



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNTESTİNAL OBSTRÜKSİYON
SONRASI
ANTİ-TNF- α ANTİKOR UYGULANMASININ
BAKTERİYEL TRANSLOKASYONA ERKEN
DÖNEMDE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. TANER CEYLAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Pars TUNÇYÜREK

AYDIN – 2010

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL İNTESTİNAL OBSTRÜKSİYON
SONRASI
ANTİ-TNF- α ANTİKOR UYGULANMASININ
BAKTERİYEL TRANSLOKASYONA ERKEN
DÖNEMDE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. TANER CEYLAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Pars TUNÇYÜREK

AYDIN – 2010

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince bana emeği geçen, her zaman bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Şükrü BOYLU, sayın Prof. Dr. Hedef ÖZGÜN, sayın Prof. Dr. M. Hakan ÇEVİKEL, sayın Prof. Dr. Serdar M. ÖZBAŞ, sayın Prof. Dr. Ahmet E. DEMİRKIRAN, sayın Doç. Dr. Pars TUNÇYÜREK, sayın Doç. Dr. Ali Doğan BOZDAĞ, sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan ERPEK, ve sayın Yrd. Doç. Dr. Aykut SOYDER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca; tezimin tüm aşamalarında bana destek olan tez danışmanım sayın Doç. Dr. Pars TUNÇYÜREK'e katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Çiğdem Yenisey'e ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent Ertuğrul'a teşekkürlerimi sunarım.

Katkılarından dolayı bu zor uzmanlık eğitimi döneminde her zaman yanımda bulunan, tüm asistan arkadaşlarıma ve bugüne kadar desteğini esirgemeyen sevgili eşim Aslı ve biricik kızım Ayşegül'e teşekkür ederim.

Dr. Taner CEYLAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TABLO LİSTESİ :	I
ŞEKİL LİSTESİ :	II
SİMGE VE KISALTMALAR :	III
RESİM VE GRAFİK LİSTESİ :	VI
GİRİŞ VE AMAÇ :	1
GENEL BİLGİLER :	4
İntestinal Obstrüksiyon	
İntestinal Obstrüksiyonda Sık Kullanılan Terimler	
Etyoloji	
Patofizyoloji	
Bakteriyel Translokasyon	
Bakteriyel Translokasyon Nedenleri	
Bakteriyel Translokasyonu Etkileyen Faktörler	
İnflamatuvar Cevap Medyatörü Olarak Sitokinlerin Rolü	
Sitokinler Yapılarına Göre İki Gruba Ayrılır	
Anti-TNF İlaçların Etki Mekanizmaları	
Serbest Oksijen Radikalleri	
Serbest Radikallerin Etkileri	
Membran Lipitlerine Etkileri	
Proteinlere Etkileri	
Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri	
Karbonhidratlara Etkileri	
Anti Oksidan Savunma	
Endojen Antioksidanlar	
Ekzojen Antioksidanlar	
GEREÇ VE YÖNTEM :	21
DeneySEL Model	

Çalışma Grupları

Cerrahi İşlem

Yöntemler

Dokuların Biyokimyasal Analizi

Plazma Biyokimyasal Analizi

Mikrobiyolojik İnceleme

SONUÇLAR	:	28
Plazma Biyokimya İncelemeleri		
Çekum ve Mezenter Lenf Nodu Doku Biyokimyasal İncelemeleri		
Kültür Sonuçları Değerlendirmeleri		
TARTIŞMA	:	40
SONUÇ VE ÖNERİLER	:	47
ÖZET	:	48
ABSTRACT	:	49
KAYNAKLAR	:	51

TABLO LİSTESİ

		Sayfa No
Tablo I	: Mekanik barsak obstrüksiyonunun erişkinlerdeki nedenleri ve görülme sıklığı.	5
Tablo II	: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.	28
Tablo III	: Çekum dokusu biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.	33
Tablo IV	: Mezenter Lenf Nodu dokusu biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.	33
Tablo V	: Çekum ve Mezenter Lenf Nodu kültür sonuçlarının ortalama ve standart sapmaları.	38

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil – 1 : İmmün sistemdeki farklı hücrelerde TACE aktivitesini bağlı olarak TNF- α ekspresyonu.	12

SİMGE VE KISALTMALAR

ATP : Adenozin trifosfat
BT : Bakteriyel translokasyon
CAT: Katalaz
CH: Crohn Hastalığı
Cu : Bakır
Cu₂Cl : Bakır klorür
DNA : Deoksiribonükleik asit
EDTA : Etilendiamin tetra asetik asit
EGF : Epidermal büyüme faktörü
ELISA : Enzyme-Linked Immunoassay
EMB : Eozin metilen mavisi agar
FDA: Food and Drug Administration
FGF: Fibroblast büyüme faktörü
G-CSF: Granülosit koloni stimülan faktör
GR : Redükte glutatyon
GSH: Glutatyon
GSH-Px: Glutatyon peroksidaz
GSSG : Okside glutatyon
GST: Glutatyon S transferaz
HETAP : Hexadecyltrimethylammonium bromide
HLA: İnsan lökosit antijeni
H₂O : Su
H₂O₂: Hidrojen peroksit
HOCl : Hipoklorik asit
IFN : İnterferon
IgA : İmmünglobilin A
IgG : İmmünglobilin G
IL-1 : İnterlökin-1
IL-2 : İnterlökin-2
IL-4 : İnterlökin-4

IL-6 : İnterlökin-6
IL-7 : İnterlökin-7
IL-9 : İnterlökin-9
IL-10: İnterlökin-10
IL-11: İnterlökin-11
IL-12: İnterlökin-12
IL-13: İnterlökin-13
IL-15: İnterlökin-15
IL-Ira: IL–1 reseptör antagonistleri
İBH: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
İO: İntestinal obstrüksiyon
KGF : Keratinosit büyüme faktörü
LPS : Lipopolisakkarit
LT : Lenfotoksin
MDA: Malondialdehit
MLN : Mezenter lenf nodu
MODS : Çoklu organ disfonksiyon sendromu
MPO : Myeloperoksidaz
Na₂HPO₄ : Di sodyum hidrojen fosfat
NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBT : Nitroblue tetrazolium
NF-κB : Nuclear factor kappa binding
NK : Natural killer
NH₄SO₄ : Amonyum sülfat
NO⁻ : Nitrik oksit
NO₂: Azot dioksit
NOS: Nitrik oksit sentetaz
İNOS: Nitrik oksit sentetaz
O₂⁻ : Süperoksit radikali
OH⁻ : Hidroksil radikali
PBS: Phosphate Buffer Saline
PLGSH-Px: Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz

PMSE : Fenilmetasulfonyl florür
PMNL : Polimorf nüveli lökositler
RNA : Ribonükleik asit
SOD: Süperoksit dismutaz
SOR: Serbest oksijen radikalleri
Th : T helper
TACE: TNF α Converting Enzyme
TBA : Thiobarbutiric acid
TGF : Transforming büyüme faktörü
TNF : Tümör nekroze edici faktör
TNFR: Tümör nekroze edici faktör reseptörü
TMB : 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine
ÜK: Ülseratif Kolit
XOD : Ksantin oksidaz
C Celcius degree: Santigrat derece
m : Mikrometre
mL: Mililitre
mg : Miligram
kD : Kilo dalton
kg: Kilogram
cm: Cantimeter (santimetre)
rpm: Revolution per minute (devir/dakika)
L: Litre

RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa No
Resim – 1 : Denek hayvanının karın bölgesinin hazırlanması ve laparotomi yapılması.	22
Resim – 2 : Hepatik fleksura düzeyinden intestinal obstrüksiyon oluşturulması.	23
Resim – 3 : 24 saat sonraki relaparotomide tıkanmış barsak ve proksimaldeki dilatasyon.	24
Grafik – 1 : Gruplar arasında serum TNF - α değerleri	29
Grafik – 2 : Gruplar arasında serum IL-6 değerleri	29
Grafik – 3 : Gruplar arasında kan GR değerleri	30
Grafik – 4 : Gruplar arasında kan GSH değerleri	30
Grafik – 5 : Gruplar arasında kan GSH-Px değerleri	31
Grafik – 6 : Gruplar arasında eritrosit SOD değerleri	31
Grafik – 7 : Gruplar arasında serum NO değerleri	32
Grafik – 8 : Çekum dokusunda gruplar arasında doku GSH değerleri	33
Grafik – 9 : Çekum dokusunda gruplar arasında doku GSH-Px değerleri	34
Grafik – 10 : Çekum dokusunda gruplar arasında doku NO değerleri	34
Grafik – 11 : Çekum dokusunda gruplar arasında doku MDA değerleri	35
Grafik – 12 : Çekum dokusunda gruplar arasında doku MPO değerleri	35
Grafik – 13 : MLN dokusunda gruplar arasında doku GSH değerleri	36
Grafik – 14 : MLN dokusunda gruplar arasında doku GSH-Px değerleri	36
Grafik – 15 : MLN dokusunda gruplar arasında doku NO değerleri	37
Grafik – 16 : MLN dokusunda gruplar arasında doku MDA değerleri	37
Grafik – 17 : MLN dokusunda gruplar arasında doku MPO değerleri	38
Grafik – 18 : Çekum kültür sonuçları	39
Grafik – 19 : MLN kültür sonuçları	39

GİRİŞ VE AMAÇ

İntestinal obstrüksiyon (İO), intestinal içeriğin gastrointestinal sistem içinde distale doğru olan geçişinin, parsiyel yada tam olarak engellenmesidir. Uygun şekilde tedavi edilmediğinde yüksek oranda morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir. Hastanelerin acil servislerine başvuran akut karın olgularının % 20'sini İO'lar oluşturur.(1) Mekanik intestinal obstrüksiyonda temel fizyolojik değişiklikler, obstrüksiyonun proksimalinde sıvı ve gaz birikimine ve bunun sonucunda oluşan distansiyona bağlıdır.

Barsakta obstrüksiyon olduğunda, distansiyon sonucu barsak duvarındaki damarlar gerilir, uzar ve çapları incelir. Bu durumda öncelikle venler etkilenir ve venöz dolaşımın bozulmasına bağlı olarak ödem gelişir. Absorbsiyon ve sekresyonu sağlayan basınçlar arasındaki bu değişiklikler, distal ileumun tam tıkanıklığında 12 saat sonra absorbsiyonun durmasına, 48 saat sonra da sekresyonun artmasına neden olmaktadır. Sıvı kaybı oluşumunda sekresyondaki artışın rolü, absorbsiyondaki azalmadan daha fazladır.

Mekanik intestinal obstrüksiyonlarda sıvı kaybına bağlı metabolik etkiler, obstrüksiyonun seviyesi ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Proksimal intestinal obstrüksiyonlarda hipokloremi, hipokalemi ve metabolik alkaloz gelişir. Distal intestinal obstrüksiyonlarda, barsak lümenine olan sıvı kaybı daha fazladır. Dehidratasyon ve hipovolemi arttıkça metabolik asidoz gelişebilir. Dehidratasyon; oligüri azotemi ve hemokonsantrasyona neden olmaktadır. Dehidratasyon tedavi edilmediğinde hipotansiyon ve hipovolemik şok gelişebilir.

Barsak lümeninden portal sisteme geçiş, seçici bir mukozal bariyer tarafından kontrol edilmektedir. Normal koşullarda barsak lümenindeki normal flora bakterilerinin ya da patojenite kazanmış bakterilerin mukozal bariyeri geçmesi imkansızdır. Normal koşullar bozulduğunda gastrointestinal mikroflora lamina propria boyunca lokal mezenterik lenf nodlarına (MLN), başta dalak olmak üzere lenfoid organlara, karaciğere, kana ve sistemik dolaşıma yayılır. Bu duruma bakteriyel translokasyon (BT) adı verilir.(2-4) Daha sonra enterik bakteri sistemik dolaşıma geçerek tüm vücut boyunca yayılabilir ve sepsis, şok, multiorgan yetmezliği ve ölüme neden olabilir.

Deneysel ve klinik çalışmalarda, canlı enterik bakterilerin transmural geçişinin, yani BT'un barsak lümeninde bakterilerin aşırı üremesi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır.(5, 6) Normal erişkinde jejunum ve proksimal ileum steril kabul edilir. Bakteri düzeyi 10^4 ml' yi

aşmaz. Tıkanıklık oluştuğunda ince barsak florası dramatik olarak değişir. Hem bakteri cinsi (en sık *Escherichia coli*, *Streptococcus fecalis* ve *Klebsiella* cinsi) hem de miktarı 10^9 - 10^{10} ml konsantrasyonlarına varacak şekilde değişir. Potansiyel patojen bakteriler epitele direkt tutunarak BT'a neden olabilirler. Bakterilerin normalin üzerinde artışının engellenmesi bu nedenle önemlidir.

Normal intestinal peristaltizm de önemli savunma faktörüdür. İleus gibi peristaltizm bozulduğu durumlarda bakterilerin epitel hücrelerine yapışması ile koruyucu mekanizma kırılabilir.(7)

İnflamasyon temel olarak hayatın yüksek formlarına izin vermek için kendilerini zararlı ajanlardan kurtarmak, nekrotik hücreleri ve debrisini uzaklaştırmak ve hasarlanmış doku ve organları onarmak amacıyla gelişen koruyucu bir cevaptır. Ancak, inflamatuvar cevabın bir parçası olarak mikroorganizmaları öldürmek ve/veya canlılığını yitirmiş hücreleri yıkmak ve sindirmek için kullanılan mekanizmalar normal dokulara da zarar verici olabilir. Bu nedenle inflamasyon birçok hastalığın ve sendromun altında yatan patojenik mekanizmadır. İnflamatuvar yanıt, idamesi ve sonlanması sayısız farklı hücre tipleri ve yüzlerce farklı hümmoral mediyatörü içeren son derece kompleks bir süreçtir. Hümmoral immün mediyatörlerin en önemli sınıflarından birini sitokinler olarak adlandırılan geniş bir grup proteinler oluşturur.

İnsülin veya tiroksin gibi klasik hormonların aksine sitokinler özelleşmiş bezler tarafından salgınlmaz fakat bunun yerine tek başına hareket eden örneğın lenfosit veya makrofaj veya bir dokunun parçası olarak hareket eden intestinal epitel gibi hücreler tarafından üretilir.

Tümör nekroz faktör (TNF), doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regölasyonu, farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rollere sahip polipeptid yapıda bir sitokindir. Başta makrofaj ve lenfositler olmak üzere çeşitli immün ve somatik hücrelerde sentezlenir. TNF'ün ilk tarifi 1975'te Carswell tarafından yapılmıştır. Prohormon şeklinde membrana entegre halde bulunur.

Salgılanmış TNF'nin etkilerini nötrale etmek üzere dizayn edilmiş ajanlardan biri, bir monoklonal anti-TNF- α antikorı olan İnfliximab'tır. TNF- α molekülünün hem çözünebilen hem de transmembranöz formlarına yüksek afinite ile bağlanır. Çok sayıda in vitro incelemede infliximab'ın TNF- α 'nın fonksiyonel aktivitesini inhibe ettiğı gösterilmiştir. %25 fındık faresi + %75 insan antikorundan oluşturulmuştur. 1998'de Crohn hastalarında kullanılmak üzere U.S. Food and Drug Administration (FDA) onayı almıştır. Crohn hastalığı, ülseratif kolit, steroide dirençli akut karaciğer hasarı, Graft Versus Host Disease (GVHD),

romatoid artrit, ankilozan spondilit ve spondiloartropati, enterokutan ve rektovajinal fistül tedavisinde kullanılır.(8) İnflamatuvar durumların spesifik, sitokine yönelik yaklaşımlar ile tedavisi dahiliye ve cerrahinin klinik uygulamalarında önemli bir rol alacak gibi görünmektedir.

Günümüzde anti-TNF ilaçların kullanımında klinik endikasyonlarını genişletmeye yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir.

Çalışmamızda sıçanlar üzerinde oluşturduğumuz intestinal obstrüksiyon modelinde anti-TNF - α monoklonal antikoru olan infliximab'ın bakteriyel translokasyon süreci üzerine erken dönem etkilerini inceledik.

GENEL BİLGİLER

İNTESTİNAL OBSTRÜKSİYON

İntestinal obstrüksiyon (İO), intestinal içeriğin gastrointestinal sistem içinde distale doğru olan geçişinin, parsiyel ya da tam olarak engellenmesidir. Uygun şekilde tedavi edilmediğinde yüksek oranda morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir. Hastanelerin acil servislerine başvuran akut karın olgularının % 20'sini intestinal obstrüksiyonlar oluşturur.(1)

İntestinal obstrüksiyonların % 80'i ince barsak düzeyinde, % 20'si kalın barsak düzeyindedir. Kalın barsak tıkanıklığının % 60'ı tümörler, % 15'i divertikülit ve volvulus nedeniyle ve sıklıkla yaşlılarda görülür.

İntestinal Obstrüksiyonda Sık Kullanılan Terimler

Mekanik obstrüksiyon: Barsak lümeninin tam veya kısmi olarak patolojik bir lezyon nedeniyle tıkanmasıdır. Bu durum; duvara ait, lümen içi ve lümene dıştan bası nedeniyle olabilir.

Basit obstrüksiyon: Tıkanma tek bir bölgeyle sınırlıdır.

Kapalı ans obstrüksiyonu : Bir barsak bölümünün iki veya daha fazla yerden tıkalı olmasıdır.

Paralitik obstrüksiyon: İnce barsağın motor fonksiyonu zayıflamıştır (ameliyat sonrası, travma, peritonit, spinal travma, pnömoni, hipokalemi, üremi, pankreatit gibi).

Strangüle obstrüksiyon: Barsak duvarının beslenmesini sağlayan mezenterik damar tıkanıklığıyla seyreder, nekroz üçüncü, dördüncü saatte meydana gelir.

