaciğer	-	-	2	-	2	-	6
Dalak	1	1	1	-	-	1	6
MLN	2	-	1	-	2	1	4

TABLO 4: GRUP III'DE BAKTERİYEL TRANSLOKASYON SONUÇLARI

	E. coli	Klebsiella	Proteus	Pseudomonas	KNS	Candida	Üreme olmayan
Karaciğer	6	1	-	-	-	-	3
Dalak	4	-	-	-	3	-	3
MLN	4	2	-	-	1	1	2

mezenter lenf bezlerine ise %0, %60, %80 ve %100 idi (Grafik 2, Tablo 3, 4 ve 5).

İstatistikî bulgular

Gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında; ödem; Grup III'de, Grup I ($p < 0.001$) ve II ($p = 0.0098$)'ye göre anlamlı şekilde yüksek bulundu. İltihabi hücre artışı ve ülser oluşumu yönünden "2-tailed Fisher exact" testinde gruplar arasında fark bulunmadı.

Gruplar arasında NO^* düzeyi için yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda, sadece II. Grupta, I., III. ve IV. Gruba göre anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$).

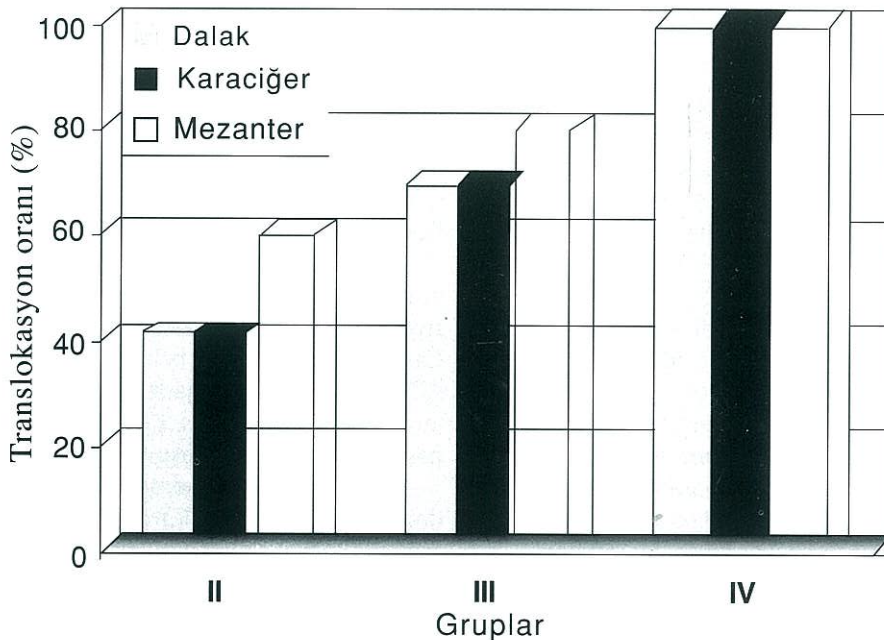
Translokasyon bakımından Grup I ile II ($p = 0.002$), III ($p < 0.001$) ve IV ($p < 0.001$), Grup II ile IV ($p < 0.004$) arasında istatistiksel anlamlılık tespit edildi (Tablo 5, Grafik 2). NOS enziminin inhibe edildiği gruplarda bakteriyel translokasyonda artış tespit edildi. NO^* düzeyi en yüksek olan Grup II'de, ülser oluşumu daha fazla (%40) ancak bakteriyel translokasyon daha azdı. Obstrüksiyon oluşturulan grupta mukoza hasarından bağımsız olarak, kan nitrik oksit düzeyinin

düşmesiyle ters orantılı olarak bakteriyel translokasyonun arttığı görüldü (Grafik 1 ve 2). III. ve IV. Grup arasındaki fark anlamlı bulunmamasına rağmen, AG verilen grupta bakteriyel translokasyon daha fazlaydı.

