



T.C.

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KARACİĞER NAKLİ SONRASI BİLİYER STRİKTÜR
NEDENİYLE ERCP UYGULANAN HASTALARDA NOD2
VARYANT SIKLIĞININ İŞLEM SONRASI KLİNİK SEYİR
ÜZERİNE ETKİLERİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Nevra YALÇIN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. M. Murat HARPUTLUOĞLU

MALATYA

2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT.....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
TABLOLAR DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Karaciğer Transplantasyonu.....	2
2.1.1. Karaciğer Transplantasyonunda Biliyer Komplikasyonlar	2
2.1.1.1. Anastomotik Striktür	3
2.2. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi (ERCP).....	4
2.2.1. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi Komplikasyonları.....	4
2.2.1.1. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi Sonrası Enfeksiyon.....	4
2.3. Bakteriyel Translokasyon.....	5
2.3.1. İntestinal Bakteriyal Overgrowth	5
2.3.2. İntestinal Geçirgenlik Artışı	6
2.3.3. İmmünolojik Zayıflama.....	6
2.3.4. Bakteriyel Translokasyonun Tanı Metotları.....	7
2.3.5. Bakteriyel Translokasyon Mekanizması ve Kliniği	7
2.4. NOD2 Geni	7
2.4.1. NOD2 Sinyal Yolağı	8
2.4.2. NOD2 Varyantları ve Hastalıklar	9
2.5. İnterlökin 6	9
3. MATERYAL VE METOD	11
3.1. Gruplardaki Hasta Sayılarının Belirlenmesi	11
3.2. Klinik Örneklerin Toplanması	11
3.3. Moleküler Yöntemler	11
3.3.1. NOD2 Gen Mutasyonlarının Tespiti	11
3.3.2. Baz Dizi Analizi	12
3.4. Eliza Kitlerinin Çalışılması	13

3.5. İstatistik.....	14
4. BULGULAR.....	15
5. TARTIŞMA.....	20
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	24
KAYNAKÇA.....	25



TEŞEKKÜR

İhtisas süresi boyunca yetişmemde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Emin Tamer ELKIRAN'a, tezimin şekillenme aşamasından bitiş aşamasına kadar her türlü yardım ve desteği veren değerli hocam Prof. Dr. Murat HARPUTLUOĞLU'na, tezin ölçüm aşamalarında özveriyle destek veren Prof. Dr. Barış OTLU'ya, tezimi 2016/145 proje numarası ile maddi açıdan destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne, asistanlık eğitimim boyunca geniş bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan tüm hocalarıma, değerli uzmanlarımıza ve asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Yıllarca beraber çalıştığımız tüm hemşirelerimize, personelimize ve kliniğimizde görev almış tüm çalışanlara sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Benim bu günlere gelmemi sağlayan, bana her türlü güçlüğü altından nasıl kalkabileceğimi öğreten ve öğretirken de her zaman yanımda olan, gerek maddi gerek manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve onlarla daima gurur duyup onlara layık olmaya çalışacağım sevgili anne ve babama, değerli eşim Muhammed'e ve oğlum Kerem'e, ablama ve abime, tüm aileme sonsuz sevgi, saygı ve şükranlarımla.

ÖZET

Karaciğer Nakli Sonrası Biliyer Striktür Nedeniyle ERCP Uygulanan Hastalarda NOD2 Varyant Sıklığının İşlem Sonrası Klinik Seyir Üzerine Etkileri

Giriş ve Amaç: Donör yaşı, uzamış soğuk ve sıcak iskemi süresi, cerrahi teknikler ve hepatik arter trombozunun gelişimi canlı donör karaciğer transplantasyonu (LDLT) sonrası biliyer darlık oluşumunda iyi bilinen risk faktörleridir. Bu sorunların üstesinden gelmek için yoğun çabalar sarf edilmesine rağmen, biliyer darlıklar LDLT'den sonra hala en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir.

Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı 2 (NOD2) doğal immün sistemin bir komponentidir ve karaciğer, makrofajlar, dendritik hücrelerde eksprese edildiği gibi intestinal epitelin Paneth hücrelerinde de eksprese edilir. NOD2, bakteri duvar peptitlerini algılayıp yanıt veren NOD benzeri reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu protein, konakçı bağışıklık sistemi ve bağırsak florası elemanları arasındaki dengeyi kolaylaştırır, çeşitli anti-bakteriyel bileşiklerin salgılanmasını düzenler. Bir çalışmada R702W NOD2 varyantının ortotopik karaciğer transplantasyonu sonrası artmış bakteriyel enfeksiyon riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, LDLT sonrası biliyer darlık nedeniyle endoskopik tedavi uygulanan hastalarda bazı NOD2 varyantlarının (p.G908R, c.3020insC, p.R702W ve 1007fs) hastanede kalış süresi ve endoskopik tedavi sonuçları üzerindeki etkilerini araştırdık.

Materyal ve Metot: Canlıdan canlıya karaciğer transplantasyonu sonrası biliyer striktür nedeniyle endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi (ERCP) uygulanan hastaların yaş, cinsiyet, transplantasyondan sonra ERCP'ye kadar geçen süreleri, ERCP bulguları, ve hastanede yatış süreleri kaydedildi. Çalışmaya dâhil edilen hastalar iki gruba ayrıldı. Grup 1: ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler ve Grup 2: ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler. Her iki grup arasında 4 adet NOD2 varyant sıklığı araştırıldı.

Bulgular: ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilen grupta striktürü geçilemeyen hasta sayısı diğer gruptan anlamlı şekilde yüksekti (%34'e %0, $p<0.0001$). Çalışmamızda p.R702W mutasyonu ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler grubunda hiçbir hastada saptanmaz iken, ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler grubunda 10 hastada saptandı. İki grup arasında p.R702W mutasyon sıklığı istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıydı ($p:0.002$). 1007fs mutasyonu ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler grubunda 3 hastada saptandı. Buna karşın bu mutasyon ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler grubunda 14 hastada saptandı. İki grup arasında 1007fs mutasyon sıklığı istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıydı ($p:0.011$).

Sonuç: Sonuçlarımız özellikle p.R702W varyantı başta olmak üzere NOD2 varyantlarının karaciğer nakil hastalarında ERCP işlemi sonrası hastanede yatış süresi üzerinde bir role sahip olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer nakli, ERCP, Biliyer striktür, NOD2

ABSTRACT

The Effects of NOD2 Variant Frequency on The Clinical Navigation in The Patients Under Given ERCP Because of Biliary Stricture After Liver Transplantation

Introduction and aims: Donor age, prolonged cold and warm ischemia time, surgical techniques and development of hepatic artery thrombosis are well-known risk factors for biliary stricture after live donor liver transplantation (LDLT). Although intensive efforts have been made to overcome these problems, biliary stricture is still one of the most important causes of morbidity and mortality after LDLT.

Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) is a component of the innate immune system and is expressed in liver, macrophages, dendritic cells as well as in Panet cells of the intestinal epithelium. NOD2 is a member of the NOD-like receptor family that recognizes and responds to bacterial wall peptides. This protein facilitates the balance between the host immune system and intestinal flora elements, regulates the secretion of various antibacterial compounds. In a study, R702W NOD2 variant was reported to be associated with increased risk of bacterial infection after orthotopic liver transplantation. In this study, we investigated the effects of some NOD2 variants (p.G908R, c.3020insC, p.R702W and 1007fs) on endoscopic treatment results and length of hospital stay in patients underwent endoscopic treatment for biliary stricture after LDLT.

Materials and Methods: Age, sex, time to ERCP after transplantation, ERCP findings, and hospitalization time of patients who underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) for biliary stricture after LDLT were recorded. Patients included in the study were divided into two groups. Group 1: Discharged in the first 24 hours after ERCP and Group 2: Discharged after the first 24 hours after ERCP. The frequency of four NOD2 variants was investigated between the two groups.

Results: In the group discharged after the first 24 hours after ERCP, the number of patients whose stricture could not be passed was significantly higher than the other group (34% vs 0%, $p < 0.0001$). In our study, p.R702W mutation was not detected in any of the patients discharged in the first 24 hours after ERCP, whereas it was detected in 10 patients who were discharged after the first 24 hours after ERCP. The frequency of p.R702W mutation was significantly different between the two groups ($p: 0.002$). 1007fs mutation was detected in 3 patients in the first 24 hours after ERCP. However, this mutation was detected in 14 patients in the group discharged after the first 24 hours after ERCP. The frequency of 1007fs mutations between the two groups was statistically significant ($p: 0.011$).

Conclusion: Our results suggest that NOD2 variants, especially the p.R702W variant, have a role on the length of hospital stay in liver transplant patients after ERCP procedure.

Keywords: Liver transplantation, ERCP, Biliary stricture, NOD2

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalen fosfataz
BT	: Bakteriyel translokasyon
BUN	: Kan üre nitrojen
CARD	: Kaspaz aktiveleştirici domeyn
CRP	: C-reaktif protein
ERCP	: Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi
GGT	: Gama glutamil transferaz
IFN	: İnterferon
IL-6	: İnterlökin-6
IBO	: İntestinal bakteriyel overgrowth
INR	: Uluslararası düzeltme oranı
KC	: Karaciğer
LDLT	: Canlı donör karaciğer transplantasyonu
LPS	: Lipopolisakkarit
LRR	: Lösine zengin tekrarlar
MAPK	: Mitojen aktive protein kinaz
MDP	: Muramil dipeptid
MLN	: Mezenterik lenf nodu
NBD	: Nükleotid bağlanma domeyni
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NOD2	: Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı 2
RIP2	: Reseptör etkileşimli serin/treonin protein kinaz 2
SBP	: Spontan bakteriyel peritonit
Sc-cıp	: Kritik hastalardaki sklerozan kolanjit
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmleri
SED	: Sedimentasyon
T.bil	: Total bilirubin
WBC	: Beyaz küre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1: p.R702W primer problemlerinin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi.....	13
Şekil 3.2: p.G908R primer problemlerinin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi.....	13
Şekil 3.3: c.3020insC primer problemlerinin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi	14
Şekil 3.4: 1007fs primer problemlerinin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi	14
Şekil 4.1: Real-time PCR ile p.R702W mutasyonun araştırılması.....	17
Şekil 4.2: Real-time PCR ile 1007fs mutasyonun araştırılması	18



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1: Gruplara göre cinsiyet, yaş ve transplantasyon-ERCP arası süre.....	15
Tablo 4.2: ERCP işlemi ile biliyer striktürleri geçilemeyenlerin gruplar arası karşılaştırılması	15
Tablo 4.3: Gruplara göre IL-6, WBC, CRP, total bilirubin, ALP, GGT, BUN, kreatinin, INR, amilaz ve lipaz düzeyleri.....	16
Tablo 4.4: Gruplara göre NOD2 mutasyonlarının sıklığı	17
Tablo 4.5: ERCP bulguları, p.R702W ve 1007fs mutasyonları ile yatış süresi arasındaki ilişki.....	19

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer transplantasyonu son dönem kronik karaciğer hastaları için günümüzde sık başvurulmuş küratif tedavi yöntemidir. Karaciğer transplantasyonu sonrası alıcıda gelişen major morbidite nedenlerinden biri de biliyer komplikasyonlardır (1). Donör yaşı, uzamış soğuk ve sıcak iskemik süresi, cerrahi teknikler ve hepatik arter trombozunun gelişimi canlı vericili karaciğer transplantasyonu (LDLT) sonrası biliyer darlık oluşumunda bilinen risk faktörleridir (2). Bu sorunların üstesinden gelmek için önemli iyileştirmeler yapılmış olmasına rağmen, biliyer darlıklar LDLT'den sonra hala en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir (3). Biliyer striktür gelişen hastalara ERCP işlemi uygulanır (4). Bağırsak ve karaciğer önemli anatomik ve fonksiyonel bağlantıları olan iki organdır. Bu organların kendi aralarındaki etkileşimleri, biliyer enflamatuvar hastalıklar gibi bazı karaciğer hastalıklarının gelişmesinde rol oynar. Bununla birlikte bu süreçlerin patogenezi hala tam olarak bilinmemektedir (5).