Etyoloji

Daha önce laparotomi yapılan hastalarda barsak tıkanıklığı nedeni % 60-80 oranında yapışıklıklardır. % 15-20 oranında fitikler, yine % 15-20 oranında neden tümörlerdir ki bunlar lümende ve lümen dışında olabilir.(1)

Miller ve ark.(9) 552 hasta üzerinde yaptığı retrospektif çalışmada ince barsak tıkanıklığı nedenleri: % 74 yapışıklık, % 7 crohn, % 5 tümör, % 2 fitik, % 1 radyasyona bağlı ileus, % 11 diğer nedenler olarak bulmuştur. Mark ve ark.(10) çalışmasında ise barsak tıkanıklıkları nedenleri değişmezken, görülme sıklığı değişir (Tablo 1).

Tablo I : Mekanik barsak obstrüksiyonunun erişkinlerdeki nedenleri ve görülme sıklığı.

Obstrüksiyonun yeri ve nedenleri	Sıklık %
İnce Barsak	85
Yapışıklıklar	60
Fıtıklar	15
Tümörler	15
Diğer	10
Kalın barsak	15
Kolon tümörü	65
Divertikülit	20
Volvulus	5
Diğer	10

Patofizyoloji

Mekanik intestinal obstrüksiyonda temel fizyolojik değişiklikler, obstrüksiyonun proksimalinde sıvı ve gaz birikimine ve bunun sonucunda oluşan distansiyona bağlıdır. Gastrointestinal sistemde sıvı ve elektrolitlerin hareketleri incelendiğinde, absorbsiyon ve sekresyon şeklinde iki işlev olduğu gözlenmektedir. Normalde her gün dokuz litre üst gastrointestinal sistem sekresyonu ince barsaklardan geçer. Bu geçen sıvının ancak 400 – 500 ml’si ileoçekal valve ulaşır ve 200 – 300 ml’si de kolonda absorbe olmaktadır. Tıkanma olduğunda, distansiyon sonucu barsak duvarındaki damarlar da gerilir, uzar ve çapları inceler; bu durumda öncelikler venler etkilenir ve venöz dolaşımın bozulmasına bağlı olarak ödem gelişmektedir. Absorbsiyon ve sekresyonu sağlayan basınçlar arasındaki bu değişiklikler, distal ileumun tam tıkanıklığında 12 saat sonra absorbsiyonun durmasına, 48 saat sonra da sekresyonun artmasına neden olmaktadır. Sıvı kaybı oluşumunda sekresyondaki artışın rolü, absorbsiyondaki azalmadan daha fazladır ve bu durumdan distansiyona bağlı olarak artmış prostoglandin salınımı sorumlu tutulmaktadır.

İntestinal obstrüksiyonda barsak lümeninde sıvı ile birlikte gaz birikimi de olmaktadır. Barsak lümenindeki gazı büyük oranda yutulan hava oluşturmaktadır. Havanın bileşimindeki

ana komponent olan azot ince barsak mukozası tarafından emilemediği için birikir. Bikarbonat nötralizasyonu ile oluşan karbondioksit ve bakteriyel fermentasyon sonucu oluşan organik gazlar da distansiyona katkıda bulunmaktadır.

Mekanik intestinal obstrüksiyonlarda sıvı kaybına bağlı metabolik etkiler, obstrüksiyonun seviyesi ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Proksimal intestinal obstrüksiyonlarda hipokloremi, hipokalemi ve metabolik alkaloz gelişir. Distal intestinal obstrüksiyonlarda, barsak lümenine olan sıvı kaybı daha fazladır. Kan pH'sında olan değişiklik ve elektrolit imbalansı belirgin değildir. Dehidratasyon ve hipovolemi arttıkça metabolik asidoz gelişebilir. Dehidratasyon; oligüri azotemi ve hemokonsantrasyona neden olmaktadır. Dehidratasyon tedavi edilmediğinde hipotansiyon ve hipovolemik şok gelişebilir. İntestinal obstrüksiyon nedeniyle solunum yüzeyelleşebilir.

Lümen içi basınç 30 cm H₂O olduğunda kapillerlerden hücrelere difüzyonun bozulduğu, basınç 60 cm H₂O'ya ulaştığında bazı küçük damarlarda dolaşımın tamamen durduğu gözlenmiştir. Lümen içi basınç artışına bağlı distansiyonla kan dolaşımı arasındaki ters orantının nedeni barsak duvarındaki damar yatağı üzerinde oluşan baskı ve intrinsek sinir pleksusunun uyarılmasıdır. Bu mekanizma proksimale dekompresyon şansı olmayan kapalı ans barsak tıkanıklıklarında iskemik hasarı hızlandırmaktadır. Oysa basit tıkanıklıkta proksimaldeki ansların dilatasyonu ve kusmalarla lümen içi basınç azaltılmakta ve barsak iskemisi riski düşmektedir.(11) Barsak epiteli anoksiye oldukça duyarlıdır ve nekroz bu tutulan bölgelerde meydana gelir. Basınç veya iskemik nekroz neticesinde barsak delinmesi oluşabilir.(12)

Tıkanıklığın ilk döneminde serum sodyum düzeyinde önemli değişiklik olmaz. Tıkanıklığın süresi uzayınca lümen içi biriken sıvıların periton boşluğuna geçişi başlar. Ekstrasellüler alandan sıvı kaybı gittikçe artar ve dilüsyonel hiponatremi olur. Buna potasyum kaybına bağlı hipopotasemide eklenir ve barsakların tonüsü azalır. Açlık, dehidratasyon, ketozis, alkali sıvı kaybı ve böbrek fonksiyonlarında bozulma bir araya gelince metabolik asidoz tablosu oturur.

Kolon, absorpsiyon ve sekresyon kapasitesi minimal olan ve daha çok depo olarak görev alan bir organ olduğundan, kolonik obstrüksiyonlarda sıvı ve elektrolit dengesi belirgin olarak bozulmaz.

BAKTERİYEL TRANSLOKASYON

Canlıların ağız yolu ile aldığı su ve besinleri sistemik dolaşıma geçirmek, gastrointestinal sistemin en temel fonksiyonudur. Barsak lümeninden portal sisteme geçiş, seçici bir mukozal bariyer tarafından kontrol edilmektedir. Normal koşullarda barsak lümenindeki normal flora bakterilerinin ya da patojenite kazanmış bakterilerin mukozal bariyeri geçmesi imkansızdır. Normal koşullar bozulduğunda gastrointestinal mikroflora lamina propria boyunca lokal mezenterik lenf nodlarına (MLN), başta dalak olmak üzere lenfoid organlara, karaciğere, kana ve sistemik dolaşıma yayılır. Bu duruma bakteriyel translokasyon (BT) adı verilir.(2-4, 13)

Daha sonra enterik bakteri sistemik dolaşıma geçerek tüm vücut boyunca yayılabilir ve sepsis, şok, multiorgan yetmezliği ve ölüme neden olabilir. Bu geçiş normal şartlarda oluşmaz.

Bakteriyel Translokasyon Nedenleri

1. Mukozal bariyerin bütünlüğünün kaybolması, mukozal beslenmenin azalması. Yanık, açlık, cerrahi travma, anestezi, gibi durumlarda barsak bariyer fonksiyonunun ve mukozal bütünlüğünün bozulması, bakterilerin absorpsiyonunu arttırarak barsak dışına çıkmasına, başka organlara bakteriyel translokasyonuna neden olmaktadır
2. Lümen içi flora dengesinin kontrolsüz geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile bozulması.
3. Venöz ya da arteriyel sistemdeki değişik nedenlerle olan tıkanmalar.
4. Barsak lümeninde tam ya da kısmi tıkanıklıklar.
5. Karaciğerin safra sekresyonunu uzun süreli barsaklara aktaramaması sonucu retiküloendotelial sistem fonksiyonlarının azalması.
6. Sistemik her türlü immün yetmezliğe zemin hazırlayan durumlarda mukozal bariyerde oluşan hasarlar.

Tüm bu lokal savunma mekanizmaları normal barsak florasının kolonizasyonunu sağlar. Barsak bariyerinin ilk komponenti intestinal mikrofloradır. Anaerobik bakterilerin potansiyel patojen bakterilerin aşırı çoğalmasının sınırlanması ve bu bakterilerin yapışmasını engellemesine kolonizasyon direnci denir.(14)

Geniş spektrumlu antibiyotikler ile anaerobik flora değişikliğe uğrarsa, bu koruyucu mekanizma kaybolur.(15)

Deneysel ve klinik çalışmalarda, canlı enterik bakterilerin transmural geçişinin, yani BT'un barsak lümeninde bakterilerin aşırı üremesi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır.(5, 6) Normal erişkinde jejunum ve proksimal ileum steril kabul edilir. Bakteri düzeyi 10^4 ml'yi aşmaz. Tıkanıklık oluştuğunda ince barsak florası dramatik olarak değişir. Hem bakteri cinsi (en sık E.coli, Streptococcus fecalis ve Klebsiella cinsi) hem de miktarı 10^9 - 10^{10} ml konsantrasyonlarına varacak şekilde değişir.(16) Potansiyel patojen bakteriler epitele direkt tutunarak bakteriyel translokasyona neden olabilirler. Bakterilerin normalin üzerinde artışının engellenmesi bu nedenle önemlidir.

Gastrointestinal sistemde diğer önemli bir savunma mekanizması da esas elemanı musin olan normal mukoza tabakasıdır. Musin, goblet hücrelerinden salgılanan yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Müköz tabakada submukozal plazma hücrelerinden salgılanan sekretuvar immünglobulin A (IgA)' yı da içeren bir grup koruyucu ihtiva eder. Müköz tabaka anaerob mikroorganizmaların üreyebilmesi için uygun bir ortam hazırlar ve potansiyel patojen mikroorganizma lokalizasyonunu engeller. Müköz tabakadaki değişiklikler patojenik bakterilerin epitel hücre yüzeyine tutunmasına neden olur.(17) Barsağın kolumnar epiteli, goblet hücreleri, lenfositler ve M hücreleri gibi özel hücreler normal epitel hücresinin yapı ve fonksiyonunun ve sıkı junctionlarının korunması sağlar, bakterilerin transepitelyal ve transselüler göçünü önler.

Normal intestinal peristaltizm de önemli savunma faktörüdür. İleus gibi peristaltizm bozulduğu durumlarda bakterilerin epitel hücrelerine yapışması ile koruyucu mekanizma kırılabilir.(7)

Barsağın immünolojik bariyeri; peyer plakları, lenf folikülleri, lamina propria lenfositleri, mezenterik lenfoid hücreler ve lamina propriadaki plazma hücrelerinden salgılanan salgısal IgA'dan oluşur. Salgısal IgA enterositlere bakterilerin yapışmasını engeller. Antijenik uyarı sonrasında oluşan T ve B lenfositleri peyer plaklarından ayrılarak MLN'a oradan da lenfatikler yoluyla vücudun çeşitli bölgelerine giderler.(18)

Bakteriyel Translokasyonu Etkileyen Faktörler

Barsak flora bakterilerinde aşırı çoğalma; Antibiyotik kullanımı, açlık, yanık gibi durumlarda barsak florasının stabilitesi bozularak mikroflorada artış görülür. Bu da BT'la sonuçlanmaktadır.(19) En sık izole edilen bakteri Escherichia coli'dir.(20)

İmmün savunmada azalma; Bakteriyel translokasyonu uyaran temel faktör immün sistemin fonksiyon bozukluğudur. İmmün sistemi herhangi bir nedenle baskılanmış hastalarda barsak bakterileri sistemik enfeksiyonlara yol açmaktadır. Atimik farelerde mezenter lenf düğümünde % 50 translokasyon olduğu gösterilmiştir. Bu da T lenfositlerin translokasyonda rol aldığını göstermektedir. Metotreksat, 5-flurourasil, siklofosfamid gibi immün sistemi baskılayan ilaçlar da BT'ı uyarmaktadır.(21, 22)

Barsak mukoza bariyerinde artmış geçirgenlik; Yaş arttıkça BT oranı azalmaktadır. Yenidoğanda barsak bariyeri tam olarak gelişmediği için bakterilerin yapışmasına ve moleküllerin geçişine izin verirler. Henüz T lenfositler de oluşmamıştır. Bu nedenle barsaktan diğer doku ve organlara yayılım kolaylaşır.(21)

Açlık; Açlıkta barsağın kan akımı azalır, incebarsak kitlesi azalır. Katekolaminler gibi vazoaktif hormonların düzeyi artar. Bu da barsak mukozasında hasara yol açarak bariyerin bütünlüğünü bozar. Hücresel ve humoral bağışıklık azalır, fagositoz azalır. Sonuçta barsak permeabilitesi artarak BT gerçekleşir.

Yanık, travma, cerrahi stres; Açlıkla aynı değişiklikler meydana gelir, immün sistem baskılanır, stres hormonları artar, barsak kan akımı azalır ve sonuçta barsak bariyeri bozularak BT oluşur.

Kolestaz; Safra yollarında tıkanıklık sonucunda meydana gelen, retiküloendotelial sistem fonksiyonlarında bozulma, immün sistemin baskılanması, barsak duvarında oksidatif hasar, barsak mukozasının yapı ve fonksiyonundaki değişiklikler BT ile sonuçlanır.

Inflamatuvar barsak hastalığı (İBH)'da barsak duvarında hasarlanma nedeniyle bakteriyel florada eksilmeler meydana gelebilir ve barsak dışı alanlara enterik bakteriler geçebilir. Sistemik endotoksemiye neden olabilir. Sistemik endotoksemi Ülseratif Kolit ve Crohn'nda gösterilmiştir. Bakteriyel translokasyonun İBH' da elektif cerrahisinde meydana gelen sepsisin yüksek insidansını açıklayabileceği ve bu şartlarda meydana gelen karaciğerdeki histolojik ve biyokimyasal hasarlara katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür.(23)

Proinflatuar proteinler olan kemokinlerin, inflamasyonun başlamasında önemli bir rolü vardır. İnfeksiyon ve immün hastalıklarda bu spesifik sitokinlerin patojen ve patolojik süreçlere, genel sellüler enfeksiyona neden olur. Kemokinler, inflamatuvar hastalıklarda önemli bir role sahip olup aracılık ederler. Normal kolonik floradaki değişiklikler sellüler immünite bozukluğu, intestinal mukozada injuri, immünolojik distansiyon, intestinal mekanik bariyerde hasar oluşturur ve bundan dolayı BT ve devamında sepsis ve multiorgan yetmezliği oluşur.(24)

İNFLAMATUAR CEVAP MEDYATÖRÜ OLARAK SİTOKİNLERİN ROLÜ

İnflamasyon temel olarak hayatın yüksek formlarına izin vermek için kendilerini zararlı ajanlardan kurtarmak, nekrotik hücreleri ve debrisini uzaklaştırmak ve hasarlanmış doku ve organları onarmak amacıyla gelişen koruyucu bir cevaptır. Ancak, inflamatuvar cevabın bir parçası olarak mikroorganizmaları öldürmek ve/veya canlılığını yitirmiş hücreleri yıkmak ve sindirmek için kullanılan mekanizmalar normal dokulara da zarar verici olabilir. Bu nedenle inflamasyon bir çok hastalığın ve sendromun altında yatan patojenik mekanizmadır. İnflamatuvar cevabın başlaması, idamesi ve sonlanması sayısız farklı hücre tipleri ve yüzlerce farklı hümmoral mediyatörü içeren son derece kompleks bir süreçtir. Hümmoral immün mediyatörlerin en önemli sınıflarından birini sitokinler olarak adlandırılan geniş bir grup proteinler oluşturur. Sitokinler, endokrin, parakrin ve otokrin işlemlerdeki hedef hücrenin fonksiyonunu değiştirmek amacıyla salınan küçük protein veya glikoproteinlerdir. İnsülin veya tiroksin gibi klasik hormonların aksine sitokinler özelleşmiş bezler tarafından salınmaz fakat bunun yerine tek başına hareket eden örneğin lenfosit veya makrofaj veya bir dokunun parçası olarak hareket eden intestinal epitel gibi hücreler tarafından üretilir.

Gereğinden fazla bulunma sitokinlerin diğer karakteristik özelliğidir. Birçok farklı sitokin çok benzer etki gösterebilir.

Sitokinler Yapılarına Göre İki Gruba Ayrılır

1. Tip I sitokinler, karakteristik tersiyer yapıya sahip 4- α heliks demetinden oluşan geniş bir grup proteindir. Tip I sitokinlerin reseptörleri de yapısal olarak benzerlikler taşır ve Tip I sitokin reseptörleri olarak adlandırılır.

Tip I sitokinler aşağıdaki proteinleri içerir:

İnterlökin 2 (IL-2), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-13, IL-15, granülosit koloni stimülan faktör (G-CSF).