TARTIŞMA

NO^* , gastrointestinal sistemin normal fizyolojik devamlılığını sağlaması yanında, travma ve bazı kritik hastalıklara karşı intestinal cevabın gelişmesine de yardım eder (8,21). Bakteriyel translokasyonun gerçekleşmesinde en az iki basamak söz konusudur; ilk basamak canlı bakterilerin mukozadan geçişi ve ikincisi ise bakterilerin fagositozdan veya diğer savunma mekanizmalarından kurtulmalarıdır. Konağın savunma mekanizmasını bozan faktörler translokasyonun gerçekleşmesini de sağlamaktadır.

Aktive makrofajlar tarafından üretilen NO^* ; antimikrobiyal, antitümöral ve immünsüpresan özellikte bir moleküldür. Fizyolojik miktarda üretilen NO^* 'in yararlı etkilerine karşılık sürekli ve aşırı miktarda üretilen NO^* , doza bağımlı olarak,



Şekil 2: Bakteriyel translokasyon lokalizasyonları ve oranları

TABLO 5: GRUP IV'DE TRANSLOKASYON SONUÇLARI

	E. coli	Klebsiella	Proteus	Pseudomonas	KNS	Candida	Üreme olmayan
Karaciğer	4	2	1	3	-	-	-
Dalak	4	3	1	2	-	-	-
MLN	2	2	1	2	-	-	-

konak hücrelerinde ortaya çıkan zararlı veya yararlı immün cevapları baskılayabilmektedir (22). Aşırı miktarda üretilen NO ile sitokin üretimi inhibe olurken daha az NO ile sitokin üretimi indüklenmektedir. Toksik şok sendromunda iNOS'ın inhibe edilmesi ile IFN- γ ve TNF- α salınması artmakta ve mortalite oranı yükselmektedir (23,24,25).

NO'in intestinal mukoza üzerindeki etkileri komplekstir. Bazı çalışmalarda, fizyolojik dozda NO'in mukozanın bariyer fonksiyonunu koruduğu bildirilmiş (14) ve barsak iskemisi oluşturulan hayvanlara, nonselektif NOS enzim inhibitörleri (L-NAME gibi) verilince barsak permeabilitesinde artma tespit edilmiş ve bu etkinin; NO'in mukoza perfüzyonunun devamlılığını sağlaması, nötrofillerin kapiller endotelere adhezyonunu inhibe etmesi veya çeşitli mediatörlerin mast hücrelerinden salınımını engellemesi olabileceği bildirilmiştir (26).

Uzun süre ve aşırı miktarda NO'in arttığı durumlarda iki farklı etki ortaya çıkmaktadır. Aşırı miktarda sentezlenen NO, hücre solunumunu, barsak motilitesini, kan akımını azaltarak; permeabiliteyi ve peroksinitrit oluşumunu artırarak barsak mukozasında hasara neden olurken mukozal perfüzyonun devamlılığını sağlayarak, lökosit ve trombositlerin endotele adhezyonunu inhibe ederek, mast hücrelerinin aktivasyonunu önleyerek ve antioksidan fonksiyon göstererek koruyucu etki de yapar (27). Bu çalışmada, barsak obstrüksiyonunda NO düzeyinin arttığı ve NOS enzimi inhibe edilmeyen Grup II'de ülser oluşumunun daha sık olduğu gözlenmiştir. Oysa NOS enziminin inhibe edildiği Grup III'de ülser gözlenmezken ödem daha sık gözlenmiştir. Bu gözlem NO'in düzeyine ve yapıldığı enzim çeşidine göre mukoza üzerinde faydalı veya zararlı değişik etkilerinin ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

NO substratı olan arginin konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda NO sentezinin azalarak antibakteriyel, antitümöral ve diğer etkilerde aksamalara neden olduğu tespit edilmiş ve argininin; barsak mukozasının bariyer etkisini artırdığı, bakteriyel translokasyonu azalttığı, nitrojen den-

gesini ayarladığı, yara iyileşmesini hızlandırdığı ve immün cevabı artırdığı bildirilmiştir (28,29,30,31,32,33,34).

