

T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**GEÇİCİ MEKANİK İLEUS OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA
PROBİYOTİKLE BESLENMENİN
BARSAK MUKOZA HASARININ
İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AKAY EDİZSOY

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Hakan ÇEVİKEL

AYDIN –2016

T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**GEÇİCİ MEKANİK İLEUS OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA
PROBİYOTİKLE BESLENMENİN
BARSAK MUKOZA HASARININ
İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. AKAY EDİZSOY

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Hakan ÇEVİKEL

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-16026 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

AYDIN –2016

ÖNSÖZ

Anatominin cerrahide ne kadar önemli olduğunu vurgulayan Guy de Chauliac“Kendi anatomisini bilmeyen cerrah taş üzerine yazı yontmaya çalışan kör bir adama benzer” sözünü 14. yüzyılda söylemiştir. Günümüzde, sadece anatomi bilmek cerrahlara yeterli olmamaktadır. Moleküler biyolojideki buluşların katkısı, probiyotiklerin ve bütünüyle floramızın anlaşılmasını sağlamıştır. Hayatımıza tümüyle etki eden bu küçük canlıların, cerrahi araştırmalarda önemli bir yer edinmesi kaçınılmazdır.

Bu geniş çalışmada emeği geçen, başta danışman hocam Prof.Dr. Mehmet Hakan ÇEVİKEL olmak üzere Yrd.Doç.Dr. Eyüp Murat YILMAZ, Prof.Dr. Çiğdem YENİSEY, Prof.Dr. Serhan SAKARYA, Prof.Dr. İbrahim METEOĞLU, Arş.Grv. Burçin İrem ABAS, Arş.Grv.Dr. Ayşegül ÖRMECİ, Arş.Grv. Hakan ÖZTÜRK, Uzm.Vet.Hekim Serdar AKTAŞ ve kardeşim Cemal EDİZSOY’a teşekkürlerimi sunuyorum.

Kliniğimizde samimi bir çalışma ortamında, engin bilgi ve deneyimlerini bizimle paylaşan başta Anabilimdalı Başkanı hocamız Prof.Dr. Pars TUNÇYÜREK olmak üzere yukarıda adı geçen hocalarım ile birlikte, Prof.Dr. Hedef ÖZGÜN, Prof.Dr. Ahmet Ender DEMİRKIRAN, Doç.Dr. Hakan ERPEK, Doç.Dr. Aykut SOYDER, Yrd.Doç.Dr. Erdem Barış CARTI’ya minnettarım.

Bana hekim olmayı öğreten Eskişehir Osmangazi Üniversitesi’ndeki tüm hocalarıma, cerrah olmam için bana ilk ışığı tutan ve beni yüreklendiren Gdansk Medikal Üniversitesi Onkolojik Cerrahı Prof.Dr. Andrzej KOPACO’ya; ayrıca bugünlere gelmemi sağlayan, emeği geçmiş her hocama şükranlarımı sunuyorum.

Bütün bu zorlu süreçte, beni bir an bile yalnız bırakmayan, moral ve motivasyon kaynağım, sevgili eşim Seçil, biricik oğlumuz Egemen Alp ve tüm aileme teşekkür ediyorum.

Dr. Akay EDİZSOY

İÇİNDEKİLER

Önsöz.....	I
İçindekiler.....	II
Tablo Listesi.....	III
Şekil Listesi.....	IV
Simge ve Kısaltmalar.....	V
Resim ve Grafikler.....	IX
Giriş ve Amaç.....	1
Genel Bilgiler.....	2
İntestinal Obstrüksiyon.....	2
Bakteriyel Translokasyon.....	4
Serbest Oksijen Radikalleri.....	7
Probiyotikler.....	18
Gereç ve Yöntem.....	21
Denekler.....	21
Deney Grupları.....	21
İleus Oluşturulması.....	21
Beslenme ve Pasajın Yeniden Sağlanması.....	23
Örnek Alınması.....	23
Deney Sonunda Ölçülen Parametreler.....	24
Bulgular.....	34
Tartışma.....	39
Sonuç.....	44
Özet.....	45
Abstract.....	46
Kaynakça.....	47

TABLO LİSTESİ

Tablo I: İleum mukoza hasarının histopatolojik sınıflandırılması

Tablo II: Mukozal hasar parametrelerine uygulanan Kruskal Wallis test sonuçları

Tablo III: Bakteriyel Translokasyon Parametrelerine Uygulanan Kruskal Wallis test sonuçları

Tablo IV: Normal dağılım göstermeyen biyokimyasal parametrelere uygulanan Kruskal Wallis test sonuçları

Tablo V: Normal dağılım gösteren biyokimyasal ve hematolojik parametrelere uygulanan Anova test sonuçları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1:Bakteriyel translokasyon;barsak lümenindeki bakterilerin dolaşıma geçmesinin şematik görünümü.

Şekil 2: Hücre içindeki anti-oksidatif sistemler

Şekil 3: Eritrositlerde yer alan anti-oksidatif enzim sistemleri

Şekil 4:Süperoksid anyonunun dismutazı ve antioksidatif enzimlerin çalışması

Şekil 5: CAT enziminin katalizlediği reaksiyon

Şekil 6:A.GSH'ın yapısı

Şekil 7:GR'ın indirgenmiş GSH'ı tekrar oluşturması

Şekil 8:Lipidlerin peroksidasyonu ve MDA oluşumu

Şekil 9:NO radikali ve hücrel savunma mekanizmasında ilişkili olduğu sistemler

SİMGE VE KISALTMALAR

ark: Arkadaşları

BCA: Bikinkioninik asit

BT: Bakteriyel Translokasyon

CAT: Katalaz

Cd: Kadmiyum

CFU: Koloni oluşturan birim(colony forming unit)

Cu: Bakır

CuCl₂: Bakır klorür

CuSO₄: Bakır sülfat

CRP: C reaktif protein

DNA: Deoksiribonükleik asit

DTNB:5,5'-Ditio-bis (2-nitrobenzoik asit)

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

Fe: Demir

GR: Redükte glutatyon

GSH: Glutatyon

GSH-Px: Glutatyon peroksidaz

GSSG: Okside glutatyon

GST: Glutatyon S transferaz

Hb: Hemoglobin

HETAP: Hekzadeaçiltrimetilamonyum bromid

H₂O:Hidrojen dioksit

H₂ O₂: Hidrojen peroksit

HOCl: Hipoklorik asit

IgA: İmmünglobilin A

IgG: İmmünglobilin G

IL-1: İnterlökkin 1

İO: İntestinal obstrüksiyon

LDL:Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein)

MDA: Malondialdehit

MLN: Mezenter lenf nodu

MPO: Miyeloperoksidaz

NaCl: Sodyum klorür

NaOH: Sodyum hidroksil

Na₂HPO₄: Disodyum hidrojen fosfat

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NBT: Nitroblue tetrazolium

NED:N-(1-Naptil)Etil-Enediamin dihidroklorid

NH₄SO₄: Amonyum sülfat

NO[•]: Nitrik oksit

NO₂: Azot dioksit

NO₃: Azot trioksit

NOS: Nitrik oksit sentetaz

O[•]: Süperoksit radikali

OH[•]: Hidroksil radikali

P: Fosfat

pH: Hidrojen gücü (power of hidrogen)

PMSF: Fenilmetasulfonil florür

RNA: Ribonükleik asit

Se: Selenyum

SOD: Süperoksit dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

TBA:2-Tiyobarbutirik asit

TNF:Tümör nekroz faktör

TMB: 3,3' , 5,5'- tetrametil benzidin

XOD: Ksantin oksidaz

Zn: Çinko

5-FU: 5- florourasil

°C: Santigrat derece (celcius degree)

mL: Mililitre

dL: desilitre

L: litre

mg: miligram

cm: santimetre (cantimeter)

rpm: devir/dakika (revolution per minute)

gr: gram

kgr: kilogram

%: yüzde

nM: nanometre

µM: mikromol

nmol: nanomol

ngr: nanogram

mu: mikron

U: Ünite

Δt: delta t

Abs: Absorbans

DGR: Doku Glutasyon Redüktaz

DGSH: Doku Glutasyon

DSOD: Doku Süperoksit Dismutaz

ECAT: Eritrosit Katalaz

EGR: Eritrosit Glutasyon Redüktaz

SNO: Serum Nitrik Oksit

P(-)₂₄:24saat boyunca İleus oluşturulmuş ancak probiyotik verilmeyen grup

P(-)₄₈:48 saat boyunca İleus oluşturulmuş ancak probiyotik verilmeyen grup

P(+)₂₄:24saat boyunca İleus oluşturulmuş ve probiyotik verilengrup

P(+)₄₈:48 saat boyunca İleus oluşturulmuş ve probiyotik verilen grup

RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Gruplar arasındaki müköz hücre kaybı parametresi median dağılımı

Grafik 2: Gruplar arasındaki ödem parametresi median dağılımı

Grafik 3: Karaciğere olan bakteriyel translokasyon oranlarının (koloni/1 mg protein) median dağılımı

Grafik 4: Dalağa olan bakteriyel translokasyon oranlarının (koloni/1 mg protein) median dağılımı

Grafik 5: Mezenterik lenf nodlarına olan bakteriyel translokasyon oranlarının (koloni/1 mg protein) median dağılımı

Grafik 6: Barsak dokusundan alınan örneklerde ölçülen Glutasyon Redüktaz değerlerinin median dağılımları

Grafik 7: Serumdan alınan örneklerde ölçülen Nitrik oksitdeğerlerinin median dağılımları

Grafik 8: Eritrositten ekstrakte edilen örneklerde ölçülen Katalaz değerlerinin median dağılımları

Resim 1: Anestezi verilmesi, Tüylerin traşı, Operasyona Hazırlık, İleus oluşturulması, Periton ve diğer katların sutureasyonu, Cildin sutureasyonu, Pansuman

Resim 2: Orogastrik gavaj ile besleme, Obstrüksiyonun kaldırılması, Obstrüksiyon kalktıktan sonraki terminal ileumun görüntüsü

Resim 3: Dalaktan mikrobiyolojik doku örneği alınması, Terminal ileumdan patolojik ve biyokimyasal doku örneği alınması

Resim 4: Farklı gruplardan alınan Hemotoksilen Eozin ile boyalı terminal ileum kesitleri

Resim 5: Koloni oranlarında gruplar arasında en çok farkın saptandığı karaciğer dokularından alınan örneklerde üreyen koloniler

Resim 6: Sonikatör, Kuyucuklardaki örnekler, Spektrofotometre

GİRİŞ VE AMAÇ

Mekanik ileus, dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu hastalar, en erken, şikayetlerin başlangıcından 24 saat sonra hastaneye başvurmaktadır. Çünkü semptomlar, bu zaman diliminde ortaya çıkar. Bazı hastaların hastaneye başvuru süresi 48 saati bulmakta, hatta daha geç zaman dilimlerinde olabilmektedir.

Mekanik ileus, cerrahi bir operasyonla düzeltilip, ileus ortadan kalkınca, semptomlar hemen gerilemez. Operasyona rağmen bazı komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Barsak mukoza hasarına bağlı perforasyon, bakteriyel translokasyon ve sepsis bunlardan bazıları olup; bunlar hayatı tehdit edici komplikasyonlardır.

Bu çalışmada geçici ileus modeli oluşturulmuştur. İkinci operasyonda ileus ortadan kaldırılmıştır. Örnek alımı üçüncü operasyonda yapılmıştır. Böylece mekanik ileus, cerrahi operasyon geçiren hastalarda gördüğümüz hale getirilmeye çalışılmıştır.

Komplikasyonların önlenmesi ve morbiditenin kısaltılması amacıyla, iyileşme döneminin, hızlandırılması ve desteklenmesi faydalı olacaktır. Birçok çalışmada; mekanik ileus oluşturulmuş ve ileus ortadan kalkmadan incelemeler yapılmıştır. Bizim amacımız operasyon sonrası dönemde ortaya çıkabilen, barsak mukoza hasarına bağlı perforasyon, bakteriyel translokasyon ve sepsis gibi komplikasyonların önlenmesinde ya da azaltılmasında, probiyotik kullanımının, herhangi bir yararı olup olmadığını göstermektir.

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 düzeyinde izlenmektedir.

İntestinal Obstrüksiyonların Meydana Gelme Şekilleri

Mekanik Obstrüksiyon: Barsak lümeninin tam ya da 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 ya da daha fazla noktada tıkalı olmasıdır. Sıklıkla strangülasyon da buna eşlik eder.

Paralitik Obstrüksiyon: İnce barsağın motor fonksiyonu ameliyat sonrası, travma, peritonit, spinal travma, hipokalemi, üremi, pankreatit gibi nedenlerle zayıflamıştır.

Strangüle Obstrüksiyon: Barsak duvarının beslenmesini sağlayan mezenterik damardaki akımın engellenmesi sonucu oluşur.

Etiyoloji

Daha önce batın içi operasyon geçiren hastalarda tıkanıklık varsa bunun nedeni % 60-80 oranında bridlerdir . % 15-20 fıtıklar, lümen içi ya da dışı tümörler ise % 15-20 oranında etiyolojide yerini alır.(1)

Cerrahi sonrası ince barsaklarda oluşan en sık problem mekanik obstrüksiyondur. Birleşik devletlerde yılda 300.000'den fazla hasta cerrahi sonrası yapışıklığa bağlı obstrüksiyon nedeniyle opere edilmektedir.(2) Obstrüksiyon nedeniyle opere olanların toplamda % 3'ten daha azı ince barsak neoplazileri nedeniyleledir.(3)

Patofizyoloji

Yirminci yüzyılın başlarına kadar barsak tıkanmalarında, tıkanan barsaklardan toksinlerin absorpsiyonu ölüm nedeni olarak gösteriliyordu.1912'de Hartwell ve Hogue barsak

tıkanması olan köpeklere intra venöz yoldan serum fizyolojik vererek köpeklerin yaşam sürelerini uzattılar.

Mekanik obstrüksiyonun temelini tıkanıklığın proksimalinde gelişen distansiyon oluşturur. Bu gaz ve sıvı birikimi sonucu oluşan distansiyon, gastrointestinal sistemdeki sıvı ve elektrolit hareketliliğini hasara uğratar. Üst gastrointestinal sistemin günde dokuz litre sıvı sekresyonu vardır. Bunun 400 - 500 ml'si çekuma ulaşır. Kolona geçen sadece 200-300 ml'dir. Tıkanma sonucu barsak duvarındaki damarlar gerilir ve uzar. Çapı incelen venler dolaşımdaki görevini yerine getiremez ve ödem gelişmeye başlar. Distal ileum tıkanıklığında 12 saat sonra absorpsiyon durur. 48 saat sonra distansiyon nedeniyle prostaglandin seviyesi artar ve sekresyon da artmaya başlar.

Büyük oranda yutulan havadan oluşan lümen içi gazlar da tıkanma sonucunda distansiyonu artırır. Azot mukoza tarafından emilemez. Bunlara, bikarbonatın nötrazilasyonu sırasında oluşan karbondioksit ve bakteriler tarafından üretilen gazlar da eklenir.

Lümen içi basınç 30 cm/H₂O olduğunda kapillerlerden hücrelere difüzyonun bozulduğu görülmüş; basınç 60 cm/H₂O olduğunda ise bazı küçük damarlarda dolaşımın tamamen durduğu gözlenmiştir.(4) Bu gerilim barsak duvarının beslenmesini aksatır. Proksimale yönelen basınç bunu yavaşlatabilir ancak kapalı ans tıkanıklıklarında ani basınç artışı iskemik nekroz ve sonucunda perforasyon gelişebilir.(5)

Chron gibi inflamatuvar barsak hastalıkları da mekanik obstrüksiyona neden olabilir. Mukozadaki hasar lümeni tıkayabileceği gibi, serozaya kadar ulaşan inflamasyon farklı ince barsak anslarında adezyonlara yol açarak mekanik obstrüksiyon oluşturur.

Mekanik ileusta, metabolik etkiler, sıvı kaybına bağlı oluşur. Obstrüksiyonun seviyesi ve süresi önem arz eder. Proksimalde hipokloremi, hipokalemi ve metabolik alkaloz gelişir. Distalde sıvı kaybının artmasına bağlı olarak hipovolemi ve metabolik asidoz gelişebilir. Oligüri, azotemi ve hemokonsantrasyon ile sonuçlanır. Dehidratasyonun devam etmesi hipotansiyon ve hipovolemik şoka neden olabilir.