2. Tip II sitokinler, İnterferon (IFN)- α , IFN- β , IFN- γ ve IL-10'u içeren yapısal olarak benzerlik gösteren proteinlerdir. Tip II sitokin reseptörleri de yapısal olarak benzerlik gösterir. Sitokinleri gruplandırmanın bir diğer yolu da basit CD4+ T hücrelerinin (Th 0 hücreleri), Th 1 ve Th 2 olarak adlandırılan 2 alt T helper (Th) hücre grubuna farklılaşmasının tanınmasına dayanır. Th 1 hücreleri, intrasellüler patojenlerin yok edilmesi, makrofaj aktivasyonunun artırılması ve opsonizan antikorların üretimi için gerekli olan hücresel immün cevaptan sorumludur. Th 2 hücreleri atopi ve alerjik inflamasyonun patogeneğinde yer alır ve B lenfosit büyüme ve farklılaşmasını artırır. Th 1 hücreleri potent proinflamatuvar sitokinler olan IFN- γ ve lenfotoksin (LT)- α ile IL-2 üretir. Th 2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13'ü üretir. IL-4, IL-10, IL-13 ve kısmen IL-6 antiinflamatuvar yapıdadır. Bu nedenle Th 1 sitokinler sıklıkla proinflamatuvar, buna karşılık Th 2 sitokinler antiinflamatuvar olarak kabul edilir. Fagositik hücreler tarafından üretilen IL-12, Th 1 hücrelerinin farklılaşması için gereklidir.(25)

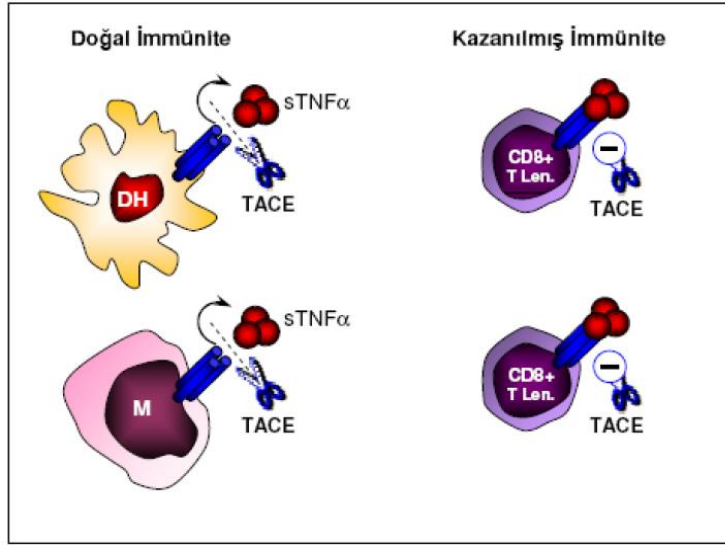
Sitokinlerin özel bir ailesi olan kemokinler 8-11 kilo dalton moleküler ağırlığa sahip küçük proteinlerdir. Primer biyolojik etkileri lökosit ve fibroblastlar için kimyasal uyarıcı olarak hareket etmeleridir. Diğer sitokin alt grubu hematopetik kök hücrelerinin büyümesi ve/veya farklılaşmasını sağlayan koloni-stimülan faktörlerdir. Diğer büyüme ve farklılaşma faktörleri platelet büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörü (EGF), keratinosit büyüme faktörü (KGF) dür.

Tümör Nekroz Faktör (TNF) : TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki formu vardır. TNF- α başlıca makrofajlardan salınan klasik formdur ve kaşektin olarak bilinir. TNF- β ise lenfosit kaynaklıdır. Lenfotoksin- α olarak anılır. Reseptörleri (TNFRI ve TNFRII) ve etki mekanizmaları aynıdır. Birçok doku ve hücre üzerinde farklı etkilerinin olduğu bilinen bir proteindir.

TNF ekspresyonu uyarı sonucu yarım saat içinde başlar, 90–120 dk arasında pik yapar. Daha sonra salınan IL-1 ve IL-6 TNF ekspresyonunu inhibe eder. Dört saat içinde TNF düzeyi sıfıra düşer. TNF koşullara bağlı olarak NF- κ B (nuclear factor kappa binding) tarafından aktivasyonları düzenlenen hücreler üzerinde promitojenik etkiye sahiptir.(26) TNF aynı zamanda indüklenebilir Nitrik Oksin Sentaz (iNOS)'ın regülasyonunda rol oynar.

İmmün yanıt ve sitokin biyolojisini anlamakta reversibl ve irreversibl etki kavramları önemlidir. Hücre dışı mesafede olan bir TNF- α 'nın soluble reseptör veya monoklonal antikorlar ile bağlanması için affinitenin, IgG tipinin, soluble reseptörlerin TNFII veya TNFI olmasının önemi yoktur. Membrana bağlı TNF- α ile bağlanma ise farklıdır. Membrana bağlı TNF- α tam olarak aktif formda bir sitokindir. Prokürsör TNF- α , bir metalloproteaz enzim olan TNF- α Converting Enzyme (TACE) tarafından parçalanır ve TNF- α olarak ortama salınır.

TACE makrofaj ve dentritik hücrelerde eksprese olan bir enzimdir ve çok çeşitli mekanizmalarla aktive olmaktadır. T lenfositlerinde ise TACE aktivasyonu etkin değildir. Bu nedenle T hücrelerinde sentez edilen TNF- α 'lar membrana bağlı olarak kalırlar. Makrofajlarda sentez edilenler ise TACE ile parçalanarak ortama salınırlar. Genel olarak CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin membran TNF- α eksprese ettikleri, makrofaj ve dentritik hücrelerin ise TNF- α 'yı sekrete ettikleri bilinmektedir (Şekil-1).



Şekil – 1: İmmün sistemdeki farklı hücrelerde TACE aktivitesine bağlı olarak TNF- α ekspresyonu.

TNF- α 'nın aktif hale gelmesi için trimerik yapı oluşturması gerekir. Yapılan çalışmalarda, membran TNF- α 'larında trimerik yapı oluşturduğu ve bu nedenle membrana bağlı TNF- α 'larda aktif formda oldukları gösterilmiştir. Membran TNF- α hücre-hücre iletişimde önemlidir.

Sitokinelere bağlı otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde hücre dışı boşlukta yer alan soluble sitokinden daha çok hücre-hücre arası iletişim ile aktivasyona sebep

olan membran sitokinlerinin daha önemli olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bir hastalığın anti-TNF ilaçlar ile etkin tedavisi için membran TNF- α aktivitesinde baskılanması gereklidir. Solubl ve membran TNF- α 'larının TNFR II reseptörüne ve dimerik yapıdaki solubl TNF reseptörü etanersepte bağlanması hızlı ve reversibldir. Monoklonal antikor olan infliximab ise membran TNF- α 'ları ile daha stabil bir kompleks oluşturmaktadır. Ayrıca daha yüksek afinite ile daha çok sayıda infliximab molekülü membran TNF- α 'larını bağlamaktadır. Bu nedenle membran TNF- α 'larının etanersept ile bağlanması infliximab'a göre daha düşük afiniteli, reversibl ve buna bağlı olarak biyolojik aktivite inhibisyonu daha azdır. Yapılan in vitro çalışmalarda membran TNF- α eksprese eden hücreler infliximab ile bağlanması sonucu komplemana bağlı hücre lizisi veya antikora bağlı sitotoksiste ile ölüme gittikleri gösterilmiştir.

IL-6: Kaynağı T ve B hücreleri, makrofajlar, endotelial hücreler, fibroblastlar, hepatositlerdir. Akut travma ve stres sırasında kan düzeyi yükseldiğinden dolayı genellikle sistemik inflamatuvar yanıt veya postoperatif morbidite indikatörü olarak kullanılır. Salgılanmasında major etkiyi IL-1 ve TNF- α sağlar, IL-4, IL-10 ve IL-13 tarafından baskılanır. Travmadan sonra 60 dakika içinde dolaşımdaki düzeyi ölçülebilir, dört ile altı saatte pik yapar ve dolaşımda kalma süresi 10 güne kadar uzayabilir. Ulaştığı kan düzeyi direkt doku hasarı ile bağlantılıdır. IL-1 ve IL-6, travma sırasındaki hepatik akut faz protein yanıtının önemli mediatörleridir ve C-reaktif protein, fibrinojen, haptoglobulin, α 1-antitripsin ve kompleman yapımını da artırır. Sağlıklı bireylerde serum IL-6 düzeyleri saptanmazken inflamatuvar olaylarda serum seviyeleri artar. Bu sitokin, hemapoietik sistem düzenlenmesinde, lenfosit fonksiyonlarında ve hücre farklılaşmasında görev alan önemli bir mediatördür.

IL-1 ve TNF yapısal olarak benzer olmayan pluripotent sitokinlerdir. Her ne kadar bu maddeler farklı hücrel reseptörlere bağlansa da birçok biyolojik aktiviteleri örtüşür. T helper hücrelerinin aktivasyonunu artırma yetenekleri nedeniyle, neredeyse tüm humoral ve hücrel immün cevapları artırılabilir. Nötrofil ve makrofaj aktive etme ve diğer bazı sitokinleri ve inflamatuvar medyatörlerin tanımlanmasını başlatma yeteneğine sahiptir. IL-1 ve TNF- α 'nın biyolojik etkilerinin çoğu diğer sitokinlerin varlığı ile artırılır.

TNF ilk olarak lipopolisakkarit verilmiş hayvanlardan elde edilmiş ve tümör hücrelerini in vitro olarak öldürebildiği ve fareye nakledilen tümörlerde nekroza neden olduğu saptanmıştır.(27, 28) Proteinin genetik kodu kısa bir süre sonra klonlanmıştır.(29)

Aynı zamanlarda Lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış makrofaj çökeltilerinden elde edilen diğer bir protein kaşektin olarak adlandırılmış ve yağ hücrelerinde lipoprotein lipaz ve diğer anabolik hormonların tanımlanmasını baskıladığı saptanmıştı.(30, 31) Daha sonra TNF ve kaşektinin aynı protein olduğu gösterildi.(32) TNF, hayvanlarda endotoksik şokun merkezi medyatörü olarak tanımlandı. TNF, TNF- α olarak isimlendirilir. Çünkü TNF- β olarak isimlendirilen bir sitokine yapısal olarak benzer. Ancak TNF- β günümüzde lenfotoksin- α olarak adlandırılmaktadır. Her ne kadar monosit / makrofaj serisi TNF'nin başlıca kaynağı olsa da mast hücreleri, keratinositler, B ve T hücrelerini içeren diğer hücre tipleri de sitokin salgılama yeteneğine sahiptir. LT- α , lenfosit ve natural killer (NK) hücreler tarafından üretilir. TNF, 26 kD ağırlığında N-terminal hidrofobik bölgeye bağlanan hücre zarı ilişkili molekül olarak sentez edilir. TNF'nin membrana bağlı formu biyolojik aktiviteye sahiptir.

TNF- α ve LT- α her ikisi de iki farklı reseptöre bağlanabilme yeteneğine sahiptir; TNF-RI (p55) ve TNF-RII (p75). Bu reseptörler 2 benzer alt birimden oluşan transmembran proteinlerdir. TNF-RI ve TNF-RII'nin ekstraselüler kısımları benzerdir ve TNF'e benzer afinite gösterir. Fakat reseptörlerin sitoplazmik bölgeleri farklıdır. Bundan yola çıkarak, TNF-RI ve TNF-RII'nin farklı yollar aracılığı ile sinyal ilettiği düşünülür. Her iki reseptör de eritrositler dışında birçok hücrede bulunur. TNF-RII yoluyla sinyal iletimi TNF'nin proinflamatuvar etkisinden sorumlu majör mekanizmadır. TNF-RII, TNF'nin TNF-RI'e bağlanmasını artırıcı etki gösterebilir (33) veya alternatif olarak TNF-aracılı inflamatuvar cevabı baskılamak için zıt etkili düzenleyici olarak rol alabilir.(34) TNF'nin kendisi TNF ligand ailesinin diğer üyelerinden farklıdır. Çünkü hem apoptozisin güçlü bir başlatıcısıdır, hem de güçlü bir proinflamatuvar medyatördür. TNF'nin bu iki etkisi büyük olasılıkla sepsis ve septik şokun patogeneğinde önemlidir. Çözünür TNF-RI ve TNF-RII'nin her ikisi de normal olguların dolaşımında düşük konsantrasyonlarda bulunur.(35) Sepsis ve septik şok durumlarında TNF-RI ve RII'nin her ikisi de dolaşımda belirgin olarak artar. Üstelik yüksek konsantrasyonlar kötü prognozun habercisidir.(36-38) Büyük miktarlarda bulunduğu sTNF reseptörleri TNF'nin biyolojik etkisini inhibe edebilir. Ancak daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu sTNF reseptörleri sitokini stabilize edebilir ve potansiyel olarak bazı etkilerini artırabilir.

Anti-TNF İlaçların Etki Mekanizmaları: Anti-TNF monoklonal antikorlar (infiximab, adalimumab) ve solubl TNF reseptörleri (etanersept, onersept ve lenersept) hem solubl hem

de membrana bağı TNF'leri bağlamaları ve böylece onların fonksiyonlarını bloke etmelerine karşın etki mekanizmaları açısından aralarında önemli farklar olduğu gösterilmiştir. Örneğin, anti-TNF monoklonal antikorlar sadece TNF- α 'yı bağladığı için TNF- α ve ona bağlı sitokinlerin aktivitelerini baskırlar. Solubl reseptörler ise TNF- α 'nın yanı sıra makrofajlar ve T hücrelerinden salgılanan LT- α veya eski adıyla TNF- β 'yı da bağlarlar. Diğer bir fark, anti-TNF monoklonal antikorlar TNF- α 'nın hem TNFR I hem de TNFR II reseptörüne bağlanmasını önleyerek her iki reseptöründe fonksiyonunu bloke etmektedir. Solubl reseptörler ise sadece bir reseptörün özelliklerine sahip olacak şekilde üretilmektedir (lenersept TNFI reseptörü, etanersept ise TNFII, gibi). Diğer önemli bir unsurda, bu ilaçların membrana bağı TNF'lere bağlanmada ve buna bağı gelişen reaksiyonlarda farklılıklar olmasıdır.

Etanersept: Rekombinant TNF- α reseptör füzyon proteinidir. TNF- α ve TNF- β 'ya bağlanarak reseptörlerine ulaşmalarını engeller. 1998 yılında romatoid artrit hastalarında kullanılmak üzere FDA onayı almıştır. Juvenil romatoid artrit, ankilozan spondilit, psöriatik artrit, kalp yetmezliği, inflamatuvar barsak hastalıkları kullanıldığı bazı durumlardır.

Adalimumab: Rekombinant insan anti-TNF monoklonal antikorudur. Solubl TNF- α 'ya bağlanarak yüzeydeki TNFI ve TNFII reseptörlerine bağlanmasını engeller. Romatoid artrit tedavisinde kullanılır.

Lenersept: Rekombinant TNF- α reseptörüdür.

Talidomid: Sentetik glutamik asit derivativesidir. TNF- α 'nın RNA'sının parçalanmasını artırır. 1998'de eritema nodozum leprozum tedavisinde kullanılmak üzere FDA onayı almıştır. Crohn hastalığı, romatoid artrit, kalp yetmezliği, aftöz ülserler, still hastalığı, diskoid lupus, Behçet hastalığı, piyoderma gangrenozum, histiyositoz, sarkoidoz, multipl myeloma, kaposi sarkomu, AIDS'li hastalarda ortaya çıkan enfeksiyonlar ve solid tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır.

İnfliximab: TNF- α 'nın suda çözünen transmembran formuna yüksek afinite ile bağlanarak TNF- α 'nın biyolojik aktivitesini bloke eder ve TNF- α 'nın reseptörleri ile bağlanmasını inhibe eder. İnfliximab, TNF- α ile aynı reseptörleri kullanan ilişkili sitokin lenfotoksin- α 'ı nötralize etmez. TNF- α 'ya atfedilen biyolojik aktiviteler; IL-1 ve 6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu, endotel tabaka geçirgenliğini artırarak lökosit migrasyonunu artırması ve endotel hücre ve lökositler tarafından adhezyon moleküllerinin tanımlanması, nötrofil ve eozinofil fonksiyonel aktivitenin aktivasyonu, sinoviyosit ve/veya kondrositler tarafından

üretileen doku yıkıcı enzimlerin yanında, akut faz reaktanları ve diğler karaciğler proteinlerinin indüksiyonunu içlerir. İnfliximab'a bağlanmış transmembran TNF- α tanımlayan hücreler in vitro (39) veya in vivo (40) olarak parçalanabilir.

İnfliximab, insan fibroblastları, endotel hücreleri, nötrofiller, B ve T lenfositler ve epitel hücrelerini kullanan in vitro bioassayların geniş bir çeşitliliğinde TNF- α 'nın fonksiyonel aktivitesini inhibe eder. İnfliximab, insan TNF- α 'nın elementer tanımlanması sonucu poliartrit gelişen transgenik farelerde hastalığı engeller ve hastalığın başlangıcından sonra verildiğinde aşınmış eklemlerin iyileşmesini sağlar.

Remicade® yaklaşık moleküler ağırlığı 149000 dalton olan bir kimerik IgG1 monoklonal antikordur. Sabit insan ve değişken mürin alanlarından oluşur. İnfliximab, devamlı perfüzyon ile üretilmiş rekombinant hücre serisi tarafından üretilir ve virüslerin inaktivasyonu ve arındırılmasını içeren bir seri basamak ile saflaştırılır. İntravenöz uygulanır. İnfliximab günümüzde romatoid artrit, Crohn hastalığı, ankilozan spondilit, psoriatik artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Kalp yetmezliği ve murin proteinlere karşı hipersensitivite durumlarında kullanılması önerilmez.

İnfliximab uygulanan hastalarda sepsis ve pnömoniye de içeren ciddi enfeksiyonlar rapor edilmiştir. Bu nedenle klinik olarak aktif enfeksiyonu olan hastalarda kullanımı kontraendikedir.(37)

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit geğış metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir.(41)

Süperoksit Radikali; Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) meydana gelir. Süperoksit bir radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geğış metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

Hidrojen Peroksit; Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksiti (H_2O_2), oluşturur. Hidrojen peroksit serbest bir radikal

olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar.(42, 43)

Hidroksil Radikali; Hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir.(43) Suyun yüksek enerjili iyonize edici reaksiyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur. Son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Oluştugu yerde büyük hasara neden olur.

