

# Ratlarda oluşturulan deneysel ince bağırsak obstrüksiyonlarında splenektominin bakteriyel translokasyon ve inflamatuvar değişikliklere etkisi

Bacterial translocation and inflammatory alterations in an experimental intestinal obstruction model in splenectomized rats

Tarık Sırça\*, Akın Önder\*, Murat Kapan\*, Recep Tekin\*\*, Uğur Fırat\*\*\*, Osman Evliyaoğlu\*\*\*\*, Fatih Taşkesen\*

**Amaç:** İntestinal obstrüksiyon; normal ekolojik dengenin bozulmasına yol açarak pro-inflamatuvar ve inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunda artış, oksidatif hasar, mukozal bariyer disfonksiyonu ve bakteriyel translokasyon ile sonuçlanır. Splenektomi sonucu ortaya çıkan mitojenik aktivitenin T hücre proliferasyonunu artırarak serumda tuftsin seviyesinin azalmasına yol açtığı ve bunun sonucunda translokasyon gelişimini etkilediği iddia edilmektedir. Bu çalışmada splenektominin ratlarda intestinal obstrüksiyona bağlı ortaya çıkan bakteriyel translokasyon ve inflamatuvar yanıt değişiklikleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Yirmi dört adet rat 3 gruba ayrıldı: Grup 1 (Sham), yalnızca ileoçekal bileşke diseksiyonu; Grup 2 (İntestinal obstrüksiyon), komplet (tam) ileal ligasyon; Grup 3 (Splenektomi+intestinal obstrüksiyon), splenektomi ve sonrasında komplet ileal ligasyon. Ratlar ilk laparotomiye takiben, 24 saat sonra intrakardiyak bölgeden kan alınarak sakrifiye edildi. Steril koşullarda alınan periton sürüntüsü, mezenterik lenf nodu, karaciğer ve ileal doku örnekleri mikrobiyolojik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelendi.

**Bulgular:** İntestinal obstrüksiyon sonrası bakteriyel translokasyon, oksidatif stres, inflamasyon ve ileal mukoza hasarının belirgin olarak arttığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). İntestinal obstrüksiyon sonrası splenektomize ratlar ile splenektomi uygulanmayan ratlar arasında bir farklılık izlenmedi. Asimetrik dimetiltarjinin değerleri açısından tüm gruplar benzerdi ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda splenektominin ratlarda deneysel olarak oluşturulan barsak tıkanma modelinde bakteriyel translokasyon ve inflamasyon üzerine anlamlı bir etkisi görülmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İntestinal obstrüksiyon, splenektomi, bakteriyel translokasyon

\*Dicle Üniversitesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye  
\*\*Dicle Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye  
\*\*\*Dicle Üniversitesi, Patoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye  
\*\*\*\*Dicle Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Dr. Akın Önder  
E-posta: draonder@gmail.com

Makale Geliş Tarihi: 06.12.2011  
Makale Kabul Tarihi: 27.03.2012

## GİRİŞ

İnce barsakların sindirim ve absorpsiyon yanında en önemli görevi; antijenler, toksinler ve mikroorganizmalar için fonksiyonel ve mekanik bir bariyer oluşturmasıdır (1). İnce barsaklarda çok az bakteri mevcuttur, ancak intestinal obstrüksiyon (İO) sonrası normal ekolojik denge bozulur (2). Normal ekolojik dengenin bozulması ise, pro-inflamatuvar ve inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunda artış, oksidatif hasar, mukozal bariyer disfonksiyonu ve bakteriyel translokasyon (BT) ile sonuçlanır (1). Artmış intestinal geçirgenlik; normalde steril olan peritoneal alan, mezenterik lenf nodları, karaciğer, dalak ve sistemik dolaşı-

ma bakteri ve ürünlerinin translokasyonunu artırarak sistemik inflamatuvar cevabın ortaya çıkmasına neden olur (2).

İnterlökin-6 (IL-6), interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) ve tümör nekroz faktörü-alpha (TNF- $\alpha$ ) oksidatif stres ve inflamasyon sonrası indüklenen önemli pro-inflamatuvar sitokinlerdir. C-reaktif protein (CRP); akut faz reaktanı olup sistemik inflamatuvar yanıtın da önemli bir belirteçidir (3). Asimetrik dimetiltarjinin (ADMA) endojen nitrik asit sentaz inhibitörü olup, son zamanlara multipl organ yetmezliği ve yoğun bakım ölümlerinin tespitinde önemli bir parametre olarak bildirilmiştir (4).

Dalak, diğer organlardaki immün hücrelerin regülasyonunu düzenleyebilecek mediatörler oluşturabilmektedir. Splenektominin immün hücre popülasyonları üzerine olan bu etkisinin ortadan kalkması sonucu ortaya çıkan mitojenik aktivite T hücre proliferasyonunun artmasına ve serumda tuftsinin seviyesinin azalmasına yol açar (5). Biyomateryallere karşı makrofaj cevabında gecikme ve biyoaktif mediatörlerin salınmasında azalma meydana gelir. Ortaya çıkan bu değişikliklerin ince bağırsaklarda BT gelişimini azaltabileceği bildirilmektedir (6,7).