Bu çalışmada, NO'in konağı koruyucu ve bakteriyel translokasyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Nonspesifik (L-NAME) ve spesifik (AG) NOS inhibitörleri kullanılarak kan NO düzeyinin değişimi incelenmiş ve obstrüksiyon oluşturulan grupta NO düzeyi en yüksek ($31.2 \pm 7.6 \mu\text{mol/L}$) bulunurken nonspesifik (L-NAME) ve spesifik (AG) enzim inhibitörü verilen gruplarda daha düşük NO düzeyleri ($12.2 \pm 2.5 \mu\text{mol/L}$ ve $10.5 \pm 1.8 \mu\text{mol/L}$) tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, NOS enzimi inhibitörünün spesifitesi arttıkça kan NO düzeylerini daha fazla düşürmektedir. NO düzeyi ile ters orantılı olarak bakteriyel translokasyon artış göstermiştir. Gruplar genel olarak incelendiğinde; grup I'de %0, II'de %46.6, III'de %73.3 ve IV'de %90 üreme görülmüş ve barsak obstrüksiyonu sonucu oluşan NO'in bakteriyel translokasyonu azalttığı kanaatine varılmıştır.

Çalışmamızda organlara transloke olan bakteri türleri diğer çalışmaların sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Mikrobiyolojik kültürlerde, en fazla üreyen mikroorganizmalar *E. coli* ve *Klebsiella* türleri idi. Daha az oranda olmakla birlikte *Proteus* ve *Pseudomonas* türleri ve KNS'lar ve *Candida* türleri üreyen diğer mikroorganizmalar oldu. Literatür araştırmalarında en sık transloke olan mikroorganizmanın *E. coli* olduğu ve bunu sırasıyla *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* ve *Pseudomonas* türlerinin izlediği görülmektedir (1,35,36,37,38). Ayrıca çalışmamızda diğer araştırmaların sonuçlarından farklı olarak, obstrüksiyon ile obstrüksiyon + L-NAME verilen grupta *Candida* ve gram pozitif bakteriler izole edilirken; AG verilen grupta ise sadece gram negatif bakterilerin (*E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*) transloke olduğu tespit edilmiştir.

Bazı araştırmacılar, endotoksin verilen ratlarda doza bağlı olarak kan NO düzeyinin arttığını ve mukoza hasarına neden olduğunu; L-NMMA (N-monomethyl-L-arginin) veya AG gibi NOS inhibitörlerinin verilmesiyle kan NO düzeyinin normal seviyeye düştüğü, mukoza hasarının

azaldığı ve gastrointestinal sistemden bakteri translokasyonunun engellendiğini bildirmişlerdir (12,13,39,40). Bu çalışmalarda dışardan endotoksin veya LPS verilmiş ve sadece NO[•]'in mukoza hasarına neden olduğu görüşü üzerinde yoğunlaşmıştır. İntestinal enterositlerin mitokondriyal solunum fonksiyonunun bozulmasının barsak bariyer disfonksiyonuna ve sonuçta bakteriyel translokasyona neden olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmalarda NO[•]'in antibakteriyel etkileri ve makrofajların NO[•] aracılı hücrel immüniteye katkıları üzerinde durulmamıştır. Bizim çalışmamızda ise dışardan LPS verilmemiş, barsak obstrüksiyonu oluşturularak normal flora bakterilerinin transloke olmaları sağlanmıştır. Nitekim, bakteriyel kültürlerde daha çok enterik orijinli bakterilerin üremesi ve gastrointestinal sisteme en yakın olan mezenterde en fazla, gastrointestinal sisteme en uzak olan dalakta ise daha az bakteriyel üremeye rastlanması translokasyonun gastrointestinal sistemden kaynaklandığını desteklemektedir. Barsak mukozasının histopatolojik incelemelerinde, NOS inhibitörü kullanılmayan grupta mukoza hasarı daha fazla iken translokasyon oranının artmadığı görülmüştür. Barsak obstrüksiyonu oluşturulan II. Grupta NO[•] düzeyi yükselirken bakteri translokasyonunun azaldığı, aksine NO[•] sentezinin inhibe edildiği III. ve IV. Grupta ise bakteriyel translokasyonun arttığı tespit edilmiştir. Mukozadaki hasara rağmen bakteriyel translokasyonun gözlenmemesinin nedeni NO[•]'in antibakteriyel etkisine bağlanabilir.