NOD2 makrofajlar, dendritik hücreler ve paneth hücreleri gibi bazı intestinal epitel hücrelerinde bulunan ve bakteriyel peptidoglikanları tanıyan hücre içi bir reseptördür. NOD2 variantlarının Crohn hastalığında daha sık olduğu bildirilmiştir (3, 6). NOD2, bakteri duvarını algılayıp yanıtlayan, NOD benzeri bir reseptör aile üyesidir (7). Protein, konakçı bağışıklık sistemi ve bağırsak florası elemanları arasındaki dengeyi kurar (8), çeşitli anti-bakteriyel bileşiklerin salgılanmasını düzenler, hücre içi bakteriyel öldürmeyi artırır (9) ve NF- κ B ve mitojen aktive protein kinazları (MAPK) aktive ederek çeşitli sitokinleri ve kemokinleri indükler (10).

NOD2'nin genetik varyantları Crohn hastalığı ile ilişkilidir (6, 11). Harputluoğlu ve ark. yaptığı bir çalışmada siroz hastalarında NOD2 varyantı ile spontan bakteriyel peritonit arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösterdi (12). Karaciğer hastalarında NOD2 varyant sıklığı ile bakteriyel translokasyon arasında ilişkiye vurgu yapan klinik çalışmalar mevcuttur. Bakteriyel translokasyon karaciğer hastalıkları, sepsis gibi durumlarda enfeksiyon gelişiminde rol oynadığı düşünülen bir durumdur. Ayrıca, Janse ve ark. R702W NOD2 variantının ortotopik karaciğer transplantasyonu sonrası artmış bakteri enfeksiyonu riski ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (13).

Bu çalışmada LDLT sonrası biliyer darlık nedeniyle endoskopik tedavi uygulanan hastalarda bazı NOD2 varyantlarının (p.G908R, c.3020insC, p.R702W ve 1007fs) hastanede kalış süresi ve endoskopik tedavi sonuçları üzerindeki etkilerini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer Transplantasyonu

Günümüzde medikal tedavi yöntemleriyle tedavi edilemeyen ve yaşamı tehdit eden son dönem karaciğer yetmezliğindeki hastalara önerilen yaşamı koruyucu ve sürdürücü tek tedavi yöntemi karaciğer transplantasyonudur. Karaciğer transplantasyonu, beyin ölümü gerçekleşmiş ya da tamamen sağlıklı insanlardan, normal fonksiyonları devam eden karaciğer dokusunun bir kısmının alınıp hastalıklı karaciğer dokusu ile değiştirilmesidir (14). Karaciğer transplantasyonu; akut fulminan hepatit, son dönem karaciğer hastalıkları ve bazı metabolik karaciğer hastalıklarının tek tedavi seçeneğidir. Organ transplantasyonları arasında karaciğer transplantasyonu önemli farklılıklar gösterir. Teknik olarak diğer solid organ transplantasyonlarından daha güçtür (15).

2.1.1. Karaciğer Transplantasyonunda Biliyer Komplikasyonlar

Karaciğer nakli sonrası biliyer komplikasyonlar %9-33 insidansla görülen önemli problemlerden birisidir (16). Karaciğer transplantasyonunda alıcıda morbidite ve mortalitede en önemli basamak biliyer anastomoz komplikasyonlarıdır (17). Biliyer komplikasyonların laboratuvar tanı kriterleri arasında bilirubin, alkalen fosfataz ve beyaz küre yüksekliği mevcuttur. Steroid ve immünsüpresanlar, komplikasyonları maskeleyebileceğinden minimal klinik semptomlar karşısında dahi karaciğer fonksiyon testlerindeki anomaliler biliyer problemlere karşı bizi uyarıcı olmalıdır (18).

Spesifik biliyer komplikasyonlar şu şekilde gruplanabilir (19);

1. Safra kaçağı
 1. Anastomotik kaçak
 1. Safra kanalı uç-uca anastomozu,
 2. Bilioenterik anastomoz
 2. Anastomotik olmayan kaçak
 1. T-tüpe bağlı
 2. Safra kanalının nekrozuna bağlı
 3. Hepatektomi kesi yüzeyinden
2. Safra kolleksiyonu (Biloma)/(Biliyer apse)

3. Safra kanalı tıkanıklığı
 1. Ekstrahepatik tıkanıklık
 1. Anastomotik striktür
 2. Anastomotik olmayan striktür
 2. İntrahepatik tıkanıklık
 1. Lokalize
 2. Multipl
4. Papiller diskinezi/Ampuller fonksiyon bozukluğu
5. Safra taşı, çamuru
6. Bilioenterik anastomoza bağlı safra kanalı komplikasyonları
 1. Barsak perforasyonu
 2. Gastrointestinal kanama
 3. Kolanjit
 4. Kör loop sendromu
7. Diğerleri
 1. Hemobilia
 2. Mukosel

2.1.1.1. Anastomotik Striktür

Karaciğer naklinden sonra ortaya çıkan biliyer komplikasyonların %40'ını safra kanalı darlıkları oluşturur. Nakil sonrası erken dönemde gelişen striktürler çoğunlukla teknik problemlerden gelişirken, geç striktürler genel olarak vasküler yetmezlik, iskemi ve iyileşme ve fibrozis ile ilgili sorunlardan kaynaklanmaktadır (20). Biliyer komplikasyonlar alıcılarda önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. En sık görülen komplikasyonlar safra sızıntıları, safra yolu darlıkları ve safra kanalı taşlarıdır. Bu komplikasyonların insidansı farklı raporlarda %10 ile %25 arasında değişmektedir, ancak oranlar zaman içinde azalmaktadır (21). Anastomotik darlıkların büyük çoğunluğu nakilden sonraki ilk 12 ay içinde ortaya çıkar (22). Karaciğer naklinden sonraki altı ay içinde belirlenen anastomoz darlığı genellikle kısa süreli stentlemeye iyi yanıt verir (üç ila altı ay) (23). Uç uca anastomoz varsa, biliyer komplikasyonların çoğu endoskopik retrograd kolanjiyografi ile güvenli ve etkili bir şekilde çözüme kavuşturulur (24).

2.2. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi (ERCP)

Endoskopik retrograd kolanjiopankreatikografi (ERCP) safra yolları ve pankreas hastalıklarının tanı ve tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (25). ERCP postoperatif biliyer kaçak ve darlıklar, tekrarlayan akut pankreatitli hastalar, kronik pankreatitte semptomatik darlıklar, kötü huylu biliyer tıkanma, semptomatik pankreas kanalı taşları, pankreas kanalı bozulmaları veya sızıntıları, semptomatik pankreas psödokistlerini ve iyi huylu pankreas sıvısı koleksiyonlarını boşaltmak için oldukça etkili bir tedavi yöntemidir (26).

2.2.1. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi Komplikasyonları

Endoskopik işlem karaciğer nakli sonrası güvenli olarak kabul edilir. Prosedür başına %6 ile %9'a varan bir komplikasyon oranı vardır (27). Karaciğer nakli olmayan hastalarda görülen %5 ila %8 komplikasyon oranından çok farklı değildir (28). ERCP işlemine bağlı sfinkterotomi yerinden kanama, post-ERCP pankreatit, kolanjit, perforasyon ve kardiyopulmoner (hipoksi, hipotansiyon ve aritmi) komplikasyonlar ile ölüm görülebilir (25). En sık görülen komplikasyonlar pankreatit, kolanjit ve post sfinkterotomi kanamasıdır. Diğer komplikasyonlar safra kaçağı, subkapsüler hematoma, perforasyon ve stentin yerinden kaymasıdır (29).

2.2.1.1. Endoskopik Retrograd Kolanjiopankreatografi Sonrası Enfeksiyon

Tedavi edici ve tanı koydurucu endoskopik girişimlerden sonra kolanjit, kolesistit, bakteriyel peritonit, sepsis, santral sinir sistemi enfeksiyonları gibi komplikasyonlar bildirilmiştir. En sık bakteriyemiye sebep olan girişim özellikle safra yollarında obstrüksiyon bulunan vakalarda yapılan ERCP işlemidir (30). Bakteriler, safra yollarına daha çok olarak retrograd olmak üzere, hematogen bir yolla da girebilir. Safra yolları normal olan kişilerde, anatomik bariyerler bu iki yolu da engeller. Bağışıklığı baskılanmış veya biliyer sistem tıkanıklıkları olan hastalarda bakteriyel savunma sistemi bozulmakta ve bu komplikasyonlara karşı daha duyarlı hale gelmektedirler (31). Enterik bakteriler, ERCP sonrası enfeksiyonlardan sorumlu en sık görülen organizmalardır (32). Enfekte safrada polimikrobiyal enterik flora bulunur, kan kültüründe ise hastaların çoğunda tek organizma izole edilir (33).

2.3. Bakteriyel Translokasyon

Bağırsak mukozasında hasar oluştuğunda gastrointestinal sistem içerisindeki flora bakterilerinin, mezenterik lenf nodu (MLN), karaciğer, dalak, böbrek, peritoneal kavite ve kan gibi steril ekstraintestinal ortamlara geçmesi, bakteriyel translokasyon olarak tanımlanır. Bu durum, mortalitesi yaklaşık %70 olan çoklu organ yetmezliğine neden olmaktadır (34). Bu mekanizma ilk olarak 1979 yılında tanımlanmış olup bakteriyel translokasyon (BT) olarak adlandırılmıştır (35).

Bakteriyel translokasyon; intestinal obstrüksiyon, hemorajik şok, ciddi travma, majör yanık, siroz, tıkanma sarılığı, immunsupresyon, intestinal radyasyon, gram negatif bakteriyel enfeksiyon ve multiorgan yetmezliği gibi durumlarda artar (36). Barsağın bu immün ve inflamatuvar yanıtta önemli rol oynadığını düşünülmektedir. Deneysel verilere göre bu yanıtta rol alan endojen sitokinler, endotoksin ve diğer bakteriyel ürünlerce uyarılmaktadır. Ana mekanizmalar intestinal aşırı çoğalma, intestinal geçirgenliğin bozulması ve konak immünitesinin zayıflığından dolayıdır (37).

Yeni veriler bakterilerin intestinal bariyerden geçmelerine gerek olmayabileceğini göstermiştir. Bağırsağın toksik ürünlerinin veya bağırsak duvarında üretilen inflamatuvar bileşiklerin translokasyonu sistemik semptomlardan sorumlu olabilir. Bu durum bakteriyel translokasyonun tanımını bağırsak geçirgenliği ile ilişkili olarak sadece canlı bakterilerin değil beraberinde antijenlerin veya endotoksinlerin bağırsak lümeninden dolaşıma geçip sistemik inflamasyon ve uzak organ hasarına sebep olması şeklinde genişletildi (38).