Uzayan tıkanıklık nedeniyle periton içine sıvı geçmesiyle ekstrasellüler alandan sıvı kaybı artar ve dilüsyonel hiponatremi olur. Potasyum kaybı ve barsak tonusunda azalma meydana gelir. Açlık, dehidratasyon, ketozis, alkali sıvı kaybı ve sonrasında böbrek fonksiyonlarında azalma ile metabolik asidoz gelişir. Bu durum sekresyon ve absorpsiyonun kolona göre çok daha fazla olduğu ince barsak anslarında daha çok görülür.(4)

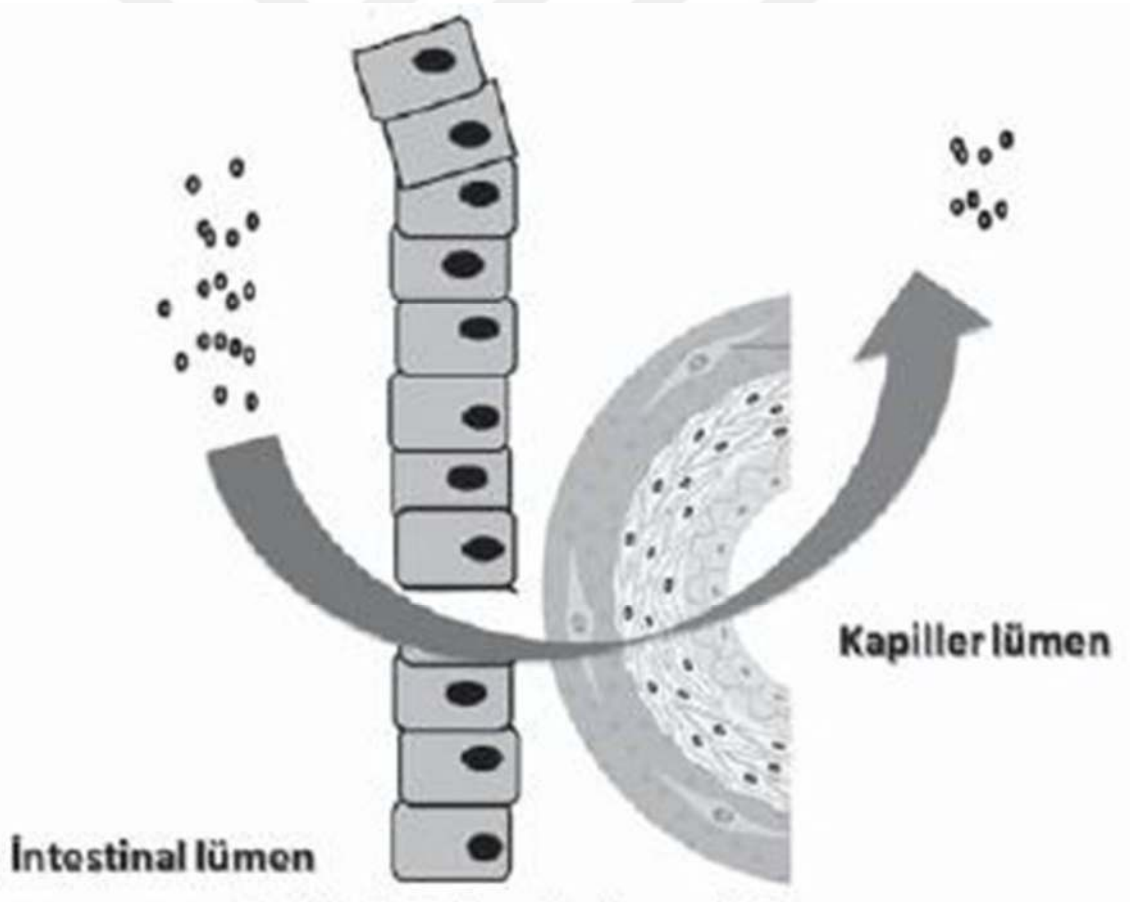
Gamble, mortalitenin aslında tıkanma olduğunda barsak segmentlerinde biriken sekestrasyona uğramış kusma veya aspirasyon yolu ile dışarı kaybedilmiş veya ödem şeklinde dolaşımdan ayrılmış sıvı ve elektrolit kayıpları olduğunu göstermiştir.(6)

Barsak mukoza hasarına, mekanik obstrüksiyon dışında, yanık, tıkanma sarılığı, hemorajik şok, intestinal iske mi, pankreatit, siroz, kemoterapötik ajanlar gibi birçok durumun neden

olduğu ve bunlar sonucunda gelişen bakteriyel translokasyon, Reiner Wiest ve Heiko C. Rath'ın yaptıkları derlemede gösterilmiştir.(7)

BAKTERİYEL TRANSLOKASYON

İntestinal sisteme sahip tüm canlılarda, beslenerek alınan sıvı ya da katı besinler, gastrointestinal sistem mukozası tarafından, uygun formlarda emilerek, sistemik dolaşıma geçer. Seçici geçirgenlik barsak mukozası tarafından sağlanır. Lümenden portal sisteme olan geçişte, patojenik ya da patojenik olmayan bakterilerin geçişinin engellenmesi, bu mukozal bariyer tarafından sağlanır. Mukozanın hasarı, intestinal floranın, mezenterik lenf nodlarına (MLN) , dalak, karaciğer ve sistemik dolaşıma geçmesine neden olur ki buna bakteriyel translokasyon (BT) denir.(Şekil 1) Mekanik ileustaki morbidite ve mortalitenin önemli sebeplerinden birisidir.(8,4,9)



Şekil 1: Bakteriyel translokasyon

Bakteriyel Translokasyon Nedenleri

1. Mukozal bariyerin bütünlüğünün kaybolması. Örneğin yanık, açlık, cerrahi travma, anestezi gibi durumlarda bütünlük bozulur.
2. Kontrolsüz antibiyotik kullanımı
3. Mezenter iskemik olayları
4. Barsak obstrüksiyonları
5. Karaciğerden safranin barsaklara geçişinin uzun süreli durması ve retiküloendotelial fonksiyonların azalması
6. İmmün yetmezlikler

Bu lokal savunma mekanizmaları barsak florasının stabilizasyonunu sağlar. Bariyer fonksiyonunun ilk basamağı intestinal mikrofloradır. Patojen bakterilerin çoğalması ve yapışmasını, floradaki bakterilerin engellemesine kolonizasyon direnci denir. (10)

Geniş spektrumlu antibiyotikler ile anaerobik flora bozulursa, koruyucu olan bu mekanizma kaybolur.(11)

BT'un barsak lümeninde bakterilerin aşırı çoğalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.(12) Erişkin insanlarda jejunum ve proksimal ileum steril kabul edilir. Bakteri sayısı 10^4 / ml civarındadır. Obstrüksiyon oluşunca bakteri tipleri ve sayısı artar. Bunlar sıklıkla E. Coli, Streptococcus fecalis ve klebsiella'dır. Sayıları 10^{10} / ml' ye varır.(13)

Musin salgılayan mukoza, intestinal sistemde BT'u engellemede çok önemlidir. Musin İmmunglobulin A(IgA) içerir. Ayrıca bu muköz tabaka anaerob bakteriler için uygun ortam hazırlar. Epiteldeki sıkı bağlantıların ve immün hücrelerin uyumlu çalışmasını sağlar ve patojen bakterilerin tutunmasını engeller. (14)

Peristaltizm bakteriyel aşırı çoğalmayı engeller. Obstrüksiyonda, peristaltizmin bozulmasından kaynaklı patojen bakterilerin epitele yapışması kolaylaşır.(15)

Lamina propriadaki plazma hücrelerinden salgılanan IgA, bakterilerin enterositlere yapışmasına engel olur. T ve B lenfositler lamina propriada aldıkları antijenik uyarıyıMLN' a taşırlar.(13)

Bakteriyel translokasyonu etkileyen faktörler

Kolestaz:Bilier obstrüksiyon sonucu retiküloendotelial sistem fonksiyonlarında gerileme oluşur, immünite olumsuz etkilenir, barsak duvarında oksidatif hasar mukozal yapıyı bozar ve bu durum BT ile sonuçlanır.

Açlık:Barsağa giden kan akımı azalınca katekolamin ve vazoaaktif hormonlar artar, barsak mukozası hasarlanır, artan permeabilite sonucu BT artar.

Yanık, Travma, Cerrahi Stres:Açlıkla benzer etkiler oluşur.

Barsak flora bakterilerinde aşırı çoğalma:Sıklıkla antibiyotik kullanımı sonucu oluşan bu durumda patojen bakteri sayısında artış olur.(16)

Barsak mukozasında artmış geçirgenlik:Yenidoğanda henüz T lenfositler oluşmadığından mukoza bariyeri yeteri kadar çalışmaz.(17)

İmmün Savunmada azalma: Her hangi bir nedenle immün sistem baskılandığında barsak bakterileri sistemik enfeksiyona yol açar.(17,18)

İnflamatuvar barsak hastalıklarında mukoza hasarı sonucu enterik bakterilerin farklı alanlara geçişi endotoksemiye ve sepsise neden olabilir. Böylece karaciğerde histolojik ve biyokimyasal hasar meydana gelir.(19)



SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Oksijen oluşturan serbest radikaller, biyokimyasal olarak, oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir.(20)

Süperoksit Radikali; Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikal anyonu (O_2^-) oluşur. Süperoksit anyonu hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle zarar vericidir.

Hidrojen Peroksit; Oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması ya da süperoksitin bir elektron almasıyla oluşur. Peroksitin 2 hidrojen atomu almasıyla hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Kendisi serbest radikal değildir ancak tepkimelere katılan önemli bir bileşiktir. (21,22)

Hidroksil Radikali(OH[•]); Hidrojen peroksitin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle oluşur. Oluştığı yerde büyük hasara yol açan çok güçlü bir radikaldir.(22)

Nitrik Oksit; Vasokonstrüksiyonda etkili çok yönlü bir moleküldür. Sinir sisteminde, enflamasyonda, antiagregasyonda etkileri vardır.(23)

Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller hücrenin her hangi bir kısmını direkt olarak oksitleme özelliğindedir. Bu etkiler membran lipitleri, karbonhidratlar, DNA zincirleri ve proteinlerde daha çok görülür. Mitokondrinin çalışmasını, potasyum dengesini, kapiller geçirgenliği ve trombosit fonksiyonlarını bozarlar.(24)

Membran Lipitlerine Etkileri

Membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin, serbest radikaller tarafından çeşitli ürünlere yıkılmasına lipid peroksidasyonu denir. Bunlar peroksitler, aldehitler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan gibi ürünlerdir.(25) Bu ürünler hücre zarındaki proteinlerin yapısını bozarlar. Böylece permeabilite bozulur. Reseptör, ligand ilişkileri, iyon dengeleri değişir, enzimlerin çalışması bozulur. Hücresel bütünlük kaybolur.(26) DNA'nın yapısını bozarak mutasyona yol açan malondialdehit en toksik radikaldir.(27)

Malondialdehit (MDA):Serbest radikaller en toksik etkisini lipid peroksidasyonu ile gösterir. Serbest oksijen radikalleri, membran fosfolipidlerinin yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir hidrojen atomu kopararak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Peroksit radikali, lipid molekülü ile birleşip lipid hidroperoksite dönüşür. Komşu yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu çıkartır ve reaksiyon böylece devam eder. Oluşan ürünlerden biri MDA'dır.(28) MDA lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Aminoasitler, fosfolipidler ve nükleik asitler ile çapraz bağlar oluşturarak etkileşir. İyon akışını, enzim aktivasyonunu bozar. Bu sitotoksik etki, mutasyonlara ve membran yıkımına neden olur.(29)

Proteinlere Etkileri

Triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasit içeren proteinler serbest radikallerden etkilenirler. Bunun nedeni serbest radikallerin ansatüre ve sülfür içeren moleküllerle reaksiyona girmesidir.(30) Bu reaksiyonlar sonucunda çok sayıda disülfid bağı barındıran proteinlerin yapısı bozulur. IgG ve Albumin bunlara örnek olabilir.(31)

Nükleik Asit ve DNA'ya Etkileri

Hidrojen peroksit aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanır. Bunlar membranı kolayca geçip nükleusta DNA hasarına yol açar.(31) İyonize edici radyasyon serbest radikaller ortaya çıkarır. Bu serbest radikaller DNA'yı etkileyerek mutasyonlara ve hücre ölümüne neden olur.(31,32)

Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu okzalaldehyitler meydana gelir. Oksalaldehyitler DNA,RNA ve proteinlere bağlanıp aralarında çapraz bağlar oluşturabilirler. Bunun sonucunda oluşan antimitotik etki neoplazide rol oynar.

Anti Oksidan Savunma

Serbest radikallerin oluşturduğu hasarı engellemek için gelişmiş savunma sistemlerinde çalışan moleküllere antioksidanlar denir. Endojen ve Ekzojen olabilirler. Endojen olanlar enzim olup olmamasına göre ikiye ayrılır. Enzim olanlar; Süperoksit dismutaz (SOD), Glutatyon-S-transferazlar (GST), katalaz, glutatyon peroksidazdır(GSH-PX). Enzim olmayanlar; lipid fazda (Alfa tokoferol, beta karoten) ve hücre sitozolü ya da kan plazmasında bulunmasına (Askorbik asit, melatonin, hemoglobin, myoglobin, glutatyon, seruloplazmin, sistein) göre ikiye ayrılır.

GST:Antioksidan olmalarının yanında önemli reaksiyonlarda yer alırlar ve canlılar için hayati önem taşırlar.

Katalaz:Peroksizomlarda bulunan ve dört tane hem grubu taşıyan bir proteindir. Hidrojen peroksiti oksijen ve suya ayırır.

SOD:Bu enzim superoksit serbest radikallerine karşı savunmada etkilidir. Bunu süperoksitin, hidrojen peroksit ve oksijene ayrışmasını katalizleyerek yapar. Lipid peroksidasyonu engellenmiş olur.

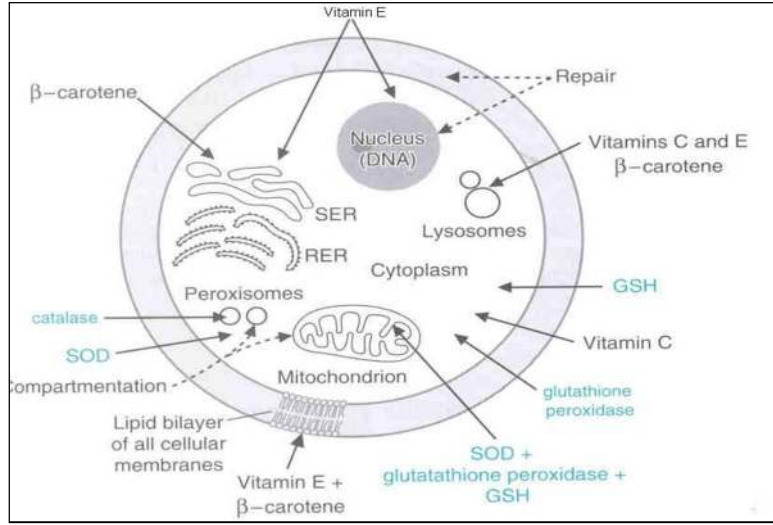
GSH-PX:Hidroksiperoksitleri indirger. Membran fosfolipid hidroksiperoksitlerini alkollere indirger. Dört adet selenyum atomu içerir. Sitozolik bir enzimdir.

Serbest Radikallerin Oksidatif Hasar Mekanizmaları

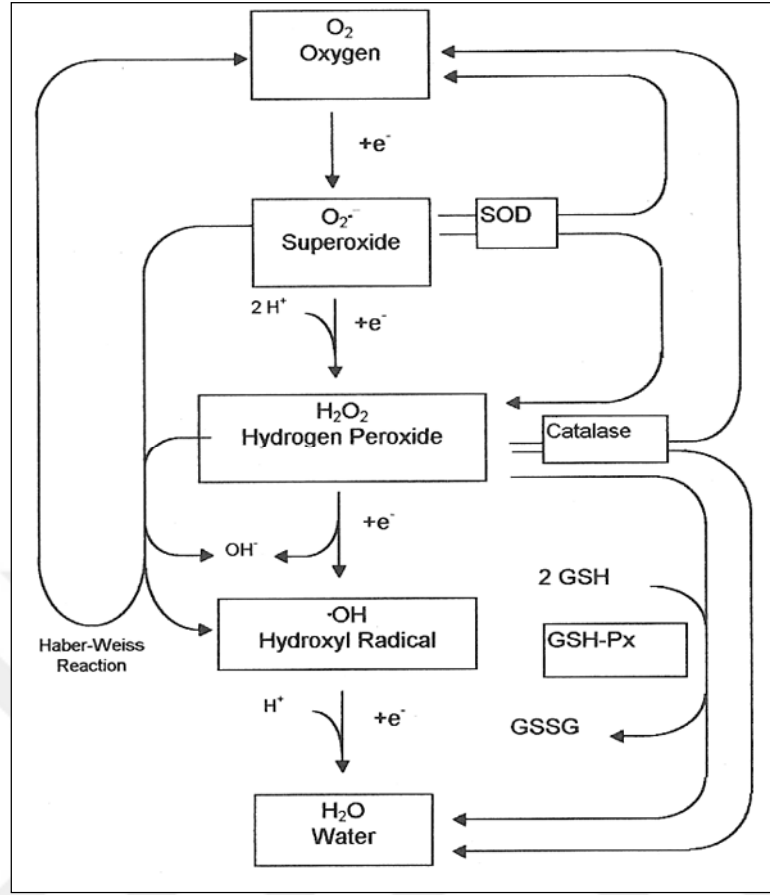
Serbest radikaller normal metabolizma sırasında sürekli olarak üretilmekte olup, bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, membran proteinlerinde, karbohidrat ve DNA moleküllerinde çeşitli hasarlar meydana gelmektedir. Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, iskemi-reperfüzyon hasarı, dolaşımşok hasarında, romatoid artrit, karsinogenez, enfeksiyonlar, beyinde ve deride dejeneratif oluşumlarda ve yaşlanma ile ilgili bazı hastalıklarda oksidatif hasarla ilgili bulgular saptanmıştır.