Bu çalışmada splenektominin ratlarda mekanik İO sonrası ortaya çıkan BT ve inflamatuvar yanıt değişikliklerinin etkisinin mikrobiyolojik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunca etik yönden uygun bulunarak 'Guidelines in the use and care of laboratory animals' kuralları çerçevesinde yapılmıştır (8).

### Deney Hayvanları

Ağırlıkları 200-280 gram arasında değişen 24 adet Wistar Albino rat çalışmaya alındı. Tüm ratlar kafeslerde 12 saat gece 12 saat gündüz olmak üzere 20-26°C sıcaklık olacak şekilde tutularak standart rat yemi ve musluk suyuyla beslendi.

### Deneyel Çalışma

Akşamdan aç bırakılan hayvanlara intramuskuler yoldan 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar®; Parke Davis, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun®; Bayer AG, Leverkusen, Germany) enjekte edilerek anestezi sağlandı. Toraks ve karın traşını takiben %10'luk povidon iyodin solüsyonu (Betadine®) ile cilt temizliği yapıldı. Steril koşullarda ratlara 4 cm'lik orta hat insizyonu ile laparotomi uygulandı. Çekumun yaklaşık 1 cm proksimalinden ileum 4/0 serbest ipek sütür ile nekroz oluşturmayacak ancak pasajı engelleyecek şekilde bağlanarak mekanik ince barsak obstrüksiyonu oluşturuldu. Dalak serbestleştirildikten sonra pedikülü 4/0 ipek ile bağlandı. Pankreasın korunmasına özen gösterilerek splenektomi gerçekleştirildi. Peritoneal alana 2 ml serum fizyolojik verilerek insizyon çift kat olarak kapatıldı. 24 saat sonra yeniden intramuskuler yoldan 50 mg/kg Ketamin hidroklorür ve 10 mg/kg Xylazine enjekte edilerek anestezi sağlandı ve %10'luk povidon iyodin solüsyonu ile cilt temizli-

ği yapılarak steril koşullarda intrakardiyak kan alınarak ratlar sakrifiye edildi. Daha sonra torako-abdominal insizyon ile karın tekrar açılarak intraperitoneal alandan sürüntü yoluyla kültür alındıktan sonra, mezenterik lenf nodları ve karaciğer doku örnekleri mikrobiyolojik ve histopatolojik inceleme için alındı. Ligasyon uygulanan segmentin proksimalinden yaklaşık 5 cm'lik ileal segment ileal mukozal bütünlük, ödem ve inflamasyon açısından histopatolojik değerlendirilme için rezeke edildi.

### Deney Grupları

Çalışmaya her grupta 8 adet olacak şekilde toplam 24 adet Wistar Albino dişi rat alındı.

**Grup I (Sham, S);** Laparotomi uygulanarak ileoçekal bileşke ortaya konuldu ve herhangi bir işlem yapmadan peritoneal alana 2 ml serum fizyolojik verilerek insizyon kapatıldı.

**Grup II (İntestinal obstrüksiyon, İO);** Laparotomi sonrası ileoçekal bileşke ortaya konuldu ve çekumun 1 cm proksimalinden ileum 4/0 ipek sütür ile nekroz oluşturmayacak ancak pasajı engelleyecek şekilde bağlanarak mekanik İO oluşturuldu. Peritoneal alana 2 ml serum fizyolojik verilerek insizyon kapatıldı.

**Grup III (Splenektomi + intestinal obstrüksiyon, SP+İO);** Laparotomi sonrası splenektomi uygulandı. Takiben ileoçekal bileşke ortaya kondu ve çekumun 1 cm proksimalinden ileum 4/0 ipek sütür ile nekroz oluşturmayacak ancak pasajı engelleyecek şekilde bağlanarak mekanik İO oluşturuldu. Peritoneal alana 2 ml serum fizyolojik verilerek insizyon kapatıldı.

### Mikrobiyolojik İnceleme

Peritoneal sürüntü, mezenterik lenf nodları ve karaciğer doku örnekleri ve kan örnekleri mikrobiyolojik inceleme için alındı. Ratlara steril bir şekilde laparotomi yapılarak ilk olarak her bir hayvandan 1 ml kan örneği alınarak Brain heart infüzyon (BHI) besiyeri içeren bifazik kan kültürü vasatlarına inoküle edilerek ve aerob ortamda 37 °C de inkübasyona bırakıldı. Luminal içeriği steril izotonik serum fizyolojik içinde homojenize edilerek McConkay ve kanlı agara ekim yapıldı. Peritoneal sürüntü örneği ile McConkay ve kanlı agara ekim yapıldı. Ardından mezenter lenf nodu, karaciğer doku biyopsi örnekleri alınarak steril cam homojenizatörlerde 2 ml BHI besiyeri içerisinde homojenize edildi. Homojenize

edilen doku örneklerinden 0.1 ml alınarak kanlı agar ve McConcay agara inoküle edildi. Tüm besiyerleri 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılarak bakterilerin üremesi gözlemlendi. Üreme olan kültürlerdeki bakterilerin identifikasyonları standart mikrobiyolojik yöntemler ve gram boyama ile yapıldı.