Sonuç olarak, yukarıda sayılan karşı görüşlere rağmen, NO[•] artışının mukozal bariyer fonksiyonunu bozabileceği görülmekle birlikte; artan NO[•]'in antibakteriyel etkisinin daha ön planda olacağı, bakterilere karşı bu koruyucu etkinin ortaya çıkması ile de bakteriyel translokasyonun azalabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Berg RD, Garlington AW: Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in gnotobiotic mouse model. *Infect Immun* 1979; 23(2): 403-411.
2. Gelfan GA, Morales J, Jones RL, et al: Hemorrhagic shock and bacterial translocation in a swine model. *J Trauma* 1991; 31(6): 867-874.
3. Jones WC, Barber AE, Minei JP, et al: Differential pathophysiology of bacterial translocation after thermal injury and burn wound sepsis. *Ann Surgery* 1991; 214(1): 24-30.
4. Katayama Masani, Xu D, Specian RD, et al: Role of bacterial adherence and the mucus barrier on bacterial translocation: effects of protein malnutrition and endotoxin in rats. *Ann Surg* 1997; 225 (3): 317-326.
5. Adedeji OA: Trauma and bacterial translocation. *Br J Surg* 1996; 83 (2): 279-283.
6. Castro GA, Powell DW: The physiology of the mucosal immune system and immun-mediated responses in the gastroenterologic tract, In: Johnson LR, Alpers DH, Christensen J, Jacobson ED, Walsh JH, eds. *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3rd ed. New York, Raven, 1994;709.
7. Brown JM, Grosso MA, et al: Cytokines, sepsis, and the surgeons. *Surg Gynecol Obstet* 1989; 169(6): 568-575.
8. Moncada S, Palem RMJ, Higgs EA: Nitric oxide. *Physiology, pathophysiology and pharmacology*. *Pharmacol Reviews* 1991; 43(2): 109-142.
9. Lancaster J: Nitric oxide, principles and actions. Academic Press Inc. USA 1996.
10. Knowles RC, Moncada S: Nitric oxide synthase in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-258.
11. Marletta MA: Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268 (17):12231-12234.
12. Mishima S, Xu D, Lu Q, et al: The relationships among nitric oxide production, bacterial translocation, and intestinal injury after endotoxin challenge in vivo. *J Trauma* 1998; 44(1): 175-182.
13. Sorrells DL, Friend C, Koltuksuz U, et al: Inhibition of nitric oxide with aminoguanidin reduces bacterial translocation after endotoxin challenge in vivo. *Arch Surg* 1996; 131(11): 1155-1163.
14. Kubes P: Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. *Am J Physiol* 1992; 262(6): 1138-1142.
15. Bories PN, Bories C: Nitrat determination in biological fluids by an enzymatic one-step assay with nitrate reductase. *Clin Chem* 1995; 41(6): 904-907.
16. Prohet EB, Arrington JB, Sobin LH: *Laboratory Methods in Histotechnology*, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC, 1992; 25-32.
17. Raphael SS: *Lynch's Medical Laboratory Technology*, 4th edition, WB Saunders Co., Philadelphia, 1983; 759-811.
18. Cotran RS, Kumar VK, Collins T: *Pathologic Basis of Disease*, 6th edition, WB Saunders Co., Philadelphia, 1999; 50-88, 820-3.
19. Woolf N: *Pathology Basic and Systemic*, WB Saunders Co., London, 1998; 35-62, 526-7.
20. Ballows A, Hausler WJ, Hermann KI, et al: *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. ASM. Washington USA 1991.
21. Salzman AL: Nitric oxide in the gut. *New Horiz* 1995; 3(2): 352-364.