2.3.1. İntestinal Bakteriyel Overgrowth

İntestinal bakteriyel overgrowth (İBO) ince bağırsakta anormal bakteriyel çoğalma ile karakterize bir durumdur (39). Bakteriyel translokasyonda en önemli faktör olup bakteri popülasyonundaki bu artış; mukozal bariyerde bozulma ve intestinal geçirgenlik artışı olmamasına rağmen bakteriyel translokasyona yol açabilir (40). Muhtemelen intestinal geçişin yavaşlaması, düşük gastrik asit miktarı, pankreatik ve safra sekresyonlarındaki değişiklikler bakteriyel aşırı çoğalmaya sebep olmaktadır (41). Safra salgılarının barsak mukozası üzerinde uyguladığı trofik etki ve endotoksini nötralize etmesi bakteriyel aşırı çoğalmayı önler (42).

2.3.2. İntestinal Geçirgenlik Artışı

Bağırsak bariyeri toksik maddelere ve patojen bakterilere karşı büyük bir savunma görevi görür. İntestinal bariyer; intestinal epitel hücrelerince salgılanan müsinöz komponent ve maddelerin seçici geçişine izin veren epitel hücrelerince oluşturulan sıkı bağlantılarca (tight junctions) oluşturulur (43). Enterosit goblet hücrelerince müsin salgılanır. Müsin içeriğinde bulunan kalın glikoproteinler lümen boyunca bir tabaka oluşturur ve bakterilerin enterosit mikrovillusları ile temas kurmasını önler (44).

Bağırsak bariyerini bozan durumlar iskemi, hemoraji, yanıklar, intestinal obstrüksiyonlar, bakteriyel enfeksiyonlar, radyasyon, travma, Crohn ve ülseratif kolit gibi inflamatuvar hastalıklar, tıkanma sarılığı ve sitotoksik ajanlar olarak sıralanabilir. Bu durumlar arasında iskemi-reperfüzyon hasarı önemli bir yer tutar. Hipovolemik ve kardiyojenik şokta beyin ve kalp gibi hayati organlara kan daha çok yöneleceğinden splanknik damarlarda vazokonstriksiyon olur ve intestinal kan akımı azalır. Bu durumda mukozal bariyer zarar görür ve intestinal geçirgenlik artar, bakteri ve endotoksinler sistemik dolaşıma geçerler (45, 46).

2.3.3. İmmünolojik Zayıflama

Vücudun en büyük immunolojik organı intestinal immün sistemdir (44). İntestinal immün sistem lenf folikülleri, lamina propria lenfositleri, mezenterik lenfoid hücreler ve IgA'dan oluşurlar. Peyer plakları ince bağırsağı çevreleyen lenf dokusu plaklarıdır. Antijenik uyarı ile oluşan T ve B lenfositler peyer plaklarını terk ederek mezenterik lenf nodlarına oradan da lenfatik kanallar aracılığıyla vücudun çeşitli kısımlarına giderler. MLN veya portal kana transloke olan bakteriler bağışıklığı düşük olan hastalarda bakteriyemi ya da enfeksiyonlara neden olmaya başlamadan önce etkisizleştirilirler (44). IgA mukozadaki B lenfositler tarafından üretilir ve sekretuar immunglobulin A olarak bağırsak lümenine salınır. İntestinal lümene salınan IgA bakteriyel invazyona karşı ilk savunma durumunu oluşturur. IgA barsak yüzeyine bakteri adezyonunu ve fagositozu önlemektedir. Bu durum lokal immünitenin sağlanmasını ve bakteriyel translokasyonun engellemesini sağlar (47).

2.3.4. Bakteriyel Translokasyonun Tanı Metotları

Bakteriyel translokasyon, mezenterik lenf nodları kültüründe üreme olması durumudur. Tanı konması invaziv bir yöntem olması sebebiyle kullanılmamaktadır (48). Tanı koymak için kullanılan bazı testler şunlardır; Krom- 51 etilen diamin tetraasetat atılım testi, glukoz nefes testi, duodenal zonula tıkanıklıklarının immünohistokimyasal olarak bakılmasıdır (49). Bunlar dışında Gram(-) bakterilerde bakteri duvarının majör komponenti olan lipopolisakkaritler (LPS) ölçümü kullanılabilir. Karaciğerde üretilen LPS bağlayıcı protein düzeyi ölçümüne bakılarak tanı konulabilir. Şu anda, BT için en uygun markırın ne olduğu bilinmemektedir.

2.3.5. Bakteriyel Translokasyon Mekanizması ve Kliniği

Peritonun bakterilerle kontaminasyonu sonrası uzaklaştırılması iki önemli mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan birincisi diyafragmatik lenfatikler, diğeri ise immün yanıt (hücrel ve humoral) mekanizmalarıdır (50). Endojen bakteriler MLN'na geçerler ancak sistemik yolla başka dokulara geçemezler. Sağlam immün sistem tarafından bu bakteriler ortadan kaldırılarak enfeksiyon oluşturmaları engellenir ancak virulansı yüksek bakterilerin translokasyonunda ise immün sistem yetersiz kalabilir ve bakteri diğer dokulara geçebilir. Bu bakteriler karaciğer(kc), dalak ve böbrek gibi diğer dokulara ulaşır. Buralarda temizlenemez ise kan ve periton boşluğu gibi bölgelere sistemik yayılım gösterirler. Konakçı, bu dönemdeki sistemik enfeksiyonla başedebileceği gibi mide-barsak lümenindeki bakteriyel aşırı çoğalmanın seviyesine, immün yetmezliğin derecesine, mukozal harabiyetin şiddetine ve bakterinin patojenik özelliklerine bağlı olarak septik şoka da girebilir (51).

2.4. NOD2 Geni

Bakteriyel patojenleri tanıma ve vücuttan temizlemede görevli model tanıma reseptör ailesidir. NOD reseptörler nükleotid bağımlı oligomerizasyon alanlarını içerir. Bu reseptörler bakteriyel hücre duvarında yer alan muramil dipeptid (MDP)'i tanıyarak proinflatuar NF- κ B sinyal yolunu aktive eder (11). NOD2'nin azalmış fonksiyonu sonrası NF- κ B indüksiyonu azalır, devamında inflamatuvar yanıt ve bağırsaklarda üretilen antimikrobiyal peptidlerin (alfa densin gibi) üretimi azalır. NOD2, karaciğerde hepatosit ve bağışıklık hücrelerinde de bulunmaktadır ve muramil dipeptid üzerinden hücrel yanıtları, hepatik interferon (IFN) ve NF- κ B'yı stimüle eder (52).

NOD2 Kafkasyalılarda en az 30 varyasyon gösterirken, genellikle çalışmalarda 3 yaygın tek nükleotid polimorfizmi araştırılmıştır. Bunlar; çerçeve kayması mutasyonu 1007fs [3020insC, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) 13] ve 2 missens mutasyonu R702W (2104C4T, SNP 8) ve G908R (2722G4C, SNP 12) dir (11).

Yapılan çalışmalar NOD2 varyant taşıyıcılığı olanlarda lokal immün sistemin barsaklardaki BT'ü sınırlamada yetersiz kalabileceğini göstermiştir (53). Crohn hastalarından alınan intestinal biyopsilerle ilgili yapılan bir çalışmada, NOD2 varyasyonu (özellikle R702W ve 1007fs) olan kişilerde BT'ye korele olarak artmış intramukozal endotoksin seviyeleri, buna bağlı NF-κB aktivasyonu ve değişmiş epitelyal hücre-hücre bağlantısı gösterilmiştir (54).

Harputluoğlu ve ark. yaptıkları çalışmada spontan bakteriyel peritoniti (SBP) olan ve olmayan hastalar arasında NOD2 risk varyant sıklıklarında anlamlı bir fark bulunmadı. Asit sıvısındaki bakteriyel DNA miktarı NOD2 varyantları olan hastalarda varyant olmayan hastalardan daha yüksekti. Serum IL-6 seviyeleri SBP grubu olanlarda SBP olmayan gruba kıyasla daha yüksek bulunmuştu. SBP hastalarında BT ve NOD2'nin riskli varyantları arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edildi (12).

Guenther ve ark. yaptıkları çalışmada akut pankreatitli 941 hasta ile 926 kontrol grubu alındı. Çalışmada p.R702W mutasyonu taşıyıp p.G908R ve p.L1007fs mutasyonu taşımayan hastalarda şiddetli pankreatit ve mortalite riskinin arttığı saptandı. Şiddetli pankreatit sebebi ile ölen hastalarda %40 p.R702W aleli ve %16.4 wild type aleli saptandı. Multiple organ yetmezliği ile mutasyon arasında ilişki görüldü. Ama sepsis, tekli organ yetmezliği ve enfekte nekroz arasında ilişki saptanamadı. Çalışmada p.R702W mutasyonun akut pankreatitte artmış mortalite ve multiple organ yetmezliğinden sorumlu olduğu görüldü (55).

2.4.1. NOD2 Sinyal Yolağı

NOD2 proteini, hem gram negatif, hem de gram pozitif bakterilerin peptidoglikan tabakasının yıkımı ile ortaya çıkan MDP'ye duyarlı intraselüler bir proteindir. Hücre içindeki bakterilerin MDPleri sayesinde tanınması ve sonrasında patojenin temizlenmesi için, NOD2 yolağı ile direkt olarak antimikrobial peptidlerin, kemokinlerin ve sitokinlerin salınması sağlanarak doğuştan gelen immün sistem indüklenirken, öbür taraftan kazanılmış immün sistemin bakteriyle savaşına zemin hazırlanır (56).

Uyarılmamış haldeyken NOD2'nin lösine zengin (LRR) domainleri, geriye doğru nükleotid bağlanma domeyni (NBD) üzerine katlanarak proteinin inaktif halde

kamasını sağlarlar. Bakteri MDP'si ile karşılaşma sonrasında NOD2'de meydana gelen konformasyonel değişimler, hem NBD domaini aracılığıyla proteinin oligomerizasyonuna, hem de homotipik kaspaz aktive edici domeyn (CARD)-CARD etkileşimleri ile reseptör etkileşimli serin/treonin protein kinaz2 (RIP2)'nin bağlanmasına izin verir (57). NOD2'ye bağlanma ile RIP2 aktivasyonu olur ve bu aktif NOD2-RIP2 kompleksi, devamında mitojen ile aktive edilmiş protein (MAP) 24 kinaz yolağı, NF-κB yolağı, otofaji ve antijen sunumu gibi intraselüler sinyal yolaklarını aktive eder (58, 59). Bu yolaklardan ve etkileşimlerden en iyi anlaşılmış olan NOD2 nin NF-κB transkripsiyon faktörü üzerine olan etkisidir. İnflamatuvar hastalıklardan korunmak için NF-κB aktivasyonunun sağlam bir şekilde düzenlenmesi gerekmektedir. Aktivasyonun ve deaktivasyonun doğru bir şekilde koordine edilmesiyle, sadece fizyolojik olarak gereken durumlarda inflamasyon gerçekleşir (52).

