

DeneySEL Peritonit Modelinde Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktörün Tümör Nekrosis Faktör Alfa ve Prognoz Üzerine Etkisi

(THE EFFECT OF GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR ON TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA AND PROGNOSIS IN EXPERIMENTAL PERITONITIS MODEL)

Dr. Orhan ÇELEN, Dr. Tahsin DALGIÇ, Dr. Uğur BERBEROĞLU

Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, ANKARA

ÖZET

Amaç: Çekal ligasyon ve perforasyon yöntemiyle oluşturulan deneySEL peritonit modelinde, tümör nekrosis faktör alfa (TNF- α) düzeyi ve granülosit koloni stimüle edici faktör'ün (G-CSF) TNF- α ve prognoz üzerine etkisini araştırmak.

Durum Değerlendirmesi: Karın içi enfeksiyonlar sonucunda oluşan peritonit ve bunun sonucunda gelişen sepsis, günümüzde halen hasta ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir. G-CSF uygulaması ile septik şok belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olan olayları başlatan sitokinlerin başında gelen TNF- α düzeyinin düşürülmesi ve nötrofillerin indüklenmesinin tedavi edici olabileceği düşünülmektedir.

Yöntem: Çalışmada kullanılan ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 25 adet erişkin erkek Wistar Albino rat üç gruba ayrıldılar. Birinci grupta çekal ligasyon perforasyon (CLP), ikinci grupta çekal ligasyon perforasyon ve granülosit koloni stimüle edici faktör (CLP+G-CSF) ve üçüncü grupta sadece laparotomi uygulandı. Ratlardan ameliyata başlamadan "0. saat" ve postoperative "6.saat"te kan örnekleri alınarak TNF- α düzeyleri ölçüldü. Herbiri ayrı ayrı kafeslerde su ve yem serbest olarak bırakılan ratlar sağkalım analizi amacıyla 6 saate bir gözlemlendi. Ölüm gözlenen ratlara yeniden laparotomi uygulanarak karaciğer, dalak, böbrek, akciğer ve çekum patolojik inceleme amacıyla alındı.

Çıkarımlar: CLP oluşturulan ratlarda TNF- α düzeyleri anlamlı olarak yükselirken, G-CSF uygulamasının TNF- α düzeylerinde anlamlı düşüşe yol açtığı gözlemlendi. Buna paralel olarak sağkalımın da G-CSF uygulanan grupta anlamlı olarak daha iyi olduğu gözlemlendi.

Sonuç: G-CSF'ün, TNF- α 'nın serum düzeylerini düşürerek endotokseminin olumsuz etkilerinden koruyucu rol oynadığı ileri sürülebilir.

Anahtar Kelimeler: Tümör nekrosis faktör alfa (TNF- α), granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), sepsis, peritonit.

SUMMARY

In this study, the effect of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) on tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and prognosis in an experimental model of peritonitis caused by cecal ligation and puncture were evaluated. The rats were divided into three groups. Cecal ligation and puncture (CLP) was performed to the first group, CLP and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) to the second group, simple laparotomy to the third group. The pre- and postoperative TNF- α levels were obtained and rats were observed every six hours for survival analysis. The postoperative TNF- α levels were found to be elevated in CLP group and administration of G-CSF reduced the elevated TNF- α levels. The survival rates were significantly better in the CLP+G-CSF group. The study has shown that administration of G-CSF reduced the elevated TNF- α levels due to peritonitis and prolonged survival.

Key words: Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), sepsis, peritonitis.