### Biyokimyasal Analizler

Total oksidan aktivite (TOA), total antioksidan status (TAS), paroxanase (PONX), TNF-α, IL-6, IL-1β, CRP ve ADMA analizleri kan örneklerinde gerçekleştirildi.

Her grupta deneysel işlemlerin sonunda, intrakardiyak yolla alınan kanın 1 ml'si mikrobiyolojik inceleme için ayrıldıktan sonra süratle santrifüjlenerek elde edilen numune biyokimyasal analizler için plastik ependorf kapaklı tüplere transfer edilerek -80 °C derin dondurucuda saklandı. İnflamatuvar cevabın göstergesi olarak TNF-α, IL-1β, IL-6 gibi biyokimyasal parametrelerin analitik uygulama, hesaplama ve birim dönüşümleri gerçekleştirildi. CRP ölçümü nefelometrik olarak ölçüldü. TNF-α, IL-1β, IL-6 ve ADMA serum düzeyi ticari kemilüminesan immün assay kitleri kullanılarak ölçüldü. TOA düzeyleri Erel tarafından gerçekleştirilen yöntemle ölçüldü ve değerler μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq/L olarak verildi (9) Serum TAS seviyeleri Erel yöntemiyle değerlendirildi ve sonuçlar mmol Trolox Eq./L olarak verildi (10). Serum PONX seviyeleri modifiye Eckerson yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçüldü (10) ve sonuçlar U/L olarak verildi (11).

### Patolojik Değerlendirme

İleal segmentler mukozal hasar skoru açısından incelendi. İleal segment, mezenterik lenf nodları ve karaciğer örnekleri inflamatuvar hücre infiltrasyonu derecesi açısından değerlendirildi. Ratlardan alınan doku örnekleri %10'luk formaldehid solüsyonu içerisine konularak 24 saat tesbit yapıldıktan sonra rutin histolojik doku takibinden geçirilerek parafin bloklara yerleştirildi ve mikrotom yardımıyla 4-5 μm'lik kesitler hazırlandı. Elde edilen doku kesitleri hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanarak standart protokol uygulandı. Hazırlanan preparatlar belirli uzman bir patolog tarafından ışık mikroskobu (Nikon ECLIPSE 80i) altında ileal doku örneklerinde mukozal inflamasyon ve ödem bulguları, mezenterik lenf nodlarında ve karaciğer örneklerinde parankimal inflamasyon ve ödem bulguları değerlendirildi. Mukozal hasar ve inflamatu-

var değişiklikler yönünden bulgular; değişiklik yok (0), hafif derecede değişiklikler (1), orta derecede değişiklikler (2) ve belirgin değişiklikler (3) olmak üzere skorlanarak kaydedildi (2).

### İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.5 programı kullanıldı. Çalışma verileri ortalama±standart sapma olarak sunuldu ve tanımlayıcı istatistikler yapıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Grupların karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Anlamli farklılık tespit edilen parametrelerde ikili grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel olarak p<0.05 değeri anlamli kabul edildi.

### BULGULAR

Deneysel çalışma esnasında ratlarda mortalite gelişmedi.

#### Mikrobiyolojik sonuçlar

Gruplara ait kültür sonuçları Tablo 1’de pozitif kültür/toplam rat sayısı şeklinde sunuldu. Gruplar karşılaştırıldığında kan, karaciğer, mezenterik lenf nodu ve periton kültürlerinde üreme açısından istatistiksel olarak anlamli farklılık izlendi. İO grubunda kan (p=0.01), karaciğer (p=0.002), mezenter (p=0.038) ve periton (p=0.038) kültürlerinde S grubuna göre anlamli farklılık izlendi. SP+İO grubunda İO grubuna oranla pozitif kültür sayıları daha az olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamli fark izlenmedi.

#### Biyokimyasal sonuçlar

Gruplara ait biyokimyasal sonuçlar Tablo 2’de gösterildi. Gruplar karşılaştırıldığında PONX, TOA, TNF-α, IL-6, IL-1β ve CRP açısından istatistiksel olarak anlamli farklılık izlendi. Anlamli farklılık olan parametrelerde gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında; İO sonrası oksidatif stresin belirgin olarak arttığı gözlemlendi. S grubunda her iki gruba oranla TOA değerleri anlamli olarak daha düşük, PONX değerleri ise daha yüksek olarak saptandı. TAS değerleri açısından anlamli farklılık izlenmedi. Splenektomi yapılan ve yapılmayan grupta İO sonrası oksidan ve antioksidan parametreler benzer olarak saptandı (p>0.05).

Tüm antiinflamatuvar sitokinler (TNF-α, IL-6, IL-1β) ve CRP düzeylerinde İO sonrası belirgin olarak artış saptandı. İO ve SP+İO grupları karşılaştırıldığında ise

antiinflamatuvar sitokin ve CRP düzeyleri açısından farklılık izlenmedi (p>0.05). Serum ADMA düzeyleri açısından tüm gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamli değildi.