2.4.2. NOD2 Varyantları ve Hastalıklar

NOD2 geninde 1384 tane genetik varyasyon bulunmuştur. Çok sayıda çalışma ile bu varyasyonlardan bazılarının hastalıklarla ilişkisini araştırılmıştır ve elde edilen sonuçlar, NOD2'nin viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda ki rolüne ek olarak, diğer bazı hastalıklarla olan ilişkisini de ortaya koymuştur. NOD2 mutasyonlarının inflamatuvar bağırsak hastalıkları ile ilişkisi araştırılmış ve üç yaygın varyantın (1007fs, G908R ve R702W) Crohn hastalığına yakınlıkla ilişkisi olduğu bildirilmiştir (60, 61).

2.5. İnterlökin 6

Öncelikle T ve B lenfositler, monositler, endotelial hücreler, fibroblastlar, keratinositler, astrositler, kemik iliği stromal hücreleri ve mezenkimal hücrelerce üretilir. İnterlökin-6 (IL-6) bunlar dışında, mesane, akciğer hücreleri, kardiyak miksoma, myeloma ve hipernefroma gibi tümör hücrelerince de sentezlenir (62). Molekül ağırlığı 26 kDA'dır. B hücre ve timosit için farklılaşma faktörü olarak görev yapmaktadır. T ve B hücre fonksiyonunu düzenleme, hematopoezi uyarma, Ig sekresyonu ve akut faz reaktanlarını artırarak inflamatuvar reaksiyonda görevleri bulunmaktadır. TNF-α gibi enfeksiyonlara karşı oluşturulan immün cevap ve konak savunmasında önemli görevi bulunmaktadır (52). Genel olarak akut faz düzenleyicisi ve lenfosit uyarıcı faktör olarak bilinmektedir. Lökosit aktivasyonu, göçü, farklılaşması ve canlılığının kontrolünden sorumludur (55).

IL-6 gen ekspresyonu TNF, IFN, IL-1 ve sikloheksimid tarafından arttırılırken glukokortikoidler tarafından azaltılır. İnterlökin-6, B lenfositlerin antikor yapmasını ve IgM, IgA, ve IgG üreten plazma hücrelerine dönüşümünü sağlar. IL-6, B lenfositlerin son dönemini etkiler. IL-6 reseptörleri istirahat halindeki T lenfositlerinde bulunurken, istirahat halindeki B lenfositlerinde bulunmamaktadır. IL-6 dalak ve timositlerde bulunan T lenfositlerden IL-2 reseptör ekspresyonunu artırarak sitotoksik T lenfosit oluşmasını sağlar. IL-3 ile IL-6 hücre kültürlerinde sinerjistik etki gösterirler. IL-6 makrofajlarda fagositozu arttırır, C3b, Fc gamma reseptörlerinin ortaya çıkmasını sağlar (63). Etkili olduğu diğer durumlar, akut faz reaktanlarının en önemli indükleyicisi olup pireksi yapar. TNF ve IL-1'in yaptığı kaşeksiyi IL -6 artırmaktadır. Kemik iliği stem hücrelerinin maturasyonunu destekler. Hepatositi stimüle ederek CRP, fibrinojen, C3 gibi akut faz proteinlerinin sentezini sağlar. Sepsis, AIDS, alkolik karaciğer hastalığı, otoimmün hastalıklar, lenfoma, organ ve greft rejeksiyonları ile çeşitli infeksiyon hastalıklarında serum IL-6 düzeyleri artmaktadır (64).

3. MATERYAL VE METOD

Temmuz 2016-Şubat 2019 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Gastroenteroloji servisinde canlı vericili karaciğer nakli olmuş ERCP yapılan hastalar dahil edildi. Çalışmaya 18 yaş üstü hastalar alındı. Çalışmamıza 2016/145 protokol no ile 27.07.2016 tarihinde etik kurul onayı alındı.

3.1. Gruplardaki Hasta Sayılarının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilecek hasta sayısı %95 güven aralığında %80 güçle transplantasyon alıcılarında herhangi bir NOD2 varyant sıklığı %13.6 (13) alındığında örnek büyüklüğü 199 olarak hesaplandı.

Grup 1 : ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler

Grup 2 : ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler

Toplam 200 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalar prospektif olarak belirlendi. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam alındı.

3.2. Klinik Örneklerin Toplanması

Çalışmamıza dahil edilen hastaların kanları ERCP işlemi yapıldığı gün alındı. NOD2 gen analizi için 9 ml edta içeren tüplere venöz kan alındı. Eliza kitleri için alınan kan 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatant 1.5 ml’lik numuneler şeklinde ependev tüplere konulup çalışma yapılacak güne kadar -70°C ‘de derin dondurucuda bekletildi. WBC, CRP, T.bil, ALP, GGT, Bun, kreatinin, INR, amilaz, lipaz değerleri rutin laboratuvar tetkikleri ile belirlendi.

3.3. Moleküler Yöntemler

3.3.1. NOD2 Gen Mutasyonlarının Tespiti

Örneklerden NOD2 gen varyasyonlarının tespiti için Appenrodt ve ark. (37) belirledikleri Real-Time PCR yöntemi kullanıldı. Bu yöntemle en sık görülen NOD2 varyantlarından p.R702W, p.G908R ve c.3020insC çalışıldı. Aynı zamanda bunlara ek olarak Bruns ve ark. kullandığı 1007fs de çalışıldı (52). Bu amaçla kullanılan primer/probların NOD2 geni üzerindeki mutasyonları aşağıda verilmiştir.

p.R702W: MGB_F CTGAGTGCCAGACATCTGAGAAG, MGB_R
GCTGCGGGCCAGACA, VIC CCTGCTCTGGCGCC, FAM CTGCTCCGGCGCC
p.G908R: MGB_FTGATCACCCAAGGCTTCAGC, MGB_R
GAACACATATCAGGTACTCA CTGACAC, VIC ACTCTGTTGCGCCAGA, FAM
CTGTTGCCCCAGAAT
c.3020insC: MGB_F CCAGGTTGTCCAATAACTGCATC;
MGB_RCCTTACCAGACTTCCA GGATGGT, VICTGCAGGCCCTTG,FAM
CTGCAGGCCCTTG
1007fs: Forward primer: GTCCAA TAACTGCATCACCTACCTAG, reverse primer:
CTTAC CAGACTTCCAGGATGGTGT, probe 1: FAM-CCCTCC
TGCAGGCCCTTGAAAT-TAMRA, probe 2: VIC-CCTC
CTGCAGGCCCTTGAAA-TAMRA

Real-Time PCR reaksiyonu için Quantitec Prob RT-PCR kit(lot no:7510614)
Top Taq Master Mix kit(lot no:163034736-160026914) kullanıldı

Reaksiyona her primerden 1 µl ve problardan 0,5 µl eklendi. Rotor Gene Q Real
Time PCR cihazında (Qiagen.Hilden.Germany) amplifikasyon koşulları 95 °C 15 dk
ilk denatürasyonun ardından 40 siklus olarak 94 °C de 15 saniye denatürasyon, 60 °C
de 1 dakika bağlanma (floresans ölçümü) olarak iki basamaklı şekilde uygulandı. NOD2
geni varyantların saptandığı örneklerde, DNA dizi analizi yapılarak (ABI PRISIM 310
cihazı) mutantlar doğrulandı.

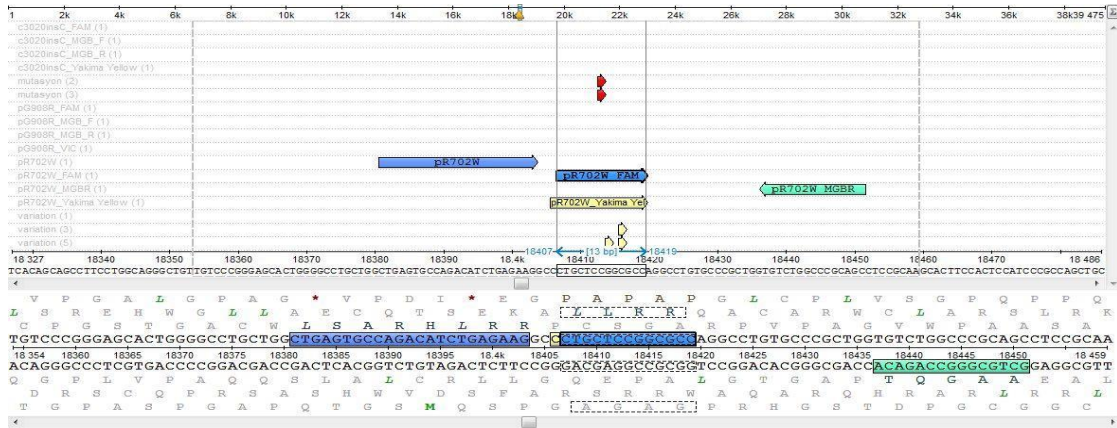
3.3.2. Baz Dizi Analizi

Mutasyon bölgelerini hedefleyen primerler ile amplifikasyon sonucu oluşan
ürünler, jelden DNA saflaştırma kiti ile baz dizi analizine hazırlandı. BigDye terminator
3.1 (Applied Biosystems) kiti ve ABI PRISIM 310 (Applied Biosystems) otomatik baz
dizi analizi cihazı kullanılarak, PZR ile çoğaltılan gen bölgelerinin dizi analizi yapılarak
mutasyonlar doğrulandı.

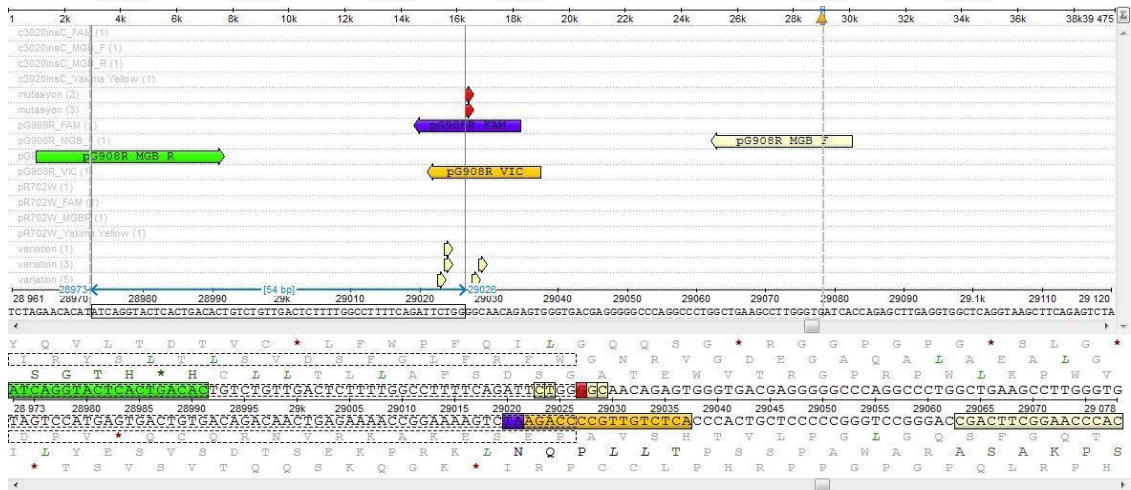
3.4. Eliza Kitlerinin Çalışılması

IL-6 düzeyleri (Catalog Number:201-12-0091 sunred biological technology No.128 Lane 628, Jufengyuan Road, Baoshan District, Shanghai) sensitivitesi 2.112 ng/ml, normal aralığı 3–600 ng/ml ELISA kiti ile çalışıldı.