Karın içi enfeksiyonlar sonucunda oluşan peritonit ve bunun sonucunda gelişen sepsis, günümüzde halen hasta ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir. Bu nedenle sepsis fizyopatolojisinin ayrıntılı olarak anlaşılabilmesi ve farklı terapötik yaklaşımlar geliştirmek amacıyla sürekli yeni araştırmalar yapılmaktadır. [1,2,3] Son yıllarda sitokinlerin, konak yanıtında, sepsis ve multiorgan yetmezliğinin fizyopatolojisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir.[3,4,5] Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) septik şok belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olan olayları başlatan sitokinlerin başında gelmektedir. Normalde immün yanıtta gerekli olan bu sitokinler fazla miktarda salındıklarında sepsis ve multi organ yetmezliğine neden olurlar.[6,7,8,9,10,11,12]

Enfeksiyon ile mücadelede konağın savunma mekanizmalarının uyarılması önemlidir. Nötrofil vücudun en yaygın fagositik hücresi olduğundan sayı veya fonksiyonlarındaki kayıplar enfeksiyon riskini arttırmaktadır. Bir hemopoetik büyüme faktörü olan granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), nötrofil sayısını arttırması nedeniyle özellikle nötropenik hastalarda enfeksiyona direnç sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca G-CSF'ün başta TNF- α olmak üzere bazı sitokinlerin düzeylerinde düşüşe neden olduğu bilinmektedir.[13,14,15,16,17]

Bu çalışmada çekal ligasyon ve perforasyon yöntemi ile sepsis oluşturulan ratlarda plazma TNF- α düzeyleri, G-CSF'ün TNF- α konsantrasyonu ve sepsisteki fizyopatolojik değişikliklere etkisi ve tedavideki yeri araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma hastanemiz Genel Cerrahi Kliniğince gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 25 adet erişkin erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Çalışmadan bir hafta önce ratlar araştırma ortamına alınarak çevreye uyumları sağlandı ve deney gününe kadar standart rat yemi ve su ile beslendiler. Ratlar üç gruba ayrıldılar. Birinci grupta çekal ligasyon perforasyon (CLP), ikinci grupta çekal ligasyon perforasyon ve granülosit koloni stimüle edici faktör (CLP+G-CSF) ve üçüncü grupta sadece laparotomi uygulandı. CLP ve CLP+G-CSF grubunda 10'ar, sadece laparotomi yapılan grupta ise 5 rat kullanıldı. Tüm ratlara anestezi amacıyla 35 mg/kg ketamin HCl (Ketalar, Park Davis, ABD) intraperitoneal olarak uygulandı.

Ameliyata başlamadan önce retroorbital pleksustan Pasteur pipeti ile alınan kanlar "0. saat" kanı olarak değerlendirildi. Ardından 200 mikrolitre ringer laktat subkutan olarak uygulandı. Daha sonra ratların karın tıraşı yapılarak ameliyat masasına supin pozisyonunda tespit edildi. Ameliyat bölgesi %1 povidon iodin ile temizlendikten sonra 2 cm. orta hat insizyonla abdominal kaviteye ulaşıldı. CLP grubunda laparotomiye takiben çekum bulundu ve rat anatomisine uygun olarak, ileum ve asenden kolon devamlılığı bozulmayacak ve çekal poş oluşturacak şekilde 3-0 ipek ile bağlandı ve antimezenterik kısımdan 18 gauge iğne ile 2 kez delindi. Takiben organlar yerlerine konarak periton ve cilt 3-0 atravmatik ipek ile ayrı ayrı ve devamlı olarak kapatıldı. Resusitasyon amacıyla 3 ml/100 gr % 0.9 NaCl solusyonu subkutan uygulandı ve ratlar su ve yem serbest olacak şekilde herbiri ayrı ayrı kafeslere kondu. Daha sonra 6. saat kanları hafif eter anestezisi altında retroorbital pleksustan Pasteur pipeti ile alındı. Ratlar tekrar ayrı ayrı kafeslere konarak su ve yem serbest olacak şekilde gözleme alındı.

İkinci grupta CLP+G-CSF olarak kodlanan 10 adet rata "0.saat" kanları alındıktan sonra, ameliyata başlamadan önce 50 mikrogram/kg G-CSF+200 mikrolitre ringer laktat karışımı subkutan olarak uygulandı. Takiben CLP grubundaki işlemler aynı şekilde uygulandı.

