

# Deneyisel Peritonit Tedavisinde Antibiyotikler, Serbest Oksijen Radikal Gidericiler ve Kombinasyonlarının Rolü

THE ROLE OF ANTIBIOTICS, OXYGEN FREE RADICAL SCAVENGERS AND THEIR COMBINATION IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL PERITONITIS

Şehsuvar GÖKGÖZ\*, Cihan YILDIRIR\*, Gürkan ERSOY\*\*

\* C.Ü. Tıp Fakültesi Cerrahi ABD. SİVAS

\*\* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servis, İZMİR

## ÖZET

Bu çalışmada; intraabdominal sepsis veya enfeksiyon tablosundaki cerrahi hastaların tedavisinde "serbest oksijen radikallerini giderici" ajanlar da ilave edilince, mortalitenin azaltılabileceği iddiası incelendi.

Bunun için çekumlarında iatrojenik perforasyon yaratan sıçanlarda gelişen intrabdominal abse ve jeneralize peritonit+sepsis tablosunda antibiotiklerin ve serbest oksijen radikali giderici ajanların kombine veya tek başlarına kullanılmalarının tedavide anlamlı değişikliğe neden olup olmadığı ve mortaliteyi azaltıp azaltmadığını inceledik.

Bu amaçla 90 adet sıçan, 6 ayrı gruba ayrıldı (Kontrol, Klindamisin+Gentamisin, SORG, Sefaperazon+SORG, Klindamisin+Gentamisin+SORG grupları). Tüm sıçanlarda rutin olarak laparotomi yapılarak çekum ön yüzden 23 G kelebek iğne ile iki adet delik açıldı, batin katları usulüne uygun olarak kapatıldı. Post op 12. saatte başlayarak deneklere intraperitoneal yoldan gruplarına göre ilaç, kontrol grubuna ise serum fizyolojik enjekte edildi. Post op 12. saatte her gruptan rastgele seçilen üçer adet sıçan öldürülerek oluşan peritoniti değerlendirmek amacıyla alınan periton sıvısının mikrobiyolojik kültürü yapıldı. Post op 1.4. ve 7. günlerde tedavinin etkinliği canlı kalan denek sayısı ile ölçüldü.

Çalışma sonuçları "Bağımsız gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi" kullanılarak her gruptan elde edilen yaşam süreleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldı.  $p < 0.05$  değerleri İstatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sonuç olarak uyguladığımız deneyisel sepsis tablosunun tedavisinde SORG'lerin tek başlarına veya belirtilen antibiotiklerle birlikte kullanılmasının, postop erken dönemdeki canlı kalma oranını arttırmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Peritonit, Allopürinol, Katalaz, Serbest Oksijen Radikal Gidericiler.

T Klin Gastroenterop hepatoloji 1995; 6:71-75

Geliş Tarihi: 09.02.1994

Yazışma Adresi: Dr. M. Şehsuvar GÖKGÖZ  
PK. 19.58121,  
SİVAS

## SUMMARY

The mortality and morbidity rates in surgical patients with abdominal sepsis and infection, are still high despite the use of modern surgical techniques and broad spectrum antibiotics. Recent studies indicated that "free oxygen radicals", formed after tissue hypoxia, is a factor that causes the mortality rate remain high by increasing sepsis and tissue hurt. With regard to this idea, it's claimed that in the treatment of such patients, if oxygen free radical scavengers (OFRS) are added, the mortality rates can be decreased.

Within the scope of these claims, we aimed to investigate whether the combined use of antibiotics with OFRS agents or their use alone achieved a significant difference in treatment and decreased the mortality where intraabdominal abscess and generalized peritonitis+sepsis developed in rats as a result of iatrogenic perforation created in their cecals.

With this aim 90 rats were separated into 6 different groups. (Control, ClindamisinGentamisin, O.F.R.S., Sefaperazon + OFRS, Clindamisin+Gentamisin+O. F. R. S. groups). Thorough routine laparotomy on all rats, two holes were opened on the front surface of cecal with 23 G needle. By 12 hours following surgery, normal saline to control group and drug according to the groups were injected through intraperitoneal ways. 12 hours following surgery, 3 rats, taken randomly from each group, sacrificed and the microbiologic culture of the periton liquid which was taken to evaluate the peritonitis formed, was done. In the first, fourth and the seventh days following surgery, the effectiveness of the treatment was measured with the number of samples survive.