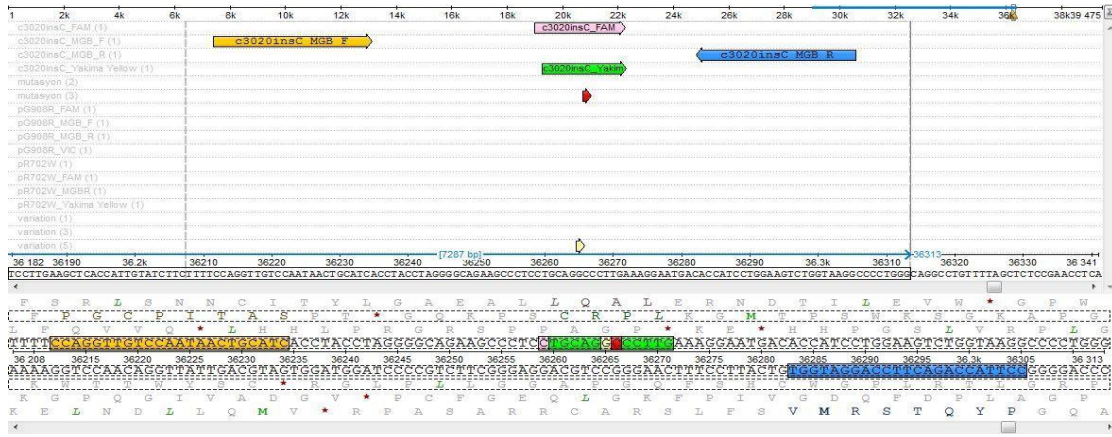
Basic Radim Immunoassay Operator (BRIO); Radim spa, Pomezia, Italy marka cihaz ve bu yöntemde uygun ELISA kitleri kullanıldı.



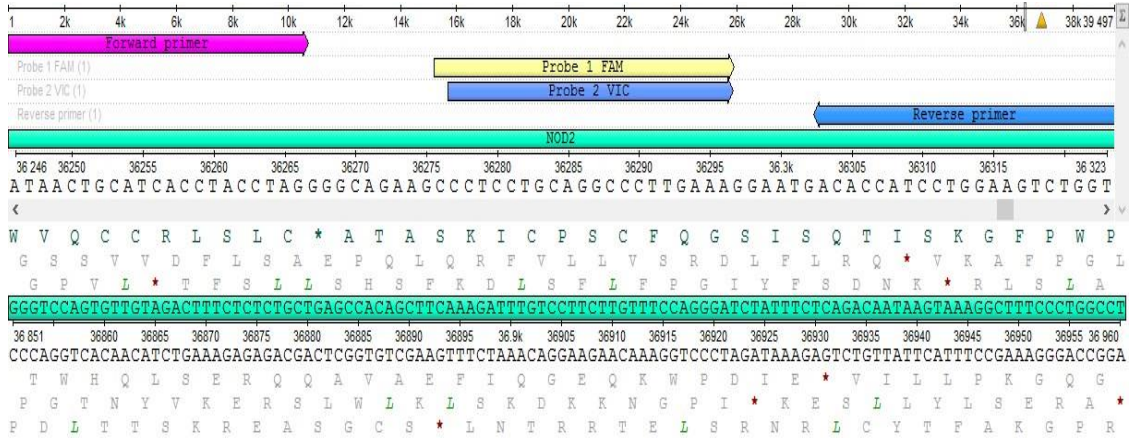
Şekil 3.1: p.R702W primer probleminin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi



Şekil 3.2: p.G908R primer problemlerinin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi



Şekil 3.3: c.3020insC primer probleminin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi



Şekil 3.4: 1007fs primer probleminin NOD2 geni üzerinde şematik gösterimi

FAM işaretli prob normal alel içeren bölgeye, VIC ile işaretli prob ise 1007fs mutasyonuna özgül belge ile hibridize olmak üzere Bruns ve ark. tarafından dizayn edildiler.

3.5. İstatistik

Veriler medyan (min-maks) ve sayı (yüzde) ile verildi. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. İstatistik analizlerde Mann-Whitney U testi, Pearson ki-kare testi, Yatesin düzeltmeli ki-kare testi, Fisher kesin ki-kare testi uygun olan yerlerde kullanıldı. Nitel değişkenler arasındaki ilişki ise Phi katsayısı ile verildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Analizlerde IBM SPSS Statistics 25.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin gruplara göre cinsiyet, yaş ortalamaları ve transplantasyon sonrası ERCP işlemi arasında geçen sürelerin ortalamaları Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Gruplar arasında cinsiyet, yaş ortalamaları ve transplantasyon-ERCP arası geçen süre açısından anlamlı fark gözlenmedi. Uzun yatan grupta ortalama yatış süresi 7.29 ± 6.56 gündü.

Tablo 4.1: Gruplara göre cinsiyet, yaş ve transplantasyon-ERCP arası süre

	ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler	ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler	P
Cinsiyet (K/E)	74/26	68/32	NS
Yaş	47.18 ± 1.29	50.61 ± 1.34	NS
Transplantasyon-ERCP arası süre (ay)	33.99 ± 3.15	33.01 ± 3.02	NS

NS: $P > 0.05$ K: Kadın E: Erkek ERCP: Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin transplantasyon komplikasyonu olan biliyer striktürlerin ERCP işlemi ile geçilemeyenlerin gruplar arası karşılaştırılması Tablo 4.2'de gösterilmiştir. ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilen grupta striktürü geçilemeyen hasta sayısı diğer gruptan anlamlı şekilde yüksekti. (%34'e %0, $p < 0.0001$).

Tablo 4.2: ERCP işlemi ile biliyer striktürleri geçilemeyenlerin gruplar arası karşılaştırılması

ERCP sonucu	ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler	ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler	P
Striktür geçilemedi (n: hasta sayısı)	0/100 (%0)	34/100 (%34)	< 0.0001

ERCP: Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin gruplara göre IL-6, WBC, CRP, total bilirubin, ALP, GGT, Bun, kreatinin, INR, amilaz ve lipaz düzeyleri karşılaştırması Tablo 4.3'de gösterilmiştir. Gruplara göre kreatinin ve INR ortalama değerleri haricinde bakılan diğer tüm parametreler arasında anlamlı fark gözlemlendi.

Tablo 4.3: Gruplara göre IL-6, WBC, CRP, total bilirubin, ALP, GGT, BUN, kreatinin, INR, amilaz ve lipaz düzeyleri

Laboratuvar Parametreleri	ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler	ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler	P
IL-6	8.37 ± 1.62	281.26 ± 141.7	0.001
WBC(10 ⁹ /L)	6.11 ± 0.16	7.58 ± 0.44	0.003
CRP(mg/dL)	0.49 ± 0.85	5.15 ± 0.52	0.000
T. Bilirubin(mg/dL)	1.03 ± 0.05	3.70 ± 0.5	0.000
ALP (U/L)	152.72 ± 9.83	314.47 ± 24.84	0.000
GGT(U/L)	73.55 ± 6.99	299.74 ± 38.48	0.000
BUN(mg/dL)	11.37 ± 0.52	14.05 ± 0.79	0.022
Kreatinin (mg/dL)	0.84 ± 0.02	1.67 ± 0.76	NS
INR	1.09 ± 0.01	1.13 ± 0.02	NS
Amilaz(U/L)	37.64 ± 1.92	81.60 ± 19.9	0.000
Lipaz(U/L)	19.32 ± 1.2	89.54 ± 44.67	0.002

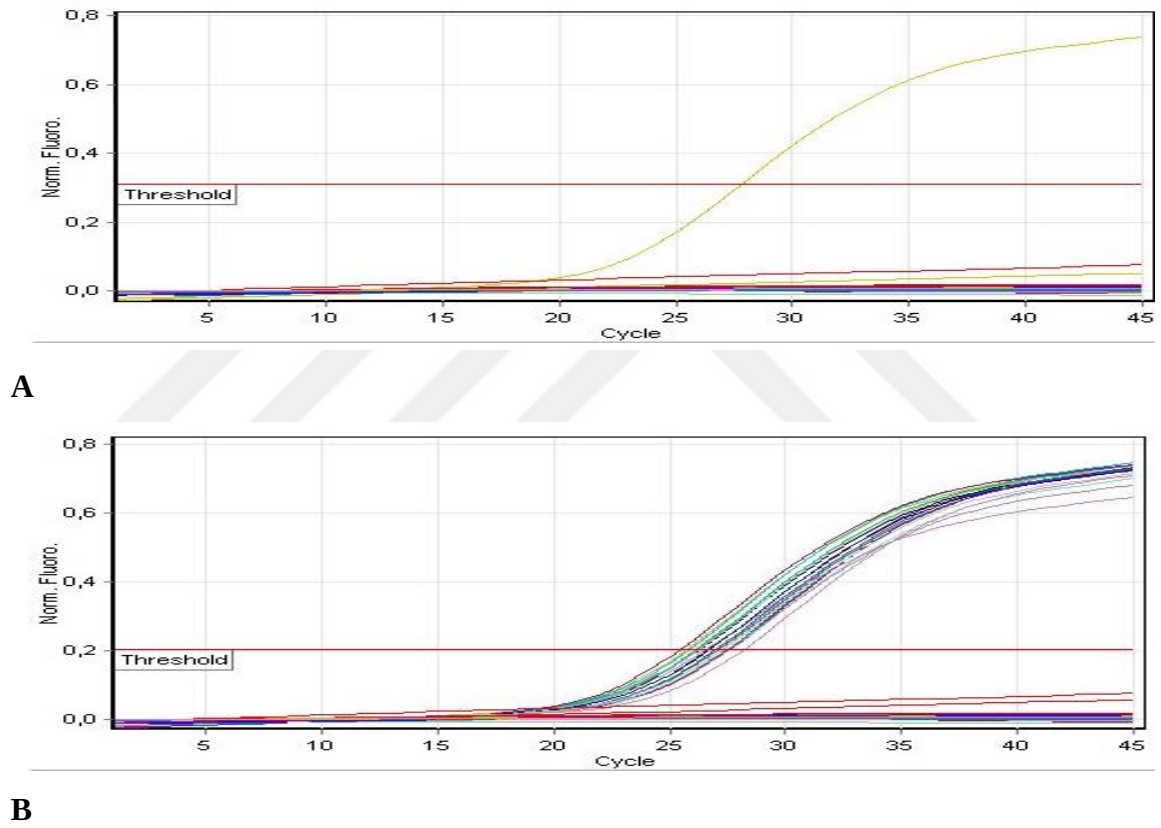
NS:P>0.05 IL-6: İnterlökin 6 WBC: Beyaz küre CRP: C-reaktif protein T. Bilirubin: Total bilirubin ALP: Alkalen fosfataz GGT: Gama glutamil transferaz BUN: Kan üre nitrojen INR: Uluslararası düzeltme oranı

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin gruplara göre NOD2 mutasyonlarının sıklığı Tablo 4.4'de gösterilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hiçbir hastada p.G908R ve c.3020insC mutasyonları saptanmadı. Çalışmamızda p.R702W mutasyonu ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler grubunda hiçbir hastada saptanmaz iken, ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler grubunda 10 hastada saptandı. İki grup arasında p.R702W mutasyon sıklığı istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıydı (p:0.002). 1007fs mutasyonu ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler grubunda 3 hastada saptandı. Buna karşın bu mutasyon ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler grubunda 14 hastada saptandı. İki grup arasında 1007fs mutasyon sıklığı istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklıydı (p:0.011).