### Patolojik sonuçlar

Gruplara ait patolojik sonuçlar Tablo 3’te gösterildi. Gruplar karşılaştırıldığında karaciğer ve ince barsak inflamasyon değercesi ve ince barsak mukozal hasarı açı-

**Tablo 1.** Gruplara ait mikrobiyolojik değerlendirme sonuçları

Gruplar	S (n=8)	İO (n=8)	SP+İO (n=8)	P Değeri
Kan Kültürü*	0/8	6/8 <sup>a</sup>	2/8	0.007
Karaciğer Kültürü*	0/8	7/8 <sup>b</sup>	4/8	0.003
Mezenter Kültürü*	2/8	7/8 <sup>c</sup>	4/8	0.047
Periton Kültürü*	2/8	7/8 <sup>c</sup>	3/8	0.035

\* Veriler Pozitif kültür sayısı/Grupta yer alan toplam rat sayısı şeklinde verilmiştir. S=Sham, İO=İnce bağırsak obstrüksiyonu, Gruplar; S=Sham, İO=İntestinal obstrüksiyon, SP+İO=Spelenektomi+İntestinal obstrüksiyon.  
<sup>a</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p≤0.001),  
<sup>b</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p<0.01),  
<sup>c</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p<0.05).

**Tablo 2.** Gruplara ait biyokimyasal parametre sonuçları

Gruplar	S (n=8)	İO (n=8)	SP+İO (n=8)	P Değeri
PONX (U/L)*	35,60 ± 9,66	18,87 ± 4,78 <sup>a</sup>	23,73 ± 7,06 <sup>c</sup>	0.003
TAS (mmol Trolox Eq/L)*	0,72 ± 0,07	0,71 ± 0,10	0,69 ± 0,10	AD
TOA (μmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Eq/L)*	12,10 ± 1,36	33,68 ± 11,99 <sup>a</sup>	35,46 ± 23,72 <sup>c</sup>	0.005
ADMA (μmol /L)*	2,36 ± 0,91	2,34 ± 1,08	1,62 ± 1,02	AD
TNF-α (pg/mL)*	1,95 ± 0,97	7,66 ± 1,93 <sup>a</sup>	6,40 ± 2,09 <sup>a</sup>	0.001
IL-6 (pg/mL)*	31,53 ± 9,53	65,41 ± 23,13 <sup>b</sup>	50,98 ± 18,87 <sup>c</sup>	0.007
IL-1β (pg/mL)*	0,47 ± 0,12	1,65 ± 0,67 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,54 <sup>a</sup>	0.001
CRP (mg/L)*	30,63 ± 5,22	164,11 ± 46,37 <sup>a</sup>	145,04 ± 25,90 <sup>a</sup>	0.001

\* Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar; S=Sham, İO=İntestinal obstrüksiyon, SP+İO=Spelenektomi+İntestinal obstrüksiyon. PONX=Paraoksonase, TAS= Total antioksidan status, TOA= Total oksidatif aktivite, ADMA=Asimetrik dimetilarginin, TNF-α=Tümör Nekroz Faktör-alfa, IL6= İnterlökin-6, IL1β=İnterlökin-1Beta, CRP= C-Reaktif Protein, AD=Anlamli değil.  
<sup>a</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p≤0.001),  
<sup>b</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p<0.01),  
<sup>c</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p<0.05).

**Tablo 3.** Gruplara ait histopatolojik değerlendirme sonuçları

Gruplar	S (n=8)	İO (n=8)	SP+İO (n=8)	P Değeri
Hepatik inflamasyon*	0,13 ± 0,35	0,88 ± 0,64 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,46	0.023
Mezenterik lenf nodu çapı (mm)*	0,20 ± 0,09	0,26 ± 0,09	0,17 ± 0,08	AD
İleal inflamasyon*	1,13 ± 0,35	2,38 ± 0,74 <sup>b</sup>	2,25 ± 0,71 <sup>b</sup>	0.004
İleal mukozal hasar*	0,00 ± 0,00	1,00 ± 0,76 <sup>b</sup>	0,50 ± 0,76	0.013

\* Veriler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar; S=Sham, İO=İntestinal obstrüksiyon, SP+İO=Spelenektomi+İntestinal obstrüksiyon. AD=Anlamli değil.  
<sup>a</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p<0.05),  
<sup>b</sup> İstatistiksel olarak Grup S’den farklı (p≤0.01).