Nitrit Oksit; Nitrik oksit (NO), çoğunlukla vasküler tonusun regülasyonunda adı geçen, multipotent, haberci bir moleküldür. Nitrik oksitin, enfeksiyonlarla savaşmak, damarları kan pıhtısı oluşumundan korumak, sinir sisteminde sinyal molekülü olarak rol almak ve organlarda kan akımını kontrol etmek gibi birçok düzenleyici rolü üstlendiği bulunmuştur.(44)

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller elektronlardan dolayı çok reaktif moleküller olduğundan; hücrenin herhangi bir bölümünü doğrudan oksitleme özelliğine sahiplerdir. Ancak, membran lipidleri, proteinler, deoksiribonükleik asit zincirleri ve karbonhidratlar serbest radikallerin saldırısına en duyarlı moleküllerdir. Serbest radikaller mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller permeabilityyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır.(45)

Membran Lipitlerine Etkileri

Membran yapısında yeralan doymamış yağ asitlerinin, serbest radikaller tarafından, peroksitler, aldehytler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasına lipid peroksidasyonu denir.(46) Membran yapısındaki proteinlerle etkileşime girebilen bu ürünler, proteinlerin çapraz bağlanmasına ve agregasyonuna neden olmakta; böylece, membran permeabilitesini arttırarak, hücrenin iyon dengesini bozmakta, membran akışkanlığını azaltmakta, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açmaktadırlar. Ayrıca, mitokondri, mikrozom gibi hücresel organellerin fonksiyonlarını da bozan bu ürünler, hücresel bütünlüğün kaybolmasına neden olurlar.(47) En toksik peroksidasyon ürünlerinden olan malondialdehit, yukarıda verilen toksik etkilerinin yanısıra;

kolay difüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmekte ve DNA zincirinde mutasyonların oluşmasına neden olmaktadır.(48)

Malondialdehid (MDA): Serbest radikal oluşumunun en önemli patolojik sonuçlarından biri, lipid peroksidasyonudur. Serbest oksijen radikalleri (süperoksit, hidroksi, peroksit, alkoksil radikalleri) membran fosfolipidlerinin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir hidrojen atomunu kopararak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Peroksit radikali, lipid molekülü ile lipid hidroperokside dönüşüp komşu yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu çıkartarak reaksiyonun devamını sağlar. Bu aşamada; MDA, alkoller, etan, pentan gibi ürünler oluşur.(49) MDA, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir, proteinlerin aminoasit gruplarıyla, fosfolipidlerle ve nükleik asitlerle arasında çapraz bağlar oluşturarak etkisini gösterir. Membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyon kabiliyetini bozar, böylece sitotoksiteye, mutajen oluşumuna, membran yıkımına yol açar.(50)

Myeloperoksidaz (MPO): Fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir.

PMNL'lerin azurofil granüllerinde bol miktarda bulunur. Fagositoz sonrasında nötrofillerce bakterisidal olarak kullanılır. Bu etkiyi hidrojen peroksit ve klor iyonlarını bakteriyi öldüren hipoklorik asite (HOCl) çevirerek gösterir. İnflamatuvar süreçte MPO ekstraselüler sahaya salınır. Bu nedendir ki nötrofil sekestrasyonunun kantitatif bir göstergesi olarak kullanılır

Proteinlere Etkileri

Serbest radikallerin ansatüre ve sülfür içeren moleküllerle olan reaktivitesi sebebiyle, triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asit içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenirler. Özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller oluşur.(51) Bu reaksiyonlar sonucu Ig G ve albumin gibi çok sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.(52)

Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkiliyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksite büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonundan doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır.(52, 53) Aktivite olmuş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂ membranlardan kolayca

geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta ölümüne yol açabilir.(52)

Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksitler ve okzalaldehidler meydana gelirler. Okzalaldehidler DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterir. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar.

ANTİ OKSİDAN SAVUNMA

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar antitoksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinir.

Endojen Antioksidanlar

1- Enzimler

Süperoksit dismutaz (SOD): Bu enzim süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler.(51, 53) Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

Katalaz : Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir. Hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalar.(52)

Glutasyon peroksidaz : Glutasyon peroksidaz (GSH-PX) hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik dört selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir.(53) Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger.

Glutasyon -S- transferazlar : Glutasyon -S- transferaz (GST).lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli biokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Tüm canlı hücrelerde bulunması hayati öneminin göstergesidir.

2- Enzim Olmayanlar

Lipid fazda bulunanlar: Alfa tokoferol (E-vitamini), beta karoten.

Hücre sitozolü veya kan plazmasında bulunanlar: Askorbik asit, melatonin, hemoglobin, myoglobulin, glutasyon, seruloplazmin, sistein.

Ekzojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri: Allopürinol, folik asit, tungsten, pterin aldehit

NADPH oksidaz inhibitörleri: Kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvarlar, lokal anestezikler.

Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin, seruloplazmin.

Sitokinler: Tümör Nekroz Faktör, IL-1

Barbitüratlar

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma; Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda 2009 Temmuz ayında Üniversite Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak yapıldı (B.30.2.ADÜ.0.06.00.00/124-HEK/2009/024). Çalışmanın tüm safhalarında yerel etik kurulun 16 Haziran 2009 tarihli yönergelerine uygun hareket edildi.

Deneyisel Model

Çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda üretilmiş, ağırlığı 199 - 250 gr arasında değişen, 50 adet Wistar-Albino tipi dişi sıçan kullanıldı. Deney süresince sıçanlar 12/12 saat aydınlık ve karanlık ışıklandırması olan, ısı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ve nem oramı % 45–50 arasında değişen otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldılar. Sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Ardından; denekler her biri 10 sıçandan oluşan kontrol ve çalışma gruplarına randomize edildi. Çalışmada Anti-TNF- α monoklonal antikoru (Infliximab ®, J&J) kullanımının bakteriyel translokasyona erken dönemde etkisini incelemek amacıyla, laparotomi ve intestinal obstrüksiyon sonrası sıçanlara Infliximab 24. ve 48. saatte 10 mg/kg/gün intraperitoneal olarak verildi. Kontrol gruplarına ise aynı işlemlerden sonra intraperitoneal 3 cc % 0,9 NaCl (SF) enjekte edildi.

Çalışma Grupları

Grup I (Laparotomi + SF): Laparotomi yapılan sıçanlarda barsaklar manipüle edildi ve operasyon sonrasında periton içine 3 cc SF enjeksiyonu yapıldı. Sıçanlar 24 saat sonra sakrifiye edildi.

Grup II (Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + SF - 24 saat): Laparotomi yapılan sıçanlarda intestinal obstrüksiyon yapıldı ve operasyon sonrasında periton içine 3 cc SF enjeksiyonu yapıldı. Sıçanlar 24 saat sonra sakrifiye edildi.

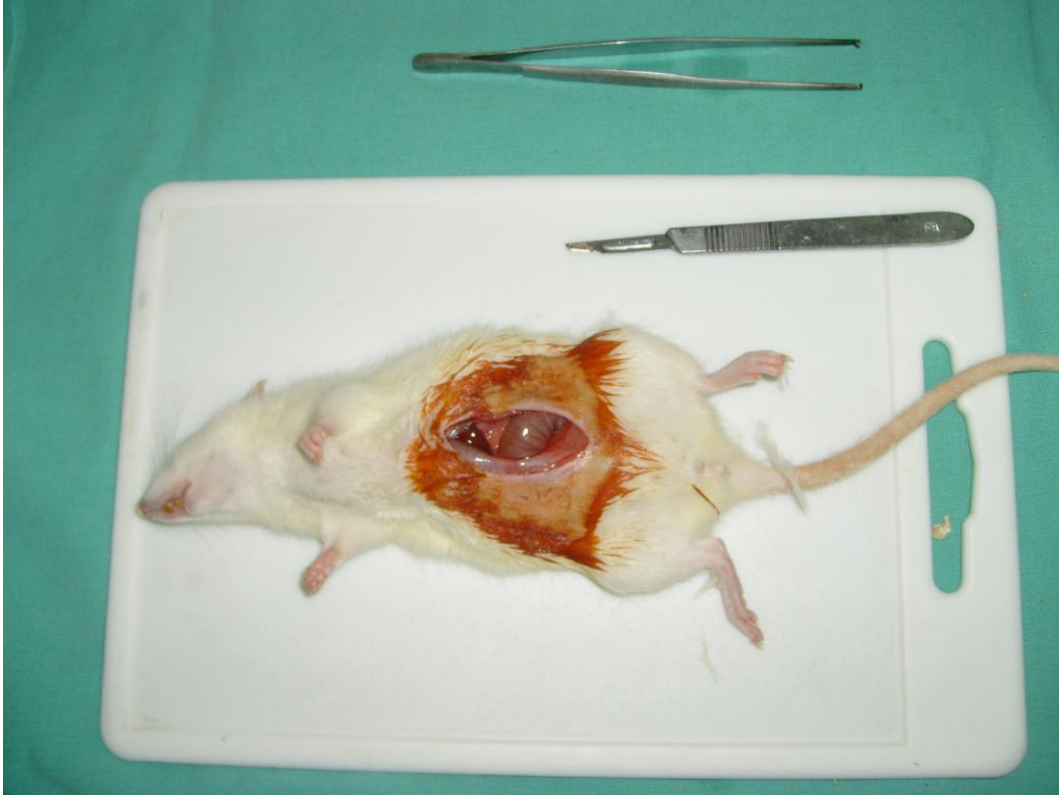
Grup III (Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + İnfliximab - 24 saat): Laparotomi yapılan sıçanlarda intestinal obstrüksiyon yapıldı ve operasyon sonrasında periton içine 10 mg/kg Infliximab enjeksiyonu yapıldı. Sıçanlar 24 saat sonra sakrifiye edildi.

Grup IV (Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + SF - 48 saat): Laparotomi yapılan sıçanlarda intestinal obstrüksiyon yapıldı, operasyon sonrasında ve 24 saat sonra periton içine 3'er cc SF enjeksiyonu yapıldı. Sıçanlar 48 saat sonra sakrifiye edildi.

Grup V (Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + İnfliximab - 48 saat): Laparotomi yapılan sıçanlarda intestinal obstrüksiyon yapıldı, operasyon sonrasında ve 24 saat sonra periton içine 10 mg/kg Infliximab enjeksiyonu yapıldı. Sıçanlar 48 saat sonra sakrifiye edildi.

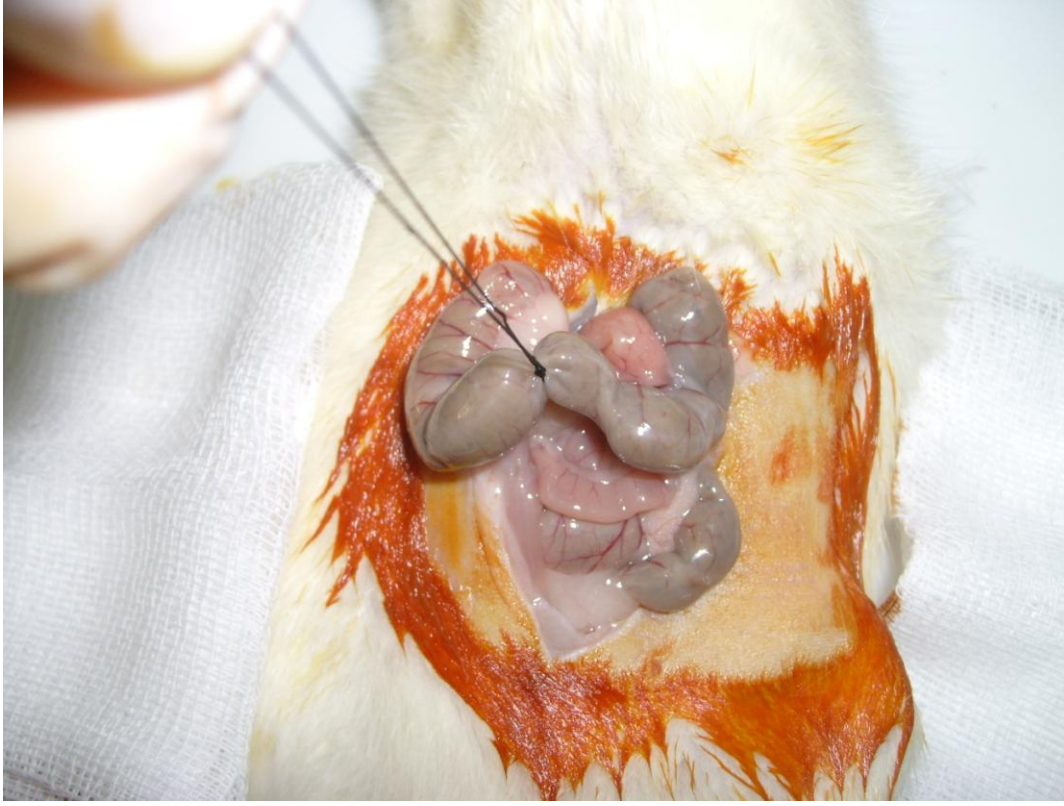
Cerrahi İşlem

Anestezi: 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Alfamin, Egevet Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti) ve 8 mg/kg xylazin (Alfazin, Egevet Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti) karışımı intraperitoneal enjeksiyon yolu ile uygulandı. Anestezi uygulamasının ardından sıçanlar tartıldı.



Resim- 1: Denek hayvanının karın bölgesinin hazırlanması ve laparotomi yapılması.

Karın cildi traş sonrası povidone iodine ile temizlendi. Orta hat insizyonu ile yapılan laparotomi sonrasında (Resim- 1) sıçanlara kolon hepatik fleksura civarında 3/0 ipek ile bağlanarak mekanik ileus oluşturuldu (Resim-2). Hemostaz kontrol edildikten sonra karın katları 3/0 ipek (Sterisilk®) ile tek tek kapatıldı.



Resim- 2: Hepatik fleksura düzeyinden intestinal obstrüksiyon oluşturulması.

Post-operatif oral su ve diyet alımına izin verildi. 24 ve 48 saat süre ile yaşatılan ve yukarıda belirtilen tedaviler uygulanan sıçanlara bu sürelerin sonunda tekrar laparotomi yapıldı. Laparotomiler sonrası tüm sıçanlarda ileus olduğu görüldü ve obstrüksiyon proksimalindeki barsak anslarında dilatasyon saptandı (Resim-3). Daha sonra çekum dokusundan yaklaşık 0,5 cm'lik alan ve en az iki adet mezenterik lenf nodu kültür amaçlı olarak disseke edilip örnekler alındıktan sonra intrakardiyak ortalama 5 ml kan alındı. Doku örnekleri biyokimyasal parametreler; GSH, GSH-Px, NO, MDA ve MPO için Ependorf tüplerine konularak soğuk (-4°C) saklama kabında hızla biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Önceden hazırlanan steril ependorf tüplerine konan doku örnekleri soğuk (-21°C) saklama kabında Enfeksiyon hastalıkları laboratuvarına ulaştırıldı. Kan örnekleri TNF-alfa, IL-6, SOD, GR, GSH, GSH-Px ve NO parametreleri çalışılmak üzere biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı.

Deney sonunda sıçanlar anestezi altındayken intrakardiak kan alınıp vasküler kollaps oluşturularak sakrifiye edildi.



Resim-3: 24 saat sonraki relaparotomide tıkanmış barsak ve proksimaldeki dilatasyon.

Yöntemler

Dokuların Biyokimyasal Analizi: Doku örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0,2 μ M phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve bir mM Ethylenediamin tetra acetic acid (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4°C’de homojenize edildi. MPO ve GSH çalışılması için örnek ayrıldıktan sonra, homojenat 10.000 rpm 5 dakika santrifüj edildi ve üstteki supernatant eşit olarak ependorflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için -85° C’de donduruldu.

GSH ölçümü: Doku örneklerinde GSH, Beutler ve ark.(32) yöntemine göre ölçüldü. Presipite edici solüsyon; metafosforik asit, disodyum EDTA ve sodyum klorür (NaCl) kullanılarak hazırlandı. Disodyum fosfat solüsyonu; di sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) ile hazırlandı. DTNB solüsyonu; [5,5’-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)] ve sodyum sitrat ile

hazırlandı. GSH standardı; (reduced glutathione) kullanılarak 1-60 mg/dl'lik standartlar olarak hazırlandı. Standartlar ve örnekler spektrofotometrede 412 nm'de köre karşı okutuldu. Sonuçlar mg/ g yaş doku olarak verildi.

GSH-Px ölçümü: Doku örneklerinde GSH-Px aktivitesi, Kakkar ve arkadaşlarının yöntemine göre minör modifikasyonla saptandı.(54) GSH-Px reaksiyon karışımı; 75 mmol fosfat tamponu (pH 7.0), 60 mmol GSH, 30U/ml GR, 15 mmol Na₂EDTA içermektedir. Küvet 37 °C'ye ayarlanan spektrofotometreye kondu. Küvetin içine reaksiyon karışımı konarak gerektiği kadar, dilüe edilmiş hemolizat eklendi. Reaksiyon H₂O₂ (%30) ile başlatıldı ve NADPH'daki absorbansın azalması 340 nm'de 3 dakika izlendi. Non enzimatik reaksiyon hızı kör çalışılarak hesaplandı ve elde edilen sonuçlardan çıkartıldı. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi.

GR ölçümü: Doku örneklerinde GR aktivitesi, Racker ve arkadaşlarının yöntemine göre saptanmıştır.(55) Reaksiyon karışımı; 50 mmol/L Tris tamponu, Ph 7.6, 100 µmol/L EDTA, 4 mmol/L GSSG (oksitlenmiş glutatyon), 120 µmol/L NADPH ile hazırlandı. Reaksiyon karışımı küvetlere kondu ve uygun oranda eritrositlerden hazırlanmış hemolizat konarak reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 37°C'de NADPH'ın oksidasyonunun izlenmesi yoluyla GR düzeyleri saptandı. Örnek yerine su kullanılarak, aynı şekilde kör çalışılarak elde edilen sonuç, örneklerden elde edilen sonuçtan çıkartıldı. Reaksiyon üç dakika izlendi. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi.