Kontrol grubundaki 5 rata ise sadece basit laparotomi uygulanarak karın aynı şekilde kapatıldı. Herbiri ayrı ayrı kafeslerde su ve yem serbest olarak bırakılan ratlar sağkalım analizi amacıyla 6 saate bir gözlemlendi. Ölüm gözlenen ratlara yeniden laparotomi uygulanarak karaciğer, dalak, böbrek, akciğer ve çekum patolojik inceleme amacıyla alındı.

Kan örnekleri ise 3000 devir/dakika hızla 5 dakika santrifüje edildi ve şekilli elemanlar birbirinden ayrıldıktan sonra serumları TNF α düzeyi ölçümüne kadar -70°C'de saklandı.

Serum TNF α Düzeylerinin Ölçümü: Serum TNF α düzeyleri, rat TNF α ticari ELISA kiti (Biosource Int, Ca, ABD) kullanılarak saptanmıştır. Santrifüje edilip -70°C'de saklanan rat serumları ile +4°C'de saklanan rat TNF α ticari ELISAKiti oda sıcaklığına ulaşana kadar beklendikten sonra işleme geçildi. Ticari kit içinde bulunan mikroplağın ilk sıra çukurları kontrol olarak alınıp içine sadece 50 mikrolitre örnek seyreltici, sonraki çukur dizilerine 50 mikrolitre standart sıvı (1500-1000-500-250-

Tablo 1. Gruplara ait ortanca (aralık) TNF α düzeyleri (pg/ml) ve p değerleri

	"0."saat TNF α (pg/ml)	"6." Saat TNF α (pg/ml)	P Değeri
CLP	4,50 (3.40-5.10)	141,50 (67,70-187,30)	P<0,05
CLP+G-CSF	4,50 (3,70-5,10)	25,50 (16,00-36,20)	P<0,05
Kontrol	4,30 (3,20-5,30)	4,80 (3,80-5,90)	*
P Değeri	*	P<0,05	
* Anlamlı değil	.		

125-62.5-31.2-15.6pg/ml) olacak şekilde kondu. Daha sonra bunların üzerine 25 mikrolitre rat serumları eklendi. Kontrol çukurları dışındaki tüm çukurlara 50 mikrolitre biotin konjugat sıvısı (biotinlenmiş anti TNF α) konmasını takiben buharlaşmanın engellenmesi için mikropalak özel kağıtla kaplanarak oda sıcaklığında 90 dakika beklemeye alındı. Bu süre sonunda mikropalakta tüm çukurlar kit içinde bulunan yoğun yıkama sıvısı ile 25 defa seyreltikten sonra otomatik yıkayıcı ile beşer defa yıkandı. Kontrol çukurları dışındaki tüm çukurlara 100 mikrolitre streptovidin-HRP sıvısından eklenerek, yeniden özelliği kağıtla kaplanmış şekilde 45 dakika beklemeye alındı. Bu sürenin sonunda çukurlar otomatik yıkayıcı ile beşer defa yıkandı. Kontrol çukurları da dahil olacak şekilde tüm çukurlara 100 mikrolitre stabilize renklendirici eklenip oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika beklemeye alındı. Daha sonra her çukura 100 mikrolitre tepkime durdurucu sıvı (4-N-sülfirik asit) eklendi. Elde edilen karışımlar 450 nanometrelik filtre kullanılarak ELISA okuyucu spektrofotometre cihazında ölçüldü. Elde edilen sonuçlar pg/ml cinsinden kaydedildi.

Patolojik Değerlendirme: Ratlardan alınan çekum, karaciğer, akciğeri böbrek ve dalak örnekleri fiksasyon amacıyla %10'luk formalin solüsyonu içine kondu. Rutin takip ve parafin bloklayıcı takiben Hematoxilen-eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda patoloji bölümünce değerlendirildi.