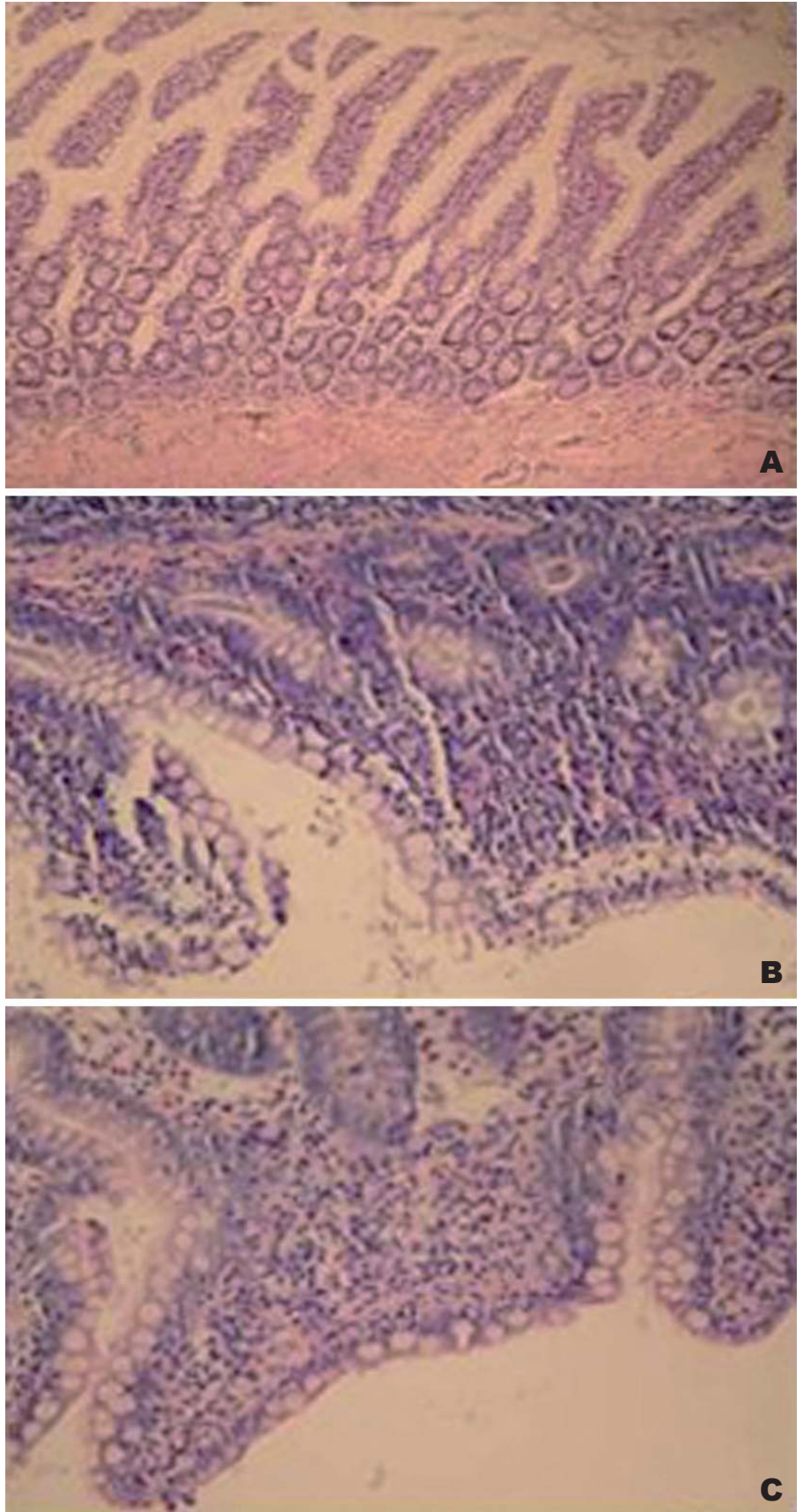


sından anlamlı farklılık izlendi. S ve İO grubu karşılaştırıldığında hepatik ( $p=0.028$ ) ve ileal ( $p=0.005$ ) inflamasyon skorları ile ileal mukoza hasar skoru ( $p=0.01$ ), İO grubunda belirgin olarak daha yüksek bulundu. SP+İO grubunda ise değerlerin İO grubuna oranla ılımlı olarak daha düşük olduğu, ancak aradaki farklılığın anlamlı olmadığı saptandı (Resim 1).

#### TARTIŞMA

Acil cerrahi hastalıkların yaklaşık %20'sini oluşturan İO, cerrahlar için hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir (12). İO sonucu bakterilerin aşırı üremesi nedeniyle artan bakteriyel proteazların spesifik mikrovillus membran proteinlerine etkisinin bir sonucu olarak besin malabsorpsiyonu ile monosakkarit transportunda bozulma meydana gelir. Bakteri veya ürünlerinin etkisi ile fırçamsı yüzeyel aktivitede meydana gelen kayıp BT gelişimine yol açar (13). BT oluşumunu kolaylaştıran faktörler; iyonize radyasyon, endotoksinler, travma, nutrisyonel stres, peritoneal inflamasyon, böbrek yetmezliği, mikroflora değişiklikleri, obstrüksiyon, hemorajik şok, hücrel immünite bozuklukları, IgA defektleri, fagositik hücre defektleri, total parenteral beslenme, antibiyotikler ve immüsupresyon şeklinde sıralanabilir (14,15). BT sonucu barsak duvarını geçen enterik bakterilerin 24-48 saat içinde lenfatik-sistemik veya portal-sistemik yol ile sistemik dolaşıma geçtiği düşünülmektedir (16-18). BT sonucu dokulardan en sık izole edilen mikroorganizma *Escherichia coli*'dir (2). Çalışmamızda da en sık kültürlerde saptanan mikroorganizma *Escherichia coli* idi.