İnsanlarda serumdaki antioksidatif kapasite, enzimatik ve non-enzimatik sistem ile ilişkilidir. Vitamin E, A ve C, albumin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, tiroksin, Se ve GSH gibi anti-oksadatif moleküller, serbest radikal temizleyicileridirler. Östrojenlerin, serbest radikal temizleyicilerinin fenol halkalarından hidrojen atomunu alma gücüne sahip olmasına bağılı olarak, membranlardaki fosfolipidlerin peroksidasyonunu ve düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu inhibe etmesi nedeniyle, anti-oksadatif etkileri olduğı rapor edilmiştir. Bazı araştırmacılar, östrojenlerin aynı zamanda, hücreşel anti-oksadatif enzim sistemini etkileyebileceğini de ileri sürmüşlerdir, fakat bu veriler halen tartışmalıdır.(33)

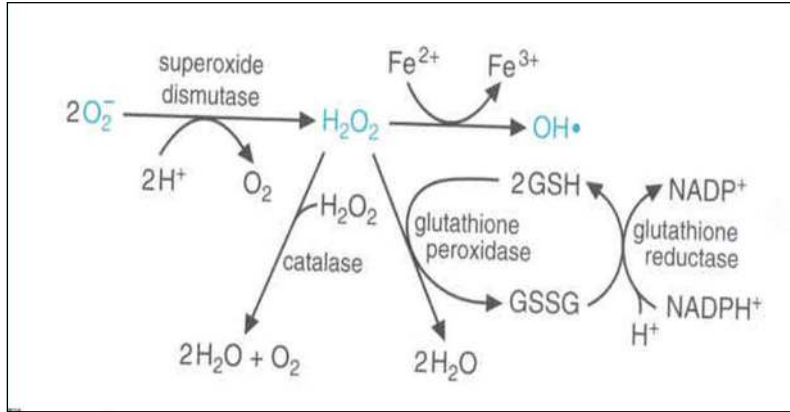
Anti-oksadatif enzim sistemlerine SOD, CAT ve GSH-Px enzimleri dahildir. GSH-Px enzimi hücrelerde en çok bulunan bir tiol olup, majör anti-oksadan olarak tanımlanan GSH ile birlikte çalışmaktadır (Şekil 2 ve 3). SOD ise, anti-oksadatif sistemde ilk harekete geçen enzim olup, çok toksik olan süperoksid anyonunun dismutasyonunu katalizlemektedir. Süperoksid anyonunun dismutasyonu yoluyla oluşşan H_2O_2 ise GSH-Px veya CAT yoluyla inaktive olmaktadır (Şekil 4 ve 5). CAT ise, GSH-Px aktivitesi eksikliğinde bu enzimin aktivitesini kompanze etmektedir. GSH-Px enzimi, dokuları H_2O_2 ve lipoperoksitlerin oluşturduğı oksidatif hasara karşı koruyan başlıca enzimdir. GSH-Px enzimi, aktivitesi için koenzim olarak Se'a ihtiyaç duymaktadır.



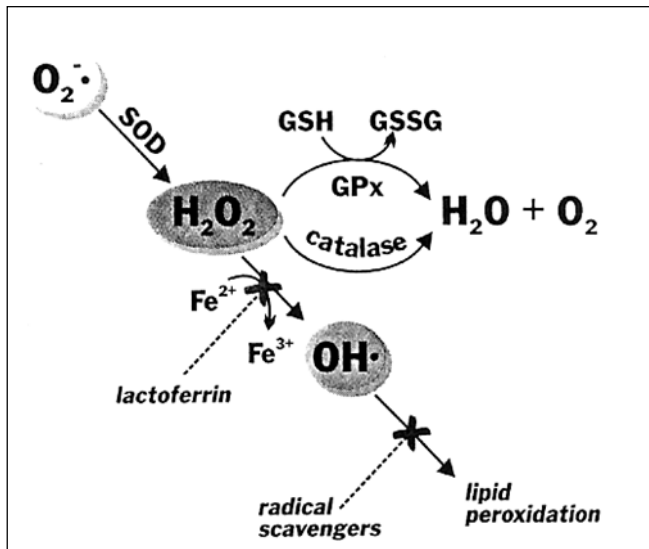
Şekil 2. Hücre içindeki anti-oksidatif sistemler (Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, Second Edition, Colleen Smith, Ph.D., Allan D. Marks, MD, Michael Lieberman, Ph.D. Lippincott Williams& Wilkins , Kluwer Company, USA)



Şekil 3. Eritrositlerde yer alan anti-oksitatif enzim sistemleri (Free Radicals, Oxidative Stres, and Antioxidants, Edited by Tomris Özben, NATO ASI Series, Life Sciences vol.296).



Şekil 4. Süperoksit anyonunun dismutazı ve antioksidatif enzimlerin çalışması (Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, Second Edition, Colleen Smith, Ph.D., Allan D. Marks, MD, Michael Lieberman, Ph.D. Lippincott Williams& Wilkins , Kluwer Company, USA).

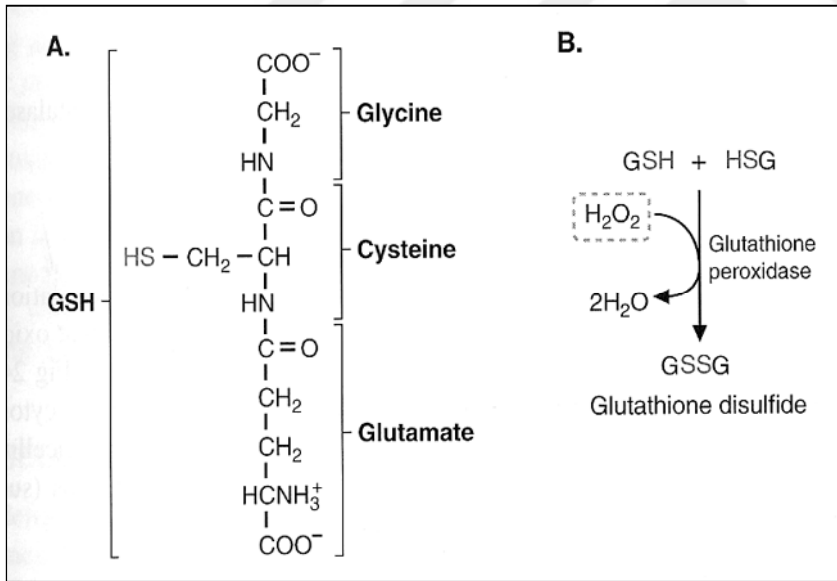


Şekil 5. CAT enziminin katalizlediği reaksiyon (Free Radicals, Oxidative Stres, and Antioxidants, Edited by Tomris Özben, NATO ASI Series, Life Sciences vol.296).

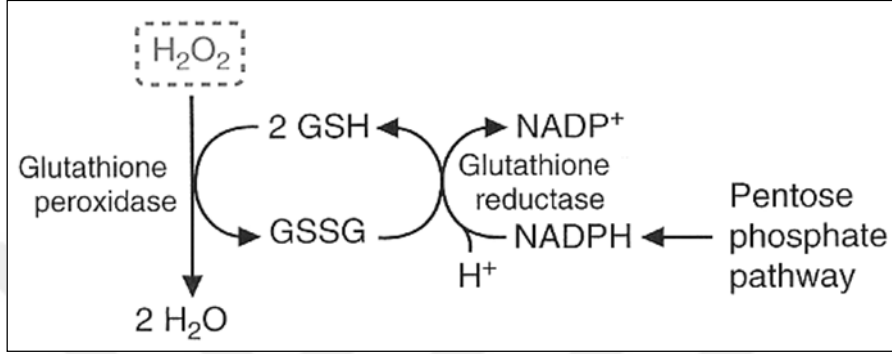
Glutasyon (GSH)

GSH (γ -glutamilsisteinilglisin) bir tripeptid olup, oksitlenmiş hali (GSSG) bir dimer oluşturmaktadır (Şekil 6). GSSG, NADPH'nin kullanıldığı bir reaksiyon ile GR yoluyla indirgenmektedir (Şekil 7). GSH, GSH-Px ailesinde bir kofaktör olmasının yanısıra, askorbik asit metabolizması ve hücreler arası iletişimin sürdürülmesi, proteinlerin –SH gruplarının oksidasyonu ve çapraz bağlanmanın önlenmesi dahil, bir çok metabolik prosesinde yer almaktadır. GSH, bakır iyonları ile şelat oluşturabilmekte ve böylece bunların serbest radikal oluşturmalarını önlemekte, ya da en azından bu radikallerin sulu kısma geçişini sağlamaktadır.

Bazen, GSH'nin peroksinitrit (ONOO^-) ile reaksiyonu sonucunda, nitrosotiol (GSNO) ve bunun parçalanması sonucunda da NO oluşabilmektedir. İnsan eritrositlerinde, GSH'nin yarı ömrünün sadece 4 gün, rat karaciğerinde ise 3 saat ve bunun oldukça stabil olduğu saptanmıştır. (34)



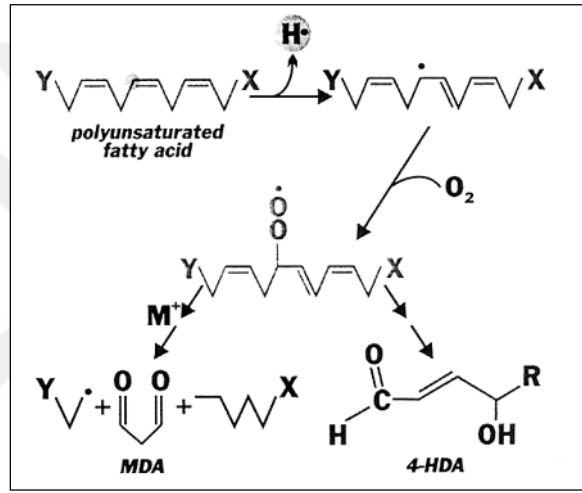
Şekil 6. A.GSH'nin yapısı. GSH'nin sülfhidril (-SH) grubu, disülfide oksitlenmektedir. B. GSH-px, elektronları GSH'dan H_2O_2 'e transfer etmektedir (Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, Second Edition, Colleen Smith, Ph.D., Allan D. Marks, MD, Michael Lieberman, Ph.D. Lippincott Williams& Wilkins , Kluwer Company, USA).



Şekil 7. GR indirgenmiş GSH'ı tekrar oluşturmaktadır (Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, Second Edition, Colleen Smith, Ph.D., Allan D. Marks, MD, Michael Lieberman, Ph.D. Lippincott Williams & Wilkins, Kluwer Company, USA).

Lipidlerin Peroksidasyonu ve Malondialdehit (MDA) Oluşumu

Lipid peroksidasyonunun başlaması için, bir lipid yapısına atak yaparak, metilen ($-\text{CH}_2-$) grubundan bir hidrojen atomu çıkartabilecek reaktiflikte, herhangi bir örneğin ortamda olması yeterli olmaktadır (Şekil 8). Malondialdehit (bazen malonildialdehit olarak da isimlendirilmektedir) oluşumu yıllardan beri lipid peroksidasyonuna odaklanmanın nedeni olmuştur, çünkü *in vitro* tiyobarbitürik asit (TBA) testi serbest MDA'yı saptamada ve lipid peroksidasyonunu göstermede en yaygın olarak kullanılan test olma özelliğini günümüzde halen korumaktadır. Her ne kadar, demir tuzlarının varlığında, karaciğer mikrozomlarının peroksidasyonunda çok büyük miktarlarda oluşsa da, gerçekte, MDA çoğu lipidlerin peroksidasyonu sırasında sadece küçük bir miktar oluşmaktadır.(35)



Şekil 8. Lipidlerin peroksidasyonu ve MDA oluşumu (Free Radicals, Oxidative Stres, and Antioxidants, Edited by Tomris Özben, NATO ASI Series, Life Sciences vol.296).

Nitrik Oksit (NO)

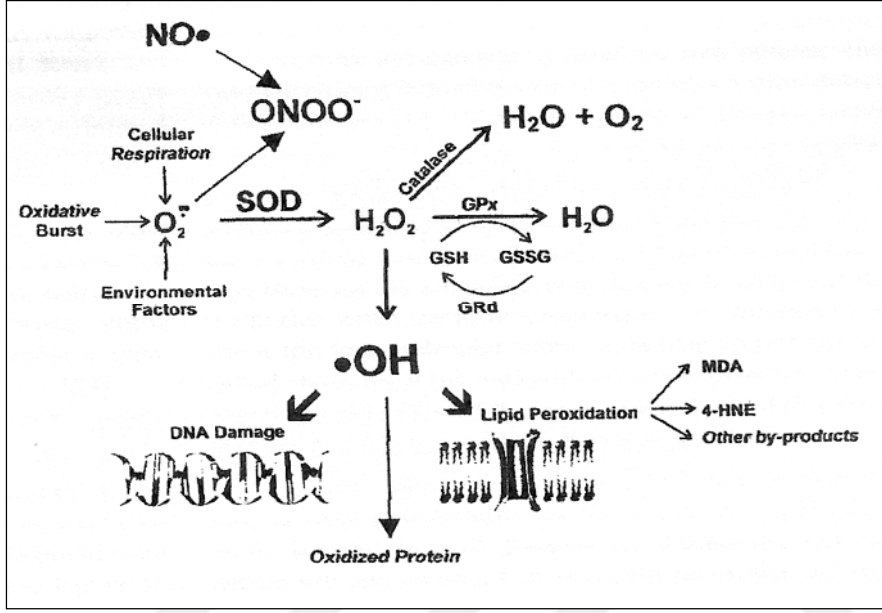
Endotelden türeyen gevşetici faktör, ilk olarak 1980’de tanımlanmış olup, hemen ardından bunun küçük bir gaz molekülü radikali olduğu saptanmış ve böylelikle 1987’de NO bulunmuştur (Şekil 9). NO (nitrojen monoksit) renksiz bir gazdır. Suda orta derecede çözünür olup (20 °C’de en fazla 2 mM), organik çözücülerde, tıpkı O₂ gibi, daha fazla çözünmektedir. Bu nedenle, NO hücreler arasında rahatlıkla diffüze olabilmektedir. NO molekülü ortaklanmamış bir elektronu bulunmasından dolayı, paramanyetik bir molekül olup, serbest radikaldir. NO, yaşayan organizmada, bir grup enzim olan ve nitrik oksit sentaz (NOS) olarak isimlendirilen üç farklı enzim yoluyla sentezlenmekte olup, bunlar bir amino asit olan L-arjinini, NO ve L-sitrülline dönüştürürler.

NO oldukça reaktif bir molekül olup, *in vivo* yarı-ömrünün sadece birkaç saniye olduğu saptanmıştır. Endojen olarak oluşan NO’nin majör yolu, nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) oksidasyonudur. Normal fizyolojik koşullar altında, endojen NO oluşumu düşük olup, sağlıklı kişilerde plazma nitrit konsantrasyonları sıfıra yakındır. Diğer yandan, NO’nin diğer metaboliti olan nitratın plazma konsantrasyonu çeşitli yayınlarda farklılık göstermesine rağmen, ölçülebilecek düzeylerde olup, örneğin septik şokta 100 µM/L’ye kadar yükselbilmektedir. Nitrat böbrekler yolu ile atılmakta olup, kandaki yarı ömrü 5-8 saat arasındadır. Sağlıklı kişilerde plazma klerensi 20 ml/dak olarak bildirilmiştir. NO’nin direkt ölçülmesi oldukça güç olup, plazmadaki nitratın endojen olarak kaynağı sadece NO’dur. Bu nedenle plazmadaki nitrat düzeyleri NO üretiminin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Ayrıca, vasküler endotelden salınan NO’nin, östrojenin kardiyoprotektif etkilerinden biri olduğu rapor edilmiştir. Bu hipotezde, NO salınımının, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi kardiovasküler hastalıkları azalttığı ve ayrıca, NO’nin vazodilatasyon, trombosit adezyonunun inhibisyonu ve agregasyonu ve düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunun inhibisyonu gibi çeşitli kardiyoprotektif etkilerinin olduğu öne sürülmüştür.

Her ne kadar, hayvan çalışmalarında NO’nin bu etkisi kanıtlanmış ise de, insanlarda bu hipotezi kanıtlamak için çok az çalışma yapılmıştır. NO molekülünün çok labil olması insanlarda vasküler endotelden salınımını ölçmede zorluk çıkarmaktadır. Bununla beraber, NO biyolojik sıvılarda nitrit (NO₂⁻) ve nitrat’a (NO₃⁻) parçalanmakta ve bu da serum, plazma

ve çeşitli vücut sıvılarında ölçülmek suretiyle, NO_2^- ve NO_3^- düzeylerinin toplamı, *in vivo* NOS enzimi aktivitesinin belirleyicisi olarak kullanılmaktadır.(35)



Şekil 9: NO radikali ve hücresel savunma mekanizmasında ilişkili olduğu sistemler (Reiter R, Tan D, Osuna C, Gitto E. Action of melatonin in the reduction of oxidative stres. J Biomed Sci 2000;7:444-458).