SOD ölçümü: Doku örneklerinde SOD ölçümü, Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre saptandı.(56) Doku süpernatantı kloroform, etanol ile iyice çalkalandı ve örnekler içindeki SOD 12.000g'de bir saat santrifüjlendikten sonra ekstrakte edildi. SOD deney çözeltisi; 0,3 mmol/L xantine, 0,6 mmol/L EDTA, 150 µmol/L nitroblue tetrazolium (NBT), amonyum sülfat (NH₄SO₄), 20167 U/L xantine oksidase (XOD) içermekteydi. Bu çalışma çözeltisine örnekler eklendikten sonra 25° C'de su banyosunda, XOD çözeltisi eklendi. Reaksiyon bakır klorür (Cu₂Cl) eklenerek durduruldu. Ayrıca kör çözeltisi hazırlandı. Deney sonunda oluşan renk 560 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. SOD standardı (Cu, ZnSOD porcine erythrocytes) ile, 0-270 ng/tüp ve % inhibisyon değerleri karşılıklı gelecek şekilde oluşturuldu. İnhibisyon değerleri aşağıdaki formülden hesaplandı. Her örnek için elde edilen inhibisyon değeri, grafik kullanılarak SOD değeri saptandı. SOD düzeyleri ng/g yaş doku olarak verildi.

MPO ölçümü: Doku örneklerinde MPO aktivitesi Suzuki ve ark.'nın yönteminine göre saptandı.(57) Yöntem sentetik bir substrat olan 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine (TMB)'in MPO yoluyla yıkılımının ölçülmesine dayanmaktadır. Belli miktardaki doku homojenatı 7.000 rpm beş dakika santrifüj edildi. Üstteki kısım atıldı ve alttaki kalan doku kısmı deterjanlı tampon ile çözüldü (160 mM potassium phosphate buffer, pH 5.4, 1% hexadecyltrimethylammonium bromide, HETAP). Reaksiyon H_2O_2 'in 37 °C'de reaksiyon karışımına eklenmesi yolula başlatıldı. MPO'nun katalizlediği reaksiyonda TMB oksidasyona uğramakta olup, reaksiyon sırasında absorbans artışı 655 nm'de 15 saniye ölçülmekte ve bir dakikadaki MPO aktivitesi hesaplanmaktadır. MPO aktivitesi U/g yaş doku olarak verilmektedir.

MDA ölçümü: Doku örneklerinde MDA ölçümü Ohkowa'nın yöntemine göre yapıldı.(58) % 8,1'lik laurilsulfate (SDS, Sigma, Kat. No. L-4390), % 20'lik asetik asit (MERCK, Kat. No. K23815056), % 0,67'lik TBA (2-Thiobarbutiric acid, Sigma, Kat. No.T-5500) çözeltileri kullanıldı. MDA standardı olarak, malonaldehit bis-(dimetil asetal) (Aldrich, Kat. No. 10,838-3) kullanılarak, 1-40 nmol'lük standartlar hazırlandı. Örneklerdeki absorbanslar spektrofotometrede, 532 nm'de köre karşı okundu ve sonuçlar standart cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı ve $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.

Plazma Biyokimyasal Analizi: Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi ve plazma numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan plazmalar analiz dönemine kadar – 80 derecede saklandı. Plazma TNF- α ve IL-6 düzeyleri rat spesifik ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Standart rekombinant TNF- α , IL-6 eğrileri kullanılarak TNF- α ve IL-6 konsantrasyonları hesaplandı. Değerler pg/ml olarak ifade edildi.

Mikrobiyolojik İnceleme

Steril olarak önceden hazırlanan ve bir ml steril SF konularak hazırlanan ependorf tüplerine alınan çekum ve mezenterik lenf nodu doku örnekleri steril olarak homojenizatörde homojenize edilerek süspansiyon haline getirildi ve 0,05 ml'lik öze ile % 5 koyun kanlı agar ve Eozin-Metilen-Blue (EMB) agara ekimi yapılarak etüvde 24–48 saat 35°C'de inkübe edildi. Koyun kanlı agar ve EMB agarda üreyen bakteriler Gram yöntemi ile boyandıktan sonra Gram negatif çomaklar dekstroza, laktoza, sükröz fermantasyonu, sitrat kullanımı, hareket, indol yapımı, üreaz ve ornitin dekarboksilaz aktivitesi ve oksidaz reaksiyonu özelliklerine göre; Gram pozitif koklar içinde katalaz reaksiyonu ile hemoliz reaksiyonu,

optokin, basitrasin ve kotrimoksazol duyarlılığı, safra eskülin ve % 6,5 NaCl içeren besiyerlerinde üreme özelliklerine göre identifiye edildi. Ayrıca gerek kanlı agar gerekse EMB agarda üreyen bakterilerin koloni sayımları yapıldı ve 20 ile çarpılarak sonuçlar bir ml'deki koloni sayısı olarak kaydedildi.

İstatistiksel analiz:

Gruplar tek yönlü varyans analizi ile kıyaslandı. Gruplar arası tek tek kıyaslamalar için post-hoc testler kullanıldı, istatistiksel değerlendirmeler SPSS 14.0 for Windows programı kullanılarak yapıldı. p değeri 0,05 altında ise aradaki fark anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Çalışmada her biri on sıçandan oluşan beş grup mevcuttu. Çalışma sırasında ikinci ve dördüncü grupta birer sıçan anestezi komplikasyonuna bağlı olarak kaybedildi. Bu gruplarda dokuz sıçanla çalışmaya devam edildi. Relaparatomisi yapılan sıçanların karın explorasyonlarında olağan dışı postoperatif değişiklikler gözlenmedi. Biyokimyasal değişkenlerin; ortalama ve standart sapmaları, çekum ve MLN kültür sonuçları verileri aşağıda tablo ve grafiklerle gösterilmiştir.

Plazma Biyokimya İncelemeleri

TNF- α : Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,202$).

IL-6: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,348$).

GR: I. gruptaki GR değeri diğer tüm gruplardan daha yüksekti ($p=0,000$).

GSH: I. gruptaki GSH değerleri II. III. ve V. gruplardan büyük, IV. gruptan ise küçüktü ($p=0,003$).

GSH- Px: IV. Gruptaki GSH-Px değeri III. V. gruba göre yüksekti. I. gruptaki GSH-Px değeri V. gruba göre yüksekti ($p=0,030$).

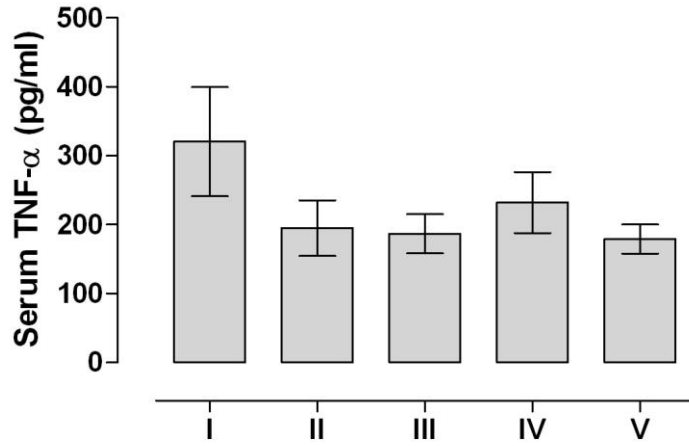
SOD: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,103$).

NO: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,207$).

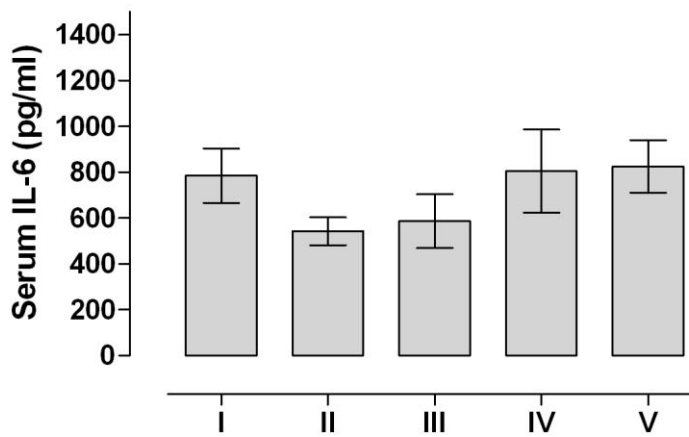
Tablo II: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
TNF- α	320,75 $\pm$ 250,47	195,05 $\pm$ 120,81	168,92 $\pm$ 89,33	231,98 $\pm$ 132,90	179,07 $\pm$ 66,29
IL-6	786,00 $\pm$ 374,29	543,06 $\pm$ 182,32	587,55 $\pm$ 372,25	805,28 $\pm$ 544,80	825,99 $\pm$ 363,06
GR	104,72 $\pm$ 54,52	23,85 $\pm$ 34,60	35,35 $\pm$ 28,18	37,40 $\pm$ 25,88	43,41 $\pm$ 26,03
GSH	3,67 $\pm$ 0,89	2,85 $\pm$ 0,70	2,90 $\pm$ 0,64	2,33 $\pm$ 0,28	2,74 $\pm$ 0,71
GSH-Px	18,50 $\pm$ 6,10	14,79 $\pm$ 7,60	13,42 $\pm$ 9,80	21,39 $\pm$ 10,16	9,58 $\pm$ 6,07
SOD	162,01 $\pm$ 31,42	138,38 $\pm$ 29,50	126,36 $\pm$ 25,22	145,87 $\pm$ 27,82	136,21 $\pm$ 31,52
NO	22,77 $\pm$ 6,34	22,10 $\pm$ 6,61	25,03 $\pm$ 6,33	17,90 $\pm$ 14,81	17,33 $\pm$ 3,88

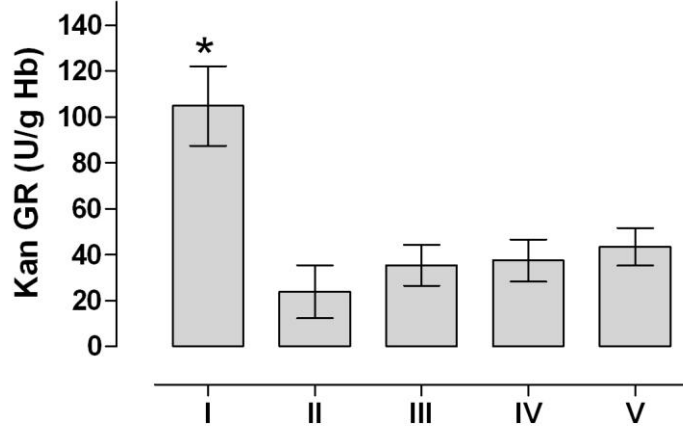
Grafik -1: Gruplar arasında serum TNF - α deęerleri III. ve V. grupta dűşűk olmasına raęmen gruplar arasında fark yoktu ($p=0,202$).



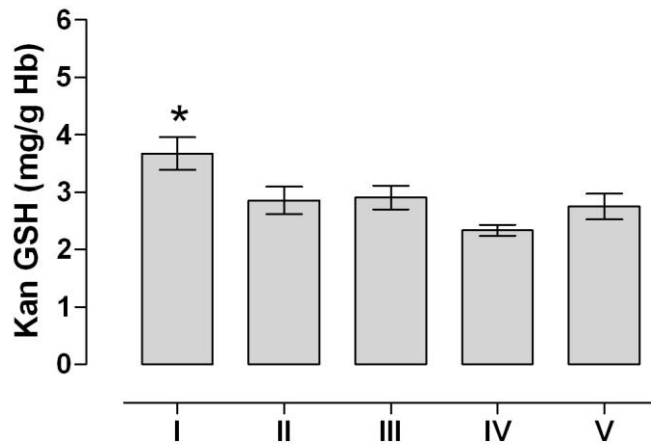
Grafik- 2: Gruplar arasında serum IL- 6 değerleri arasında fark yoktu ($p=0,348$).



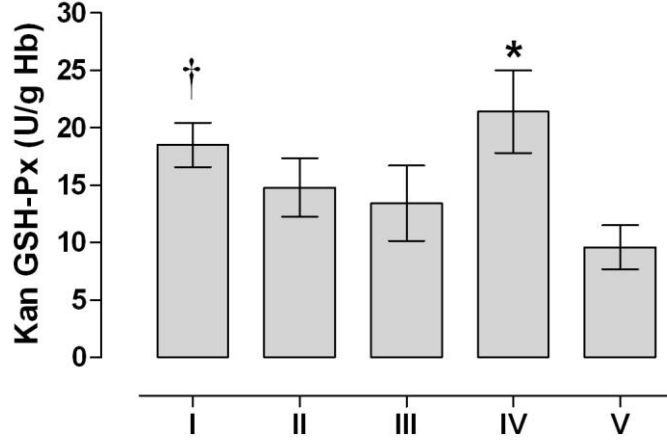
Grafik – 3: I. gruptaki GR değeri diğer tüm gruplardan yüksekti ($p=0,000$).



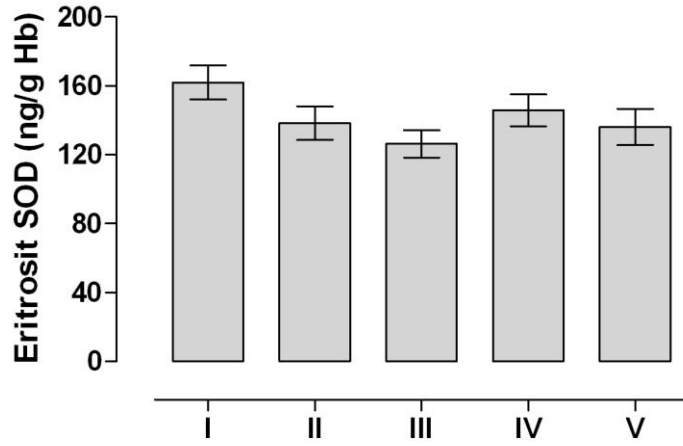
Grafik – 4: I. gruptaki GSH değerleri II. III. ve V. gruplardan yüksek, IV. gruptan ise daha yüksekti ($p=0,003$).



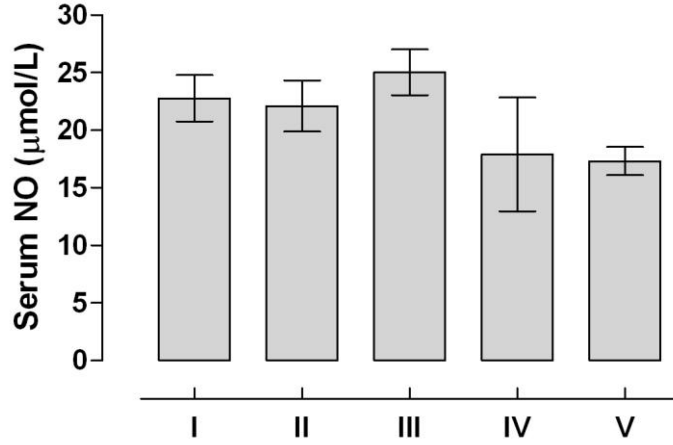
Grafik – 5: IV. gruptaki GSH-Px değeri III. ve V. gruba göre yüksekti. I. gruptaki GSH-Px değeri V. gruba göre yüksekti ($p=0,030$).



Grafik – 6: III. ve V. grupta SOD değerleri kontrol gruplarına göre düşük çıkmasına rağmen gruplar arasında eritrosit SOD değerleri arasında fark yoktu ($p=0,103$).



Grafik – 7: Gruplar arasında serum NO değerleri arasında fark yoktu ($p=0,207$).



Çekum ve Mezenter Lenf Nodu Doku Biyokimyasal İncelemeleri

Çekum GSH: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,090$).

Çekum GSH-Px: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,101$).

Çekum NO: I. Gruptaki NO değeri diğer tüm gruplardan yüksekti ($p=0,002$).

Çekum MDA: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,406$).

Çekum MPO: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,401$).

MLN GSH: I. Gruptaki GSH değeri III. ve V. gruplardan düşüktü ($p=0,037$).

MLN GSH-Px: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,261$).

MLN NO: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,167$).

MLN MDA: II. Gruptaki MDA değeri III. IV. gruplardan yüksekti ($p=0,037$).

MLN MPO: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,243$).

