

Vitamin E ve Ocreotide Acetade'in Komplet Mekanik İntestinal Obstrüksiyonda Bakteriyel Translokasyon Üzerine Etkileri

THE EFFECTS OF VİTAMİN E AND OCREOTİDE ON BACTERIAL TRANSLOCATION İN RATS VVITH İNTESTİNAL OBSTRUCTION

Erhan REİS*, Nuri A. KAMA**, Murat AKSOY***, Mustafa ŞAHİN*, Petek KORKUSUZ****,
Sezer KULAÇOĞLU*****, Alper TEKELİ***, Ülken ÖRS*****

DrAnkara Numune Hastanesi 4. Cerrahi Kliniği,
Doç.Dr.Ankara Numune Hastanesi 4. Cerrahi Kliniği,
DrAnkara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD,

*** Dr.Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ABD,

**** Dr.Ankara Numune Hastanesi Patoloji ABD, ANKARA

ÖZET

Bu deneysel çalışmada, mekanik intestinal obstrüksiyonda gelişen bakteriyel translokasyon üzerine vitamin E ve Sandostatin'in etkileri araştırıldı. Ağırlıkları 180-220 gram arasında değişen 52 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Denekler 5 gruba bölündü, tüm gruplarda distal ileum seviyesinde mekanik intestinal obstrüksiyon oluşturuldu. İntestinal obstrüksiyon oluşturulduğu andan itibaren kontrol gruplarına serum fizyolojik (SF), sandostatin gruplarına 2x100 mgr/kg Sandostatin subkütan (SS), vitamin E grubuna ise 500 mg/kg vitamin E (E) intramusküler olarak verildi. SF.24, SS.24 ve E.24 grupları 24 saat, SF.48 ve SS.48 grupları ise 48 saat sonra sakrifiye edilerek ileum, karaciğer, dalak, mezenter lenf nodu, kalitatif ve kantitatif doku kültürleriyle, periton ve sistemik kan kültürleri alındı. Ayrıca ışık ve elektron mikroskopisi incelemeleri için ileumdan doku örnekleri alındı. Histopatolojik ve mikrobiyolojik incelemeler sonucunda barsak duvarındaki hasar ve bakteriyel translokasyon açısından kontrol ve Sandostatin grupları arasında önemli bir fark bulunmadı. Vitamin E'nin, istatistiksel olarak anlamlı oranda ($p<0.05$) barsak duvarındaki harabiyeti azaltarak bakteriyel translokasyonu kısmen engellediği gözlemlendi. Kontrol ve Sandostatin grupları süre ile mukayese edildiğinde süre uzadıkça barsak duvarındaki harabiyetin, bakteriyel translokasyonun transloke olan bakteri konsantrasyonunun arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Transloke olan bakterilerin büyük çoğunluğunu E.Coli oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler İntestinal obstrüksiyon, Vitamin E,
Ocreotide acetade,
Bakteriyel translokasyon

T Klin Gastroenterohepatoloji 1996, 7:67-75

Geliş Tarihi: 02.03.1995

Yazışma Adresi: Dr. Nuri A. KAMA
6. Cad. 29/2 06500
Bahçelievler, ANKARA

T Klin J Gastroenterohepatol 1996, 7

SUMMARY

This experimental study examined the effects of vitamin E and Sandostatin on bacterial translocation developed in mechanical intestinal obstruction. 52 Wistar Albino type male rats weighing 180-220 grams were used. The rats were divided into 5 groups. Right after the formation of mechanical obstruction control groups were given serum physiolojik (SF) and Sandostatin groups were given 2x100 mgr/kg Sandostatin subcutaneously (SS), vitamin E group was given vitamin E (E) 500 mg/kg intramuscularly. SF 24, SS.24 and E.24 groups were sacrificed after 24 hours, SF.48, SS.48 groups were sacrificed after 48 hours. Then ileum, liver, spleen, mezenteric lent node tissue samples were also taken for light and electron microscopy analysis. Histopathologic and microbiological analysis showed that there was no significant difference between control and Sandostatin groups with regard to bacterial translocation and damage on intestinal wall. It was observed that vitamin E prevented the bacterial translocation partly, inhibiting the damage on intestinal wall significantly. When the controls and Sandostatin groups were examined in relation on obstruction time, an increase the damage on intestinal wall, bacterial translocation and translocated bacterial concentration was observed to be proportionate with the increase in obstruction time ($p<0.05$). Most of the bacteria translocated were E. Coll