Tablo 4.4: Gruplara göre NOD2 mutasyonlarının sıklığı

NOD2 Mutasyonları	ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler	ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler	P
p.G908R	0(%)	0(%)	NS
c.3020insC	0(%)	0(%)	NS
p.R702W	0(%)	10(%10)	0.002
1007fs	3(%3)	14(%14)	0.011

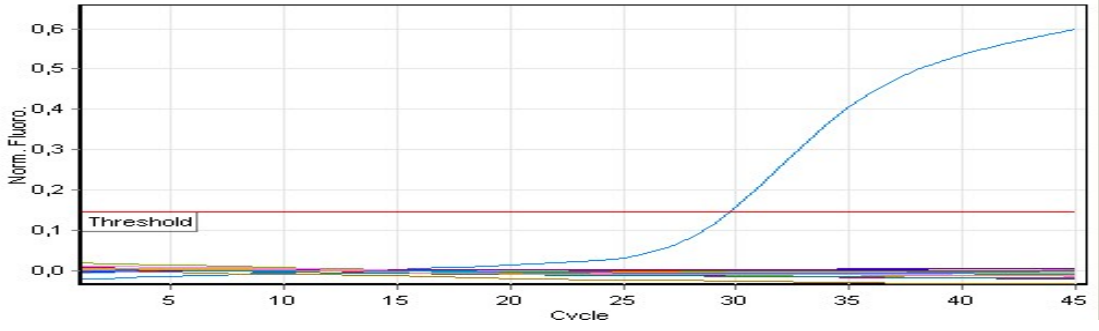
NS: P>0.05 ERCP: Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi



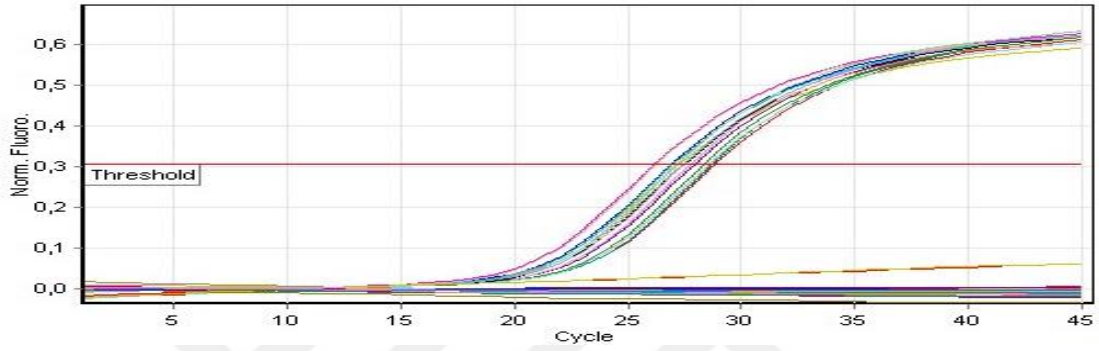
Şekil 4.1: Real-time PCR ile p.R702W mutasyonun araştırılması.

A) FAM işaretli prob ile normal aleller çoğaltılmış.

B) Yakıma red ile işaretli prob ile p.R702W mutasyonun gösterilmesi. (pozitif kontrol olarak dizi analizi ile p.R702W doğrulanmış hasta örneği kullanılmıştır)



A



B

Şekil 4.2: Real-time PCR ile 1007fs mutasyonun araştırılması

A) FAM işaretli prob ile normal aleller çoğaltılmış.

B) Yakıma red ile işaretli prob ile 1007fs mutasyonun gösterilmesi. (pozitif kontrol olarak dizi analizi ile 1007fs doğrulanmış hasta örneği kullanılmıştır)

Tablo 4.5 de ERCP bulguları, p.R702W ve 1007fs mutasyonları ile yatış süresi arasındaki ilişki gösterilmiştir. ERCP’de darlığın geçilememesi ile uzun yatış süresi arasında orta düzeyde bir ilişki vardır. p.R702W mut ve 1007fs mut olması ile uzun yatış süresi arasında zayıf bir ilişki vardır.

Pearson r için nitelendirme:

Phi değeri	Nitelendirme
0.00 -0.19	İlişki yok ya da önemsizmeyecek düzeyde düşük ilişki
0.20-0.39	Zayıf(düşük) ilişki
0.40-0.69	Orta düzeyde ilişki
0.70-0.89	Kuvvetli(yüksek) ilişki
0.90-1.00	Çok kuvvetli ilişki

Tablo 4.5: ERCP bulguları, p.R702W ve 1007fs mutasyonları ile yatış süresi arasındaki ilişki

	ERCP sonrası ilk 24 saatte taburcu edilenler(sayı)	ERCP sonrası ilk 24 saatten sonra taburcu edilenler(sayı)	Korelasyon kat sayısı (Phi değeri)
ERCP de darlığı geçilemeyenler	0	34	0.453
p.R702W	0	10	0.229
1007fs	3	14	0.197

ERCP: Endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, iki NOD2 varyantı (p.R702W ve 1007fs) ERCP'den sonraki ilk 24 saat sonra taburcu edilen grupta anlamlı olarak daha sık görülmüştür. LDLT sonrası biliyer darlık nedeniyle ERCP uygulanan hastalarda endoskopik tedavi başarısızlığı uzun hastaneye yatışa yol açan önemli bir faktördür. Endoskopik tedavi yetersizliği genellikle darlık geçilememesinden kaynaklanır. Bizim çalışmamızda da uzun hastanede yatan grupta diğer gruplarla karşılaştırıldığında daha fazla hastada darlık geçilemedi (% 34'e karşı % 0, $p < 0.0001$). Alt analizde, NOD2 varyantının varlığı ile hastanede kalış süresi arasında bir ilişki olduğu tespit edildi. Bu ilişki, hastanede kalış süresi ile darlığı geçememe arasındaki ilişki kadar güçlü değildi. NOD2 varyantları kendi aralarında değerlendirildiğinde, p.R702W mutasyonu ve hastanede kalış süresi arasında daha belirgin bir ilişki vardı

Karaciğer nakli, akut ve kronik karaciğer yetmezliğinin tedavisinde hayat kurtarıcı bir tedavi yöntemidir. Bugün, tüm teknik ve bilimsel gelişmelere rağmen, biliyer komplikasyonlar karaciğer transplantasyonu sonrası sonuçları üzerinde hala önemli bir etkiye sahiptir. Roy Calne “karaciğer transplantasyonunda aşıl tendonu safra yolu anostomozudur” diyerek safra yolu komplikasyonlarının, karaciğer transplantasyonları için en önemli morbidite nedeni olduğunu belirtmiştir (65). Bu komplikasyonlar özellikle LDLT'den sonra daha ciddi bir problemdir. LDLT sonrası darlığı olan hastalarda, ERCP sonrası hastanede yatış süresinin uzamasının ana nedeni, darlığın endoskopik olarak geçirilememesidir. LT sonrası biliyer komplikasyonları olan hastalarda endoskopi tedavilerinin sonuçları hakkında bir çok çalışma vardır (66, 67). Bununla birlikte, bu hasta grubunda konakçı faktörlerin (özellikle konakçının bağışıklık sistemi) hastanede kalış süresi üzerindeki etkileri konusunda neredeyse hiçbir çalışma yoktur.

Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı 2, doğuştan gelen bir bağışıklık sisteminin bir bileşenidir ve konakçı bağışıklık sistemini uyaran bir hücre içi tanıma reseptörüdür (68). Nakil olmuş kişi de immünsupresif ilaç tarafından kazanılmış immün sistem baskılandığından, alıcı doğal immün sisteme bağımlı hale gelir (69). Doğal immün sistem patojeni direkt olarak lenfosit bağımsız bir şekilde öldürebilir veya kazanılmış immüniteyi aktive edebilir. Doğuştan gelen immünitenin çeşitli yollarında, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) bilinmektedir. immün sistemi baskılanmış hastalarda (örn. Kemik iliği alıcıları) bu polimorfizmlerin artmış enfeksiyon oluşumu veya ciddiyeti ile

ilişkilendirilmiştir. Bu tür SNP'lerin canlı vericili karaciğer nakli sonrası enfeksiyon riskini ve şiddetini etkileyebileceği düşünülmektedir (69, 70).

Janse ve ark. yaptıkları çalışmada alıcıdaki NOD2 varyantı R702W'nin varlığının karaciğer nakli sonrası artan bakteriyel enfeksiyon riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu ilişkinin, artan bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkili cinsiyet gibi klinik değişkenlerden bağımsız olduğu bulundu (13). Ayrıca, bu NOD2 R702W ilişkisinin, donör karaciğerin lektin kompleman yolundaki daha önce tarif edilen enfeksiyon riski mutasyonlarından bağımsız olduğu gösterilmiştir (13, 71). Bizim çalışmamızda da R702W mutasyonu olan kişiler enfeksiyon nedeni ile uzun süre hastanede yatmışlardır.

Üç NOD2 SNP tanımlanmıştır ve varyantlar; Crohn, artrit, ve astım gibi inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (13, 72, 73). Sanclemente ve ark. yaptıkları bir çalışmada karaciğer nakli sonrası enfeksiyon gelişmesi ile doğuştan gelen immün yanıt arasındaki ilişki belirli SNPlar bakılarak incelenmiş. Bu çalışmada NOD2 de bakılmış olup, bu polimorfizm için homozigot alıcıların, heterozigot veya vahşi tipten daha erken enfeksiyon geliştirdiğini gözlemlemişlerdir. Ancak, bu sonuç az sayıda hastadan elde edilmiştir.(74)

Jüngst ve ark. yaptıkları bir çalışmada NOD2 varyantlarının yoğun bakım hastalarında gelişen sklerozan kolanjit (SC-CIP) üzerindeki etkisini araştırmıştır. SC-CIP kronik biliyer enfeksiyonlar ile karakterize, etyolojisi bilinmeyen kolestatik bir hastalıktır. Bu çalışmada 4.641 endoskopik retrograd kolanjiyografi prosedürü taranarak, SC-CIP'li 17 hastayı tanımlamışlar (Grup 1) ve daha sonra bu hastalarda üç ortak NOD2 mutasyonu için genotiplendirme yapılmıştır. İlişkiyi doğrulamak için daha sonra üç ek tıbbi merkezin SC-CIP kohortlarındaki 29 hastada bu NOD2 varyantları test edilmiştir (Grup 2). Grup 1'de NOD2 varyantları, 17 SC-CIP hastasının 5'inde (% 29.4) grup 2'de 29 hastanın 8 'inde (% 27.6) görülmüştür. SC-CIP'li hastalarda NOD2 mutasyonları daha sık bulunmuştur. Her iki kohortta, tüm NOD2 varyantları heterozigot bulunmuştur. Sağlıklı bireylerde NOD2 varyantlarının yayınlanmış frekanslarına dayanarak, NOD2 minör allellerinin taşıyıcılarının SC-CIP gelişme riskinin en az 2 kat artmış bir riski olduğunu tahmin etmişlerdir (OR: 2.19,% 95 CI 1.16-2.95, p: 0.026) (76). Bu çalışmada genel popülasyondaki gibi özellikle p.R702W varyantı yüksek bulunmuştur (75, 76). Bu p.R702W varyantını taşıyan karaciğer nakli alıcılarının bakteri enfeksiyonu riskinin yüksek olduğu gözlemine paraleldir (13). Çalışmamızda da p.R702W varyantı ERCP'den sonraki ilk 24 saat sonra taburcu edilen grupta daha sık bulunmuştu. Tüm bu veriler

özellikle p.R702W varyantının karaciğer nakil hastalarında ERCP işlemi sonrası hastanede yatış süresi üzerinde bir role sahip olduğunu düşündürmektedir.