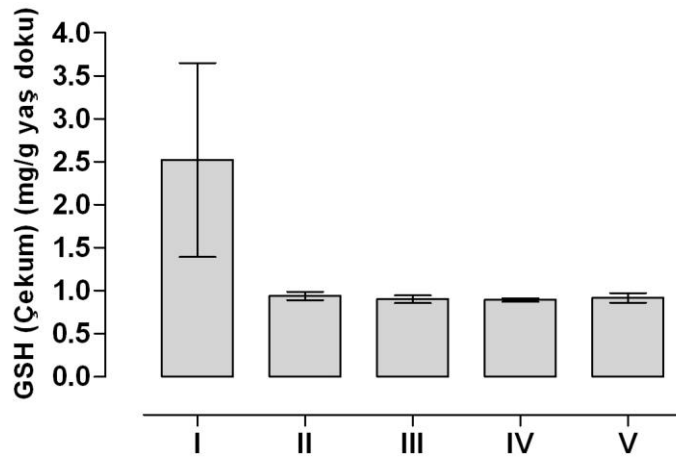
Tablo III: Çekum dokusu biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
GSH	2,52±3,81	0,93±0,14	0,90±0,13	0,89±0,05	0,91±0,17
GSH-Px	843,79±1002,41	409,05±50,77	335,10±63,23	438,13±266,71	336,66±55,48
NO	0,81±0,78	0,36±0,16	0,22±0,09	0,17±0,04	0,18±0,05
MDA	0,35±0,42	0,23±0,09	0,24±0,10	0,17±0,04	0,23±0,09
MPO	998,90±581,66	1061,71±511,97	1060,36±742,22	1026,37±615,23	646,40±408,04

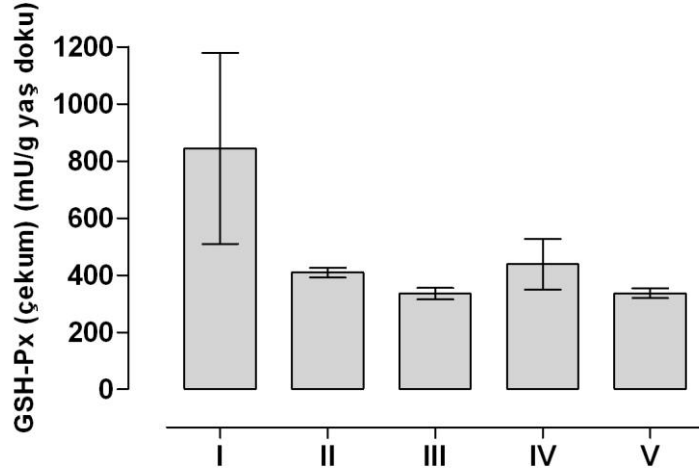
Tablo IV: Mezenter Lenf Nodu dokusu biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
GSH	1,49±0,67	1,86±0,70	2,52±1,25	2,15±0,79	2,66±0,91
GSH-Px	361,88±77,77	380,10±122,15	419,44±163,14	456,96±142,11	343,09±76,16
NO	0,57±0,30	0,38±0,16	0,22±0,10	0,29±0,29	0,66±0,86
MDA	0,24±0,05	0,30±0,13	0,22±0,04	0,20±0,05	0,29±0,08
MPO	95,48±83,96	204,63±196,57	180,31±239,08	302,61±178,94	218,18±224,28

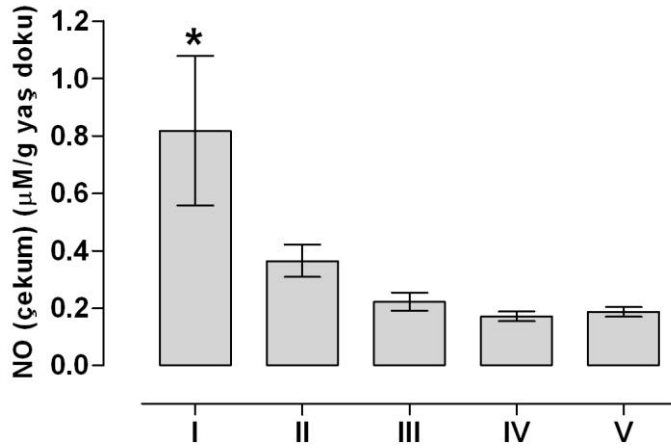
Grafik - 8: Çekum da gruplar arasında doku GSH değerleri arasında fark yoktu (p=0,090).



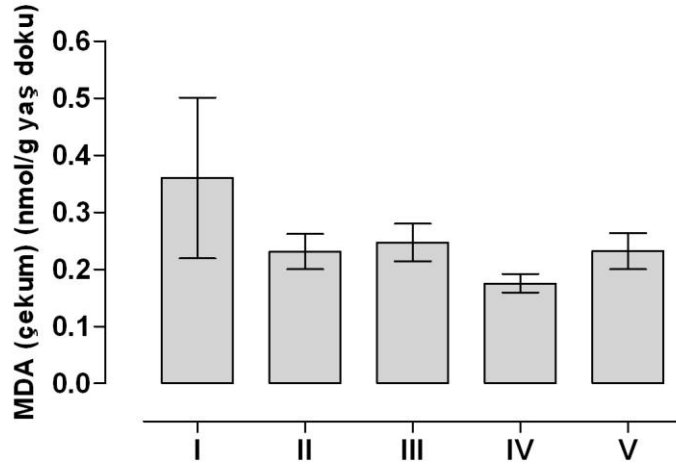
Grafik – 9: I. grupta GSH-Px değeri yüksek olmasına rağmen gruplar arasında çekum doku GSH-Px değerleri arasında fark yoktu ($p=0,101$).



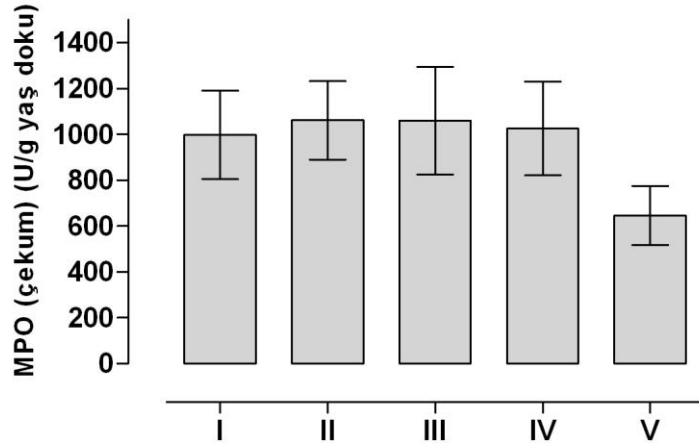
Grafik -10: Çekum dokusunda I. gruptaki NO değeri olarak diğer tüm gruplardan yüksekti ($p=0,002$).



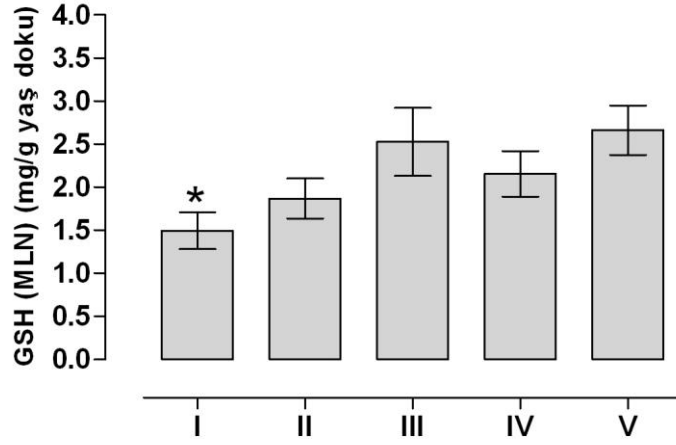
Grafik – 11: Çekum dokusundaki MDA değerlerinde gruplar arasında fark yoktu ($p=0,406$).



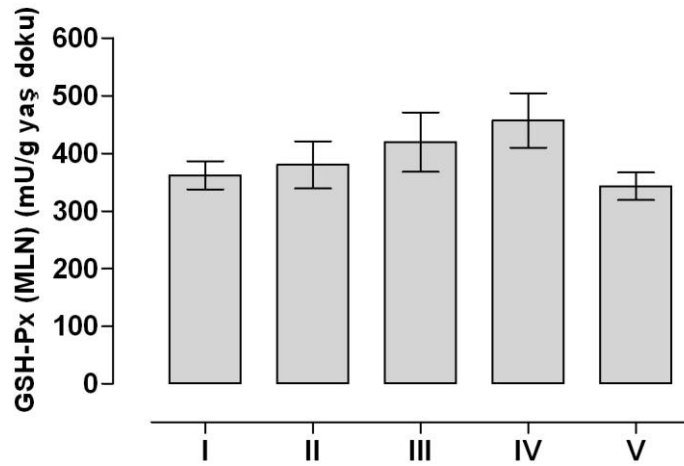
Grafik – 12: Çekum dokusundaki MPO değerlerinde V. gruptaki MPO değeri diğer gruplara göre düşük olmasına rağmen gruplar arasında fark yoktu ($p=0,401$).



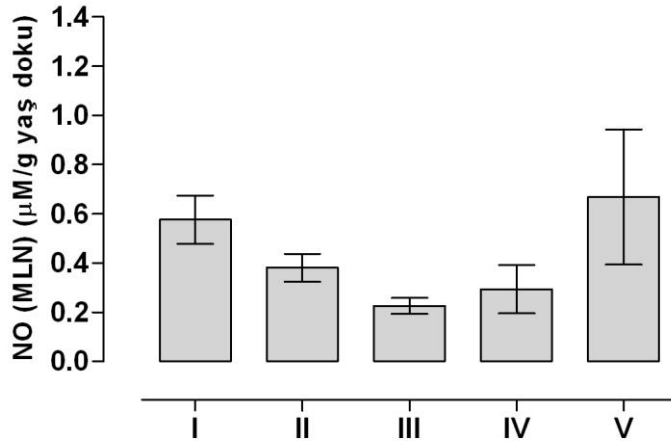
Grafik – 13: I. gruptaki MLN’undaki GSH değeri III. ve V. gruplardan daha az olmakla birlikte diğer tüm gruplardan düşüktü ($p=0.037$).



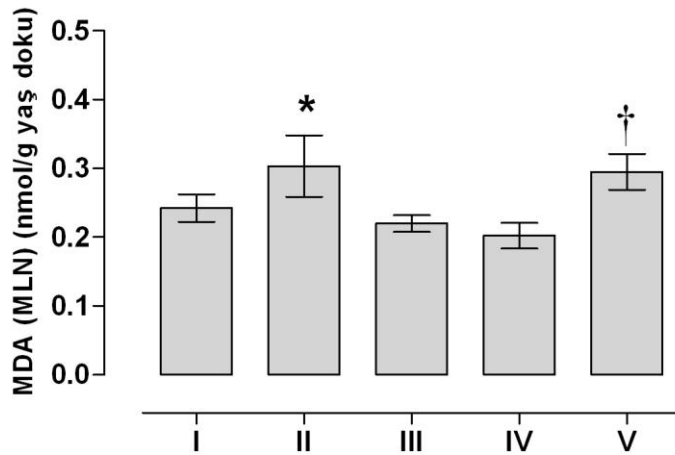
Grafik – 14: MLN doku örneklerinde GSH-Px değerlerinde gruplar arasında fark yoktu ($p=0,261$).



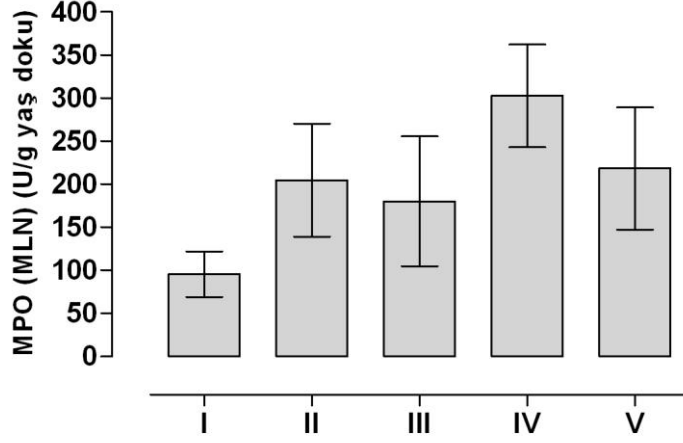
Grafik – 15: MLN doku örneklerinde NO değerlerinde gruplar arasında fark yoktu ($p=0,167$).



Grafik – 16: MLN doku örneklerinde MDA değerlerinde II. grupta ki MDA değeri olarak III. ve IV. gruplardan yüksekti ($p=0,037$). V. grupta ki MDA değeri III. ve IV. gruplardan yüksekti ($p=0,037$).



Grafik – 17: MLN doku örneklerinde MPO değerlerinde tedavi gruplarındaki değerlerin kontrol gruplarına göre düşük olmasına rağmen gruplar arasında fark yoktu ($p=0,243$).



Kültür Sonuçları Değerlendirmeleri

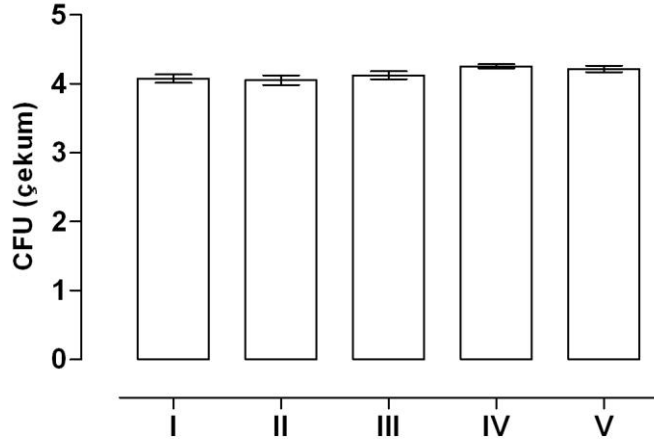
Çekum kültür sonuçları: Gruplar arasında fark yoktu ($p=0,054$).

MLN kültür sonuçları: II. Gruptaki MLN üremeler V. gruba göre daha yüksekti. IV. ve I. gruplardaki üremeler V. gruptaki göre yüksekti ($p=0,035$).

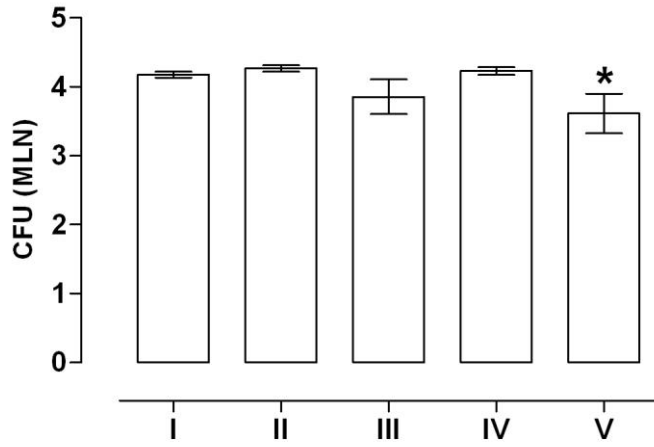
Tablo V: Çekum ve Mezenter Lenf Nodu kültür sonuçlarının ortalama ve standart sapmaları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
ÇEKUM	4,07±0,18	4,05±0,20	4,12±0,18	4,25±0,08	4,21±0,14
MLN	4,17±0,12	4,26±0,11	3,85±0,66	4,22±0,16	3,61±0,70

Grafik – 18: Çekum kültür sonuçlarında gruplar arasında fark yoktu ($p=0,054$).



Grafik – 19: II. gruptaki MLN'undaki üremeler V. gruba göre yüksekti. IV. ve I. gruplardaki üremeler V. gruptaki göre yüksekti ($p=0,035$). I. II. ve IV. gruptaki üremeler III. gruptaki üremelere göre yüksekti.



TARTIŞMA

Gelişen tedavi yöntemleri sonucunda İO olgularında mortalite oldukça azalmıştır. Günümüzde İO'da antibiyotik uygulamaları dışında yararlı olduğu bilinen farmakolojik medikal tedavi yöntemleri şekillenmiş değildir.(59) İO'lar günümüzde daha çok yaşlı hastalarda ortaya çıkmakta ve bu nedenle cerrahi tedavinin yanında hastanın genel durumunu düzeltebilecek, komplikasyonları engelleyip, geçiktirebilecek medikal tedavi yöntemleride önem kazanmaktadır.(1)

İntestinal obstrüksiyonlarda hastalık tablosunu en çok etkileyen, meydana gelen sıvı kaybıdır. Bu kaybın ana nedenlerinde biri tıkalı barsak segmentinin proksimalinde meydana gelen inflamatuvar değişikliklerdir.(60)

Bir noktadan sonra intestinal mukozal duvarın bütünlüğünün bozularak bakteri ve endotoksinlere karşı bariyer özelliğini kaybetmeye başlaması da, bakteriyel translokasyona ve sistemik enfeksiyonlara yol açar. (7)

İntestinal obstrüksiyonda tıkalı barsak segmentleri sistemik enfeksiyonlar için bakteriyel bir rezervuar halini almaktadırlar. Bu durumda intestinal mukoza bariyer özelliğini kaybettiğinde sadece barsak florasının kontrol altına alınması BT'ü engelleyememektedir.

Translokasyon nedeni ile sistemik dokulardan en çok izole edilen bakteri ise Escherichia coli'dir.(61, 62) Bizim çalışmamızda da çekum ve MLN doku örneklerinde en çok izole edilen bakteri literatürle uyumlu olarak E. Coli olmuştur.(63) Savunma duvarı barsak ve barsak dışı faktörlerden etkilenmektedir.(63) Hemodinamik değişiklikler, hipotansiyon ve intestinal perfüzyonu etkileyen vazoaktif ajanlar bakteriyel translokasyonu tetikleyebilmektedir. Tıkalı barsak segmentlerinden bakteriyel translokasyon başlamakta ve 24-48 saat içerisinde enterik bakteriler kan akımı ve diğer karın içi organlara ulaşmaktadırlar.(64-66) İntestinal obstrüksiyon nedeni ile oluşan stazın da çeşitli mekanizmalar ile BT'ü kolaylaştırdığı bilinmektedir.(64) Ayrıca literatürde intestinal obstrüksiyonlarda BT oluşumunu inceleyen çalışmalar hayvan deneylerinin klinik çalışmalar ile uyumlu olduğunu göstermektedir.(7, 67, 68) Çalışmamızda bu verilere dayanarak kültür amaçlı olarak çekum ve mezenterik lenf nodu doku örneklerinin alınması için 24. saat belirlenmiştir.

Kültürlerde üreyen bakterilerin ağırlıkla Escherichia coli olması ve çekal flora ile uyumlulukları, intestinal kaynaklı olduklarını göstermektedir. Çalışmamıza ait bulgular intestinal obstrüksiyonda bakteriyel translokasyonun arttığını göstermiştir.