Keywords: İntestinal obstruction, Vitamin E,
Ocreotide acetade, Bacterial translocation

T Klin J Gastroenterohepatol 1996, 7:67-75

İntestinal obstrüksiyon yüksek morbidite ve mortaliteyle seyreden önemli cerrahi problemlerden biridir. Acil cerrahi servislere müracaat eden hastaların %20'sini, normal Genel Cerrahi servislere müracaat

eden hastaların yaklaşık %5'ini ince barsak obstrüksiyonlu hastalar oluşturmaktadır (1,2). İntestinal obstrüksiyonda barsaklarda gelişen distansiyon, sıvı-elektrolit bozukluğu, barsak florasında anormal üreme, bakteriyel translokasyon ve strangülasyon morbidite ve mortaliteye neden olan fizyopatolojik değişikliklerdir (1.5).

Normal şartlarda barsak duvarının, barsak lümeni içinde bulunan bakteri ve endotoksinlerin barsak dışına geçmesini engelleyen önemli bir fonksiyonu vardır. Bazı durumlarda bakteriler ve endotoksinler barsak tümeninden geçerek organ ve dokulara yayılır ki, bu duruma bakteriyel translokasyon denmektedir (6-9). Gastrointestinal sistemden bakteriyel translokasyonu artıran üç temel mekanizma mevcuttur. Bunlar; ekolojik dengenin bozulmasına bağlı olarak intestinal bakteri sayısında meydana gelen artış, konakçı immün defans mekanizmalarının bozulması ve intestinal mukozal bariyerden geçirgenliğin artmasıdır (6, 10-12). Hemorajik şok (13), yanık (14, 15), endotoksemi (12), antibiyotik kullanımı (16, 17) immünsupresyon (18, 19) ve intestinal obstrüksiyon (6, 7, 10, 11) gibi nedenlerin cerrahi hastalarda bakteriyel translokasyona neden olduğu değişik çalışmalarda gösterilmiştir. İntestinal obstrüksiyonda barsak sistemik enfeksiyon için rezervuar bir kaynaktır (7, 10). Bu durumda gelişen bakteriyel translokasyon yüksek mortalite oranıyla seyreden sepsis, hipermetabolizma ve multiorgan yetmezliğine sebep olur (8, 13, 20). Bakteriyel translokasyonun engellenmesi ve konakçı immün mekanizmalarının güçlendirilmesiyle mortalite oranında azalma beklenebilir. Yapılan değişik çalışmalarda selektif antibiyotik kullanılarak (21), intestinal duvarda meydana gelen mukozal harabiyeti önleyerek (6) ve immünolojik mekanizmaları destekleyerek (6, 22) bakteriyel translokasyonun engellenebileceğine dikkat çekilmektedir.

Somatostatin (SS-14) bir siklik tetradekapeptid olup ilk kez 1973 yılında Brazeau ve ekibi tarafından hipotalamustan izole edilmiştir (2). Bir somatostatin analogu olan ocreotide acetadın etkileri somatostatinler aynı olup yarı ömrünün uzun olması ve kullanım kolaylığı nedeniyle klinik ve deneysel uygulamalarda tercih edilmektedir (2, 23, 24). Ocreotide, endokrin sistem ve gastrointestinal sistem üzerine inhibitör etkilere sahiptir (24). Gastrointestinal peptidlerin büyük kısmı [Vazoaktif intestinal polipeptid (VIP), platelet aktive edici faktör (PAF), lökotrien-B₂ (LT-B₂)], gastrin, sekretin, gastrik asit salgısı, pankreatik salgı, safra ve diğer intestinal salgıların ocreotide tarafından büyük oranda inhibe edildiği bilinmektedir (2, 23-25). Bu peptidin intestinal motiliteyi azalttığı (26, 27), tavşan barsağında sıvı-elektrolit absorpsiyonunu artırdığı ve sekresyonları azalttığı gösterilmiştir (2). Ayrıca mezenterik kan akımını azalttığı (26), intestinal bakteriyel üremeyi azalttığı (28, 29, 41), intestinal mukozal hasarı önlediği (25, 30, 31) ve lokal intestinal immün defansı olumlu yönde etkilediği (22) bildirilmektedir.