İstatistiksel Değerlendirme: Grupların kendi içindeki TNF α düzeylerinin zamana bağlı değişimi ("0." ve "6." saat) bağımlı gruplar için Wilcoxon testi ile karşılaştırıldı. Üç grubun "0." ve "6." Saatlerdeki TNF α düzeylerinin birbirleri ile karşılaştırılmalarında önce Kruskal Wallis varyans analizi daha sonra post hoc ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Ratlarda sağkalım süreleri Kaplan-Meier yöntemi değerlendirilir-

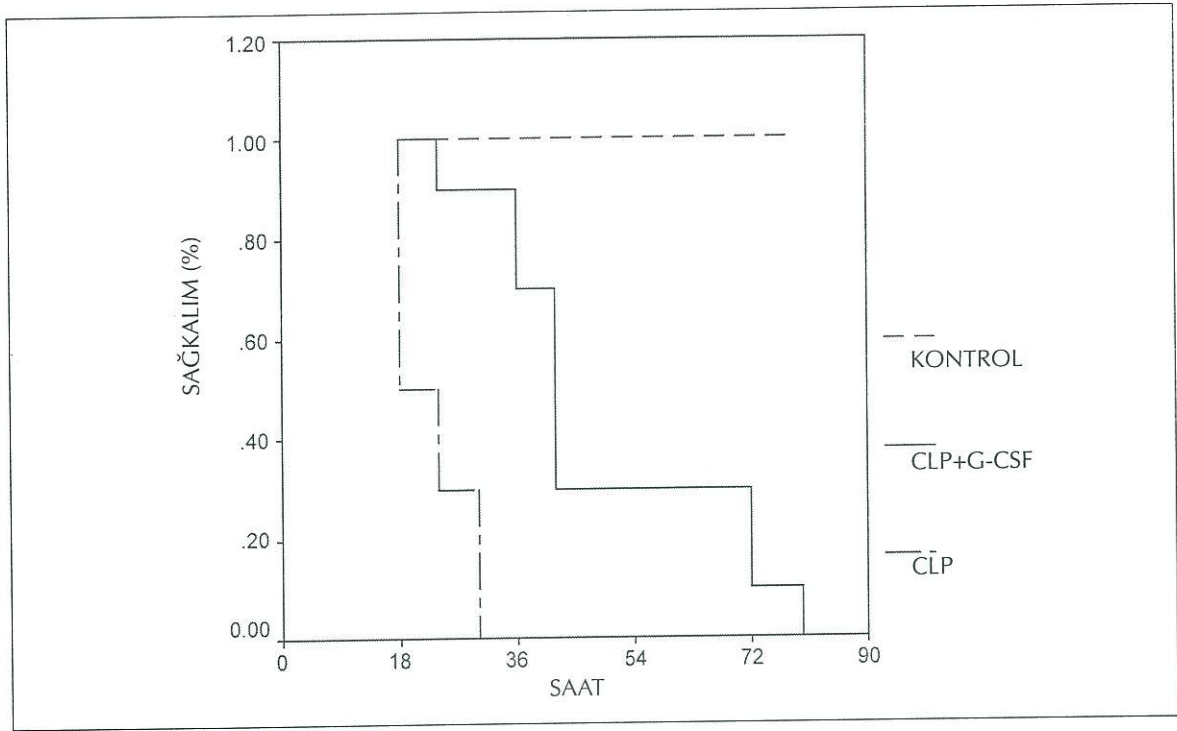
ken, gruplar arasındaki sağkalım farklılıklarının saptanmasında Log rank testi kullanıldı.

BULGULAR

Klinik Bulgular: Çalışmada sadece CLP uygulanan ratlarda postoperatif ilk saatlerden itibaren başlayan ve giderek ilerleyen genel durum bozukluğu klinik olarak belirgindi. Bununla birlikte CLP+G-CSF uygulanan ratlarda klinik görünümün belirgin olarak daha iyi olduğu gözlemlendi. Sadece laparotomi uygulanan grupta ise herhangi bir klinik problem gözlenmedi.