Kolon bakteriyel translokasyona neden olan en önemli kaynak olarak görülmektedir. Van Minnen ve ark.(69) deneysel akut pankreatit modelinde BT'ü önlemek için profilaktik olarak subtotal kolektomi yapmışlar ve bakteriyel translokasyonun anlamlı düzeyde azaldığını göstermişlerdir. Benzer şekilde kolon operasyonlarında bakteriyemi insidansını % 50 bildirmiştir. Yine Nunes ve ark.(70) yaptığı hayvan çalışmasında sol kolon obstrüksiyonlarında bakteriyeminin dört kat arttığı gösterilmiştir. Chin ve ark.(71) yaptığı klinik çalışmada kolorektal kanser nedeniyle opere edilip, mezenter lenf nodu kültürü çalışılarak, BT tespit edilen hastaların, bakteriyel translokasyon tespit edilmeyen hastalara oranla sağ kalım sürelerinin daha kötü olduğu bildirilmektedir.

Literatürde obstrüktif ileus fizyopatolojisinde intestinal dokuda ortaya çıkan inflamasyonun önemli rolü olduğundan bahsedilmektedir.(60, 72) İntestinal lümen içerisine olan sıvı kaybının yanı sıra, barsak duvarında meydana gelen ödem de, serbest peritoneal sıvı birikimine yol açmaktadır. İnflamasyon sırasında prostaglandinler, histamin ve serotonin gibi sekretuar fonksiyonları etkileyen çeşitli ajanların açığa çıkması da intestinal sıvı sekresyonunun artmasına neden olur. Antiinflamatuvar tedavilerin ileusda sıvı sekresyonunu da azalttığını gösteren çalışmalar, inflamatuvar cevabın daha çok barsağın dış tabakalarında belirgin olması ile açıklamaya çalışılmaktadırlar. Ayrıca serozal tabakanın intestinal mukoza gibi belirgin bariyer özelliğine sahip olmaması üzerinde durulmaktadır.(60)

İntestinal obstrüksiyonlarda artan lümen içi basınç dokudan venöz sisteme yansımaya başlar. Kapiller hidrostatik basıncın yükselmesi dokuda ödemin artmasına ve arteriyel kan akımının da etkilenmesine neden olur.(73, 74) Bu nedenle intraluminal sekresyonların ve distansiyonun azaltılması tedavide büyük önem taşımaktadır.

İntestinal obstrüksiyon sonrası proksimalde oluşan inflamatuvar yanıt sonrasında ortaya çıkan kontrol dışı immün yanıt sonucu lenfosit proliferasyonu, sitokinlerin salınımı, aşırı nötrofil üretimine neden olur ve sonuçta hücre hasarı gelişir. İmmün sistem aktivasyonu sonucu TNF- α , IL-1, IL-6 aşırı artışı olur. İnflamatuvar sitokinler, özellikle TNF- α blokerlerinin kullanımı son yıllarda yaygınlaşmaya başlamıştır.

TNF, doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regülasyonu, farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rollere sahip, polipeptid yapıda bir sitokindir. Başta makrofaj ve lenfositler olmak üzere çeşitli immün ve somatik hücrelerde sentezlenir. Prohormon şeklinde membrana entegre halde bulunur. Uyarılara yanıt olarak membranöz TNF, TNF

dönüştürücü enzim tarafından yıkılır ve matür ve solubl form oluşur. Oluşan bu moleküllerin üçü bir araya gelerek aktif olan homotrimer yapıyı oluşturur.

Anti-TNF monoklonal antikolar (infiximab, adalimumab) ve solubl TNF reseptörleri (etanersept, onersept ve lenersept) hem solubl hem de membrana bağlı TNF'leri bağlamaları ve böylece onların fonksiyonlarını bloke etmelerine karşın etki mekanizmaları açısından aralarında önemli farklar olduğu gösterilmiştir. Örneğin, anti-TNF monoklonal antikolar sadece TNF- α 'yı bağladığı için TNF- α ve ona bağlı sitokinlerin aktivitelerini baskırlar. Solubl reseptörler ise TNF- α 'nın yanı sıra makrofajlar ve T hücrelerinden salgılanan LT- α veya eski adıyla TNF- β 'yı da bağlarlar. Diğer bir fark, anti-TNF monoklonal antikolar TNF- α 'nın hem TNFR I hem de TNFR II reseptörüne bağlanmasını önleyerek her iki reseptöründe fonksiyonunu bloke etmektedir. Solubl reseptörler ise sadece bir reseptörün özelliklerine sahip olacak şekilde üretilmektedir (lenersept TNFI, etanersept ise TNFII reseptörü gibi). Diğer önemli bir unsurda, bu ilaçların membrana bağlı TNF'lere bağlanmada ve buna bağlı gelişen reaksiyonlarda farklılıklar olmasıdır.

Genel olarak CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin membran TNF- α eksprese ettikleri, makrofaj ve dentritik hücrelerin ise TNF- α 'yı sekrete ettikleri bilinmektedir.

TNF- α 'nın aktif hale gelmesi için trimerik yapı oluşturması gerekir. Yapılan çalışmalarda, membran TNF- α 'larında trimerik yapı oluşturduğu ve bu nedenle membrana bağlı TNF- α 'larda aktif formda oldukları gösterilmiştir. Membran TNF- α hücre-hücre iletişimde önemlidir.

Günümüzde anti TNF- α ilaçların kullanımında klinik endikasyonları genişletmeye yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu sebeple çalışmamızda, sıçanlar üzerinde oluşturduğumuz intestinal obstrüksiyon modelinde TNF- α blokerinin (infiximab) inflamasyon üzerine etkilerini inceledik.

Bakteriyel translokasyonun geliştiği patolojilerde multiple organ yetmezliğine neden olan sepsis kaskadını başlatması adına TNF- α özel bir role sahiptir.(75, 76) Endotelial hücrelerden ve peritoneal makrofajlardan yoğun bir TNF salınımı gerçekleşir. Bu nedenden dolayı TNF- α biyokimyasal parametre olarak seçilmiştir.

İntestinal obstrüksiyon sonrasında salınan sitokinleri inceleyen pekçok klinik çalışma mevcuttur. Örneğin; Morris ve ark.(77) atlarda meydana gelen gastrointestinal patolojiler sonrasında TNF düzeylerini ölçmüşlerdir. Bu çalışmada atlarda İntestinal obstrüksiyon sonrasında TNF düzeyleri yüksek bulunmuştur. İnflamatuvar barsak hastalığı ve

strangölasyonla birlikte olan intestinal obstrüksiyonlarda ise daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Willetts ve ark.(78) ise ileo-kolik invajinasyon gelişmiş çocuklarda artmış plazma sitokin düzeyleri saptamışlardır.

TNF'nin ana pro-inflamatuar sitokin olduğu ve TNF'yi indükleyen şeyin de endotoksin olduğu düşünülürse; ana bakteriyel inflammatuar yanıtın mukozal iskemisinin ortaya çıktığı intestinal obstrüksiyonun geç safhalarında olması beklenir. İO takiben farklı zaman aralıklarında plazma TNF düzeylerinin ölçümü yararlı olabilir.

Bakteriyel translokasyon ve sitokin ilişkisini araştıran çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Sorkine ve ark.(79) sıçanlarda oluşturulmuş barsak iskemisi modelinde sindirim sistemin dekontaminasyonunun endotoksin, TNF düzeyleri ve akciğer hasarı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sindirim sistemi dekontaminasyonunun endotoksin ve TNF yapımını azalttığını bulmuşlardır. Ayrıca; kana endotoksin translokasyonunun önüne geçildiği zaman serum TNF konsantrasyonunun da azaldığını saptamışlardır. Son dönemlerde Goldman ve ark.(80) yapmış olduğu bir çalışmada; BT'un artmış serum TNF düzeyleriyle ilişkili olduğu ve anti-TNF kullanarak azaltılabildiği gösterilmiştir.

Çalışmamızda sıçanlar üzerinde oluşturduğumuz İntestinal obstrüksiyon modelinde Anti-TNF α monoklonal antikoru olan infliximab'ın bakteriyel translokasyon süreci üzerine erken dönem etkilerini inceledik.

Çalışmamızda III. grup (Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + İnfliximab - 24 saat) ile V. grubun (Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + İnfliximab - 48 saat) TNF α değerleri kontrol ve sham grubuna göre düşük bulunsada fark yoktu ($p=0,202$).

İntestinal obstrüksiyonda proinflamatuar sitokinlerden IL-6 artmış olarak bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda gruplar arasında IL- 6 değerleri arasında fark yoktu ($p=0,348$).

Son yıllarda T hücrelerinin inflamasyonun patogeneğinde anahtar rol oynadığı görülmüştür. CD4+ hücrelerin intestinal mukozaya inflammatuar bölgeler oluşturacak şekilde göçü sözkonusudur. Artmış CD4+ nötrofil ve makrofaj sayısı ile birlikte MPO aktivitesi de paralellik gösterir. Bu hücrelerin fonksiyon göstergesi olarak da bilinen MPO düzeyleri birçok çalışmada inflamasyon aktivitesinin belirteci olarak kullanılmıştır. MPO hasarlı doku ve inflamasyonun iyi bir göstergesi olarak bilinmektedir ve nötrofillerde daha fazla bulunan bir enzimdir.

Bizim çalışmamız da doku örneklerindeki MPO düzeyleri değerlendirildi. Çalışma sonuçlarımıza göre MPO düzeylerinde kontrol gruplarındaki değerler tedavi gruplarına göre yüksek olmasına rağmen gruplar arasında fark yoktu ($p=0,401$).

MDA lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir, membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyon kabiliyetini bozar. Böylece sitotoksositeye, mutajen oluşumuna ve membran yıkımına yol açar.(47) MDA artışı dokularda lipid peroksidasyon seviyesini yansıtmaktadır ve hasarlı dokunun bir belirteci olarak göz önüne alınmaktadır.(50) Aktive nötrofillerin dolaşımdan ayrılarak akut inflamasyonda barsağın mukoza ve submukozasına girer, barsağın hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipid mediatörleri, laktoferrin proteazlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin aşırı üretimine neden olur. Çalışmamızda çekum dokusundaki MDA düzeylerinde fark yoktu ($p=0,406$). MLN dokusundaki MDA düzeylerinde II. gruptaki MDA düzeyi, III. ve IV. gruba göre yüksekti ($p=0,037$).

Tüm aerobik canlılar metabolizmaları sırasında fizyolojik olarak oksidatif strese maruz kalırlar. Vücutta oluşan H_2O_2 , O_2 gibi serbest radikaller daha toksik metabolitlere dönüşerek özellikle DNA, lipidler ve proteinler gibi hedeflere saldırırlar ve metabolik olayları bozarlar. Ancak organizma bu reaktif ajanları nötralize edebilen birçok savunma mekanizmasına sahiptir. Antioksidan savunma sistemi adı verilen bu sistemin en önemli komponenti glutatyondur.

Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasara karşı korumaktadır. Birçok çalışmada eksojen verilen GSH'nin hücre içi GSH seviyelerini artırdığı ve oksidatif hasarı engellediği gösterilmiştir. GSH oksidatif yaralanmalarda majör koruyucu etkilidir. Bizim çalışmamızda kan örneklerinde I. Gruptaki GSH değerleri II. III. ve V. gruplardan yüksek, IV. gruptan ise düşüktü ($p=0,003$). Çekum dokusundaki GSH değerlerinde gruplar arasında fark yoktu ($p=0,090$). MLN doku örneklerinde I. Gruptaki GSH değeri III. ve V. gruplardan düşüktü ($p=0.037$).

Bilindiği gibi GSH, strese ve zamana bağlı olarak düzeyi artan bir parametredir. Direkt olarak serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapan GSH, aynı zamanda, H_2O_2 'in H_2O 'ya indirgenmesini ve katalize eden bir enzim olan GSH-Px) enziminin ko-substratıdır. Bu sırada lipid hidroperoksidler GSH'yi, disülfid şekline (GSSG) okside ederler. Normalde, GSH/GSSG oranı; 99/ <1'dir. Eğer bu oran GSSG lehine değişir ise, yani GSSG oranı daha da yükselir ise, bu hücreler için oldukça zararlı olmaktadır. Sitozolik bir enzim olan glutasyon redüktaz,

GSSG'den GSH'nin tekrar elde edilmesi için çok önemlidir. Bütün aeroblarda, hücrelerde redoks durumlarının sürdürülebilmesi için mutlak surette glutatyonun indirgenmiş formunda yani GSH olarak tutulması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda da kan örneklerinde I.Gruptaki GR değeri diğer tüm gruplardan yüksekti ($p=0,000$).

Bu durum inflamasyon ve hücre hasarı durumunda GR'nin, GSSG'den GSH'nin tekrar elde edilmesi için kullanıldığı şeklinde yorumlanabilir. Doku örneklerindeki GSH düzeylerinin birbirine yakın olması bu teoriyi düşündürmektedir.

İntrasellüler veya ekstrasellüler kaynaklı SOR, lipid peroksidasyonuna neden olarak lipid peroksit radikalleri oluşturur. Bunlar da inflamasyonun oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar. Antioksidanlar SOR'un zararlı etkilerinden koruyucu bileşiklerdir. En önemli enzimatik antioksidanlar SOD, GSH-Px'dir. Bu enzimler doğal savunma sisteminin birer parçasıdır. İnflamatuar süreçte SOR'un oluşturduğu hasara karşı direncin artmasında rol oynarlar.

Yapılan çalışmalarda inflamasyon sırasında pozitif yüklü lipozomların mukozaya tutunduğu, bunun da SOD'nin salınımına neden olduğu bildirilmiştir. SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler SOR kaynaklı hasarlanmaya karşı doğal hücre savunma sisteminin bir parçasıdır.

Lipozomal SOD hücre membranına daha iyi bağlandığından oksidatif strese etkisi artar. Bizim çalışmamızda doku örneklerinde tüm gruplarda birbirine yakın sonuçlar elde edilirken, olarak fark yoktu ($p=0,103$).

Glutatyon peroksidaz, fagositik hücrelerin zarar görmesini önleyen, eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidanlardandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına yol açar. Çalışmamızda kan örneklerinde IV. Gruptaki GSH-Px değeri III. V. gruba göre yüksekti. I. gruptaki GSH-Px değeri V. gruba göre yüksekti ($p=0,030$). Çekum ve MLN doku örneklerinde gruplar arasında fark saptanmadı ($p=0,101$).

Çalışmamızda MLN doku kültürlerinde II. Gruptaki MLN'undaki üremeler V. gruba göre yüksekti. IV. ve I. gruplardaki üremeler V. gruptaki göre yüksekti ($p=0,035$). Bu sonuçlar da bize İnfliximab verdiğimiz ve 48 saat beklediğimiz V. guptaki üremelerin anlamlı olarak azaldığını göstermiştir.

Dokuda yapılan biyokimyasal tetkiklerin sonuçlara yansımamasına rağmen; TNF- α 'nın infliximab kullanımı ile inhibisyonu sonucunda intestinal mukozayı içeren mikroçevre üzerinde belirgin etki oluştuğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızın temel yapısı laparotomi ve

intestinal obstrüksiyon sonrası erken dönemde ortaya çıkan translokasyon üzerinde anti-TNF uygulamasının etkilerini araştırmaktır. Bu nedenle; 48 saat sonrasında ortaya çıkabilecek etkiler konusunda spekülasyon yapmak olanaksızdır. Ancak; özellikle mezenterik lenf nodlarında saptanan koloni sayılarının V. grupta (*Laparotomi + İntestinal Obstrüksiyon + İnfliximab - 48 saat*) daha az olması değerli bir bulgudur. Çünkü; intestinal obstrüksiyonun doğası gereği, intralüminal staz arttıkça flora bakterilerindeki dengesiz çoğalma artarak devam edecek ve mukozal yenilenmenin aksaması nedeni ile translokasyon oranı artacaktır.(63) Bu nedenle; intestinal obstrüksiyonun erken döneminde TNF blokajının mukozal bariyeri destekleyen bir faktör olduğu düşünülebilir.

İntestinal mukozada ortaya çıkan oksidatif stres hasarlı dokuda etki gösteren antioksidan mekanizmaların oluşturduğu etkiye bağlıdır.(81) Radyasyon ve travma gibi iskemi/reperfüzyon hasarını tetikleyen durumlarda ise mukozal yenilenmeyi sağlayan beslenme desteğinin intraluminal olarak verilmesi iyileşmeyi hızlandırmaktadır.(82) Çalışmamızda; oksidatif hasar üzerinde etki gösterebilecek bir ajan olan infliximab sistemik olarak verilmiştir. Sistemik antioksidan uygulamanın doku üzerindeki olumlu etkisi bilinmektedir.(83) Mezenterik lenf nodlarına translokasyon oranında azalma olduğunu göstermemize rağmen, oksidatif stresle ilgili parametrelerde (NO, MDA) önemli değişiklikler görülmemiştir. Özellikle NO'nın kısa yarı ömürlü olduğu düşünüldüğünde,(84) olası antioksidan etkinin laboratuvar parametrelerine yansımamış dahi olsa ortaya çıktığı düşünülebilir. Ancak; çalışmamızın verilerinde bunu destekleyecek kanıt yoktur.

SONUÇ VE ÖNERİLER

İnfliximab ile TNF blokajı, intestinal obstrüksiyon modelinde mezenterik lenf nodlarına bakteriyel translokasyonu azaltmaktadır. Ancak; infliximab uygulamasının mikroçevre üzerindeki etkisinin mekanizması tam olarak gösterilememiştir. Bununla birlikte; intestinal obstrüksiyonun erken döneminde mukozal bariyeri destekleyebilecek bir sistemik ajan olduğu söylenebilir. İnfliximab'ın olası yeni klinik rolü için daha ayrıntılı araştırmalara gereksinim vardır.