By the use of "The significance test of the difference between two percentages in independent groups", the survival of each group was compared with the control group's.  $p < 0.05$  values were considered as statistically significant.

As a result, we concluded that in our experimental sepsis case's treatment, the use of OFRS alone or with the indicated antibiotics in the early postoperative period, didn't increase the survival rate.

Key Words: Peritonitis, Allopurinol, Catalase, Oxygen Free Radical Scavengers.

Turk J Gastroenterohepatol 1995; 6:71-75

Cerrahi tedavinin daha az kullanıldığı dönemlerde peritonit ve intraabdominal enfeksiyonlar hastaların %90'ında ölüme neden olmaktadır, intraabdominal enfeksiyonlarda kontaminasyon kaynağının bulunup ortadan kaldırılması ve periton boşluğunun mekanik temizliği en ciddi olgularda bile mortalite oranlarının %50'nin altına düşmesini sağlamıştır. İçinde bulunduğumuz yüzyılın başlarında antibiotiklerin keşfi ve intraabdominal enfeksiyonların tedavisinde kullanılması mortalite oranlarının daha da azalmasıyla sonuçlanmıştır. Fakat son yıllardaki çabalar bu oranları daha da azaltmak için yeni tedavi seçeneklerini ortaya koyma yönündedir (1-10).

Günümüzde araştırmacıların en çok ilgisini çeken konulardan birisi de doku iskemisinden sonra ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) doku hasarı yaratmaları ve/veya oluşan hasarı arttırmalarıdır. Bu bileşiklerin sepsisle birlikte organ disfonksiyonunda rol oynadığı ve lipid peroksidasyonu yoluyla endotoksemnin patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle intraabdominal enfeksiyonların tedavisinde antibiotiklere ek olarak serbest oksijen radikal giderici ajanların da kullanılmasının mortalite oranını belirgin derecede azaltması beklenmektedir ve bu görüşün doğruluğu birçok araştırmacı tarafından yaptıkları deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (1,11-17).

Biz de bu çalışmamızda, raflarda yarattığımız deneysel peritonit+sepsis tablosundaki ratların tedavisinde bu görüşün doğruluğunu araştırmayı amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 170-220 gr. arasında değişen 90 adet Swiss-Albino tipi sıçan kullanıldı. Standart yiyeceklerle beslenen sıçanlar çalışmanın başlamasından 12 saat önce aç bırakıldılar. Tüm sıçanlar her grupta 15 adet olmak üzere 6 ayrı gruba bölündüler (Kontrol, Klindamisin+Gentamisin+SORG grupları). Standart dizasyon açısından her bir gruptaki hayvanın ortalama ağırlığı 185 gr. olup, aynı yaş ve cinste olmalarına dikkat edildi.

Eter anestezisi altında sıçanların karın traşu yapıldı. Temiz fakat nonsteril şartlarda hayvanların karınlarına betadine sürülerek orta hattın 4 cm.'lik insizyonla laparotomi yapıldı ve çekum insizyon hattının dışına çıkarıldı, inen kolondaki barsak muhtevası proksimal yönde sıvazlanarak çekum gaita ile dolduruldu. Çekum ön yüzünden 23 G numaralı kelebek set iğnesi ile iki defa delindikten sonra barsak ansları uygun tarzda karın boşluğuna yerleştirildi. Karın katları usulüne uygun olarak kapatıldı, insizyon yeri ise betadine ile silindikten sonra açık bırakıldı.

Tüm ratlara aynı cerrahi işlem uygüdür. d'ktan sonra postoperatif 12. saatte ratların standart yiyeceklerle tekrar beslenmesine devam edildi.

Birinci, yani kontrol grubuna serum fizyolojik, diğer çalışma grubundaki deneklere ise belirtilen ilaçlar postoperatif 12. saatte başlanmak üzere ucunda 27 G dental iğne takılı enjektörler vasıtasıyla 12'şer saat aralıklara ve 7 gün boyunca intraperitoneal (I.P.) yoldan enjekte edildi.