PROBİYOTİKLER

İnsan vücudunda yaklaşık 10^{13} adet hücre bulunmaktadır. Vücudumuz üzerinde bizimle birlikte yaşayan 10^{14} bakteri bulunmaktadır. Konağın kendi hücrelerinden daha fazla olan bu mikrobiota metabolizma işleyişinde bir çok noktada etkin rol oynar.(36,37) Bu mikroorganizmalar deri, ağız boşluğu, solunum sistemi, ürogenital ve gastrointestinal sistem gibi vücudun dışarı ile temas ettiği alanlarda kolonize olurlar. En yoğun oldukları bölge gastrointestinal sistemdir.(38)

Günümüzde diyet ile sağlık arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Besin değeri dışında, sağlığımızın idamesi ve hastalıklardan korunma amaçlı aldığımız besinlere fonksiyonel denmektedir.(39) Fonksiyonel besinlerin kullanımındaki bir yaklaşım da probiyotiklerdir. Son çalışmalar gösteriyor ki beyin-sindirim sistemi-bağırsaklardaki mikroorganizmalar arasında; motilite, beslenmeye tolerans ve akut,kronik gastrointestinal hastalıkların patogenezi üzerinde etkili olduğu düşünülen bir sistem var.(40)

Probiyotik terimi Yunanca da “pro bios” dan gelmekte olup “yaşam için” anlamı taşımaktadır. Probiyotiklerin kullanımı kültüre süt ürünleri şeklindeydi. İlk kullanılan probiyotik fermente süttür.(39,41,42,43)Artık bu canlılar farmokolojik preperatlar haline getirilmiştir.

Probiyotikler mukozal yüzey ile etkileşime girerek beslenme ve immünitede önem arz eder. Bu işbirliğinde yetersizlik olduğunda sistemik enflamasyon, otoimmün ve alerjik reaksiyonların olduğu hastalıklar ortaya çıkar.(44)

Gastrointestinal Sistemdeki Dağılım

Mikroorganizmalar alanı yaklaşık $250-400 \text{ m}^2$ olan bağırsak mukozası ile yakın temas içerisindeydir. Mide 10^4 , duodenum, 10^3-10^4 , jejunum 10^5-10^7 , ileum 10^7-10^8 , kolon $10^{10}-10^{11}$ cfu/gr probiyotik bakteri içerir. İmmün sistemin çalışmasında katkıda bulunan mukozal savunma sistemi bağırsak florası ile birlikte çalışır.(45,46)

Etki Mekanizmaları

Birçok hastalıkta ve sağlıkta probiyotiklerin etki mekanizması multifaktöriyeldir. Bunlar;

- Patojenlerle kompetitif metabolik etkileşim
- Bakteri ve virüsleri inhibe eden kimyasal ürün salınımı (bakteriyosinler)
- Nörotransmitterler gibi diğer kimyasalları oluşturarak motilite, duyarlılık gibi diğer bağırsak fonksiyonlarını düzenleme
- Bağırsak duvarında bakteriyel hareket (BT) inhibisyonu

- Mukozal bariyer fonksiyon artışı
- Epitelial bariyer fonksiyonu ile mün ekspresyonu, sitoskeleton proteinleri ve sıkı birleşimlridirekt etkileyerek ya da indirekt olarak bakteri-mukoza ve mukoza-lenfoid doku arasındaki etkileşime neden olarak inflamatuvar ve immün yanıtı düzenleme

gibi etkilerdir. (47,48)

Etki mekanizmaları doğrudan etkiler ve dolaylı etkiler olarak da ikiye ayrılabilir.
Doğrudan etkiler; Mukozal ve lüminal etkilerdir.

Mukozal etkiler: Sitokin yanıtı, hücre sinyal iletimi ve reseptörler üzerinedir.

Luminal etkiler:Mukus yapımı, yıkımı ve bağırsak florası içinde antagonizm, reseptör ve besinler için yarışma, bütirat yapımı gibi işlemlerde görülür.

Dolaylı etkiler; immün düzenleme, antiinfektif etki, antidiyareal etki ve intestinal transit üzerine olan etkilerdir.(41,42,49,50,51)

Başlıca Probiyotikler ve Etkileri

Lactobacillus rhamnosus: Rotavirüse bağılı seyahat ishallerini önler. İmmün yanıtı güçlendirir.

Lactobacillus casei: Gastrointestinal kanalda immün sistemi stimüle eder.Chron hastalığı semptomlarını hafifletir.

Lactobacillus casei Shiota:Antibiyotik ilişkili ishallerde en etkili mikroorganizmadır. Yüzeyel mesane kanseri sonrası rekürrensi önler.

Lactobacillus acidophilus: Barsak lümeninde pH'yı düşürür. Kolesterol düzeyini düşürür. Nekrotizan enterokolit gelişimini önler.

Lactobacillus johnsonii: Helicobacter pylori yoğunluğu, enflamasyon ve Gastrit aktivitesini azaltır. İmmün yanıtı güçlendirir.

Lactobacillus plantarum: Kısa zincirli yağ asitleri üreterek karsinojenik maddelerin ortaya çıkışını engeller.

Lactobacillus bulgaricus: Antibiyotik ilişkili ishallerin önlenmesinde etkilidir.

Lactobacillus reuteri: İshal ve vajinitte etkilidir.

Lactobacillus lactis: Atopi ve egzema tedavisinde kullanılır.

Bifidobacterium breve: Antikorları artırarak hümoral sistemi aktive eder.

Bifidobacterium bifidum: Lümende patojen mikroorganizmalar ile yarışır. İshal sıklığını azaltır. Nekrozitan enterokolit gelişimini önler.

Bifidobacterium infantis: İrritabl barsak sendromunda kullanılır.

Bifidobacterium animalis: Normal motilite sağlar. Akut ishal riskini azaltır. İrritabl barsak sendromunda kullanılır.(39,52,53,54,55)

Kullanım Dozu

Doz kullanılan ürüne göre değişir. Bifidobakteriler için 10-20 milyar cfu/gün'dür.(55)

Yan Etkiler

Yan etkiler nadir görülür. Eğer görülürse gastrointestinal sistem ile ilişkilidir. Bunlar da; susama hissi, kabızlık, bulantı kusma, karın ağrısı, döküntü olarak ortaya çıkar. Çok nadir de olsa (1/1 milyon) bakteriyemi gelişme riski vardır.(55)

İlaçlarla Etkileşim

Antibiyotikler ile birlikte alınmamalıdır. Antibiyotik kullanan hastalarda probiyotik kullanımı antibiyotik alımından en az iki saat sonra olmalıdır.(55)

Kontrendikasyonları

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda patolojik enfeksiyonlara yol açma riski vardır. Kısa barsak sendromu olan hastalarda bakteriyemiye yol açabilirler. İmmüsupresörler ile birlikte kullanılmaları çeşitli patolojik kolonizasyonlara yol açar.(55)

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda 2015 Temmuz ayında Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınarak yapıldı (64583101/2015/037). Çalışmanın tüm safhalarında yerel etik kurulun 16 Haziran 2009 tarihli yönergelerine uygun hareket edildi.

A) Denekler

Çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında üretilmiş, ağırlığı 200-250 gram olan 48 adet dişi Wistar-albino türü sıçan kullanılmıştır. Deney süresince sıçanlar 22 ± 2 °C çevre sıcaklığı, 12/12 saat aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, bağıl nem oranı (40-50%) ve havalandırılması kontrol edilen semiklimatize laboratuvar koşullarında bulunduruldu. Tüm hayvanlar, uygulamadan 8-12 saat öncesine dek yem yeme ve su içme serbestliğine sahiptiler. Cerrahi işlemler öncesinde sıçanlar alışmaları için bir hafta süre ile laboratuvar ortamında tutuldular. Sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

B) Deney Grupları

Çalışmada Wistar-albino sıçanlar rastgele olarak beş gruba ayrıldı.

Grup A: Sham grubu; İleus oluşturulmayan, sadece laparotomi uygulanan (n=8)

Grup B: P(-)₂₄ .24saat boyunca İleus oluşturulmuş ancak probiyotik verilmeyen (n=10)

Grup C: P(-)₄₈ .48 saat boyunca ileus oluşturulmuş ancak probiyotik verilmeyen (n=10)

Grup D: P(+)₂₄ .24 saat boyunca ileus oluşturulmuş ve probiyotik verilen (n=10)

Grup E: P(+)₄₈ .48 saat boyunca ileus oluşturulmuş ve probiyotik verilen (n=10)

C) İleus Oluşturulması

Bir hafta takip sonrası deneklere 50 mg/kg ketamin (Alfamin; Egevet Tic. Ltd. Şti.) ve 5 mg/kg xylazin (Alfazin; Egevet Tic. Ltd. Şti.) karışımı intraperitoneal uygulandı. (Resim 1a) Karın cildi tüyleri temizlendikten sonra cilt üzerine povidone iodine uygulandı. (Resim 1b) Steril delikli yeşil örtüldü ve yaklaşık 3 cm lik orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. (Resim 1c) A gubu dışındaki diğer gruplarda, çekum bulundu ve 1 cm proksimalinde terminal ileum, 3/0 ipek (Sterisilk) ile vasküler yapılarak korunarak bağlandı. (Resim 1d) Bağlama yapılırken bağırsak duvarında iskemiye neden olmadan yalnızca pasajın engellenmesi sağlanarak mekanik ileus oluşturuldu. Daha sonra karın 4/0 propyprolen (Prolen) ile çift kat kapatıldı. (Resim 1e,f) A gubundaki deneklere laparotomi ve karnın kapatılması dışında başka işlem uygulanmadı. (56,57)



a



b



c



d



e



f



g

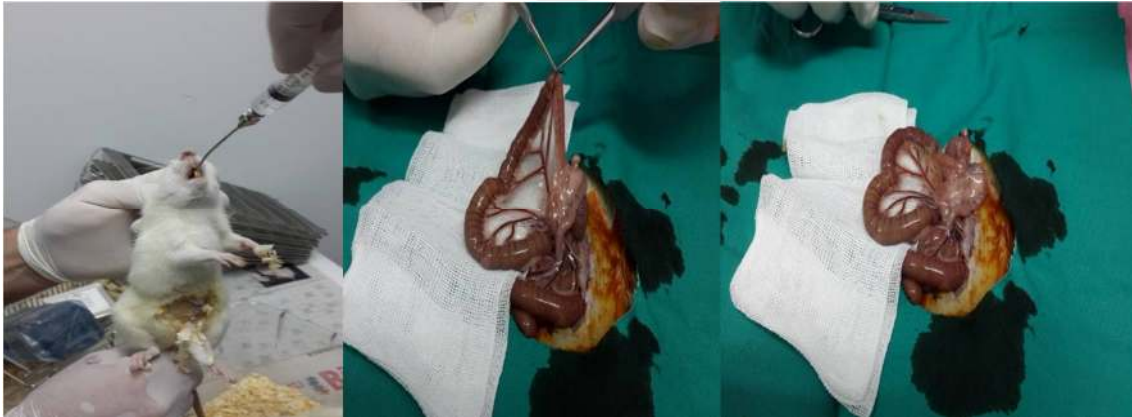
Resim 1: Anestezi verilmesi (a), Tüylerin traşı (b), Operasyona Hazırlık (c), İleus oluşturulması (d), Periton ve diğer katların sutureasyonu(e), Cildin sutureasyonu (f), Pansuman (g)

D) Beslenme ve Pasajın Yeniden Sağlanması

Operasyon sonrası deneklerin su içmesine ve yem yemesine izin verildi. D ve E grubundaki deneklere 1 mg/kg/ gün (1×10^8 CFU /mg) probiyotik (*bifidobakterium animalis* spp *laktis* B94, MAFLOR), orogastrik gavaj yöntemiyle verildi. (Resim 2a) 24 saat sonunda, B ve D grubu yeniden opere edilip, terminal ileumdaki bağlama açılarak obstrüksiyon kaldırıldı ve D grubundaki deneklere aynı dozda probiyotik verilmeye devam edildi. 48 saat sonunda, C ve E grubu yeniden opere edilip, terminal ileumdaki bağlama açılarak obstrüksiyon kaldırıldı ve E grubundaki deneklere aynı dozda probiyotik verilmeye devam edildi. A grubundaki deneklere de iki kez laparotomi uygulandı ancak herhangi bir obstrüksiyon yapılmadı.

Terminal ileumdaki bağlamalar açılmadan önce obstrüksiyonun proksimalinde ince barsak anslarının dilate olduğu gözlemlendi. (Resim 2b) B grubunda bir ve C grubunda bir denek ikinci operasyonlar sonrası ex oldu.

Resim 2: Orogastrik gavaj ile beslenme (a), Obstrüksiyonun kaldırılması (b), Obstrüksiyon kalktıktan sonraki terminal ileumun görüntüsü (c)



a

b

c

E) Örnek Alınması

İkinci operasyonlardan 24 saat sonra tüm gruplar üçüncü kez opere edildi. Bu operasyonlarda tüm gruplardan sırasıyla; karaciğer, dalak ve mezenterden mikrobiyolojik doku örnekleri; terminal ileumdan patolojik doku örnekleri; hematolojik ve biyokimyasal örneklemeler için intrakardiyak kan alındı. (Resim 3a,b) İntrakardiyak kan alımıyla oluşan kardiyak kollaps ile denekler sakrifiye edildi.

Terminal ileum örnekleri %10 formaldehit içeren steril idrar kaplarına konuldu. Rastgele numaralandı ve numaraların ait oldukları gruplar kaydedilerek patoloji laboratuvarına teslim edildi. Karaciğer, dalak ve mezenter örnekleri %0,09 NaCl içeren steril falkon tüplerine konuldu ve soğuk (-21 °C) saklama kaplarında Enfeksiyon Hastalıkları laboratuvarına ulaştırıldı. İntrakardiyak alınan kan örnekleri hemogram tüpüne konulup, hematoloji laboratuvarına; biyokimya tüpüne konulup biyokimya laboratuvarına soğuk kaplarda (-4 °C) taşınarak ulaştırıldı.

Biyokimyasal değişkenlerden bazıları; C grubundan bir ve E grubundan iki denekten, alınan örnekler, yetersiz olmaları nedeniyle, çalışmaya dahil edilemedi.

Resim 3: Dalaktan mikrobiyolojik doku örneği alınması (a), Terminal ileumdan patolojik ve biyokimyasal doku örneği alınması (b). Karaciğer, dalak ve mezenterik doku örnekleri steril koşullarda alınmış olup, her bir denek için steril örnek alımı bittikten sonra barsak doku örnekleri alınmıştır.



a

b

F) Deney Sonunda Ölçülen Parametreler

Histopatolojik İnceleme

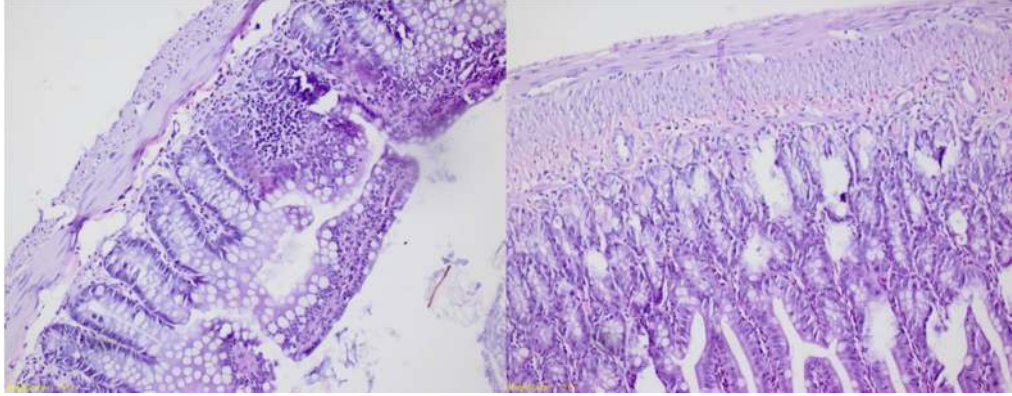
Patolojik incelemede; %10'luk nötral tamponlu formalinde tespit edilerek, rutin doku takibi sonrası parafin bloklara gömülü bloklardan hazırlanan 4µm kalınlığında ve hematoxilen eozin boyalı preparatlar incelendi. Boyanma aşamasından sonra kesitler ışık

mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japan) altında 4, 10, 20 ve 40'lık büyütmelerde, tek bir patolog tarafından, klinik bilgilere kör olarak değerlendirildi.