TNF α Düzeyleri: Çalışmada TNF α serum düzeyleri "0."saatte CLP grubunda ortanca 4,50 pg/ml (3,40-5,10 arası), CLP+G-CSF grubunda 4,50pg/ml (3,70-5,10 arası) ve kontrol grubunda ise 4,30 pg/ml (3,20-5,30 arası) olarak bulundu. Gruplar kendi aralarında ikişerli olarak değerlendirildiğinde TNF α düzeyleri arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi (p>0,05). Altıncı saat TNF α serum düzeyleri ise CLP grubunda 141,50 pg/ml (67,70-187,30 arası), CLP+G-CSF grubunda 25,50 pg/ml (16,00-36,20 arası) ve kontrol grubunda 4,80 pg/ml (3,80-5,90 arası) olarak bulundu. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde "6." Saat TNF α serum düzeyleri her üç grup arasında da anlamlı olarak farklı bulundu (p>0,05). CLP ve CLP+G-CSF gruplarının "6." saat değerlerinin "0." Saat değerlerine göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlenirken (p<0,05), bu farklılık kontrol grubunda gözlenmedi (p>0,05) (Tablo 1).

Sağkalım Sürelerinin Değerlendirilmesi: Çalışmada, opere edilen ratlar postoperatif su ve yem serbest olacak şekilde ayrı ayrı kafeslere kondu ve 6 saatte bir sağkalım açısından gözlemlendi. CLP grubundaki ratlarda sağkalım oranı 6 ve 12.saatlerde %100 iken, bu oranın 18. saatte %50 ve 24. saatte %30 olduğu gözlemlendi. Otuzuncu saatte tüm rat-



Şekil 1. Gruplara göre sağkalım

ların yaşamını yitirdiği tespit edildi. CLP+G-CSF grubunda ise sağkalım oranı 18. saatte %100 iken, 24. saatte %90, 30 ve 36. saatlerde %70, 42. saatte %30 ve 48. saatten 72. ssate kadar % 10 olarak bulundu. Sekseninci saatte ise tüm ratlar öldüğü gözlemlendi. Sadece laparotomi yapılan kontrol grubunda ise 80. saate kadar ölüm gözlenmedi.

Kaplan-Meier yöntemi ile elde edilen sağkalım değerlerinin log rank testi ile yapılan karşılaştırmasında her üç grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu (CLP vs CLP+G-CSF $p=0.0003$, CLP vs Kontrol $p=0.0000$, CLP+G-CSF vs Kontrol $p=0.0000$) (Şekil 1).

Patolojik Bulgular: Ratlar Öldükten sonra yapılan relaparotomide CLP grubunda tüm ratlarda makroskopik olarak abdomende kötü kokulu ve bulanık pürülan serbest sıvı, özellikle perforasyon hattının yanında olmak üzere abse oluşumları gözlemlendi. Bu bulgular CLP+G-CSF grubunda da daha az olmakla beraber gözlemlendi. Kontrol grubundaki ratlar 80. saatte kurban edildiğinde, makroskopik olarak herhangi bir patolojik görünüm saptanmadı. Mikroskopik inceleme sonucunda organlarda görülen patolojik değişiklikler tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Sepsis ve septik şok tedavi ve profilaksisindeki yeni yaklaşımlar uygun hayvan modellerini izleyen randomize kontrollü klinik çalışmaları gerektirmektedir. Sitokinler ve sitokin aktivitesinin özellikleri ve bunların tedavi ve fizyopatolojideki yeri ile ilgili yapılan çalışmalar kesin bir sonuca varmak için henüz yeterli değildir.^[17] Yeni ilaçların etki ve güvenliğini araştıran çalışmalarda seçilen hayvan modelleri klinik ile uyumlu olmalı, insan sepsisi ve septik şoku ile ilgili özellikleri ve bu hastalarda uygulanan prosedürleri içermelidir.^[17,18]