**DENEYSEL İNTESTİNAL OBSTRÜKSİYON SONRASI
ANTI-TNF- α ANTİKOR UYGULANMASININ
BAKTERİYEL TRANSLOKASYONA ERKEN DÖNEMDE ETKİSİ**

ÖZET

Amaç: Sıçanlarda, Anti-TNF- α monoklonal antikoru (Infliximab) kullanımının intestinal obstrüksiyon modelinde bakteriyel translokasyona erken dönemde etkilerini araştırmak.

Materyal ve Metot: Ağırlığı 199 - 250 gr arasında değişen, 50 adet Wistar-Albino tipi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, kontrol (I. grup n= 10), SF 24. saat (II. grup n= 10), infliximab 24. saat (III. grup n= 10), SF 48. saat (IV. grup n= 10) ve infliximab 48. saat (V. grup n= 10) grubu olmak üzere beş gruba eşit olarak ayrıldı. I., II. ve IV. gruplara intraperitoneal 3 cc % 0,9 NaCl enjeksiyonu yapıldı. III. ve V. gruplara intraperitoneal 10 mg/kg infliximab enjeksiyonu yapıldı. I., II. ve III. gruplara 24. saatte relaparotomi yapıldı ve doku örnekleri ile kan örnekleri alındı. IV. gruba 24. saatte ikinci kez intraperitoneal 3 cc % 0,9 NaCl ve V. grubada 24. saatte ikinci kez intraperitoneal 10 mg/kg infliximab enjeksiyonu yapıldı. 48. saatte IV. ve V. gruplara relaparotomi yapılarak doku ve kan örnekleri alındı. Sıçanlar 24 ve 48 saat sonunda intrakardiyak kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edildi. Alınan kan ve doku örneklerinden tümör nekroz faktör alfa, interlökin 6, glutatyon redüktaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz, malondialdehit, myeloperoksidaz, süperoksid dizmutaz ve nitrik oksit ölçümleri yapıldı. Doku örneklerindeki mikrobiyolojik değerlendirme de ise örnekler, gram boyama yöntemine göre boyandılar ve gram negative ve pozitif boyanma özelliklerine ve çeşitli enzim reaksiyonlarına verdikleri tepkiye göre tanımlanarak edildiler.

Bulgular: 24. ve 48. saatler sonunda infliximab verilen ve kontrol grupları arasında doku ve kanda tümör nekroz faktör alfa, interlökin 6, glutatyon redüktaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz, süperoksid dizmutaz, malondialdehit, myeloperoksidaz ve nitrik oksit değerleri arasında fark yoktu ($p>0.05$). V. grupta mezenterik lenf nodlarında üreme azdı ($p<0.05$).

Sonuç: İnfliximab ile TNF blokajı, intestinal obstrüksiyon modelinde mezenterik lenf nodlarına bakteriyel translokasyonu azaltmaktadır. Ancak; infliximab uygulamasının mikroçevre üzerindeki etkisinin mekanizması tam olarak gösterilememiştir. Bununla birlikte; intestinal obstrüksiyonun erken döneminde mukozal bariyeri destekleyebilecek bir sistemik ajan olduğu söylenebilir. İnfliximab'ın olası yeni klinik rolü için daha ayrıntılı araştırmalara gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: Anti-TNF- α monoklonal antikoru, İnfliximab, İntestinal obstrüksiyon, Bakteriyel translokasyon

**EFFECT OF ANTI-TNF- α ANTIBODY ADMINISTRATION
ON BACTERIAL TRANSLOCATION IN EARLY PERIOD
AFTER EXPERIMENTAL INTESTINAL OBSTRUCTION**

ABSTRACT

Objective: To investigate the effects of Anti-TNF- α monoclonal antibody (Infliximab) administration on bacterial translocation in an intestinal obstruction model within early period in rats.

Material and Method: 50 Wistar-Albino type female rats with weights varying between 199 – 250g were included in the study. Rats were equally distributed to five groups as following: Control (I. group n= 10), NS 24th hour (II. group n= 10), infliximab 24th hour (III. group n= 10), NS 48th hour (IV. group n= 10) and infliximab 48th hour (V. group n= 10). Intraperitoneal injection of NaCl 0.9% was administered to I., II. and IV. group at the dose of 3 cc. Intraperitoneal injection of infliximab at 10 mg/kg was administered to III. and V. group. Relaparotomy was performed on I., II. and III. group at 24th hour and samples of tissue and blood were acquired. Intraperitoneal injection of NaCl 0.9% at the dose of 3 cc was administered to IV. group a second time at 24th hour and intraperitoneal injection of infliximab at 10 mg/kg was administered to V. group a second time at 24th hour. Relaparotomy was performed on IV. and V. group at 48th hour and samples of tissue and blood were acquired. Having obtained intracardiac blood samples, rats were sacrificed at the end of 24th and 48th hours. Tumor necrosis factor alpha, interleukine-6, glutathione reductase, glutathione, glutathione peroxidase, malondialdehyde, myeloperoxidase, superoxide dysmutase and nitric oxide levels were measured in the samples of blood and tissue acquired. In the microbiological evaluation of tissue samples, samples were stained according to the Gram staining protocol and identified with regard to Gram-staining characteristics, denoted as negative and positive, and to their responses against various enzyme reactions.

Results: No difference was found between infliximab received group and control groups at the end of 24th and 48th hours regarding tumor necrosis factor alpha, interleukine-6, glutathione reductase, glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dysmutase,

malondialdehyde, myeloperoxidase, and nitric oxide values in the tissue and blood ($p>0.05$). Proliferation in mesenteric lymph nodes was lower in V. group ($p<0.05$).

Conclusion: TNF blockage by infliximab administration reduces the bacterial translocation into mesenteric lymph nodes in the intestinal obstruction model. However, mechanism of action of infliximab administration on microenvironment could not be demonstrated completely. Besides, it may be said that it is a systemic agent, which could support the mucosal barrier in the early period of intestinal obstruction. More detailed studies are required to be performed to reveal the possible new clinical role of

Keywords: Anti-TNF α monoclonal antibody, Infliximab, Intestinal obstruction, Bacterial translocation

KAYNAKLAR

- 1- Welch J P. General considerations and mortality. Bowel obstruction W. B. Saunders, 1990: 55-95.
- 2- Mainous MR, Tso P, Berg RD, Deitch EA. Studies of the route, magnitude, and time course of bacterial translocation in a model of systemic inflammation. Arch Surg 1991; 126: 33-37.
- 3- Sorell WT, Quigley EM, Jin G, Johnson TJ, Rikkers LF. Bacterial translocation in the portal-hypertensive rat: studies in basal conditions and on exposure to hemorrhagic shock. Gastroenterology 1993; 104: 1722-1726.
- 4- Wolochow H, Hildebrand GJ, Lamanna C. Translocation of microorganisms across the intestinal wall of the rat: effect of microbial size and concentration. J Infect Dis 1966; 116: 523-528.
- 5- Guarner C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheikh MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. J Hepatol 1997; 26: 1372-1378.
- 6- Wang XD, Guo WD, Wang Q, Andersson R, Ekblad E, Soltesz V, Bengmark S. 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.
- 7- Deitch EA. Bacterial translocation of the gut flora. J Trauma 1990; 30: S184-189.
- 8- Remicade (infliximab) prescribing information. Horsman (PA): Centecor; 2006.
- 9- Miller G, Boman J, Shrier I, Gordon PH. Etiology of small bowel obstruction. Am J Surg 2000; 180: 33-36.
- 10- Graber MA, House H. Pain management in the emergency department. JAAPA 2003; 16: 39-40, 43, 46 passim.
- 11- Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract ed: Zuidema G D., Nyhus L M. Intestinal obstruction. W. B. Saunders. 1996: 375-390.
- 12- Surgical Treatment, M. N. Kulaylat, R. F. Doerr, Department of Surgical Oncology, Buffalo General Hospital, 2001.
- 13- Edmiston CE, Jr., Condon RE. Bacterial translocation. Surg Gynecol Obstet 1991; 173: 73-83.

- 14- van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk L-v. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J Hyg (Lond)* 1971; 69: 405-411.
- 15- Berg RD. Promotion of the translocation of enteric bacteria from the gastrointestinal tracts of mice by oral treatment with penicillin, clindamycin, or metronidazole. *Infect Immun* 1981; 33: 854-861.
- 16- Sabiston Textbook of surgery, 16th ed. W. B. Saunders Comp. 2001: 873-889.
- 17- Banwell JG, Howard R, Cooper D, Costerton JW. Intestinal microbial flora after feeding phytohemagglutinin lectins (*Phaseolus vulgaris*) to rats. *Appl Environ Microbiol* 1985; 50: 68-80.
- 18- Spitz J, Yuhan R, Koutsouris A, Blatt C, Alverdy J, Hecht G. Enteropathogenic *Escherichia coli* adherence to intestinal epithelial monolayers diminishes barrier function. *Am J Physiol* 1995; 268: G374-379.
- 19- Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Gianotti L, Peck MD, Dunn DL, Pyles T, Childress CP, Ash SK. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990; 212: 496-510; discussion 511-492.
- 20- O'Boyle CJ, MacFie J, Mitchell CJ, Johnstone D, Sagar PM, Sedman PC. Microbiology of bacterial translocation in humans. *Gut* 1998; 42: 29-35.
- 21- Kucuk C, Sozuer E, Gursoy S, Canoz O, Artis T, Akcan A, Akyildiz H, Muhtaroglu S. Treatment with Met-RANTES decreases bacterial translocation in experimental colitis. *Am J Surg* 2006; 191: 77-83.
- 22- Albillos A, de la Hera A. Multifactorial gut barrier failure in cirrhosis and bacterial translocation: working out the role of probiotics and antioxidants. *J Hepatol* 2002; 37: 523-526.
- 23- Gardiner KR, Erwin PJ, Anderson NH, Barr JG, Halliday MI, Rowlands BJ. Colonic bacteria and bacterial translocation in experimental colitis. *British Journal of Surgery* 1993; 80: 512-516.
- 24- Yigitler C, Gulec B, Aydogan H, Ozcan A, Kilinc M, Yigit T, Kozak O, Pekcan M. Effect of mesalazine, metronidazole and gentamicin on bacterial translocation in experimental colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1179-1186.
- 25- O'Garra A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity* 1998; 8: 275-283.

- 26- Kirillova I, Chaisson M, Fausto N. Tumor necrosis factor induces DNA replication in hepatic cells through nuclear factor kappaB activation. *Cell Growth Differ* 1999; 10: 819-828.
- 27- Fink MP. Intestinal epithelial hyperpermeability: update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness. *Current Opinion in Critical Care* 2003; 9: 143.
- 28- Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72: 3666-3670.
- 29- Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984; 312: 724-729.
- 30- Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 1985; 161: 984-995.
- 31- Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. *Science* 1985; 229: 867-869.
- 32- Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985; 316: 552-554.
- 33- Tartaglia LA, Pennica D, Goeddel DV. Ligand passing: the 75-kDa tumor necrosis factor (TNF) receptor recruits TNF for signaling by the 55-kDa TNF receptor. *J Biol Chem* 1993; 268: 18542-18548.
- 34- Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL, Glaccum MB, Otten C, Willis CR, Charrier K, Morrissey PJ, Ware CB, Mohler KM. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol* 1998; 160: 943-952.
- 35- Dinarello CA. Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. *J Biol Regul Homeost Agents* 1997; 11: 91-103.

- 36- Ertel W, Scholl FA, Gallati H, Bonaccio M, Schildberg FW, Trentz O. Increased release of soluble tumor necrosis factor receptors into blood during clinical sepsis. *Arch Surg* 1994; 129: 1330-1336; discussion 1336-1337.
- 37- Froon AH, Bemelmans MH, Greve JW, van der Linden CJ, Buurman WA. Increased plasma concentrations of soluble tumor necrosis factor receptors in sepsis syndrome: correlation with plasma creatinine values. *Crit Care Med* 1994; 22: 803-809.
- 38- Rogy MA, Coyle SM, Oldenburg HS, Rock CS, Barie PS, Van Zee KJ, Smith CG, Moldawer LL, Lowry SF. Persistently elevated soluble tumor necrosis factor receptor and interleukin-1 receptor antagonist levels in critically ill patients. *J Am Coll Surg* 1994; 178: 132-138.
- 39- Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Ghayeb J. Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions. *Cytokine* 1995; 7: 251-259.
- 40- ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, van Deventer SJ. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 206-211.
- 41- Cross CE, Halliwell B, Allen A. Antioxidant protection: a function of tracheobronchial and gastrointestinal mucus. *Lancet* 1984; 1: 1328-1330.
- 42- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
- 43- Weiss SJ, LoBuglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982; 47: 5-18.
- 44- Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 434-456.
- 45- Miller RA, Britigan BE. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 1-18.
- 46- Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med* 1985; 1: 87-95.
- 47- Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
- 48- Saltman P. Oxidative stress: a radical view. *Semin Hematol* 1989; 26: 249-256.

- 49- Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-135.
- 50- Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clin Chim Acta* 2007; 380: 50-58.
- 51- Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
- 52- Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı: Mimoza Yayınları, 1995: 3-10.
- 53- Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-724.
- 54- Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci (Lond)* 1998; 94: 623-632.
- 55- News of Science. *Science* 1955; 122: 1137.
- 56- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
- 57- Suzuki K, Ota H, Sasagawa S, Sakatani T, Fujikura T. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem* 1983; 132: 345-352.
- 58- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
- 59- Mosley JG, Shoaib A. Operative versus conservative management of adhesional intestinal obstruction. *Br J Surg* 2000; 87: 362-373.
- 60- Nellgard P, Cassuto J. Inflammation as a major cause of fluid losses in small-bowel obstruction. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 1035-1041.
- 61- Deitch EA, Bridges WM, Ma JW, Ma L, Berg RD, Specian RD. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. *Am J Surg* 1990; 159: 394-401.
- 62- Deitch EA, Berg R, Specian R. Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. *Arch Surg* 1987; 122: 185-190.
- 63- Bengmark S, Jeppsson B. Gastrointestinal surface protection and mucosa reconditioning. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1995; 19: 410.

- 64- Sagar PM, MacFie J, Sedman P, May J, Mancey-Jones B, Johnstone D. Intestinal obstruction promotes gut translocation of bacteria. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 640-644.
- 65- Deitch EA. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infection and multiple organ failure. *Arch Surg* 1990; 125: 403-404.
- 66- Bishop RF, Allcock EA. Bacterial flora of the small intestine in acute intestinal obstruction. *Br Med J* 1960; 1: 766-770.
- 67- Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch Surg* 1989; 124: 699-701.
- 68- Sedman PC, Macfie J, Sagar P, Mitchell CJ, May J, Mancey-Jones B, Johnstone D. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology* 1994; 107: 643-649.
- 69- van Minnen LP, Nieuwenhuijs VB, de Bruijn MT, Verheem A, Visser MR, van Dijk JE, Akkermans LM, Gooszen HG. Effects of subtotal colectomy on bacterial translocation during experimental acute pancreatitis. *Pancreas* 2006; 32: 110-114.
- 70- Nunes BL, Saad SS, Juca MJ, Porfirio Z, Matos D. Analysis of bacteremia occurring in the presence of obstruction of the left colon in rats submitted to transoperative antegrade mechanical lavage. *J Invest Surg* 2005; 18: 233-240.
- 71- Chin KF, Kallam R, O'Boyle C, MacFie J. Bacterial translocation may influence the long-term survival in colorectal cancer patients. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 323-330.
- 72- Quioque T, Glick SN, Teplick SK. Inflammatory changes proximal to obstructing lesions in the small intestine. *Gastrointest Radiol* 1985; 10: 157-160.
- 73- Granger DN, Barrowman JA. Microcirculation of the alimentary tract. II. Pathophysiology of edema. *Gastroenterology* 1983; 84: 1035-1049.
- 74- Snyder JR. The pathophysiology of intestinal damage: effects of luminal distention and ischemia. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1989; 5: 247-270.
- 75- Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg* 1996; 20: 411-417.
- 76- Deitch EA, Xu D, Franko L, Ayala A, Chaudry IH. Evidence favoring the role of the gut as a cytokine-generating organ in rats subjected to hemorrhagic shock. *Shock* 1994; 1: 141-145.

- 77- Morris DD, Moore JN, Crowe N. Serum tumor necrosis factor activity in horses with colic attributable to gastrointestinal tract disease. *Am J Vet Res* 1991; 52: 1565-1569.
- 78- Willetts IE, Kite P, Barclay GR, Banks RE, Rumley A, Allgar V, Stringer MD. Endotoxin, cytokines and lipid peroxides in children with intussusception. *Br J Surg* 2001; 88: 878-883.
- 79- Sorkine P, Szold O, Halpern P, Gutman M, Gremland M, Rudick V, Goldman G. Gut decontamination reduces bowel ischemia-induced lung injury in rats. *Chest* 1997; 112: 491-495.
- 80- Goldman G, Soffer D, Heller L, Aderka D, Lahat A, Klausner JM. Tumour necrosis factor mediates bacterial translocation after haemorrhagic shock and endotoxaemia. *Eur J Surg* 2001; 167: 299-304.
- 81- Cevikel MH, Tuncyurek P, Ceylan F, Meteoglu I, Kozaci D, Boylu S. Supplementation with high-dose ascorbic acid improves intestinal anastomotic healing. *European Surgical Research* 2008; 40: 29-33.
- 82- Ersin S, Tuncyurek P, Esassolak M, Alkanat M, Buke C, Yilmaz M, Telefoncu A, Kose T. The prophylactic and therapeutic effects of glutamine-and arginine-enriched diets on radiation-induced enteritis in rats. *Journal of Surgical Research* 2000; 89: 121-125.
- 83- Sasaki M, Joh T. Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 2007; 40: 1.
- 84- Tuncyurek P, Yenisey C, Doger FK, Soyder A, Bicakci T, Cevikel MH. Nitric oxide as an independent regulatory factor in regenerating rat liver. *Acta chirurgica Belgica* 2006; 106: 581.