Değerlendirme için Millar ve arkadaşlarının (58) gösterdiği şekilde ve aşağıdaki tabloda yer alan kriterlerin semikantitatif şekilde skorlanması ile yapıldı. (Tablo I)

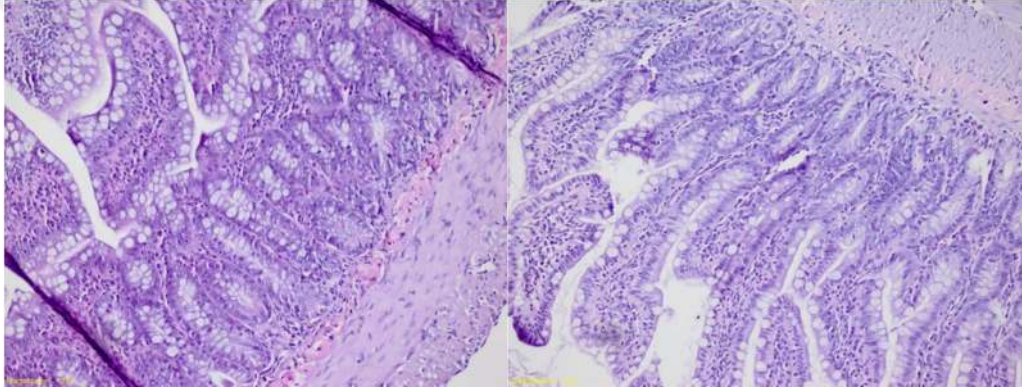
Tablo I: İleum mukoza hasarının histopatolojik sınıflandırılması

Parametreler	0	1	2	3
Ülserasyon	Yok	Erozyon ya da lamina muscularis mucosa'yı aşmayan tek ülser	Submukozayı aşmayan çok sayıda ülser	Submukozayı aşan ülserler
Muköz Hücre Kaybı	Muköz hücre normal	Birkaç hücrede hafif deplesyon	Hafif deplesyon (%50'den fazla hücrede)	Ciddi deplesyon veya ağır mukoza kaybı
Mukozal Atrofi	Normal kalınlık	Hafif atrofi (< %10)	Orta derecede atrofi (%10-50)	Ciddi atrofi (>%50)
Ödem	Normal	Hafif ödem (submukozal yayılma > %10)	Orta derecede ödem (submukozal yayılma, %10-50)	Ciddi ödem (submukozal yayılma >%100)
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Yok	Hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu (birkaç dağılmış hücre)	Orta derecede; yaygın ancak yoğun olmayan inflamatuvar hücre infiltrasyonu	Yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu
Vasküler Dilataasyon	Normal damarlanma	Tek damarda hafif dilataasyon	Birkaç damarda orta derecede dilataasyon	İleri derecede dilataasyon



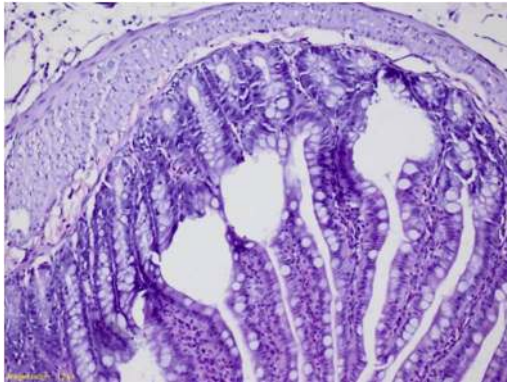
a

b



c

d



e

Resim 4: Farklı gruplardan alınan Hemotoksilen eozin ile boyalı terminal ileum kesitleri. Grup A (a), grub B (b), grup C (c), grup D (d), grup E (e)

Biyokimyasal İnceleme

Kanların alınması, serum örneklerinin ayrılması ve saklanması

Kan örnekleri jelli rutin biyokimya testlerinde kullanılan tüplere alınmış olup, alındıktan sonra 4.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra her bir örnek iki ependorf tüpüne ayrılmış ve derin dondurucuda (-85 °C) deneyler gerçekleştirilesiye kadar saklandı.

Doku örneklerinin hazırlanması

Doku örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0.2 µM fenilmetansulfonil florit (PMSF), 1 mM Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA), 1 µM Leupeptin içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4°C'de homojenize edildi. Homojenatlar, MPO için örnek ayrıldıktan sonra, 10.000 rpm 5 dakika santrifüj edildi ve üstteki supernatant eşit olarak ependorflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için -80° C'de donduruldu.

CAT Ölçüm Yöntemi

Eritrositlerde ve doku örneklerinden elde edilen süpernatantlarda Aebi'nin yöntemine göre saptandı.(59)Fosfat tamponu (50 mM pH:7.4) olacak şekilde, potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄.2H₂O) ile hazırlandı. H₂O₂ (30 mM) olarak hazırlandı.

Tampon ile dilüe edilmiş örneğe, H₂O₂'li tamponun eklenmesi ile başlayan absorbans değişimi, spektrofotometrede 240 nm'de izlenerek, 15 saniyedeki absorbans değişimi ölçüldü ve aşağıdaki formüle göre hesaplama yapıldı. Sonuçlar U/g Hb ve U/g yaş doku olarak olarak verildi.

$$k = (2.3/\Delta t) \log (Abs_1/Abs_2) = 0.1175/\Delta t \text{ (sn}^{-1}\text{)}$$

MDA Ölçüm Yöntemi

Serumda MDA saptanması Ohkawa'nın yöntemine göre yapıldı.(60) % 0,67'lik TBA (2-Tiyobarbitürik asit) çözeltisi ve n-butanol kullanıldı. Tiyobarbitürik asit ile MDA'nın reaksiyona girmesinden sonra reaksiyon ürünü n-butanol ile ekstrakte edildi. MDA standardı olarak, malonaldehit bis-(dimetil asetal) kullanılarak, 1-40 nmol'lük standartlar hazırlandı.

Örneklerdeki absorbanlar spektrofotometrede, 540 nm'de mikropate okuyucusunda okundu ve hesaplar otomatik olarak çizilen standart eğriden hesaplandı. Sonuçlar μM olarak verildi.

Doku örneklerinde MDA değerleri Konukoğlu ve ark.'nın yöntemine göre saptandı.(61) %15 TCA + % 37 TBD+ 0,25 M HCl içeren çözelti hazırlandı ve stok solüsyon olarak kullanıldı. 300 μl supernatant üzerine 600 μl stok solüsyon kondu.90°C'de 30 dakika kaynatılıp, buzlu suda soğutuldu.10.000 rpm/5 dakika santrifüj edildikten sonra örneklerdeki absorbanlar spektrofotometrede, 540 nm'de mikropate okuyucusunda okundu ve hesaplar otomatik olarak çizilen standart eğriden hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{M/g}$ yaş doku olarak verildi.

Tam kanda ve Dokuda GSH Ölçüm Yöntemi

Tietze'in metoduna göre tam kanda ve doku süpernatantında 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'-Ditio-bis (2-nitrobenzoik asit)] 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 Hb ve mg/g yaş doku olarak verildi.(62)

Eritrositlerde ve Dokuda GPx Ölçüm Yöntemi

Eritrositlerde GPx aktivitesini saptamak için dondurulmuş hemolizat örnekleri çözöldükten sonra 1/5 oranında saf su ile dilüe edildi ve bu örnekler 10.000 rpm/5 dakika santrifüj edildi. Hemolizat örneklerindeki parçalanmış eritrositler çöktükten sonra üstte kalan sıvıdan 20 μl 'lik örnek 100 μl Drabkin çözeltisi ile yine 1/5 olacak şekilde dilüe edildi ve bu

örneklerde GPx aktivitesi saptandı. Tampon çözelti Tris-buffer, Na₂EDTA, NADPH reduced GSH, glutatyon redüktaz içermekte olup, örneklerdeki GPx aktivitesi H₂O₂ yardımıyla NADPH'daki absorbansın düşmesinin 340 nm'de 37°C'de 3 dakika boyunca izlenmesi yoluyla saptanmıştır. Sonuçlar U/g Hb olarak verildi.(63)

Doku süpernatantında GPx aktivitesi Kakkar ve ark.'nın yöntemine göre minör modifikasyonla saptandı. GPx 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 37 °C'de 3 dakika izlendi. Non enzimatik reaksiyon hızı kör çalışılarak hesaplandı ve elde edilen sonuçlardan çıkartıldı. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi.(64)

Eritrositlerde ve Doku Örneklerinde GR Ölçüm Yöntemi

Eritrositlerde ve dokuda GR aktivitesi, Racker ve ark.'nın yöntemine göre saptanmıştır.(65) Reaksiyon karışımı; 50 mmol/L Tris tamponu, Ph 7.6, 100 µM EDTA, 4 mM GSSG (oksidlenmiş glutatyon), 120 µM NADPH ile hazırlandı. Reaksiyon karışımı küvetlere kondu ve uygun oranda eritrositlerden hazırlanmış ve Drabkin çözeltisi ile dilüe edilmiş örnekler konarak reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 37°C'de 3 dakika boyunca NADPH'ın oksidasyonunun izlenmesi yoluyla saptandı. Örnek yerine su kullanılarak, aynı şekilde kör çalışılarak elde edilen sonuç, örneklerden elde edilen sonuçtan çıkartıldı. Reaksiyon 3 dakika izlendi. Sonuçlar eritrositlerde U/gHb olarak, dokuda ise mU/g yaş doku olarak verildi.

Eritrositlerde ve Doku örneklerindeSOD Ölçüm Yöntemi

Eritrositlerde ve doku süpernatantlarında SOD ölçümü Sun ve ark.'nın yöntemine göre saptandı.(66) Öncelikle eritrositlerden elde edilen hemolizat ve süpernatant örnekleri kloroform, etanol ile iyice çalkalandı ve örnekler içindeki SOD 12.000rpm'de 60 dakika santrifüjlendikten sonra ekstrakte edildi. SOD deney çözeltisi; 0.3 mM ksantin, 0.6 mM EDTA, 150 µM nitroblue tetrazolium (NBT), amonyum sülfat (NH₄SO₄), 20167 U/L ksantine

oksidaz (XOD) içermekteydi. Bu çalışma çözeltisine örnekler eklendikten sonra 25° C’de su banyosunda, 30 saniye aralıklarda toplam 20 dakika boyunca XOD çözeltisi eklendi. Reaksiyon yine her 30 saniyede bir 200 µl bakır klorür (Cu₂Cl) eklenerek durduruldu. Ayrıca kör çözeltisi hazırlandı. Deney sonunda oluşan renk 560 nm’de spektrofotometrede ölçüldü.

SOD standardı (Cu,ZnSOD porsin eritrosit) 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 eritrositlerde g/g Hb, doku örneklerinde ise ng/g yaş doku olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans}_{\text{Kör}} - \text{Absorbans}_{\text{Örnek}})}{\text{Absorbans}_{\text{Kör}}}$$

Serum ve Doku örneklerinde NO(nitrit+nitrat) Ölçüm Yöntemi

Serum ve doku süpernatantında NO düzeyleri, Navarro-Gonzalves ve ark.’nın (67)yöntemine göre saptandı. Glisin-NaOH tamponu; glisin ve sodyum hidroksit kullanılarak hazırlandı. Glisin- NaOH tamponu içindeki CuSO₄ çözeltisi; glisin, NaOH ve bakır sülfat kullanılarak hazırlandı. Sülfanilamid çözeltisi; hidroklorid asid %37 ve sülfanilamid ile hazırlandı. NED çözeltisi [N-(1-Naphtyl)Etil-Enediamin dihidroklorit] kullanılarak hazırlandı. Standartlar, sodyum nitrit (NaNO₂) kullanılarak, 2-80 µg konsantrasyonlarda hazırlandı.

Örneklerdeki NO konsantrasyonu, Griess reaksiyonu sonucunda ölçüldü. Örnekler ve standartlar, ELISA mikropate okuyucuda 540 nm’de okutuldu. Konsantrasyon hesapları otomatik olarak cihaz tarafından hesaplanmış olup, sonuçlar µM/g Hb ve µM/g yaş doku olarak verildi.

Mikrobiyolojik İnceleme

Steril olarak alınan karaciğer, dalak ve mezenterik lenf nodu örnekleri, daha önceden her birine, steril iki cc %0,09 NaCl eklenmiş, 15 cc'lik, steril falkon tüplerine konuldu ve grup bilgisi olmadan numaralandı. Numaraların ait olduğu gruplar ayrıca kaydedildi. Daha sonra tüpler sonikasyon ile homojenize edildi. (Resim 6a)

Homojenize edilmiş örneklerden steril olarak 1' er cc örnek alınarak 2 cc'lik ependorf tüplerine konuldu ve daha sonra içerdiği protein miktarının ölçülmesi için -20°C'de bekletildi. Falkon tüplerinden steril şekilde, % 5 koyun kanlı agarlara, 0,05 ml'lik özelerle ekim yapıldı. Kültür kapları örneğin alındığı numaralarla kaydedildi ve etüvde 37°C'de 24 saat inkübe edildi. 24 saat sonunda etüvden çıkarılan kanlı agarlarda üreyen bakteri kolonileri sayıldı.

Ependorf tüplerindeki donmuş örnekler 37°C'de 30 dakika bekletildi. Bunu takiben tüpler 13300 rpm'de 5'er dakika santrifüj edildi. Protein ölçümü Smith ve ark.'nın(68) gösterdiği şekilde, Bicinchoninic acid assay (BCA) yöntemiyle yapıldı. Spektrofotometrede kullanılacak kuyucuklara, ilk sıra sıfırlama amacıyla kör örnekler olmak üzere, tüm örnekler konuldu ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. (Resim 6b,c) Daha sonra spektrofotometrede elde edilen sonuçlar, koloni sayıları ile oranlandı. Bu oranlar istatistik yapılması amacıyla koloni/1 mg protein olarak kayıt edildi.



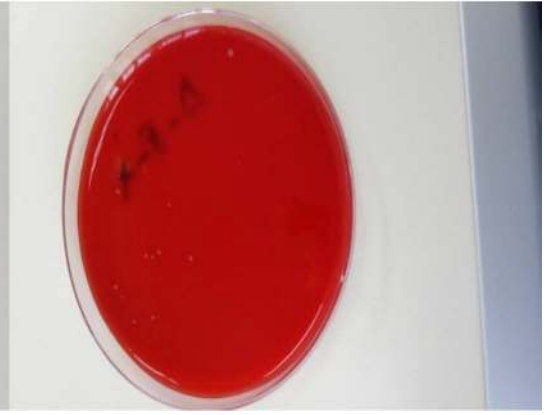
a



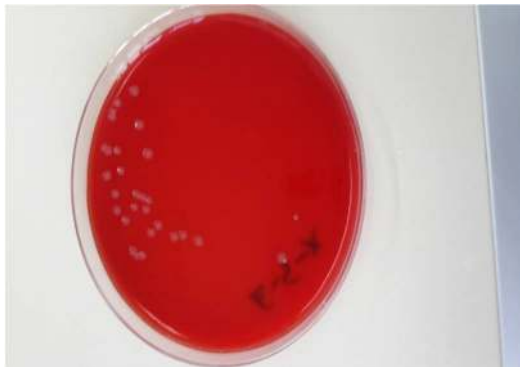
b



c



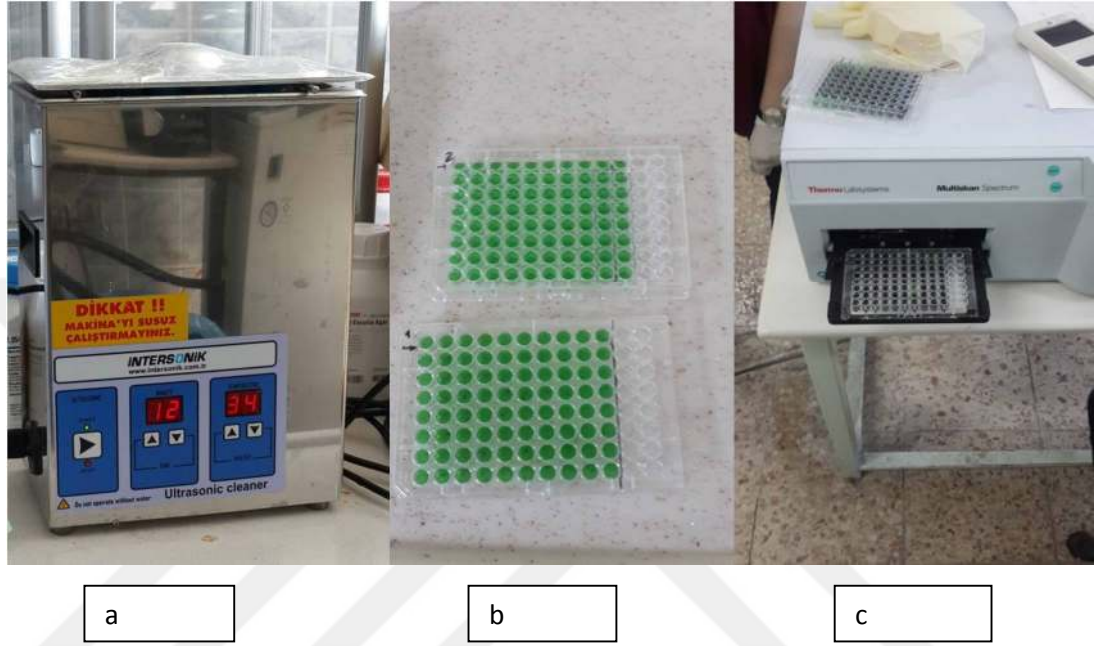
d



e

Resim 5: Koloni oranlarında gruplar arasında en çok farkın saptandığı karaciğer dokularından alınan örneklerde üreyen koloniler. Bu koloni sayıları protein miktarlarına bölünerek elde edilen oranlar istatistiksel hesaplamalarda kullanıldı. a: Grup A, b: Grup B, c: Grup C, d: Grup D, e: Grup E

Resim 6: Sonikatör (a), Kuyucuklardaki örnekler (b), Spektrofotometre (c)



Hematolojik İnceleme

Deneklerden sırasıyla karaciğer, dalak, mezenterik lenf nodu ve terminal ileum örneklerinin alınması sonrasında intrakardiyak alınan kan örnekleri hemogram ve biyokimya tüplerine alındı. Biyokimya tüpleri biyokimya laboratuvarına teslim edilirken, hemogram tüpleri de bekletilmeden hematolojik çalışmalar için hematoloji laboratuvarına teslim edildi. Analiz sonuçlarından lökosit ve nötrofil sayıları kayıt edildi.