Vitamin E, 1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilmiş olup alfa, beta, gama, delta olmak üzere dört formu vardır. Vitamin E'nin en aktif formu d-a-tocopheroldur. Vitamin E antioksidan ve hücre membran stabilize edici bir ajan olup vücudun defans mekanizmalarıyla ilgili etkileri vardır. Vitamin E biyolojik membranlarda poliansatüre yağ asitlerini stabilize ederek onları peroksidatif dejenerasyondan korur (33).

Bu deneysel çalışmada ocreotide acetade ve vitamin E'nin basit mekanik intestinal obstrüksiyondaki bakteriyel translokasyon üzerine etkileri araştırıldı.

MATERYEL VE METOD

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı, Ankara Numune Hastanesi Patoloji bölümü ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Deneysel ağırlıkları 180-220 gram arasında değişen Vistar Albino cinsi erkek ratlar kullanıldı. Deneysel kullanılan 60 rat aşağıdaki şekilde 12'şerli 5 gruba ayrıldı.

1. Grup: 24 saatlik intestinal obstrüksiyon+SerumFizyolojik (SF. 24)
2. Grup: 24 saatlik intestinal obstrüksiyon+Sandostatin (SS. 24)
3. Grup: 24 saatlik intestinal obstrüksiyon+Vitamin E (E. 24)
4. Grup: 48 saatlik intestinal obstrüksiyon+Serum Fizyolojik (SF. 48)
5. Grup: 48 saatlik intestinal obstrüksiyon+Sandostatin (SS.48)

Hayvanlar deney süresince standart hayvan yemi ve su ile beslendi. 12 saat açlığı takiben tüm raflarda 60 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg xylazine intramusküler enjeksiyonla anestezi yapıldı. Üst abdominal orta hat kesi ile laparotomi yapılarak ileoçekal bileşke izole edilerek 1 cm proksimalden 3/0 ipekle komplet mekanik intestinal obstrüksiyon oluşturuldu. İntestinal obstrüksiyon oluşturulduğu adan itibaren 1. ve 4. gruplara 12 saatte bir 1 cc serum fizyolojik, 2. ve 5. gruplarda 12 saatte bir 100 mgr/kg ocreotide acetade (Sandostatin®, Sandoz) subkutan olarak enjekte edildi. 3. gruba intestinal obstrüksiyon oluşturulmadan önce 1. ve 8. günler 2 cc. vitamin E (Ephynal®, Roche) (500 mg/kg) her iki uyluktan 1'er cc. intramusküler enjekte edilip 9. gün intestinal obstrüksiyon oluşturuldu. Aynı anda 3. doz E vitamini enjekte edildi. Tüm raflarda ikinci operasyon için anestezi olarak ketamin kullanıldı ve deneklerle ilgili çalışma bitince kardiyak fonksiyonla sakrifiye edildiler. Eski insizyon yerlerinden laparatomiler tekrarlandı. Batın açıldıktan sonra doku örnekleri alınmadan önce steril bir eküvyon ile periton kültürü alındı ve Brain Heart Infüzyon (BHI) besiyerine ekim yapılarak 24-48 saat süreyle 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

Bakteriyel Translokasyonun Gösterilmesi: Batın açıldıktan sonra doku örnekleri alınmadan önce steril bir eküvyon yardımı ile peritondan sürüntü alındı ve