Bir çalışmada, kusurlu NOD2 algılayanın karaciğerde bağırsak translokasyonunu ve bakteriyel invazyonu arttırdığı ve bunun da iltihaplanmaya yol açtığı gösterilmiştir (77). Yapılan çalışmalarda NOD2 varyant taşıyıcılarının lokal immün sisteminin barsaklardaki BT'ü sınırlamada yetersiz kalabileceğini göstermiştir (78). NOD2'nin yoğun bakımdaki sepsisli hastalarda mortalite artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (79). Bizim çalışmamızda da karaciğer transplasyonu hastalarında ERCP sonrası uzun yatış ile NOD2 varyantları arasında bir ilişki bulundu. Yukardaki bilgiler ışığında sonuçlarımız NOD2 varyantlarının karaciğer transplantasyonu sonrası biliyer komplikasyonlu hastalarda hastanede yatış için bir risk faktörü olduğunu düşündürmektedir.

NOD2 gen mutasyonlarının inflamatuvar hastalıklar ve kemik iliği nakli hastalarında graft-versus-host hastalığının şiddetini arttırdığı gösterilmiştir. Karaciğer nakli hastalarında NOD2 polimorfizmiyle ilgili çalışmalar son derece azdır. Saner ve ark. yaptıkları çalışmada non alkolik karaciğer alıcılarında NOD2 genlerinin SNP (single nükleotid polimorfizm)'leri dahil olmak üzere 13 farklı gen varyantından SNPlar analiz edilmiştir. Bu çalışmada NOD2 varyantına sahip olan hastaların 3 yıllık sağ kalım oranları varyanta sahip olmayanlarda daha düşük bulunmuştur (%42.6 - %66.8, p=0.026). Yazarlar NOD2 gen varyantlarının alkolik olmayan karaciğer nakli alıcılarında sağ kalımda önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır (80). Biz çalışmamızda sağ kalımı değerlendirmedik ancak Saner ve ark. yaptıkları çalışma bizim çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir ve NOD2 varyantlarının karaciğer nakil hastalarında klinik sonuçlar üzerinde etkili bir faktör olduğunu düşündürmektedir.

IL-6 immün sistem medyatörlerinden biridir. Otoimmün hastalıklar, sepsis, AIDS, lenfoma, alkolik karaciğer hastalığı, organ ve graft rejeksiyonları ile çeşitli enfeksiyon hastalıklarında serumda IL-6 seviyeleri artmaktadır. Reiberger ve ark. yaptıkları çalışmada ciddi portal hipertansiyonu olan hastalarda IL-6 düzeylerinin yükselmiş olduğunu bildirmiştir. Onlar ayrıca NOD2 varyantlarının bakteriyel translokasyonun yükselmiş belirteçlerine eşlik ettiğini bildirmiştir. (81). Suliman ve ark. tarafından yapılan çalışma da asitli sirotik SBP'li hastalarda serum IL-6 düzeylerinin steril asiti olan hastalara göre daha yüksek saptanmış olup IL6'nın SBP'nin patogeneğinde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir (82). Biz de yaptığımız çalışmada 24 saatten kısa yatan hastalar ile 24 saatten uzun yatan hastaların IL-6 düzeyleri arasında fark olup olmadığını inceledik. Çalışmamızda 24 saatten uzun yatan hasta grubunda IL-6 düzeyi istatistiksel

olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu (p: 0.005). Bu sonuç IL-6 ile ilgili yukarda bahsedilen çalışmalarla uyumludur ve karaciğer nakli hastalarında hastanede yatış süresi ve inflamatuvar sitokinlerden bir olan IL-6 arasında anlamlı bir ilişkili olduğunu düşündürmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, iki NOD2 varyantı (p.R702W ve 1007fs) ERCP'den sonraki ilk 24 saat sonra taburcu edilen grupta anlamlı olarak daha sık bulundu. NOD2 varyantları kendi aralarında değerlendirildiğinde, p.R702W mutasyonu ve hastanede kalış süresi arasında daha belirgin bir ilişki vardı. Sonuçlarımız özellikle p.R702W varyantı başta olmak üzere NOD2 varyantlarının karaciğer nakil hastalarında ERCP işlemi sonrası hastanede yatış süresi üzerinde bir role sahip olduğunu düşündürmektedir.

Karaciğer transplantasyon hastalarında NOD2 varyantlarının klinik sonuçlar üzerine etkileriyle ilgili yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Bu çalışmaların önemi, nakil öncesi her hasta için kişiselleştirilmiş risk profilleri oluşturma ve nakil sonrası profilaktik stratejilerin geliştirilmesidir. Bu konu hakkında daha fazla çalışma yapılması karaciğer transplantasyonu hastalarında uzun dönem sonuçlar üzerine olumlu katkılar sağlayabilir.

KAYNAKÇA

1. Kasapoğlu B, Yalçın K, Türkay C. Canlı donörden karaciğer transplantasyonu. *Güncel Gastroenteroloji*. 2010;14:96-102.
2. Koksall AS, Eminler AT, Parlak E, Gurakar A. Management of biliary anastomotic strictures after liver transplantation. *Transplantation Reviews*. 2017;31:207-17.
3. Body-Malapel M, Dharancy S, Berrebi D, Louvet A, Hugot J-P, Philpott DJ, Giovannini M, Chareyre F, Pages G, Gantier E. NOD2: A potential target for regulating liver injury. *Laboratory Investigation*. 2008;88:318-27.
4. Dişibeyaz S. Pankreatobiliyer Cerrahi ve Karaciğer Transplantasyonu Komplikasyonlarının Tedavisinde Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi. *Türkiye Klinikleri Gastroenterohepatology-Special Topics*. 2014;7:142-6.
5. Fabris L, Fiorotto R, Spirli C, Cadamuro M, Mariotti V, Perugorria MJ, Banales JM, Strazzabosco M. Pathobiology of inherited biliary diseases: a roadmap to understand acquired liver diseases. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2019;1:497-511.
6. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:603-6.
7. Strober W, Asano N, Fuss I, Kitani A, Watanabe T. Cellular and molecular mechanisms underlying NOD 2 risk-associated polymorphisms in Crohn's disease. *Immunological reviews*. 2014;260:249-60.
8. Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez G, Flavell RA. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science*. 2005;307:731-4.
9. Homer CR, Richmond AL, Rebert NA, Achkar JP, McDonald C. ATG16L1 and NOD2 interact in an autophagy-dependent antibacterial pathway implicated in Crohn's disease pathogenesis. *Gastroenterology*. 2010;139:1630-41.
10. Magalhaes JG, Fritz JH, Le Bourhis L, Sellge G, Travassos LH, Selvanantham T, Girardin SE, Gommerman JL, Philpott DJ. Nod2-dependent Th2 polarization of antigen-specific immunity. *The Journal of Immunology*. 2008;181:7925-35.

11. Hugot J-P, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard J-P, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:599-603.
12. Harputluoglu MM, Dertli R, Otlu B, Demirel U, Yener O, Bilgic Y, Erdogan MA, Atayan Y, Cagin YF. Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 variants in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61:1545-52.
13. Janse M, de Rooij B-JF, van Hoek B, van den Berg AP, Porte RJ, Blokzijl H, Coenraad MJ, Hepkema BG, Schaapherder AF, Ringers J. Recipient's genetic R702W NOD2 variant is associated with an increased risk of bacterial infections after orthotopic liver transplantation. *PloS one*. 2013;8:726-37.
14. Smeltzer SC, Bare BG, Hinkle JL, Cheever KH, Assessment and Management of Patients with Hepatic Disorders-Liver Transplantation *Textbook of Medical-Surgical Nursing*, 10. Baskı. 2010. Lippincott Williams & Wilkins Yayinevi 1115-118.
15. Lopez PM, Martin P. Update on liver transplantation: indications, organ allocation, and long-term care. *The Mount Sinai journal of medicine*. 2006;73:1056-66.
16. Clavien PA, Camargo CA, Jr., Croxford R, Langer B, Levy GA, Greig PD. Definition and classification of negative outcomes in solid organ transplantation. Application in liver transplantation. *Annals of surgery*. 1994;220:109-20.
17. Calne RY, McMaster P, Portmann B, Wall WJ, Williams R. Observations on preservation, bile drainage and rejection in 64 human orthotopic liver allografts. *Annals of surgery*. 1977;186:282-90.
18. Gaber AO, Thistlethwaite JR, Jr., Busse-Henry S, Aboushloe M, Emond J, Rouch D, Broelsch CE. Improved results of preservation of hepatic grafts preflushed with albumin and prostaglandins. *Transplantation proceedings*. 1988;20:992-3.
19. Thuluvath PJ, Pfau PR, Kimmey MB, Ginsberg GG. Biliary complications after liver transplantation: the role of endoscopy. *Endoscopy* 2005;37:857-63.
20. Pascher A, Neuhaus P. Biliary complications after donor orthotopic liver transplantation. *Hepatobiliar Pancreas Surgery* 2006;13:487-96.

21. Ruiz de Azua-Lopez Z, Naranjo-Izurieta JR, Lameirao J, Martin-Villen L, Porras-Lopez M, Palomo-Lopez N, Vilchez-Arenas A, Egea-Guerrero JJ. Cold Ischemia Time as a Factor in Post-transplantation Complications for Orthotopic Hepatic Transplantation. *Transplantation proceedings*. 2018;50:637-9.
22. Albert JG, Filmann N, Elsner J, Moench C, Trojan J, Bojunga J, Sarrazin C, Friedrich-Rust M, Herrmann E, Bechstein WO, Zeuzem S, Hofmann WP. Long-term follow-up of endoscopic therapy for stenosis of the biliobiliary anastomosis associated with orthotopic liver transplantation. *Liver transplantation : Official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2013;19:586-93.
23. Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, van der Jagt EJ, Limburg AJ, van den Berg AP, Slooff MJ, Peeters PM, de Jong KP, Kleibeuker JH, Haagsma EB. Anastomotic biliary strictures after liver transplantation: causes and consequences. *Liver transplantation : Official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2006;12:726-35.
24. Huang LY, Liu YX, Wu CR, Jun C, Zhang B. Application of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in biliary-pancreatic diseases. *Chinese medical journal*. 2009;122:2967-72.
25. Kırarç CO, Asıl M, Demir A. 4 yıllık endoskopik retrograd kolanjiopankreatografi vakalarımızın retrospektif değerlendirilmesi. *Genel Tıp Dergisi*. 2016;26:53-7.
26. Adler DG, Baron TH, Davila RE, Egan J, Hirota WK, Leighton JA, Qureshi W, Rajan E, Zuckerman MJ, Fanelli R. ASGE guideline: the role of ERCP in diseases of the biliary tract and the pancreas. *Gastrointestinal endoscopy*. 2005;62:1-8.
27. Balderramo D, Bordas JM, Sendino O, Abraldes JG, Navasa M, Llach J, Cardenas A. Complications after ERCP in liver transplant recipients. *Gastrointestinal endoscopy*. 2011;74:285-94.
28. Mahnke D, Chen YK, Antillon MR, Brown WR, Mattison R, Shah RJ. A prospective study of complications of endoscopic retrograde cholangiopancreatography and endoscopic ultrasound in an ambulatory endoscopy center. *Clinical gastroenterology and hepatology : The official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2006;4:924-30.