BULGULAR

Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılıma uygun olan değişkenler için istatistiksel karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı ve tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma biçiminde gösterildi. Normal dağılıma uygun olmayan değişkenler için istatistiksel karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanıldı ve tanımlayıcı istatistikler medyan (25-75 persantil) biçiminde gösterildi. $P<0.05$ olduğu durumda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Deney sırasında, ikinci operasyondan sonra, C grubundan iki ve E grubundan bir olmak üzere toplamda üç denek mortalite nedeniyle istatistiksel çalışmalara dahil edilemedi.

Histopatolojik değişkenlerden mukozal ülser, hiçbir denekte gözlenmediği için istatistiksel çalışmalara dahil edilmedi.

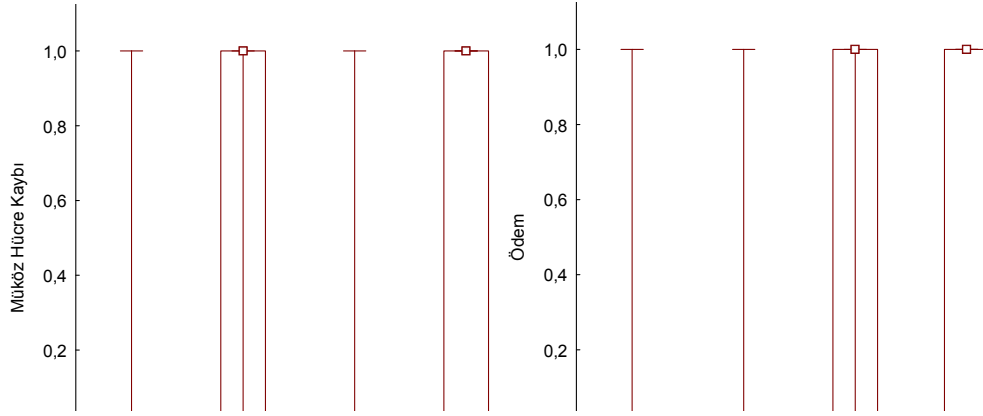
İstatistiksel sonuçlara bakıldığında; histopatolojik olarak müköz hücre kaybı ve ödem parametrelerinde gruplar arasında anlamlı farklar görüldü. (Tablo II) A ve C gruplarında müköz hücre kaybı E grubuna göre daha az olarak saptandı($p<0,005$). (Grafik 1) E grubunda mukozal ödem, A ve B gruplarına göre daha fazla olarak görüldü($p<0,005$). (Grafik 2)

Tablo II: Mukozal hasar parametrelerine uygulanan Kruskal Wallis test sonuçları

	A	B	C	D	E	P
Müköz Hücre Kaybı	0 (25-75)	1 (25-75)	0 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75) ^a	0,002
Mukozal Atrofi	1 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	0,278
Ödem	0 (25-75)	0 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75) ^b	0,002
İnflamatuvar Hücre	2 (25-75)	1 (25-75)	2 (25-75)	2 (25-75)	2 (25-75)	0,61
Vasküler Dilatasyon	0 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	1 (25-75)	0,589

α : E grubu, A ve C gruplarından farklılık göstermiştir.

β : E grubu, A ve B gruplarından farklılık göstermiştir.



Grafik 1:Gruplar arasındaki müköz hücre kaybı parametresi median dağılımı. E grubunda diğer gruplara göre anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,05$).

Grafik 2:Gruplar arasındaki ödem parametresi median dağılımı. E grubunda A ve B gruplarına göre anlamlı artış gözlemlendi ($p<0,05$).

Mikrobiyolojik değişkenlerde; karaciğer, dalak ve mezenterde oluşan bakteri kolonizasyon oranlarının tamamında farklılık gözlemlendi.(Tablo III) Bakterilerin,B grubunda, D ve E grubuna oranla karaciğerde daha fazla kolonize olduğu görüldü($p<0,005$). Test sonuçları, C grubunda kolonize olan bakterilerin, A, D ve E grubuna göre daha fazla olduğunu gösterdi($p<0,005$). (Grafik 3) Dalakta bakteriyel translokasyon ile kolonize olan bakteriler C grubunda B ve D grubuna oranla daha fazla olarak bulundu($p<0,005$). (Grafik 4) Mezenterik dokudan alınan örneklerde üreyen bakteri oranları karşılaştırıldığında; C grubunda D grubuna göre daha fazla kolonizasyon olduğu görüldü($p<0,005$). (Grafik 5) Buna göre en fazla BT, 48 saat obstrükte kalıp probiyotik verilmeyen (C grubu) grupta görülürken, en az BT ise, 24 saat obstrükte kalıp probiyotik verilen (B grubu) grupta görüldü.

Tablo III:Bakteriyel Translokasyon Parametrelerine Uygulanan Kruskal Wallis test sonuçları

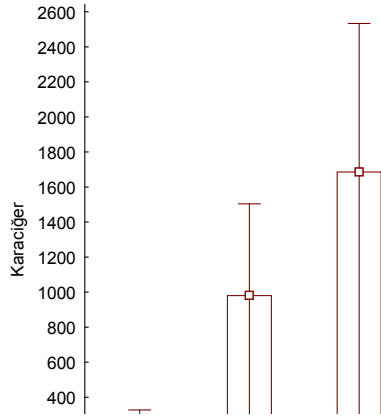
	A	B	C	D	E	P
Karaciğer	145,26 (25-75)	979,94 (25-75) ^a	1685,65 (25-75) ^b	32,65 (25-75)	29,29 (25-75)	< 0,001
Dalak	76,255 (25-75)	1126,03 (25-75)	2166,4 (25-75)	3,155 (25-75) ^γ	41,29 (25-75)	< 0,001
Mezenter	128,775 (25-75)	177,56 (25-75)	550,47 (25-75)	31,16 (25-75) ^δ	85,93 (25-75)	0,028

α: B grubu D ve E gruplarından farklılık göstermiştir. ($B>E>D$)

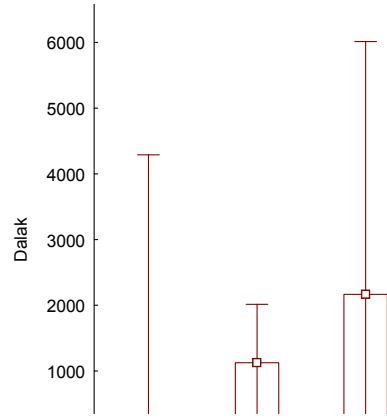
β: C grubu, A, D ve E gruplarından farklılık göstermiştir. ($C>A>D>E$)

γ: D grubu, B ve C gruplarından farklılık göstermiştir. ($C>B>D$)

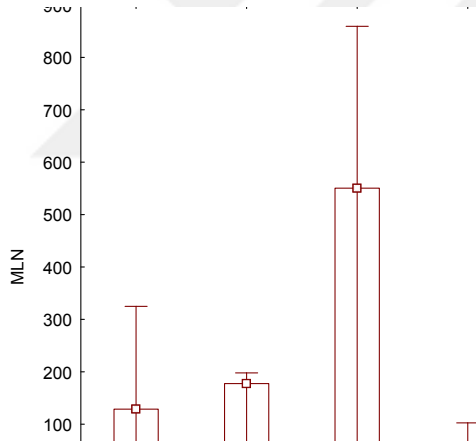
δ: D grubu, C grubundan farklılık göstermiştir. ($C>D$)



Grafik 3:Karaciğere olan bakteriyel trasnlokasyon oranlarının (koloni/1 mg protein) median dağılımı. B grubu D ve E gruplarından; C grubu A,D ve E gruplarından farklılık gösterdi ($p<0,005$)



Grafik 4:Dalağa olan bakteriyel trasnlokasyon oranlarının (koloni/1 mg protein) median dağılımı. D grubu B ve C gruplarından farklılık gösterdi ($p<0,05$).



Grafik 5:Mezenterik lenf nodlarına olan bakteriyel trasnlokasyon oranlarının (koloni/1 mg protein) median dağılımı. D grubu C grubundan farklılık gösterdi ($p<0,005$)

Biyokimyasal olarak doku, serum ve tam kandan alınan örneklerde bazı farklılıklar saptandı. (Tablo IV)Dokudan alınan GR örneklerinde, C grubunda, D grubuna oranla anlamlı bir artış gözlemlendi($p<0,005$). (Grafik 6) Serumdaki NO örneklerinde ise; D grubundaki ölçümler C grubuna göre daha fazla bulundu($p<0,005$). NO düzeyleri A grubunda; B,D ve E gruplarına göre daha az olarak görüldü($p<0,005$). (Grafik 7) Tam kandan alınan örneklerde

eritrosit Katalaz düzeyleri ölçüldüğünde D grubunda; A,C ve D gruplarından farklılık gösterilmiş ve anlamlı derecede daha az bulunmuştur($p<0,005$). (Grafik 8)

Tablo IV: Normal dağılım göstermeyenbiyokimyasalparametrelere uygulanan Kruskal Wallis test sonuçları

	A	B	C	D	E	P
Doku GR	1012,5 (25-75)	797,872 (25-75)	1125 (25-75)	150 (25-75) ^a	600 (25-75)	0,025
Doku NO	1,068706 (25-75)	0,793412 (25-75)	0,8287055 (25-75)	0,962824 (25-75)	0,736941 (25-75)	0,328
Serum MDA	149,167 (25-75)	207,5 (25-75)	170,833 (25-75)	182,5 (25-75)	136,667 (25-75)	0,94
Serum NO	39,412 (25-75) ^β	14,018 (25-75)	23,655 (25-75)	11,3515 (25-75) ^a	16,4425 (25-75)	<0,05
Eritrosit SOD	177,477 (25-75)	181,745 (25-75)	186,04 (25-75)	200,052 (25-75)	198,486 (25-75)	0,324
Eritrosit CAT	634,4115 (25-75)	718,46 (25-75)	569,126 (25-75)	420,161 (25-75) ^γ	482,69 (25-75)	<0,05
Eritrosit GSH	21,719 (25-75)	20,391 (25-75)	20,25 (25-75)	21,875 (25-75)	19,688 (25-75)	0,474

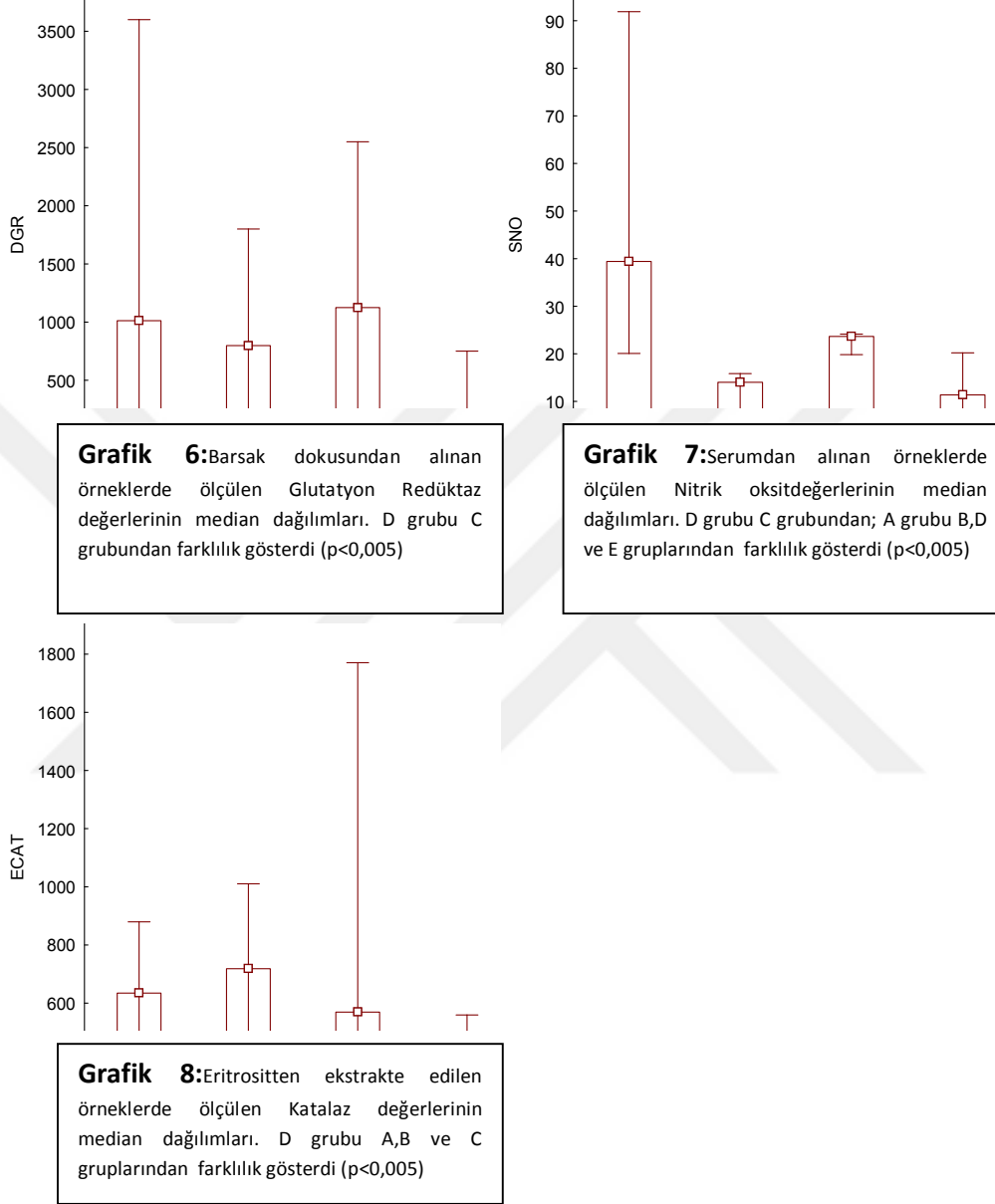
α: D grubu, C grubundan farklılık göstermiştir.

β: A grubu, B, D ve E gruplarından farklılık göstermiştir.

γ: D grubu A, B ve C gruplarından farklılık göstermiştir.

Tablo V: Normal dağılım gösteren biyokimyasal ve hematolojik parametrelere uygulanan Anova test sonuçları

	A	B	C	D	E	p
Doku GSH	804,7 ±230,382	775,04778 ±529,26135	728,56125 ±299,334101	547,23 ±169,11696	517,65 ±275,870836	0,221
Doku SOD	228,89925 ±65,524658	240,30022 ±42,790973	208,634 ±71,253955	213,4646 ±60,079284	236,59811 ±57,835436	0,742
Eritrosit GR	35,97788 ±123,124073	27,11656 ±24,719380	37,17489 ±24,889926	30,33522 ±28,488501	21,04914 ±19,594817	0,689
Nötrofil /Lökosit	0,4077 ±0,13740	0,2463 ±0,13612	0,3731 ±0,17648	0,2911 ±0,09768	0,4273 ±0,10515	0,054



Histopatolojik, mikrobiyolojik, biyokimyasal ve hematolojik bulguların hiç birinde, 24 ve 48 saat boyunca mekanik ileus oluşturulmuş, probiyotik alan grupların kendi arasında, probiyotik almayan grupların kendi arasında fark saptanmadı.

Hematolojik olarak elde edilen Nötrofil ve Lökosit verileri Nötrofil/Lökosit şeklinde oranlandı ve normal dağılım gösterdikleri için uygulanan tek yönlü varyans analizi sonrasında gruplar arasında fark görülmedi. Yine normal dağılım gösteren DGSH, DSOD, EGRdeğerlerinde, gruplar arasında fark saptanmadı. (Tablo V)

TARTIŞMA

İntestinal obstrüksiyon oluşturulup, farklı değişkenlerin incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Bazı çalışmalarda da, barsak mukozası, çeşitli sentetik ve kimyasal ürünler ya da radyasyon ile hasara uğratılmış, ardından bir takım parametreler izlenmiştir. Bu çalışmada mekanik ileus, terminal ileumun bağlanması ile oluşturulmuştur. Diğer çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada, mekanik ileus geçicidir. Obstrüksiyon süresi ve probiyotik verilip verilmemesine göre gruplara kısaca [B: P(-)₂₄, C: P(-)₄₈, D: P(+)₂₄, E: P(+)₄₈] isimler verilmiştir. Örnekler üçüncü operasyonda alınmıştır.