Peritonit ve sonrasında gelişen sepsis özellikle immünsupresif hastalarda akut solunum sıkıntısı sendromu ve multipl organ yetmezliği gibi ölümcül komplikasyonlarla sonuçlanabilmektedir.^[3,19] Sepsis esas olarak bir sistemik enflamatuvar yanıtıdır ve bunun sonucunda birçok mediatör açığa çıkmaktadır. Salınan bu mediatörler fizyolojik miktarlarda kaldıkları sürece organizma için faydalıdır ve konakçı savunması için gereklidir. Ancak olayın fizyolojisinin bilinmemesi, etken ile mücadelenin gecikmesi, yanlış tedavi durumlarında salınan bu mediyatörlerin birbirlerinin de miktar ve fonksi-

Tablo 2. Örnekleme yapılan dokulardaki patolojik değişiklikler

	CLP	CLP+G-CFS	Kontrol
Karaciğer	Hiperemi, vena sentralislerde dolgunluk, portal alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonu	Vena sentralislerde dolgunluk	Normal
Akciğer	Hiperemi, bronş duvarı ve interalveolar bölgede mononükleer iltihabi hücreler	Hiperemi	Normal
Dalak	Hiperemi, histiosit sayısında artma, kırmızı pulpada nekroz	Hiperemi	Normal
Böbrek	Hiperemi, tüp epitellerinde dejeneratif değişiklikler, glomerüllerde hafif proliferasyon	Hiperemi, tüp epitellerinde dejeneratif değişiklikler, glomerüllerde hafif proliferasyon	Normal
Çekum	Submukozada, muskularis mukoza ve serozada PML lökositlerce zengin iltihabi hücreler, mukozada ülserasyon ve nekrotik materyal ile kaplanma	Mukozada ülserasyon ve nekrotik materyal, PML lökositler ve mononükleer hücrelerden zengin iltihap, submukozal lenfatiklerde dilatasyon	Hafif submukozal ödem

yonlarını etkileyerek endotel hasarını başlatmaktadır. Endotelde enzimlerin hasarı, mikrotombüsler ve kapiller permeabilitenin artması ile fizyolojik denge bozulur ve şok tablosu ortaya çıkmaktadır.^[3,18,20,21,22,23,24] Sepsiste ortaya çıkan bu mediatörlerden en önemlilerinden biri TNF- α 'dır. Yapılan bir çok çalışmada sepsisli hayvan ve insanlarda TNF- α düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. TNF- α artışı gram (-) bakteri ya da endotoksin uygulanmasından 2 saat sonra gözlenmektedir. Ayrıca eksojen TNF- α verildiğinde deneklerde septik şok benzeri tablo olduğu gözlenmiştir.^[11,12,18,20] Bununla birlikte TNF- α etkilerini bloke eden ajanlar ve anti TNF- α antikorları uygulandığında ise TNF- α düzeylerinin düştüğü ve oluşan septik tablonun gerilediği gösterilmiştir.^[12,20,22,25,26,27,28] Sunulan çalışmada da çekal ligasyon ve perforasyon metodu ile deneysel peritonit ve sepsis oluşturulan ratlarda TNF- α düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiş ve sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmuştur. TNF- α düzeyinin travmaya yanıt olarak arttığı ve 90-120 dakika sonra maksimum seviyeye ulaştığı, bununla beraber 6. saatte normal düzeylere düştüğü çalışmalarda gösterilmiştir.^[29] Çalışmamızda da bununla uyumlu olarak peritonit gelişen ratlarda 6. saatte TNF- α düzeyleri yüksek-

ken sadece laparotomi uygulanan grupta 6 saat düzeyleri normal bulunmuştur.