Dalak enfeksiyona karşı defansta önemli rol oynamaktadır. Klinik olarak asplenik hastalarda dalağın filtre fonksiyonunun kaybına bağlı olarak enkapsüle mikroorganizmalarla letal sepsise duyarlılık artar (19,20). Ayrıca splenektomi sonrası BT gelişimine karşı defans mekanizmalarında önemli bir rol oynayan Kupffer hücrelerinin sayısının arttığı bildirilmiştir (19). Spaeth ve ark. (21) endotoksin kullanarak oluşturulan İO modelinde splenektominin BT gelişimini azalttığını bildirmişlerdir. Baykal ve ark. (19) ise, splenektomi yapılan yanık modelinde BT gelişimini araştırmış; yanık oluşturulmayan grupta splenektomi veya parsiyel splenektominin tek başına BT gelişimine yol açmadığını, ya-



**Resim 1.** İntestinal obstrüksiyon sonrası ileal mukoza hasarı. **A** – S grubu: Minimal mukozal inflamasyon (H+E boyası, x100) **B** – İO grubu ve **C** – SP+İO: Subtotal villus atrofi, şiddetli ödem ve inflamasyonun eşlik ettiği ılımlı dejeneratif epitelyal değişiklikler (H+E boyası, x200).

nik oluşturulan grupta ise splenektominin BT gelişimini anlamlı olarak azalttığını bildirmiş ve bunun splenektominin BT gelişimini engelleyen defans mekanizmaları üzerine düzenleyici etkilerine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Sarı ve ark.(22) da yaptıkları çalışmada splenektominin major travma sonrası BT gelişimine karşı koruyucu etkileri olduğunu ve deneysel travma modelinde hepatik rejenerasyonu da artırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise İO sonrası BT gelişimi üzerine splenektominin negatif ya da pozitif herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü.

TNF- $\alpha$ , multipl organ disfonksiyonu (MOD) ve sistemik inflamatuvar reaksiyon sendromunda önemli bir mediatör olarak bilinmektedir. Klinikte serumda yüksek seviyelerde bulunması muhtemelen enfeksiyon lehine yorumlanmaktadır (23). Deneysel çalışmalarda; intravenöz olarak verilen endotoksin ve canlı bakteriler TNF- $\alpha$  düzeylerini artırmaktadır (24). Lokalize yaralanmalarda da dolaşımda artan miktarlarda sitokinler, TNF- $\alpha$  ve IL-6 saptanmıştır (25). İO sonrası endotoksinlerin absorpsiyonu TNF- $\alpha$  seviyelerinde artışa yol açar. TNF- $\alpha$  sekresyonunda artış ise intestinal ve vasküler endotelyum üzerinde nekrotizan etkilerin meydana gelmesine neden olur. IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinler, proinflamatuvar ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasına ve patojenlerin eliminasyonunu sağlayan hızlı bağışıklık yanıtın ortaya çıkmasına yol açar (26). CRP klasik bir akut faz reaktanı olup; enfeksiyon, iskemi, travma, yanık ve inflamatuvar olaylarda 1000 katına kadar çıkabilmektedir. CRP doku yaralanması veya inflamasyonun şiddetinin bir göstergesi olup paralel olarak yükselir (27). Çevikel ve ark. (3), İO sonrası gelişen BT ile ilgili çalışmasında, CRP düzeylerinin BT şiddeti ile ilişkili olduğu ve İO sonrası BT şiddetinin monitorizasyonunda faydalı olabileceğini bildir-

mektedirler. Çalışmamızda ise İO sonrası inflamatuvar sitokinlerin ve CRP seviyelerinin belirgin olarak arttığı, bu nedenle BT gelişiminin monitorizasyonunda birer parametre olarak kullanılabilirler saptandı. Ancak İO sonra ortaya çıkan inflamatuvar yanıtın ve CRP düzeylerinin splenektomili olanlarda farklı olmadığı görüldü.

MOD, karaciğer yetmezliği ve yoğun bakım ölümlerine konsantrasyon bağımlı olarak ilişkili olduğu bildirilen ADMA düzeyleri, MOD gelişiminin yeni ve önemli bir göstergesidir (4). Çalışmamızda ADMA düzeylerinin benzer şekilde BT gelişiminde bir belirteç olup olmadığı araştırıldı. Ancak İO sonrası sham grubuna oranla ADMA düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu nedenle, ADMA'nın bir prognostik belirteç olarak BT gelişiminde kullanım için uygun bir parametre olmadığı saptandı.

PONX peroksidatif hasara karşı antioksidan özelliklere sahip bir glikoproteindir (28). Ayrıca yapılan çalışmalarda TAS ve TOA değerlerinin ölçümünün oksidan ve antioksidan parametrelerin değerlendirilmesinde faydalı oldukları tespit edilmiştir (29). Çalışmamızda İO sonrası PONX değerlerinin azaldığı, TOA değerlerinin ise arttığı ve bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı. TAS değerlerinde ise anlamlı farklılık saptanmadı. Bu bulgu İO sonrası oksidatif stresin arttığı ve bu artışa paralel şekilde antioksidan mekanizmalar ile oluşturulan yanıtın yeterli olmadığı şeklinde yorumlanabilir. SP+İO ve İO grubunun sonuçlarının benzer olması, splenektominin bu mekanizmalar üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı şeklinde yorumlanabilir.