Ruey Hwa-Lu ve ark.'nın(69) ratlarda ileal obstrüksiyon oluşturup mukozal hasarın iyileşmesine SOD'un katkısını inceledikleri çalışmada; 24 saat obstrüksiyon uygulanan gruplarda, kontrol grubuna göre mukozal hasar skorunun arttığı gösterilmiş. Çalışmamızda, benzer şekilde kontrol grubuna göre obstrüksiyon grubunda, mukozal hasarında daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak P(+)₄₈ grubunda mukozal hasar (ödem ve müköz hücre kaybı), probiyotik verilmeyen gruplara göre daha fazladır. Probiyotik verilsin ya da verilmesin 24 saat obstrüksiyon uygulanan gruplar arasında ise mukozal hasar açısından anlamlı fark saptanmadı.

Radyasyona bağlı mukozal hasar oluşturulmuş ratlarda, probiyotik ile beslenmenin etkisini inceledikleri bir çalışmada; probiyotik verilen grup ile verilmeyen grup ve kontrol grubu arasında karaciğer, dalak ve mezenterik lenf nodlarına bakteriyel translokasyon ayrı ayrı bakıldığında fark saptanmamış.(70) Bizim çalışmamızda ise; 24 ya da 48 saat obstrüksiyon ile oluşmuş mukozal hasar sonrası; P(-)₂₄ ve P(-)₄₈ gruplarının, P(+)₂₄ ve P(+)₄₈ gruplarına göre, karaciğer örneklerinde üreyen bakteri kolonisi oranı ayrı ayrı fazla bulundu. Dalak örneklerinde; P(+)₂₄ grubunda üreyen bakteri kolonisi oranı, P(-)₂₄ ve P(-)₄₈ gruplarına göre daha az olarak gösterildi. Mezenterik lenf nodlarından alınan örneklerde P(-)₄₈ grubunda üreyen bakteri kolonisi oranı, P(+)₂₄ grubu ile karşılaştırıldığında daha fazla bulundu.

Saleh İbrahim El- Awadi ve ark.'nın(71) 28 saat süreyle, ratlara, ileal obstrüksiyon ve strangüle obstrüksiyon uyguladıkları ve CRP ölçümünün değerini araştırdıkları çalışmada; basit obstrüksiyonda doku GPx ve doku MDA oksidatif stres parametreleri ölçümlerinde yükselme olduğu görülmüş. Ayrıca, mukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu, strangüle obstrüksiyonda fazla olduğu gösterilmiş. Bizim çalışmamızda ise; doku GR, serum NO ve eritrosit CAT oksidatif stres parametrelerinde gruplar arası farklılıklar görüldü. . Dokudan alınan GR örneklerinde, P(-)₄₈ grubunda, P(+)₂₄ grubuna oranla bir artış gözlemlendi. Ancak Serumdan alınan NO örneklerinde ise; P(+)₂₄ grubundaki ölçümler P(-)₄₈ grubuna göre daha fazla bulundu. NO düzeyleri kontrol grubunda; P(-)₂₄, P(+)₂₄ ve P(+)₄₈ gruplarına göre daha az olarak görüldü. Eritrosit katalaz düzeyleri ölçüldüğünde P(+)₂₄ grubunda; kontrol, P(-)₄₈ ve P(+)₂₄ gruplarından farklılık gösterilmiş ve daha az bulunmuştur. Mukozadaki inflamatuvar

hücre infiltrasyonunda gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. Bu bulgularla, çalışmadaki obstrüksiyon biçimi, yukarıdaki çalışmadaki basit obstrüksiyon biçimi ile aynı metod kullanıldığı göz önüne alınırsa sonuçlarkorelasyon göstermiştir.

M. Aldemir ve ark.(72) ileal loop obstrüksiyon uyguladıkları ratlarda, intravenöz oktreotid asetat ya da bir probiyotik olan *S. Boulardii*orogastrikvererek bakterial translokasyon ve villöz genişlik değerleri ölçülmüş. *S. Boulardii* ve oktreotid asetat gruplarında, verilmeyen gruba göre villöz genişliğin daha fazla, bakterial translokasyonun daha az olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise probiyotik olarak *bifidobakterium animalis spp laktis B94*kullanıldı. Villöz genişleme bizim çalışmamızda mukozal ödem olarak değerlendirildi ve probiyotik verilen gruplarda artış gözlendi. Probiyotik verilen gruplarda bakteriyel translokasyon azalmış olarak görüldü.

Çalışmamızda *bifidobakterium animalis spp laktis B94*kullandığımız gruplarda, kullanmadığımız gruplara göre bakteriel translokasyon açısından azalma olduğunu gösterdik. Benzer şekilde fark, S. V. Generoso ve ark.(73)*Saccharomyces cerevisiae strain UFMG 905* kullanarak göstermiştir. Aynı çalışmada histopatolojik olarak probiyotik verilen gruplarda mukozal ödem saptandı. Bizim çalışmamızda daP(+)₄₈ grubunda, kontrol grubu ve P(-)₂₄ grubuna göre, mukozal ödem artış gösterdi.

İntestinal obstrüksiyon oluşturulmuş ratlarda thymoquinone verilmesi ile bakteriyel translokasyon, mukozal hasar ve inflamatuvar yanıtın incelendiği bir çalışmada(74), bakteriyel translokasyon, thymoquinone verilen ratlarda daha az görüldü. Ancak bizim çalışmamızdan farklı bulguları, thymoquinone verilmeyen grupta mukozal ödemin daha fazla olmasıdır.

Bizim çalışmamızda mekanik ileus ile oluşan mukozal hasar sonucu barsak mukozasında ödem artışı gözlenmiştir. Ancak bu artış probiyotik alan grupta gözlenmiştir. 5-FU ile oluşturulan mukozal hasarı önlemek için *Lactobacillus fermentum BR11* kullanılan Prisciandaro ve ark.'nın(75) çalışmasında olumlu etki gösterilmiştir. Benzer bir çalışma Chun-Yan Yeung ve ark.(76) tarafından gerçekleştirilmiş 5-FU ile intestinal mukozit oluşturdukları ratların bir grubuna, *Lactobacillus casei variety*, *Lactobacillus acidophilus* *Bifidobacterium bifidum* verilmiş ve probiyotik verilen grupta, mukozal hasarın, düşük olduğu gösterilmiştir.

Dekstran sülfat sodyum ile kolit yapılmış farelerde, Sonia A. Ballal ve ark(77), *lactococcus lactis* verilmesi sonrası, barsak dokusundan elde edilen SOD değerlerinde, probiyotik verilmeyenlere göre azalma olduğu görülmüş. Bizim çalışmamızdaileum barsak dokusundan elde edilen SOD değerlerinde, gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Josep Mane ve ark.(78) trinitrobenzen sulfonik asit kullanarak kolit oluşturdıkları çalışmada fareleri üç hafta izlemişler ve bir gruba *Lactobacillus fermentum* vermişlerdir. Histopatolojik skorların, probiyotik verilen grupta, ikinci ve üçüncü haftadan sonra düştüğünü gözlemişler. Najma H. Javed ve ark.(79) ise aynı şekilde kolit oluşturdıkları farelere *Bifidobacterium infantis* vermişler, 7 gün sonra örnek alıp skorlama yapmışlar ve benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Benzer şekilde kolit modeli oluşturulan Laura Peran ve ark.(80), probiyotik olarak *L. salivarius ssp. salivarius* kullanmışlar ve mukozal hasarın düşük olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda, ileumda, histopatolojik değerlendirme 24 ve 48. saatlerde yapılmış olup, probiyotik verilen grubun mukozal hasarında azalma saptanmamıştır. Ancak probiyotik verilen grupta, barsak mukozasında belirgin ödem artışı, hücreler arasındaki açıklığın azaltılması suretiyle buradan bakteri kaçışını önleyerek BT'nu azalttığını düşünüyoruz. Mekanik ileus oluşturulmuş ratları yedi gün boyunca takip etmek yüksek sayıda mortaliteye neden olacağından, ayrıca ameliyat ile mekanik ileusu düzeltilen hasta modelini taklit etmeye çalıştığımız için örnekler erken sayılabilecek dönemde alınmış ve bu nedenle, gruplar arasındaki farklar kısıtlamış olabilir.

Deneysel intestinal obstrüksiyon oluşturdıkları ratlarda, Rafeal Antequera ve ark.'nın(81), bakteriyel translokasyon ve mukoza hasarını 24, 48, 72. saatlerde karşılaştırdıkları çalışmada; ilk 24 saatte mukoza epitelinde anlamlı bir değişiklik saptamadılar. 48 saat sonra vasküler dilatasyon ve mukozal ödemde belirgin artış göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda mukozal ödem; P(+)₄₈ grubu ve P(-)₂₄ grubunda, kontrol grubundan fazla bulundu ($p < 0.005$) Bunun sebebi probiyotiklerin mukozal ödemi arttırıcı etkisi olabilir.

Çevikel ve ark.'nın (82) ratlarda strangüle ve basit obstrüksiyon oluşturarak, bakteriyel translokasyon ve CRP ilişkisini inceledikleri çalışmada; obstrüksiyon uygulanan gruplar ile uygulanmayan gruplar arasında histopatolojik farklar saptanmış. Karaciğer ve mezenterik lenf nodlarına olan bakteriyel translokasyonda anlamlı fark yok iken; bizim çalışmamızda obstrüksiyon gruplarında anlamlı histopatolojik farklar saptandı ancak probiyotik etkisi gösterilemedi. Obstrüksiyon gruplarında karaciğer, dalak ve mezenterik lenf nodlarındaki üremelerde anlamlı farklar saptanırken, probiyotik verilen gruplarda bakteriyel translokasyonda anlamlı düşüş gözlemlendi.

Ratlarda, bir barsak mukoza hasarı ve bakteriyel translokasyon nedeni olan, kardiyopulmoner bypass, uygulayarak oluşturulan çalışmada, Ying-Jie Sun ve ark.(83), bir gruba, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus thermophilus*'dan oluşan probiyotik karışımı verdiler. Opere edilip, probiyotik verilen grupta, kontrol grubuna göre karaciğer ve mezenterik lenf nodlarına bakteriyel translokasyon, artış gösterirken, opere edilip probiyotik verilmeyen gruba göre ise kontrol grubunda azalma gösterildi. Bizim çalışmamızda karaciğere BT, P(+)₂₄ grubunda, P(-)₂₄ grubundan düşük; P(+)₄₈'de, P(-)₄₈'den düşük; mezenterik lenf nodlarına ve dalağa olan BT, P(+)₂₄'de, P(-)₄₈'den düşük bulundu.

Maite Chiva ve ark.(84), yaptıkları çalışmada deneysel siroz uyguladıkları 37 ratdan bir gruba *Lactobacillus johnsonii* La1 ve antioksidan vererek, bakteriyel translokasyon ve oksidatif stres parametrelerinin değerlendirmişlerdir. Probiyotik ve antioksidan verilen grupta, mezenterik lenf nodlarına olan bakteriyel translokasyon, verilmeyen gruba göre daha az bulunmuştur. Ayrıca dokudan alınan MDA düzeyleri, probiyotik ve antioksidan verilen grupta düşüş göstermiştir. Mekanik ileus oluşturularak yapılan çalışmamızda, MDA, serumdan elde edilmiştir ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Mezenterik lenf nodlarına olan translokasyon ise çalışmamız ile benzerlik göstermiştir.

Dekstran sülfat sodyum ile deneysel kolit oluşturulan ratlarda, Yosuke Nishitani ve ark.(85), bir gruba *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC vererek mukoza hasarını değerlendirmişler ve probiyotik verilen grupta daha az bulmuşlardır. Çalışmamızda ise; mukozal hasar parametrelerinden herhangi biri, probiyotik verilen grupta düşük bulunmadı.

Maja Yakesevic ve ark.(86), kolonda, iskemi reperfüzyon oluşturdukları 63 rat ile yaptıkları çalışmada, bir gruba yabanimersini ve *Lactobacillus plantarum* HEAL19 vermişlerdir. Kontrol grubuna göre, bu grupta doku MDA değerleri daha düşük bulunmuştur. Bizim çalışmamızda; mukozal hasar mekanik ileus ile oluşturulmuş ve MDA değerleri serumdan elde edilmiştir. Gruplar arasında anlamlı fark yoktur.

Lindfors ve ark.(87), gliadina bağlı toksisite oluşturdukları kolon hücre kültüründe, *Bifidobacterium lactis* verdikleri grupta hücre hasarının daha az olduğunu saptadılar. Bizim çalışmamızda, ileal mukoza hasarı parametreleri, probiyotik verilen grupta, verilmeyen gruba göre daha fazla saptandı.

Dekstran sodyum sülfat ile kolit modeli oluşturulan başka bir çalışmada Navalpur S. Nanda Kumar ve ark.(88), bir gruba, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* zincirlerini içeren bir süspansiyon (*Lactobacillus* GG, *L. plantarum*, *L. Casei*, *L. lactis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. Infantis*, *B. Lactis*) vermişler ve probiyotik grubunda mukoza hasarının azaldığını görmüşler. Mukoza hasarında Chiu skorlaması(83) kullanmışlardır. Çalışmamızda ise kullanılan mukozal hasar skorlaması Millar ve ark.(55) gösterdiği şekilde yapıldı ve probiyotik grubunda mukozal hasarın azaldığı gösterilemedi.

Mukozal hasar değerlendirilirken; Chiu skorlaması'nda(89) vasküler konjesyon parametresi, bizim çalışmamızda kullandığımız skorlamadaki, ödem, parametresine karşılık gelmektedir. Femke Lutgendorff ve ark.'nın(90), glikodeoksikolik asit kullanarak pankreatit oluşturdukları ratlarda gelişen barsak mukoza hasarını değerlendirdikleri çalışmada, bir gruba *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium lactis* den oluşan bir karışım vermişler, Chiu skorlaması kullanmışlar(89) ve probiyotik verdikleri grupta, verilmeyen gruba göre

mukozal hasarıdaha az bulmuşlardır. Probiyotik verilen grupta,ödeme karşılık gelen, epitelde yükselme ve genişleme saptanmış ancak epitelin yapısı bozulmamıştır. Bizim çalışmamızkorelasyon göstermiş olup, probiyotik verilen grupta, ödem, anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur. Ancak diğer parametrelerde fark saptanmamıştır. Femke Lutgendorff ve ark.(90) aynı çalışmada probiyotik verilen grupta, verilmeyen gruba göre, doku GSH değerlerinde anlamlı bir fark gözlediler. Bizim çalışmamızda doku ve eritrositten alınan GSH değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.



SONUÇ

Bu çalışmada Probiyotiklerin (*bifidobakterium animalis spp laktis B94*), ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş mekanik ileus modelinde, obstrüksiyona bağlı mukozal hasarı azaltmadığını, ancak mukozal ödemi süreden bağımsız olarak 24. saatten itibaren belirgin derecede arttırdığını gösterdik. Bakteriyel translokasyonu ise anlamlı derecede azalttığını gösterdik. Sonuç olarak probiyotiklerin, mekanik ileusta oluşan özellikle BT’u azaltıcı etkisi ile BT’nun yol açtığı morbidite ve mortaliteyi azaltabileceğini düşünüyoruz. Ancak çalışmamız preliminar, deneysel bir çalışma olup; insanlar üzerindeki etkileri için, daha ayrıntılı klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.



ÖZET

Başlık: Geçici mekanik ileus oluşturulmuş ratlarda probiyotik ile beslenmenin barsak mukoza hasarının iyileşmesine etkisi

Amaç ve Hipotez: Mekanik ileus nedeniyle opere edilen hastalarda ortaya çıkan barsak mukoza hasarı ve buna bağlı komplikasyonları önleyebilmek amacıyla, ratlarda benzer bir model oluşturuldu. Bazı gruplar probiyotik ile, bazı gruplar standart yem ile beslendi. Barsak mukoza hasarı ve buna bağlı etkilerin, gruplar arasında oluşturduğu farkları ortaya koymak amaçlanmıştır.

Yöntem: 48 adet dişi Wistar-Albino tipi rat beş gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışında, ilk operasyonda, diğer grupların terminal ileumları bağlandı. İki grup 24, iki grup 48 saat sonra yeniden opere edilip terminal ileumlarındaki obstrüksiyon kaldırıldı. Bu süre içinde, her bir 24 ve 48 saat obstrükte kalan gruplardan bir tanesine, probiyotik verildi. Obstrüksiyon kalktıktan 24 saat sonra, kontrol grubu ve diğer gruplar, örnek alımı için üçüncü kez opere edildi. Terminal ileum, karaciğer, dalak, MLN, tam kan ve serum örnekleri alındı.

Bulgular: 48 saat obstrükte kalan ve probiyotik verilen grupta, müköz hücre kaybı ve mukozal ödemde belirgin bir artış gözlemlendi. Probiyotik verilmeyen gruplarda bakteriyel translokasyon daha fazla görüldü. 24 saat obstrükte kalan ve probiyotik verilen grupta doku GR, serum NO ve eritrosit CAT daha düşük bulundu.