Sepsiste antiinflamatuvar tedavinin yeri oldukça önemlidir, ancak enflamasyonun konak savunmasındaki esas rolü düşünüldüğünde, nötrofilleri indüklemenin tedavi edici olabileceği düşünülmüştür.^[19,22] Bu amaçla G-CSF kullanılarak bir çok çalışma yapılmıştır. Tode ve arkadaşlarının çalışmasında CLP ile sepsis oluşturulan ratlarda periferik kanda nötrofil sayısı artmamakla beraber, peritoneal kavitede nötrofil birikimi olduğu ve mortalitenin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.^[17] Bunun yanısıra G-CSF'in TNF- α salınımını suprese ettiği *in vivo* ve *in vitro* olarak gösterilmiştir. Enflamasyonun en önemli ve yaygın sitokini olan TNF- α 'nın baskılanması enflamasyondan korunmada son derece önemlidir.^[17,19,30,31] Görgen ve arkadaşlarının çalışmasında ratlarda G-CSF uygulanması sonrasında makrofajlardan TNF salınımında azalma görüldüğü ve bunun gram-negatif sepsiste koruyucu olduğu bildirilmiştir.^[16] TNF- α düşüşünde kemik iliği makrofajları, alveolar makrofajlar, Kupffer hücreleri ve peritoneal makrofajların G-CSF ile karşılaştıklarında TNF- α sekresyonunu azaltmaları etkindir.^[15,16,17,19] Yapılan çalışmalarda G-CSF'in intestinal rejenerasyon, epitel hü-

re migrasyonu ve mukozal proliferasyona etkisi ile bakteriyel tranlokasyon sonucu gelişen tablodan da koruyucu olduğu gösterilmiştir.^[17,32]

Çalışmamızda da sadece CLP uygulanan grupta sağkalım süresi düşük ve TNF- α düzeyleri yüksek iken G-CSF uygulanan grupta literatürle uyumlu olarak sağkalımın anlamlı olarak uzadığı ve TNF- α düzeylerinin ise anlamlı olarak düştüğü gözlemiştir bununla beraber organlardaki patolojik değişiklikler açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi.

Sonuç olarak G-CSF'ün, sepsiste klinik ve patolojik değişikliklerden sorumlu önemli sitokinlerden biri olan TNF- α 'nın serum düzeylerini düşürerek endotokseminin zararlı etkilerinden koruyucu rol oynadığı ileri sürülebilir.