Brain Heart Infüzyon (SHI) besiyerine ekildi, buradan içerisinde kanlı agar ve Mac Conkey agar bulunan plaklara ekim yapıldı. Daha sonra her denek için vena kava inferiordan 1 cc. kan alınarak içinde BHI besiyeri bulunan bifazik kan kültür vasatlarına ekim yapıldı 37 °C'de inkübe edildi. Daha sonra sırasıyla karaciğer, dalak, mezenterik lenf bezleri ve ileumdan birkaç mm'lük doku parçaları çıkartıldı, steril ortamda tartıldıktan sonra steril cam homojenizatörler içerisine yerleştirildi. Karaciğer, dalak ve mezenterik lenf bezleri 2 cc BHI besiyeri içerisinde homojenize edildikten sonra her homojenizattan 0.1cc örnek malındı agar, Mac Conkey agar ve Saburad dextroz agar besiyerlerine ekim yapıldı. İleumdan alınan doku parçası ise 5 cc BHI besiyeri içerisinde homojenize edildikten sonra, homojenizatın seri dilüsyonları hazırlandı (1/10__1/10) ve her bir dilüsyondan 0.1 cc kanlı agar, Mac Conkey agar besiyerine ekim yapıldı. Plaklar 24-48 saat süreyle aerob ortamda ve 37 °C'de inkübe edildi.

Karaciğer, dalak ve mezenter lenf bezlerinde gram doku başına düşen bakteri sayısı:

$$CFU^* \text{ sayısı} \times \text{dilüsyon katsayısı} \times 10 \times 2$$

doku ağırlığı

İleumdaki gram doku başına düşen bakteri sayısı ise

$$CFU \text{ sayısı} \times \text{dilüsyon katsayısı} \times 10 \times 5$$

doku ağırlığı

formüllerine göre ayrı ayrı hesaplandı.

CFU*: Colony Forming Unit

Üreyen mikroorganizmaların katı besiyerlerinde oluşturdukları koloni morfolojileri; pigment ve hemoliz oluşturmaları; Gram yöntemi ile boyanma özellikleri ve mikroskopik morfolojileri değerlendirildi. İleri **İden-**tifikasyon için **rutin** biyokimyasal testler uygulandı. Gram negatif enterik bakterilerin identifikasyonu amacıyla metil kırmızısı ve Voges Proskever testleri; triple şeker Iron (TSİ) besiyerindeki üreme özellikleri, hareket özellikleri; oksidaz, katalaz ve indol oluşturmaları; üre, sitrat, arginin, lizin, ornitin ve karbonhidratlar üzerine olan etkileri değerlendirildi. Gram pozitif bakterilerin

identifikasyonu amacıyla ise oksidasyon ve fermentasyon yapımları, plazma koagülaz ve katalaz oluşturmaları, mannitote etkileri, novobiasin, basitrasin ve optokhe karşı olan duyarlılıkları incelendi.

Morfolojik Analizler: Işık mikroskopisi için spesmenlerin tümü incelemeye alındı, ileumdan alınan parçalar %10'luk formolle fikse edilip 5 mm kalınlıkta kesitler hazırlandı ve bemotoksilen-eozinle boyandı. Preparatlar hangi spesmenin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen tek bir patolog tarafından Nikon marka Optiphot mikroskopta 40-100-200 ve 400'lük büyütmelemlerde incelendi, ileumdaki patolojik bulgular ödem, inflamasyon, hiperemi ve villus değişiklikleri açısından ayrı ayrı değerlendirilip 0-3 üzerinden puanlandı (0 puan: patolojik bulgu yok, 1 puan: minimal patolojik değişiklik, 2 puan: orta derecede patolojik değişiklik, 3 puan: şiddetli patolojik değişiklik olarak değerlendirildi).

Elektron mikroskopide incelenecek doku örnekleri fosfat tamponlu %2.5'lük gluteraldehit solüsyonu içinde iki saat süreyle oda sıcaklığında tespit edildi. Tamponda yıkanan doku parçaları fosfat tamponlu %1'lik osmium tetroksit içinde +4 °C'de bir saat süreyle ikinci kez tespit edildiler. Rutin takip yöntemleriyle izlenen doku örnekleri oraldite gömüldüler (TAAP epoxy resin kit). Yarıince kesitler (1-2 mm kalınlıkta) metilen mavisi-Azur II ile boyandıktan sonra, Olympus BH, ışık mikroskobuyla incelenerek fotoğrafları çekildi. İnce kesitler (60-80 nm kalınlıkta) uranil asetat ve kurşun sitratla ardarda boyandıktan sonra Carl Zeiss EM 9 S-2 elektron mikroskobuyla incelenerek elektromikrografılar elde edildi.