Sonuç: Probiyotik verilen gruplarda mukozal ödemin yüksek olması, hasar gibi görünse de probiyotiklerin mukozal bariyeri güçlendirme şekliyle uyumlu olduğunu düşünüyoruz. Böylece probiyotik verilen gruplarda bakteriyel translokasyon daha az görülmüş ve antioksidatif bazı enzimler de düşük bulunmuş olabilir. Probiyotiklerin, obstrüksiyon nedeniyle opere edilen hastalarda yararlarını ortaya koymak için daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Probiyotik, mukozal hasar, obstrüksiyon, bakteriyel translokasyon

İletişim: ADÜ Tıp Fak. Hast. Genel Cerrahi Servisi Efeler/Aydın; akayedizsoy@hotmail.com

ABSTRACT

Subject:The effect of healing of the gut mucosa in the rats which created temporal mechanical ileus, fed with probiotic.

Objective: Created a model in the rats, to prevent mucosal damage and related effects in the patients, who were operated due to mechanical ileus. Some groups fed with probiotics, some groups fed with standard fodder. It is objected that the damage of gut mucosa and related effects how to expose the difference of the groups.

Materials and Methods:48 female wistar-albino type rats are separated in five groups. In the first operation, other group's terminal ileum are tied up except for control group. Two groups 24, other two groups 48 hours later operated again and terminal ileum obstructions are removed. During that time, with probiotic is fed each one of those 24 and 48 hours obstructed groups. 24 hours later that obstruction is removed, control group and other groups are operated for the third time for sample. Terminal ileum, liver,spleen, MLN, blood and serum samples are taken.

Results:To those group which is obstructed and fedwith probiotics during 48 hours, significant increase is observed in mucosa cell loss, mucosal edema. In the groups which are not fedwith probiotics bacterial translocation is observed most. In 24 hours obstructed and fed with probiotics, tissue GR, serum NO and eritrocit RAT found less.

Conclusion:The high rate of mucosal edemas in the groups that are fedwith probiotics can be seen as damage but we think that probiotics are consonant with strength of mucosal barrier. So in the fed with probiotics groups, it is possible that bacterial translocation is seen less and some antioxidative enzymes are found less. More work is needed in order to put forward the benefits of probiotics in the patients operated with obstruction.

Key words:Probiotic, mucosal damage, obstuction, bacterial translocation

Contact:ADÜ Tıp Fak. Hast. Genel Cerrahi Servisi Efele/Aydın; akayedizsoy@hotmail.com

KAYNAKÇA

1. Welch J P, General considerations and mortality, Bowel obstruction W. B. Saunders, 1990: 55-95
2. Ray NF, Denton WG, Thamer M et al: Abdominal adhesiolysis: Inpatient care and expenditures in the United States in 1994. J. Am. Coll. Surg. 186:1. 1998
3. Mucha P. Jr. Small intestinal obstruction. Surg. Clin. North Am. 67: 597 1987
4. Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract ed: Zuidema G D., Nyhus L M. Intestinal obstruction. W. B. Saunders. 1996: 375-390
5. Surgical Treatment, M.N. Kulaylat, R. F. Doerr, Department of Surgical Oncology, Buffalo General Hospital, 2001
6. Gamble Ha. The role of obstructive enterostomy in the treatment of obstruction of the small intestine. South Med. J. 1949 Jun; 42(6): 480-6.
7. Reiner Wiest, Heiko C. Rath. Bacterial translocation in the gut. Best Practise and Research Clinical Gastroenterology Vol 17, No.3, pp 397-425, 2003
8. Manius 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
9. Edmiston CE, Jr. Condon RE. Bacterial translocation. Surg Gynecol Obstet 1991; 173: 73-83
10. 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
11. Berg RD. Promotion of the translocation of enteric bacteria from gastrointestinal tracts of mice by oral treatment with penicilin, clindamycin, or metranidazole. Infect Immun 1981; 33: 854-861.
12. 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

13. Sabiston Textbook of surgery, 16th ed. W. B. Saunders Comp. 2001: 873-889
14. 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
15. Deitch EA. Bacterial translocation of the gut flora. *J Trauma* 1990; 30: 184-189
16. 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
17. 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
18. 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
19. Gardner 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
20. Cross CE, Halliwell B, Allen A. Antioxidant protection: a function of tracheobronchial and gastrointestinal mucus. *Lancet* 1984; 1: 1328-1330
21. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163
22. Weiss SJ, Lo Buglio AF. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982; 47: 5-18
23. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Bio Med* 1998; 25: 434-456
24. Miller RA, Britigan BE. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 1-18
25. Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med* 1985; 1: 87-95

26. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828
27. Saltman P. Oxidative stres: a radical view. *Senin Hematol* 1989; 26: 249-256
28. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 1029-135
29. Lykkesfeldt J. Malonialaldehyde as biomarker of oxidativedamage to lipids caused by smoking, *Clin Chim Acta* 2007; 380: 50-58
30. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426
31. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı: Mimoza Yayınları, 1995: 3-10
32. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-724
33. Free Radicals, Oxidative Stres and Antioxidants. Pathological and Physiological Significance. Edited by Tomris Özben NATO ASI Series, Series A:Life Sciences Vol.296 p.31, 1998 Plenium Press, New York.
34. Vennalm A, Bentin G, Petterson AS. Dependence of the metabolism of nitric oxide (NO) in healthy whole blood on the oxygenation of its red cell haemoglobin. *Br J Pharmacol* 1992;106:507-508.
35. Vennalm A, Bentin G, Edlund A. Metabolism and excretion of nitric oxide in humans. *Circ Res* 1993;106:507-508.
36. Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95: 6578-6583
37. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 2012; 148: 1258-1270
38. Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, de Vos WM. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. *Genes Nutr* 2011; 6: 209-240

39. Figueroa-Gonzalez I, Quijano G, Ramirez G, Cruz-Guerrero A. Probiotics and prebiotics-perspectives and challenges. *J Sci Food Agric* 2011; 91: 1341-1348
40. Indrio F, Neu J. The intestinal microbiome of infants and the use of probiotics. *Curr Opin Pediatr* 2001; 23: 145-150. Review.
41. Deshpande G, Rao S, Patole S. Progress in the field probiotics: year 2011. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 13-18. Review.
42. Santosa S, Farnworth E, Jones PJ. Probiotics and their potential health claims. *Nutr Rev* 2006; 64: 265-274. Review.
43. Boirivant M, Strober W. The mechanisms of action of probiotics. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 679-692. Review.
44. Upadhyay N, Moudgal V. Probiotics: a review. *J Clin Outcomes Manage* 2012; 19: 76-84
45. Thomas DW, Greer FR; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Probiotics and prebiotics in pediatrics. *Pediatrics* 2010; 126: 1217-1231.
46. Sanz Y. Gut microbiota and probiotics in maternal and infant health. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(6 Suppl): 2000S-2005S.
47. Chmielewska A, Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 69-75
48. Quigley EMM. The enteric microbiota in pathogenesis and management of constipation. *Best Pract Clin Gastroenterol* 2011; 25: 119-126
49. Kligler b, Cohrssen A. Probiotics. *Am Fam Physician* 2008; 78: 1073-1078
50. Sekhon BS. Prebiotics, probiotics and synbiotics: an overview. *J Pharm Educ Res* 2010; 1: 13-36
51. Ohashi Y, Ushida K. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Anim Sci J* 2009; 80:361-371. Review.

52. Williams NT. Probiotics. *Am JHealth Syst Pharm* 2010; 67: 449-458. Review.
53. Maity TK, Misra AK. Probiotics and human health: synoptic review. *Afr J Food Agric Nutr Develop* 2009; 9: 1178-1796
54. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: fact and myths. *Clin Microbial infect* 2005; 11: 958-966. Review.
55. Soccol CR, Vandenberghe LP, Spier MR, et al. The potential of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol* 2010; 48: 413-434
56. Quirino IEP, Correia MITD, Cardoso VN (2007) The impact of arginine on bacterial translocation in an intestinal obstruction model in rats. *Clin Nutr* 26:335–340
57. Oliveira MA, Lemos DL, Diniz ASOF, Coelho J, Cardoso VN (2006) Prevention of bacterial translocation using glutamine: a new strategy of investigation. *Nutrition* 22:419–424
58. Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AW, Blades S, Coumbe A, Panetta J, Morris CJ, Blake DR. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut*. 1996 Sep; 39(3):407-15.
59. Aebi H (1974) Catalase. In: Bergmeyer HU (ed) *Methods of enzymatic analysis*. Academic, New York, pp 673–677
60. Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi, 1979: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95, 351-358
61. Konukoğlu D, İynem H, Zuytan E. Antioxidant status in experimental peritonitis. Effects of alpha tocopherol and taurolin. *Pharmacological Research* 1999; 39(3): 247-250
62. Tietze, F., 1969: Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. Applications to mammalian blood and other tissues. *Anal. Biochem.* 27(3), 502-522
63. Pleban PA, Munyani A, Beachum J. Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. *Clin Chem.* 1982 Feb; 28(2):311-6
64. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 1998; 94: 623-632

65. Racker E. Glutathione reductase (liver and yeast). In Methods in Enzymology, vol 2, Colowick SP, Kaplan NO (Editors), pp 722-729, Academic Pres, New York, 1955
66. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem 1988; 34: 497-500
67. Navarro-Gonzalves, J. A., C. Garcia-Benayas, and J. Arenas, 1998: Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. Clin. Chem. 44, 679-681
68. Smith, P.K.; et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal. Biochem. 1985 150 (1): 76–85
69. Ruey-Hwa Lu, M.D, Tzu-Ming Chang, M.D., Mao-Hsiung Yen, Ph.D., and Lih-Min Tsai, Ph.D. Involvement of Superoxide Anion in the Pathogenesis of Simple Mechanical Intestinal Obstruction. Journal of Surgical Research 115, 184–190 (2003)
70. S. Demirer, S. Aydıntug, B. Aslım, I. Kepenekci, N. Sengül, O. Evirgen, D. Gerceker, M. Nalca Andrieu, C. Ulusoy, S. Karahüseyinoglu. Effects of probiotics on radiation-induced intestinal injury in rats. Nutrition 22 (2006) 179–186
71. Saleh Ibrahim El-Awady, Mohammed El-Nagar, Medhat El-Dakar, Mohammed Ragab, Ghada Elnady. Bacterial translocation in an experimental intestinal obstruction model C-reactive protein reliability?. Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 24 (2) 2009
72. M. Aldemir. Ö.F. Kökoğlu, M. F. Geyik, H. Büyükbayram. Effect of Octotide asetat and *Sacharomyces boulardii* on bacterial translocation in an experimental intestinal loop obstruction model of rats. Tohoku J. Exp. Med. ,2002,198, 1-9.
73. Simone V. Generoso, Mirelle Viana, Rosana Santos, Flaviano S. Martins, Jose' A. N. Machado, Rosa M. E. Arantes, Jacques R. Nicoli, Maria I. T. D. Correia, Valbert N. Cardoso. *Saccharomyces cerevisiae* strain UFMG 905 protects against bacterial translocation, preserves gut barrier integrity and stimulates the immune system in a murine intestinal obstruction model. Arch Microbiol (2010) 192:477–484

74. Murat Kapan, Recep Tekin, Akin Onder, Ugur Firat, Osman Evliyaoglu, Fatih Taskesen, Zulfu Arikanoğlu. Thymoquinone ameliorates bacterial translocation and inflammatory response in rats with intestinal obstruction. *International Journal of Surgery* 10 (2012) 484-488
75. Luca D. Prisciandaro, Mark S. Geier, Ross N. Butler, Adrian G. Cummins, Gordon S. Howarth. Probiotic factors partially improve parameters of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in rats. *Cancer Biology & Therapy*, 11:7, 671-677
76. Chun-Yan Yeung, Wai-Tao Chan, Chun-Bin Jiang, Mei-Lien Cheng, Chia-Yuan Liu, Szu-Wen Chang, Jen-Shiu Chiang Chiau, Hung-Chang Lee. Amelioration of Chemotherapy-Induced Intestinal Mucositis by Orally Administered Probiotics in a Mouse Model. *PLoS ONE* 10(9): e0138746. doi:10.1371/journal.pone.0138746
77. Sonia A. Ballal, Patrick Veiga, Kathrin Fenn, Monia Michaud, Jason H. Kimb, Carey Ann Gallin, Jonathan N. Glickman, f, Gaëlle Quéréd, Peggy Garault, d, Chloé Béald, Muriel Derriend, Pascal Courting, Saulius Kulakauskas, Marie-Pierre Chapot-Chartier, Johan van Hylekama Vlieg, d, and Wendy S. Garrett. Host lysozyme-mediated lysis of *Lactococcus lactis* facilitates delivery of colitis-attenuating superoxide dismutase to inflamed colons. *PNAS* | June 23, 2015 | vol. 112 | no. 25 | 7803–7808
78. Josep Manó, Violeta Lore, n, Elisabet Pedrosa, PhD, Isabel Ojanguren, Jordi Xaus, Eduard Cabré, PEugeni Dome, nech, Pand Miquel A. Gassull. *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 Prevents and Reverts Intestinal Damage on TNBS-induced Colitis in Mice. *Inflamm Bowel Dis*, Volume 15, Number 8, August 2009
79. Najma H. Javed, Musaad B. Alsahly, Jagdish Khubchandani. Oral Feeding of Probiotic *Bifidobacterium infantis*: Colonic Morphological Changes in Rat Model of TNBS-Induced Colitis. *Hindawi Publishing Corporation Scientifica* Volume 2016, Article ID 9572596, 11 pages
80. Laura Peran, Desiree Camuesco, Monica Comalada, Ana Nieto, Angel Concha, Maria Paz Diaz-Ropero, Monica Olivares, Jordi Xaus, Antonio

- Zarzuelo, Julio Galvez. Preventative effects of a probiotic, *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius*, in the TNBS model of rat colitis. *World J Gastroenterol* 2005;11(33):5185-5192
81. Rafael Antequera, Antonio Breña, Alberto Cirac, Anita Brito, Manuel A. Romera1 and Ramón Zapata. Disruption of the Intestinal Barrier and Bacterial Translocation In An Experimental Model of Intestinal Obstruction. *Acta Científica Venezolana*, 51: 18–26, 2000
 82. M. H. Çevikel, H. Özgün, S. Boylu, A. E. Demirkiran, N. Aydın, C. Sari, M Erkus. C-reactive Protein May Be A Marker of Bacterial Translocation in Experimental Intestinal Obstruction. *ANZ J. Surg.*2004;74: 900–904
 83. Ying-Jie Sun, Hui-Juan Cao, Dan-Dan Song, Yu-Gang Diao, Jin Zhou, Tie-Zheng Zhang. Probiotics Can Alleviate Cardiopulmonary Bypass-Induced Intestinal Mucosa Damage in Rats. *Dig Dis Sci* (2013) 58:1528–1536
 84. Maite Chiva, Germán Soriano1, Isabelle Rochat, Carmen Peralta, Florence Rochat, Teresa Llovet, Beatriz Mirelis, Eduardo J. Schiffrin, Carlos Guarner, Joaquim Balanzo. Effect of *Lactobacillus johnsonii* La1 and antioxidants on intestinal flora and bacterial translocation in rats with experimental cirrhosis. *Journal of Hepatology* 37 (2002) 456–462
 85. Yosuke Nishitani, Takeshi Tanoue, Katsushige Yamada, Tsukasa Ishida, Masaru Yoshida, Takeshi Azuma, Masashi Mizuno. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. *International Immunopharmacology* 9 (2009) 1444–1451
 86. Maja Jaksevic1, Kjersti Aaby, Grethe-Iren A Borge, Bengt Jeppsson, Siv Ahrné, Göran Molin. Antioxidative protection of dietary bilberry, chokeberry and *Lactobacillus plantarum* HEAL19 in mice subjected to intestinal oxidative stress by ischemia-reperfusion. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2011, 11:8
 87. K. Lindfors, T. Blomqvist, K. Juuti-Uusitalo, S. Stenman, J. Venäläinen, M. Mäki, K. Kaukinen. Live probiotic *Bifidobacterium lactis* bacteria inhibit

- the toxic effects induced by wheat gliadin in epithelial cell culture. *Clinical and Experimental Immunology*, 152: 552–558
88. Navalpur S Nanda Kumar, Ramadass Balamurugan, Kabirdoss Jayakanthan, Anna Pulimood, Srinivasan Pugazhendhi and Balakrishnan S Ramakrishna. Probiotic administration alters the gut flora and attenuates colitis in mice administered dextran sodium sulfate. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 23(2008) 1834–1839.
 89. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN (1970) Intestinal mucosal lesion in low flow states. *Arch Surg* 101:478–483
 90. Femke Lutgendorff, Rian M. Nijmeijer, Per A. Sandström, Lena M. Trulsson, Karl-Eric Magnusson, Harro M. Timmerman, L. Paul van Minnen, Ger T. Rijkers, Hein G. Gooszen, Louis M. A. Akkermans, Johan D. Söderholm. Probiotics Prevent Intestinal Barrier Dysfunction in Acute Pancreatitis in Rats via Induction of Ileal Mucosal Glutathione Biosynthesis. *PLoS ONE* February 2009 Volume 4 Issue 2 e4512