KAYNAKLAR

- O'Gorman RB, Feliciano DV, Matthews KS: Correlation of immunologic and nutritional status with infectious complications after major abdominal trauma. *Surgery* 1986;99:549-5.
- Wenzel RP: The mortality of hospital-acquired bloodstream infectious: need for a new vital statistic. *Int J Epidemiol* 1988;17:225-7.
- Bone RC: The sepsis syndrome. *Clin Chest Med* 1996; 17:175-81.
- Howard M, Muchamuel T, Andrade S, et al: Interleukin 10 protect mice from lethal endotoxemia. *J Exp Med* 1993;177:1205-8.
- Tilg H, Wilmer A, Vogel W, et al: Serum levels of cytokines in chronic liver disease. *Gastroenterology* 1992; 103:264-74.
- Aderka D, Engelmann H, Maor Y, et al: Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med* 1992;175(2):323-9.
- Beaux AC, Goldie AS, Ross JA, et al: Serum concentration of inflammatory mediators related to organ failure in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg* 1996;83:349-53.
- Sayan M, Alponat A, Yavuz N, et al: The effect of oral sodium tauracholate on endotoxemia and intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructive jaundice. *Jpn J Surg* 1997; 27: 953-7.
- Dinarelli CA, Cannon JG, Wolff SM, et al.: Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin-1. *J Exp Med* 1986; 163:1433-50.
- Michie HR, Monogue KR, Spriggs DR, et al :Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Eng J Med* 1988;318:1481-6.
- O'Neil SO, Hunt J, Filkins J, et al: Obstructive jaundice in rats results in exaggerated hepatic production of tumor necrosis factor-alpha and systemic and tissue tumor necrosis factor-alpha levels after endotoxin. *Surgery* 1997;122:281-287.
- Vassalli P: The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992;10:411-52.
- Lang CH, Bagby GJ, Depressu C, et al: Effect of granulocyte colony stimulating factor on sepsis induced changes in neutrophil accumulation and organ glucose uptake. *J Infect Dis* 1993;166:336-43.
- Nelson S.: Role of granulocyte colony stimulating factor in the nonneutropenic host: an overview. *Clin Infect Dis* 1994;18:197-204.
- Hamood M, Bluche PF, De Vroey C et al: Effects of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor on neutropenic mice infected with *Candida albicans*: acceleration of recovery from neutropenia and potentiation of anti-*C. albicans* resistance. *Mycoses* 1994;37(3-4): 93-9.
- Görge I, Hartung T, Leist M, et al: Granulocyte colony-stimulating factor treatment protects rodente against lipopolysaccharide-induced toxicity via suppression of systemic tumor necrosis factor- α . *J Immunol* 1992; 149:918-24.
- Lorenz W, Reimund KP, Weitzel F, et al: Granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis before operation protects against lethal consequences of postoperative peritonitis. *Surgery* 1994;116(5):925-34.
- Rackow EC, Astiz ME: Pathophysiology and treatment of septic shock. *JAMA* 1991;266:548-54.
- Toda H, Murata A, Matsuura N, et al: Therapeutic efficacy of granulocyte colony-stimulating factor against rat cecal ligation and puncture model. *Stem Cells* 1993;11:228-34.
- Dunn DL: Gram-negative bacterial sepsis and sepsis syndrome *Surg Clin North Am* 1994;74(3):621-36.
- Thurn JR: Septic shock: Evaluation of a life-threatening condition. *Postgrad Med* 1990;87:53-8.
- Silver GM, Fink MP: Possible roles for anti or pro inflammatory therapies in management of sepsis. *Surg Clin North Am* 1994;74(3):711-23.
- Bone RC: A critical evaluation of new agents for the treatment of sepsis. *JAMA* 1991;266:1686-91.
- Goode HF, Webster NR: Free radicals and antioxidants in sepsis. *Crit Care Med* 1993;21(11):1770-6.
- Giroir BP: Mediators of septic shock: New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit Care Med* 1993;21(5):780-86.
- Callery MP, Kamei T, Mangino MJ et al: Organ Interactions in sepsis. *Arch Surg* 1991;126:28-32.
- Pollack M, Ohl C: Endotoxin-based molecular strategies for the prevention and treatment of gram-negative sepsis and septic shock. In Rietschel ET, Wagner H (eds): *Pathology of septic shock*. Berlin, Springer-Verlag, 1996: 275-298.
- Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD et al: Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985;316(6028):552-4.
- Davies MG, Hagen PO: Systemic inflammatory response syndrome. *Bri J Surg* 1997;84:920-35.
- Goya T, Torisu M, Doi F, et al: Effects of granulocyte colony stimulating factor and monobactam antibiotics (Aztreonam) on neutrophil functions in sepsis. *Clin Immunol Immunopathol* 1993;69(3):278-84.
- O'Reilly M, Silver GM, Greenhalgh DG, et al. Treatment

of intra-abdominal infection with granulocyte colony-stimulating factor. J Trauma 1992;33:679-82.

32. Zapata-Sirvent RL, Hansbrough JF, Wolf P, et al. Epidermal growth factor limits structural alterations in gastrointestinal tissues and decreases bacterial translocation in burned mice. Surgery 1992;113(5):564-73.

KATKIDA BULUNANLAR

Çalışmanın düşünülmesi ve planlaması:

Dr. Uğur BERBEROĞLU, Dr. Orhan ÇELEN,
Dr. Tahsin DALGIÇ

Verilerin elde edilmesi:

Dr. Orhan ÇELEN, Dr. Tahsin DALGIÇ

Verilerin analizi ve yorumlanması:

Dr. Uğur BERBEROĞLU, Dr. Orhan ÇELEN,
Dr. Tahsin DALGIÇ

Yazının kaleme alınması:

Dr. Orhan ÇELEN, Dr. Tahsin DALGIÇ

İstatistik değerlendirme:

Dr. Emin YILDIRIM

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. Orhan ÇELEN,
Buluşmalar Cad. E12 Blok No:18
06530, Angoraevleri, Beysukent,
ANKARA
E-Mail: drorhancelen@yahoo.com