İO sonrası artan lümen içi basınç kapiller hidrostatik basıncın yükselmesine, dokuda ödemin daha fazla artmasına ve arteriyel kan akımının da etkilenmesine

neden olur (30). İO fizyopatolojisinde, intestinal dokuda ortaya çıkan inflamasyon önemli rol oynamaktadır (31). Akçay ve ark. (17), İO sonrası ince barsak dokusunda iltihabi infiltrasyon, ödem ve hipereminin anlamlı olarak arttığını, intestinal villus yapılarının bozulduğunu ve boylarının da kısaldığını bildirmiştir. Ayrıca, basit İO sonrası sadece barsakta ödem gözlenirken, strangülyasyon gelişenlerde ödem, kanama ve nekroz saptandığı bildirilmektedir (32). Çalışmamızda İO sonrası ileal değişiklikler yanında, hepatik inflamasyon ve mezenterik lenf nodülü çaplarında değişiklikler araştırıldı. İO sonrası hepatik ve ileal inflamasyonda belirgin artış ve ileal mukozada subtotal villus atrofi, şiddetli ödem ve inflamasyonun eşlik ettiği ılımlı dejeneratif epitelyal değişiklikler olduğu, bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı. SP+İO ve İO grubu karşılaştırıldığında, splenektomi yapılan ratlarda da sonuçların benzer olduğu görüldü.

Bu çalışmanın kısıtlayıcı yönü kullanılan rat sayısının az olmasıdır. Bu nedenle daha fazla rat veya deneklerin kullanılabilmesi geniş çalışmaların yapılması uygun olacaktır.

## SONUÇ

İO sonucu artan inflamatuvar sitokinler ve oksidatif stres; intestinal mukozal hasar ve BT gelişimini artırmakta, ince bağırsak ve karaciğerde inflamatuvar değişikliklerin oluşmasına yol açmaktadır. Çalışmamızda; İO sonrası ortaya çıkan bakteriyel translokasyon ve inflamatuvar değişiklikler splenektomize ratlarda daha az görülmesine rağmen, splenektomili ve splenektomili olmayan ratlar arasında istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler saptanmadı. Bu nedenle İO sonrası ortaya çıkan bakteriyel translokasyon ve inflamatuvar değişikliklerin düzenlenmesinde dalağın anlamlı bir fonksiyonu olmadığını düşünmekteyiz.



## SUMMARY

### Bacterial translocation and inflammatory alterations in an experimental intestinal obstruction model in splenectomized rats

**Purpose:** Intestinal obstruction leads to an increase in the secretion of pro-inflammatory and inflammatory cytokines, oxidative injury, mucosal barrier dysfunction and bacterial translocation with the deterioration of normal ecological balance. Mitogenic activity resulting from splenectomy is reported to influence the development of bacterial translocation as a result of an increase in the proliferation of T cells and a decrease in the levels of serum tuftsin. In this study, we aimed to investigate the effect of splenectomy on bacterial translocation and inflammatory response alterations resulting from the intestinal obstruction in rats.

**Materials and Methods:** Twenty-four rats were divided into 3 groups as follows: Group 1 (Sham), only the ileocecal junction dissection; Group 2 (intestinal obstruction), complete ileal ligation;

Group 3 (Splenectomy + intestinal obstruction), splenectomy following complete ileal ligation. 24 hours after the initial laparotomy, rats were sacrificed with the reception of intra-cardiac blood. Peritoneal swap, mesenteric lymph node, liver and ileal specimens, taken in sterile conditions, were examined microbiologically, biochemically and histopathologically.

**Results:** Intestinal obstruction resulted in a significant increase in bacterial translocation, oxidative stress, inflammation, and ileal mucosal injury ( $p < 0.05$ ). No significant difference occurred between the splenectomized and non-splenectomized rats. Similar asymmetric dimethylarginine levels were observed in all groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** It was proven that splenectomy has no significant effect on the bacterial translocation and inflammation in experimental intestinal obstruction models in rats.

**Key Words:** Intestinal obstruction, splenectomy, bacterial translocation

## KATKIDA BULUNANLAR

**Çalışmanın düşünülmüş ve planlanması:**  
Tark Sırça, Murat Kapan, Akın Önder

## Verilerin elde edilmesi:

Murat Kapan, Tark Sırça, Akın Önder, Recep Teki, Uğur Fırat, Osman Evliyaoğlu, Fatih Taşkesen