Çalışma grupları ve kendilerine uygulanan ajanlar şu şekilde sınıflandırıldı:

### 1. Grup (Kontrol Grubu):

12 saat aralıkla ve 7 gün boyunca 1 cc serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edildi.

### 2. Grup (Sefaperazon Grubu):

12 saat aralıkla ve 7 gün boyunca 10 mg/kg dozunda Sefaperazon intraperitoneal olarak enjekte edildi.

### 3. Grup (Klindamisin+Gentamisin Grubu):

12 saat aralıkla ve 7 gün boyunca Klindamisin 25 mg/kg, Gentamisin 2.5 mg/kg dozlarında intraperitoneal olarak enjekte edildi.

### 4. Grup (Serbest oksijen radikali giderici ajan verilen grup):

12 saat aralıkla ve 7 gün boyunca Allopurinol 50 mg/kg, Katalaz 50.000 İÜ/kg dozlarında intraperitoneal olarak enjekte edildi.

### 5. Grup (Sefaperazon+Serbest oksijen radikali giderici ajan verilen grup):

İkinci ve dördüncü gruplarda belirtilen süreler ve dozlarda verildi.

### 6. Grup (Klindamisin+Gentamisin+Serbest oksijen radikali giderici ajan verilen grup):

Üçüncü ve dördüncü gruplarda belirtilen süreler ve dozlarda verildi.

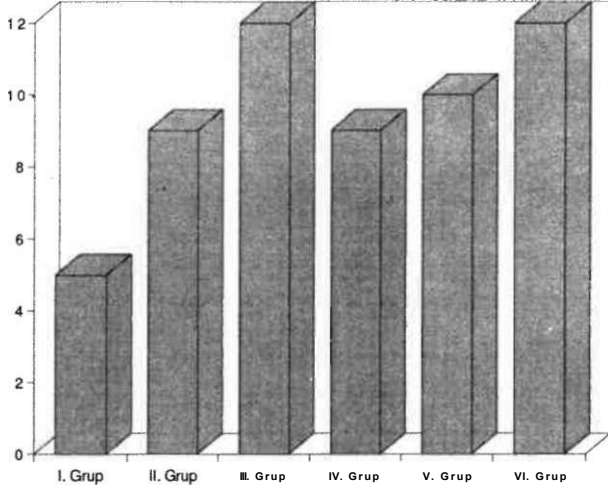
Tedavi amacıyla kullanılan ajanlardan Sefaperazon (Cefobid/Pfizer), Klindamisin (Cleocin Fosfat/Eczacıbaşı), Gentamisin (Gentasilin/Nobel) hazır enjektabl halde iken, Allopurinol (Sigma A, 8003), Katalaz (Sigma C 100) usulüne uygun olarak enjektabl hale getirildi.

Her gruptan rastgele seçilen üçer adet sıçan postoperatif 12. saatte yüksek eter anestezisi altında sakrifiye edildi. Oluşması beklenen peritoniti doğrulamak amacıyla periton sıvısı alınarak mikrobiyolojik kültürleri yapıldı. Histopatolojik tanı için alınan periton ve çekum biopsileri %10'luk formaldehit solüsyonunda tesbit edilip, rutin işlemlerden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan bloklardan dörder adet beş mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak Hematoksilin Eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda x10 büyütmede incelendi. Geriye canlı kalan ratların yaşam süreleri 1., 4. ve 7.'ci günlerde değerlendirilerek kaydedildi.

Gözlem süresince ve 7. gün sonunda tüm sıçanlar, yüksek eter anestezisi altında telef edildi ve çekekten "A"cinrte yaygın peritonit tablosu geliştiği gözlemlendi.

**Tablo 1.** I.Gün sonunda gruplar arasındaki canlılık oranlarının karşılaştırılması

Gruplar	II	I	IV	V	VI
I	p>0.05	p<0.01	p>0.05	p<0.05	p<0.01
II		p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
III		».	p>0.05	p>0.05	p>0.05
IV				p>0.05	p>0.05
V					p>0.05



**Şekil 1.** Gün sonunda gruplar arasındaki canlılık oranlarının karşılaştırılması (anlamli "p" değerleri Tablo I, II ve I'de görülebilir.)