22. Wei XQ, Charles IG, Smith A, et al: Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Nature* 1995; 375(6530): 408-411.
23. Florquin S, Amraoui Z, Dubois C, et al: The protective role of endogenously synthesized nitric oxide in staphylococcal enterotoxin B-induced shock in mice. *J Exp Med* 1994; 180(3):1153-1158.
24. Sriskandan S, Evans TJ, Cohen J: Bacterial superantigen-induced human lymphocyte responses are nitric oxide dependent and mediated by IL-12 and IFN-gamma. *J Immunol* 1996; 156(7):2430-2435.
25. Messmer UK, Ankarcona M, Nicotera P, et al: p53 expression in nitric oxide-induced apoptosis. *FEBS Lett* 1994; 355(1):23-26.
26. Kanwar S, Wallace JL, Befus D, et al: Nitric oxide synthesis inhibition increases epithelial permeability via mast cells. *Am J Physiol* 1994; 266(2): 222-229.
27. Mishima S, Xu DZ, LU Q, Deitch EA: Bacterial translocation is inhibited in inducible nitric oxide synthase knockout mice after endotoxine challenge but not in a model of bacterial overgrowth. *Arch Surg* 1997; 132(11): 1190-1195.
28. Horton JW, White J, Maasse D, et al: Arginine in burn injury improves cardiac performance and prevents bacterial translocation. *J App Physiol* 1998; 84(2): 695-762.
29. Adawi D, Molin C, Jeppsson B: Inhibition of nitric oxide production and the effect of arginine and lactobacillus administration in an acut lever injury model. *Ann Surg* 1998; 228(6): 748-755.
30. Barbul A: Arginine: Biochemistry, physiology and therapeutic implication. *J Parenter Enteral Nutr* 1986; 10(2): 227-238.
31. Kelly E, Morris SM, Billiar TR: Nitric oxide, sepsis, and arginine metabolism. *J Parenter Enteral Nutr* 1995; 19(3): 234-238.
32. Seifter E, Rettore G, Barbul A, et al: Arginine: an essential amino acid for injured rats. *Surgery* 1978; 84(2): 224-230.
33. Barbul A, Wasserkrug HL, Seifter E, et al: Immunostimulatory effect of arginine in normal and injured rats. *J Surg Res* 1980; 29(3): 228-235.
34. Reynolds JV, Daly JM, Zhang S, et al: Immunomodulatory mechanism of arginine. *Surgery* 1988; 104(2): 142-151.
35. Sagar PM, Macfie FR, Sedman P, et al: Intestinal obstruction promotes gut translocation of bacteria. *Dis Colon Rec* 1995; 38(6): 640-644.
36. Akçay MN, Çapan MY, Gündoğdu C, et al: Bacterial translocation in experimental intestinal obstruction. *J Intestinal Med Res.* 1996; 24(1): 17-26.
37. Zhi-Yong S, Dong YL, Wang XH: Bacterial translocation and multiple system organ failure in bowel ischemia and reperfusion. *J Trauma* 1992; 32(2): 148-153.
38. Jones WC, Minei JP, Barber AE, et al: Bacterial translocation and intestinal atrophy after thermal injury and burn wound sepsis. *Ann Surg* 1990; 211(4): 399-405.
39. Oudenhoven IMJ, Klaasen HLBM, Lapre JA, et al: Nitric oxide-derived nitrat as a marker of intestinal bacterial translocation in rats. *Gastroenterology* 1994; 107(1): 47-53.
40. Kavuklu B, Agalar C, Güç MO, et al: Evidence that aminoguanidine inhibits endotoxin-induced bacterial translocation. *Br J Surg* 1998; 85: 1103-1106.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr.Adnan HASANOĞLU
 İnönü Üniv. Tıp Fak.
 Turgut Özal Tıp Merkezi Gen.Cer. ABD
 Kampüs 44100 MALATYA