## Verilerin analizi ve yorumlanması:

Murat Kapan, Akın Önder, Tark Sırça

## Yazının kaleme alınması:

Akın Önder, Murat Kapan, Tark Sırça

## İstatistiksel değerlendirme:

Murat Kapan

## KAYNAKLAR

1. Theodorou D, Geli P, Makrkiogiannakis H, et al. Protection of intestinal permeability in the perioperative period. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43:500. doi:10.1097/MCG.0b013e318182c2fa
2. Demirkan A, Aksoy M, Kuzu MA, ve ark. Deneysel ileusda indometasin kullanımının intestinal permeabilite ve bakteriyel translokasyon üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2006; 59:119-127.
3. Cevikel MH, Özgün H, Boylu S, et al. C-reactive protein may be a marker of bacterial translocation in experimental intestinal obstruction. *ANZ J Surg* 2004; 74:900-904. doi:10.1111/j.1445-1433.2003.02681.x
4. Nijveldt RJ, Teerlink T, Van Der Hoven B, et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr* 2003; 22:23-30. doi:10.1054/clnu.2002.0613
5. Engin A. Genel Cerrahi Tanı ve Tedavi İlkeleri. Atlas Kitapçılık. 2000; 671-684.
6. Guo W, Andersson R, Willén R, et al. Bacterial translocation after intraperitoneal implantation of rubber fragments in the splenectomized rat. *J Surg Res* 1994; 57:408. doi:10.1006/jsre.1994.1162
7. Basoglu M, Yıldırğan MI, Polat KY, et al. Bacterial translocation after intraperitoneal drain in the splenectomized rats. *T Klin J Med Sci* 1998; 18:190-195.
8. Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. Guide to the care and use of experimental animals. Canada, Canadian Council on Animal Care 1993; 1-298.
9. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38:1103-1111. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008
10. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37:112-119. doi:10.1016/j.clinbiochem.2003.10.014
11. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, et al. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1993; 35:214-227.
12. Welch JP. General consideration and mortality in bowel obstruction. In: Welch JP, editor. *Bowel obstruction: differential diagnosis and clinical management*. Philadelphia: Saunders Company; 1990; 59-95.
13. Wang X, Guo VD, Wang Q, et al. The association between enteric bacterial overgrowth and gastrointestinal motility after subtotal liver resection or portal vein obstruction in rats. *Eur J Surg* 1994; 160:153-160.
14. Edmiston CE Jr, Condon RE. Bacterial translocation. *Surg Gynecol Obstet* 1991; 173:73-83.
15. Barber AE, Jones WG, Minei JP, et al. Bacterial overgrowth and intestinal atrophy in the etiology of gut barrier failure in the rat. *Am J Surg* 1991; 161:300-304. doi:10.1016/0002-9610(91)91148-C
16. Antequera R, Bretana A, Cirac A, et al. Disruption of the intestinal barrier and bacterial translocation in an experimental model of intestinal obstruction. *Acta Cient Venez* 2000; 51:18-26.
17. Akcay MN, Capan MY, Gundogdu C, et al. Bacterial translocation in experimental intestinal obstruction. *J Int Med Res* 1996; 24:17-26.
18. Aldemir M, Kokoglu OF, Geyik MF, et al. Effects of octreotide acetate and saccharomyces boulardii on bacterial translocation in an experimental intestinal loop obstruction model of rats. *Tohoku J Exp Med* 2002; 198:1-9. doi:10.1620/tjem.198.1
19. Baykal A, Aydın C, Haşçelik G, et al. Experimental study of the effects of splenectomy on bacterial translocation. *J Trauma* 1999; 46:1096-1099. doi:10.1097/00005373-199906000-00024
20. Paksoy M, İpek T, Oral C, et al. The effect of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) on bacterial translocation in the splenectomized rat. *Hepato-Gastroenterology* 1997; 44:411-416.
21. Spaeth G, Specian RD, Berg RD, et al. Splenectomy influences endotoxin-induced bacterial translocation. *J Trauma* 1990; 30:1267-1272.

22. Sarı M, Eroglu E, Agalar F, ve ark. The effect of splenectomy and femur fracture on bacterial translocation and liver regeneration in mice in an experimental two hit trauma model. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yaşam Dergisi* 2010;2:1-6
23. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996; 334:1717-1725. doi:10.1056/NEJM199608013350512
24. Goldman G, Soffer D, Heller L, et al. Tumor necrosis factor mediates bacterial translocation after haemorrhagic shock and endotoxaemia. *Eur J Surg* 2001; 167:299-304.
25. Breese E, Michie C, Nicholls S, et al. Tumor necrosis factor a-producing cells in the intestinal mucosa of children with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1994; 106:1455-1466.
26. Bethea JR, Chung IY, Sparacio SM, et al. Interleukin -1s induction of tumor necrosis factor -alpha gene expression in human astroglioma cells. *J Neuroimmunol* 1992; 36:179-190.
27. Westhuyzen J, Healy H. Biology and relevance of C-reactive protein in cardiovascular and renal disease. *Ann Clin Lab Sci* 2000; 30:133-143. doi:10.1046/j.1440-1797.2000.abs187.x
28. Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med* 2003; 81:766-779. doi:10.1056/NEJM199608013350512
29. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286:431-444. doi:10.1152/ajpregu.00361.2003
30. Dabareiner RM, Sullins KE, Snyder JR. Evaluation of the microcirculation of the equine small intestine after intraluminal distention and subsequent decompression. *Am J Vet Res* 1993; 54:1673-1682.
31. Nellgard P, Jonsson A, Bojo L, et al. Small-bowel obstruction and the effects of lidocaine, atropine and hexamethonium on inflammation and fluid losses. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40:287-292.
32. Van Hoorn EC, Van Middelaar-Voskuilen MC, et al. Preoperative supplementation with a carbohydrate mixture decreases organ dysfunction-associated risk factors. *Clinical Nutrition* 2005; 24:114-123. doi:10.1016/j.clnu.2004.08.002