Uygulanan tedavinin etkinliği, "Bağımsız gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi" kullanılarak değerlendirildi. Her gruptan elde edilen yaşam süreleri kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldı. p<0.05 olasılık değerleri istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Postoperatif 24. saatte hiğbir denekte mortalit gözlenmez iken her bir gruptan rastgele seçilen 3 sığanın sakrlıye edilmelerinden sonra yapılan relaparatomilerinde, geręek bir jeneralize peritonit tablosunun geliştiği gözlendi. Periton ve ęekumdan alınan biopsilerin histopatolojik incelemesi sonucu tüm sıçanlarda iskemik nekroz bulguları tesbit edildi, histopatolojik olarak

gösterildi (Resim-1). Bu deneklerden alınan periton sıvılarının mikrobiyoloji laboratuvarında yapılan kültürlerinde tüm vakalarda Echerichia Coli ve buna ilave olarak iki adet hayvanda ayrıca D grubu enterokokların ürediği gözlendi. Sığanlardan alınan kan örneklerindeki lökosit sayımları 6.000 ile 15.000/mm<sup>3</sup> arasında değişmekteydi ve yedisinde sola kayma tesbit edildi.

Mann Whitney'in U-Testi kullanılarak yapılan çalışma sonucunda gruplar arasında ki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu görüldü (p>0.05). Postoperatif 24. saat sonunda kontrol grubundaki 12 hayvandan 5'i yaşamını srdrken, Klindamisin+Gentamisin (Grup 3) grubu ile Klindamisin+Gentamisin+SORG grubunda (Grup 6) mortalit tesbit edilmedi. Sefaperazon (Grup 2) ve SORG (Grup 4) gruplarında %75, Sefaperazon+SORG (Grup 5) grubunda ise %83 canlılık oranları tesbit edildi, ilk 24 saat sonunda kontrol grubu ile III., V., VI. gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (p<0.05), II. ve IV. gruplar ile kontrol grubu arasındaki farklılık ise önemsiz olarak değerlendirildi (p>0.05), Tablo-1), (Şekil 1).

4. gün sonunda iki canlılık oranları değerlendirildiğinde yine benzer şekilde kontrol grubu ile III., V., VI. gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli iken (p<0.05), II. ve IV. gruplar arasındaki fark önemsiz idi. (p>0.05), (Tablo 2).

Çalışmanın bitiminde (7. günde) yapılan değerlendirmelerde ise sadece 3. ve 4. gruplar ile kontrol grubu arasında ki farkın ise önemsiz olduğu gözlendi (p>0.05), (Tablo-3).

Deney süresince ölen tüm hayvanlara relaparatomiyapılıp hepsinde yaygın intraabdominal abse ve jeneralize peritonit tesbit edildiği için deneklerdeki ölüm-sebebinin jeneralize peritonit ve sonucunda gelişen sepsise bağlı olduğuna inanıldı.

Alınan biopsi örneklerinin incelenmesinde iltahabi reaksiyon ve iskemik nekroz bulguları dışında bir bulguya rastlanmadı (Resim-1).

**Tablo 2.** 4.Gün sonunda gruplar arasındaki canlılık oranlarının karşılaştırılması

Gruplar	II	III	IV	V	VI
I	p>0.05	p<0.05	p>0.05	p<0.05	p<0.01
II		p>0.05	p>0.05	p>0.05	p<0.01
III			p<0.05	p>0.05	p>0.05
IV				p>0.05	p<0.01
V					p>0.05

Tablo 3. 7.Gün sonunda gruplar arasındaki canlılık oranlarının karşılaştırılması

Gruplar	II	III	IV	V	VI
I	p>0.05	p<0.01	p>0.05	p>0.08	p<0.01
II		p<0.05	p>0.05	p>0.05	p<0.05
III			p<0.05	p>0.05	p>0.05
IV				p>0.05	p<0.05
V					p<0.05