29. Basat O, Köklü S, Çiçek B, Parlak E, Şahin B. Endoskopik retrograd kolanjio-pankreatografi komplikasyonları: Tek merkezli retrospektif çalışma. *Akademik gastroenteroloji Dergisi*. 2006;5:169-72.
30. Gürel S, Dolar E, Gülten M, Nak SG, Memik F. ERCP İşlemlerinde Profilaktik Antibiyotik Uygulaması. *Türkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatology*. 1999;10:19-22.
31. Zong Z. Biliary tract infection or colonization with *Elizabethkingia meningoseptica* after endoscopic procedures involving the biliary tract. *Internal medicine*. 2015;54:11-5.
32. Anderson DJ, Shimpi RA, McDonald JR, Branch MS, Kanafani ZA, Harger J, Ely TM, Sexton DJ, Kaye KS. Infectious complications following endoscopic retrograde cholangiopancreatography: an automated surveillance system for detecting postprocedure bacteremia. *American journal of infection control*. 2008;36:592-4.
33. Subhani JM, Kibbler C, Dooley JS. Review article: antibiotic prophylaxis for endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP). *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 1999;13:103-16.
34. Aldemir M, Faruk Geyik M, Faruk Kökoğlu Ö, Büyükbayram H, Hoşoğlu S, Yağmur Y. Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats. *ANZ journal of surgery*. 2003;73:722-6.
35. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infection and immunity*. 1979;23:403-11.
36. García-Tsao G. Bacterial translocation: cause or consequence of decompensation in cirrhosis? *Journal of hepatology*. 2001;34:150-5.
37. Appenrodt B, Grünhage F, Gentemann MG, Thyssen L, Sauerbruch T, Lammert F. Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology*. 2010;51:1327-33.
38. Duffy LC. Interactions mediating bacterial translocation in the immature intestine. *The Journal of nutrition*. 2000;130:432-6.

39. Khoshini R, Dai SC, Lezcano S, Pimentel M. A systematic review of diagnostic tests for small intestinal bacterial overgrowth. *Digestive diseases and sciences*. 2008;53:1443-54.
40. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends in microbiology*. 1995;3:149-54.
41. Steffen EK, Berg RD. Relationship between cecal population levels of indigenous bacteria and translocation to the mesenteric lymph nodes. *Infection and immunity*. 1983;39:1252-9.
42. Bertók L. Bile acids in physico-chemical host defence. *Pathophysiology*. 2004;11:139-45.
43. Such J, Guardiola JV, de Juan J, Casellas JA, Pascual S, Aparicio JR, Solá-Vera J, Pérez-Mateo M. Ultrastructural characteristics of distal duodenum mucosa in patients with cirrhosis. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2002;14:371-6.
44. Bellot P, Francés R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver International*. 2013;33:31-9.
45. Agalar F, Iskit AB, Agalar C, Hamaloglu E, Guc MO. The effects of G-CSF treatment and starvation on bacterial translocation in hemorrhagic shock. *Journal of Surgical Research*. 1998;78:143-7.
46. Lemaire LC, van Wagensveld BA, van Gulik TM, Dankert J, van Lanschot JJB, Gouma DJ. Bacterial translocation to the thoracic duct in a setting of ischemia, partial resection and reperfusion of the porcine liver. *Digestive surgery*. 1999;16:222-8.
47. Ohshio G, Manabe T, Tobe T, Yoshioka H, Hamashima Y. Circulating immune complex, endotoxin, and biliary infection in patients with biliary obstruction. *The American journal of surgery*. 1988;155:343-7.
48. Opal SM. The clinical relevance of endotoxin in human sepsis: a critical analysis. *Journal of endotoxin research*. 2002;8:473-6.
49. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Masciana R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49:1877-87.

50. Leak L. Interaction of mesothelium to intraperitoneal stimulation. I. Aggregation of peritoneal cells. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1983;48:479-91.
51. Kaplan M, Oğuz M. Bakteriyel translokasyon kavramı ve klinik önemi. *Güncel Gastroenteroloji*. 1998;2:175-84
52. Bruns T, Peter J, Reuken PA, Grabe DH, Schuldes SR, Brenmoehl J, Schölmerich J, Wiest R, Stallmach A. NOD2 gene variants are a risk factor for culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and monomicrobial bacterascites in cirrhosis. *Liver international*. 2012;32:223-30.
53. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M. Host recognition of bacterial Muramyl dipeptide mediated through NOD2 Implications For Crohn's Disease. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278:5509-12.
54. Kosovac K, Brenmoehl J, Holler E, Falk W, Schoelmerich J, Hausmann M, Rogler G. Association of the NOD2 genotype with bacterial translocation via altered cell-cell contacts in Crohn's disease patients. *Inflammatory bowel diseases*. 2010;16:1311-21.
55. Guenther A, Nijmeijer RM, Nitsche C, Aghdassi A, Boemeester MA, Schulz H-U, Papachristou GI, Mayerle J, van Santvoort HC, Zenker M. Nucleotide-binding oligomerization domain protein 2 (NOD2/CARD15) mutation p. R702W predisposes to a fatal outcome of severe acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2013;3:7-8.
56. Tigno-Aranjuez JT, Abbott DW. Ubiquitination and phosphorylation in the regulation of NOD2 signaling and NOD2-mediated disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2012;1823:2022-8.
57. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nunez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:603-6.
58. Kobayashi N, Hara K, Tojo A, Onozato ML, Honda T, Yoshida K, Mita S-i, Nakano S, Tsubokou Y, Matsuoka H. Eplerenone shows renoprotective effect by reducing LOX-1-mediated adhesion molecule, PKC ϵ -MAPK-p90RSK, and rho-kinase pathway. *Hypertension*. 2005;45:538-44.

59. Pauleau A-L, Murray PJ. Role of nod2 in the response of macrophages to toll-like receptor agonists. *Molecular and cellular biology*. 2003;23:7531-9.
60. Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM, King K, Hampe J, Croucher PJ, Mascheretti S, Sanderson J, Forbes A, Mansfield J, Schreiber S, Lewis CM, Mathew CG. The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002;122:867-74.
61. Yao S, Zhu Y, Chen L. Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. *Nature reviews Drug discovery*. 2013;12:130-46.
62. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989;74:1-10.
63. Bienvenu J. Exploration of cytokines in inflammation in biological fluids. *Comptes rendus des seances de la Societe de biologie et de ses filiales*. 1995;189:545-55.
64. Saito S, Kasahara T, Kato Y, Ishihara Y, Ichijo M. Elevation of amniotic fluid interleukin 6 (IL-6), IL-8 and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in term and preterm parturition. *Cytokine*. 1993;5:81-8.
65. Calne R. A new technique for biliary drainage in orthotopic liver transplantation utilizing the gall bladder as a pedicle graft conduit between the donor and recipient common bile ducts. *Annals of surgery*. 1976;184:605-46.
66. Sato T, Kogure H, Nakai Y, Hamada T, Takahara N, Mizuno S, Kawaguchi Y, Akamatsu N, Kaneko J, Hasegawa K. Long-term outcomes of endoscopic treatment for duct-to-duct anastomotic strictures after living donor liver transplantation. *Liver International*. 2019;10:1954-63
67. Yoshizumi T, Harada N, Mori M. Biliary Stricture: the Achilles heel of pediatric living donor liver transplantation. *Transplantation*. 2019;103:1758-9.
68. Al Nabhani Z, Dietrich G, Hugot J-P, Barreau F. Nod2: The intestinal gate keeper. *PLoS pathogens*. 2017;13:177-86.
69. Van Hoek B, de Rooij B-J, Verspaget HW. Risk factors for infection after liver transplantation. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2012;26:61-72.
70. Lee S-O, Brown RA, Kang SH, Massih RCA, Razonable RR. Toll-like receptor 4 polymorphisms and the risk of gram-negative bacterial infections after liver transplantation. *Transplantation*. 2011;92:690-6.

71. De Rooij BJF, van Hoek B, ten Hove WR, Roos A, Bouwman LH, Schaapherder AF, Porte RJ, Daha MR, van der Reijden JJ, Coenraad MJ. Lectin complement pathway gene profile of donor and recipient determine the risk of bacterial infections after orthotopic liver transplantation. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;52:1100-10.
72. Carneiro L, Magalhaes J, Tattoli I, Philpott D, Travassos L. Nod-like proteins in inflammation and disease. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2008;214:136-48.
73. Moreira L, Zamboni DS. NOD1 and NOD2 signaling in infection and inflammation. *Frontiers in immunology*. 2012;3:328-79.
74. Sanclemente G, Moreno A, Navasa M, Lozano F, Cervera C. Genetic variants of innate immune receptors and infections after liver transplantation. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20:11116-30.
75. Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM, King K, Hampe J, Croucher PJ, Mascheretti S, Sanderson J, Forbes A, Mansfield J. The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002;122:867-74.
76. Hampe J, Grebe J, Nikolaus S, Solberg C, Croucher PJ, Mascheretti S, Jahnsen J, Moum B, Klump B, Krawczak M. Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. *The Lancet*. 2002;359:1661-5.
77. Denou E, Lolmède K, Garidou L, Pomie C, Chabo C, Lau TC, Fullerton MD, Nigro G, Zakaroff-Girard A, Luche E. Defective NOD2 peptidoglycan sensing promotes diet-induced inflammation, dysbiosis, and insulin resistance. *EMBO molecular medicine*. 2015;7:259-74.
78. Chamaillard M, Girardin SE, Viala J, Philpott DJ. Nods, Nalps and Naip: intracellular regulators of bacterial-induced inflammation. *Cellular microbiology*. 2003;5:581-92.
79. Brenmoehl J, Herfarth H, Glück T, Audebert F, Barlage S, Schmitz G, Froehlich D, Schreiber S, Hampe J, Schölmerich J. Genetic variants in the NOD2/CARD15 gene are associated with early mortality in sepsis patients. *Intensive care medicine*. 2007;33:1541-8.

80. Saner FH, Nowak K, Hoyer D, Rath P, Canbay A, Paul A, Koldehoff M, Elmaağaçlı A. A non-interventional study of the genetic polymorphisms of NOD2 associated with increased mortality in non-alcoholic liver transplant patients. *BMC gastroenterology*. 2014;14:4-18.
81. Reiberger T, Ferlitsch A, Payer BA, Mandorfer M, Heinisch BB, Hayden H, Lammert F, Trauner M, Peck-Radosavljevic M, Vogelsang H. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2013;58:911-21.
82. Suliman MA, Khalil FM, Alkindi SS, Pathare AV, Almadhani AA, Soliman NA. Tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*. 2012;3:92-98.