## TARTIŞMA

Jenerallize peritonit ve dolayısıyla gelişen sepsis tablosu cerrahi girişim geçiren hastalarda halen morbidite ve mortalitenin yüksek olmasına neden olan sebeplerdendir. Bu tip hastaların standart tedavileri ise periton boşluğunun mekanik temizliği, drenajı ve muhtemel etken patojene yönelik geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılmasını içermektedir. Tüm bu tedavi protokollerine rağmen bu tip hastalarda mortalite oranının ciddiye alınması, araştırmacıları, yeni tedavi imkanlarının bulunmasına yönelmektedir (2-10). İşte son zamanlarda üzerinde yoğun araştırmaların yapıldığı konulardan bir tanesi de "İskemi-Reperüzyon İncimesi" dir. İskemik kalan organlarda doku harabiyeti oluşmakta ve reperfüzyonun başlaması ile birlikte bu incimenin katlanarak arttığı iddia edilmektedir. Bu reperfüzyon safhasında ise baştan SOR olmak üzere endotelial faktörler ve nötrofillerin kilit ajan olduğu iddia edilmektedir (1.11-17).

Artık günümüzde kalp, ince ve kalırlı barsaklar, karaciğer ve diğer organlarda oluşan iskemi ve reperfüzyon incimesinin patogenezinde SOR'nin önemli rolü olduğu kesin olarak gösterilmiştir. Bu faktörler peritonit, intraabdominal veya diğer sistemik enfeksiyonlar sırasında ortaya çıkan sepsis, ilerleyici multipl organ yetersizliği ile yüksek mortalite oranlarına neden olmaktadır. Bu arzulanmayan sonucun ortaya çıkmasında, bizzat sepsisin sistemik etkileri kadar, beraberinde oluşan

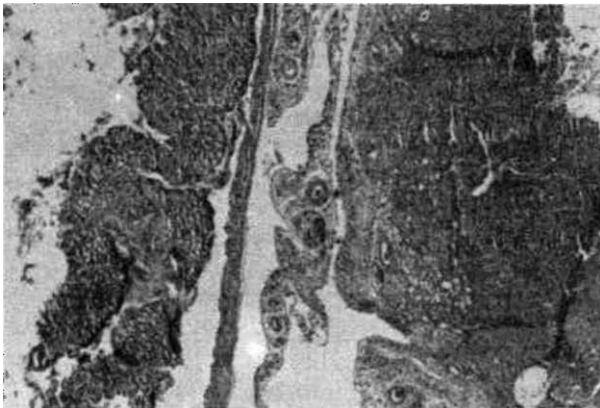
SOR'lerin rolü olduğu çeşitli yazarlarca iddia edilmektedir. Bu görüşten hareketle, teorik olarak bu tip hastalarda klasik tedavi anlayışına ek olarak "serbest oksijen radikali giderici" lerinde (SORG) ilave edilmesiyle mortalite oranlarında düşme beklenebilecektir (1,2,11-17).

Yoshikawa (15), endotoksik şok patogenezinde SOR'lerinin önemli rol oynadığını yaptığı deneysel çalışma ile göstermiştir. Warner ve ark. (14) ise, deneysel intraabdominal sepsis modelinde kullandıkları SORG bir ajan olan Superoxide dismutase'in tedavide etkisiz olduğunu gözlemiştir. Castillo ve ark. (1) ise, benzer bir deneysel intraabdominal sepsis modelinde SORG'lerin tek başlarına kullandıklarında etkili olmadıklarını ancak antibiyotiklerle birlikte kombine edildiklerinde deneklerde ki yaşam oranlarını belirgin oranda arttırdıklarını, Powell ve ark. (13) ise, bu görüşün aksine çekum ligasyonu ve iatrojenik perforasyonu ile oluşturdukları deneysel peritonit ve beraberindeki sepsis modelinde SORG'nin tek başına veya antibiyotiklerle birlikte kullanılmalarının bu oranı arttırmadığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise antibiyotiklerle birlikte SORG'lerin kombine kullanımının gruplardaki yaşam oranlarını anlamlı şekilde arttırdığı gözlenmiştir. Ancak, SORG'lerin tek başına kullandıkları grupta değil de antibiyotiklerle kombine edildikleri gruplarda yaşam oranlarında artış izlenmesi, bu etkinin daha çok antibiyotiklere bağlı olarak çıktığını düşündürmektedir. Ayrıca bu çalışmada kontrol grubu ile Sefaperazon ve SORG'lerin tek tek kullandıkları gruplardaki canlılık oranları arasında anlamlı farklılık oluşmaz iken Sefaperazon ve SORG'lerin kombine kullandıkları grup ile kontrol grubundaki canlılık oranları arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir. Bu bulguların Klindamisin+Gentamisin ile Klindamisin+Gentamisin ve SORG'lerin kombine kullanıldığı gruplarda elde edilmemesi, sonucun tesadüfi olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmadan elde edilen bulgular uyguladığımız deneysel sepsis modelinin patogenezinde SORG'lerin önemli rolü olmadığını ve SORG'lerin kullanılmasıyla deneysel sepsis oluşturulan sıçanlarda canlılık oranlarını arttırılamayacağını ortaya koymaktadır.

Fakat bu görüşümüzün doğruluğunun değişik deneysel sepsis modellerinde ve yine değişik antibiyotikler ile SORG ajanlarının kullanıldığı araştırmalarda da denemesinin uygun olacağı görüşündeyiz.



Resim 1. Peritoneal dokuda yoğun nötrofil infiltrasyonu ve dilate hiperemik damarlar ile karakterli şiddetli iltihabi reaksiyon (Peritonit) HEX20)

## KAYNAKLAR

1. Castillo M, Toledo Pereyra LH, Gutierrez Ft, Prough D, Shapiro E. Peritonitis after cecal perforation. An experimental model to study the therapeutic role of antibiotics associated with albuterol and catecholamine. *Am Surg* 1991; 57: 313-6.
2. Grisham MB, Mc Dermott RP, Deitch EA. Oxidant defense mechanisms in human colon. *Inflammation* 1990; 14:669-679.
3. Hau T. Bacteria, toxins and the peritoneum. *World J Surg* 1990; 14:167-175.
4. Mosdeli DM, Morris DM, Voltura A, Pitcher DM, Twiest MW, Milne RL, Miscall BG. Antibiotic therapy for surgical peritonitis. *Ann Surg* 1991; 214:543-549.
5. Nichols RL. Intraabdominal sepsis: controversies and choices in management. *Clin Therap* 1987; 10:50-58.
6. Offenbartl K, Bengmark S. Intraabdominal infections and gut origin sepsis. *World J Surg* 1990; 14:191-5.
7. Rotstein OD, Meakins JL. Diagnostic and therapeutic challenges of intraabdominal infections. *World J Surg* 1990; 14:159-66.
8. Schwartz SI. Peritonitis and intraabdominal abscesses. In: Schwartz SI (Eds.) *Principles of Surgery*. Singapore: McGraw Hill Book Company, 1988:1459-91.
9. Weinstein WM, Onderdonk AB, Bartlett JG, Lacie TJ, Gorbach SL. Antimicrobial therapy of experimental intraabdominal sepsis. *J Infect Dis* 1975; 132:282-6.
10. Witmann DA. Intraabdominal infections. *World J Surg* 1990; 14:145-147.
11. Moyana T, Lalonde JM. Carrageen-Induced intestinal injury: possible role of oxygen free radicals. *Ann Clin Lab Sci* 1991; 21:258-63.
12. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, McCord JM. Ischemic injury in the rat small intestine: Role of superoxide radicals. *Gastroenterology* 1982; 82:9-15.
13. Powell RJ, Machiedo GW, Rush BF, Dikdan GS. Effect of oxygen free radical scavengers on survival in sepsis. *Am Surg* 1991; 57:86-8.
14. Warner BW, Hasseigren PO, James JH, Bialkowiska K, Rigel DF. Superoxide dismutase in rats with sepsis. *Arch Surg* 1987; 122:1142-1146.
15. Yoshikawa T. Oxygen radicals in endotoxic shock. *Methods in Enzymology* 1990; 186:660-5.
16. Zimmermann BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72:65-83.
17. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994; 81:637-647.