İstatistik Gruplardaki bakteriye! translokasyon oranları Fisher's Exact Testi, bakteri konsantrasyon oranları ise Mann-Whitney U Testi ile değerlendirildi. P<0.05 istatistik! olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

3, 4 ve 5. gruplarda 2'şer rat anestezi komplikasyonuna bağlı olarak öldü. Ayrıca 2. ve 5. gruplarda 1'er mikrobiyolojik incelemeleri sırasında kontaminasyon tesblt edildiğinden çalışma dışı bırakıldı.

Bakteriyel Translokasyon Bulguları: Tablo 1'de gruplardaki bakteriyel translokasyon oranları görülmektedir. Sandostatin'in bakteriyel translokasyon üzerine etkisi olmadı, vitamin E kısmen de olsa bakteriyel translokasyonu azalttı. 48 saatlik gruplarda, 24

Tablo 1. Gruplara göre organlardaki bakteriyel translokasyon insidansı

Grup	n	MLN	Karaciğer	Dalak	Periton	Kan
1(SF.24)	12	5/12	2/12	2/12	1/12	0/12
2(SS.24)	11	6/11	3/11	2/11	1/11	0/11
3(E.24)	10	3/10	1/10	1/10	1/10	0/10
4(SF.48)	10	9/10	9/10	7/10	6/10	4/10
5(SS.48)	9	9/9	7/9	8/9	4/9	5/9

p<0.05 SF.24-SF48

p<0.05 SS.24-SS48

Tablo 2. Gruplara göre organlardaki bakteri konsantrasyonu (gr dokuda x7")

Organlar	Gruplar				
	1(SF.24) 0i=12)	2(SS,24) (n=11)	3 (E.24) (n=10)	4 (SF.48) (n=10)	5(SS.48) (n=9)
Ileum*	1.80±2.34	1.88±1.92	1.87±1.68	3.99±4.36	2.53±2.06
MLN"	1.95±3.76	0.73±1.02	0.48±0.87	3.43±2.66	2.80±3.38
Karaciğer"	0.46±1.61	0.13±0.32	0.02±0.06	3.10*2.82	1.91 ±2.00
Dalak"	0.30±0.80	0.26±0.78	0.05i.0.15	2.63*3.08	1.19±1.09

*=(x 10⁶)"=(x 10³)

Tablo 3. Dokulara göre en sık üreyen mikroorganizmalar

Mikroorganizma	Ileum	MLN	KC	Dalak	Kan	Periton
gr(-) basil	13	16	13	11	3	12
gr(-) basil + gr(+) kok	39	11	9	8	1	2
gr(+) kok	—	4	1	1	4	1
Üreme Olmayan	—	21	29	32	44	37
Mantar (Candida)	3	1	—	1	—	—

saatlik gruplara göre translokasyon belirgin olarak fazla bulundu (p<0.05).

Tablo 2'de organlarda üreyen bakteri miktarları görülmektedir. Gruplar, organlarda üreyen bakteri sayısı açısından karşılaştırıldığında ileumdaki bakteri konsantrasyonları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. MLM, karaciğer, dalak gibi translokasyon görülen organlardaki bakteri konsantrasyonlarının ise 48 saatlik gruplarda belirgin olarak fazla olduğu gözlemlendi (p<0.05). Sandostatin ve vitamin E'nin bakteriyel çoğalım üzerine anlamlı bir etkisi gözlenmedi.

Mikrobiyolojik incelemeler souncu ileum, mezenter lenf nodları, karaciğer, dalak, kan ve peritondan izole edilen mikroorganizmaların türleri Tablo 3'de görülmektedir. En sık üreyen bakteri Escherichia Coli iken bunu sırasıyla Proteus, Staphylococcus, Enterococcus ve Lactobacillus izlemiştir. Mantar gösterilmesi amacıyla yapılan kültürlerde 3 denekte ileumda candida tesbit edilirken 1 denekte mezenter lenf nodu ve dalağa translokasyon görüldü.

Histopatolojik Bulgular

a-)Işık Mikroskobu Bulguları: Işık mikroskopisi incelemelerinde ödem sadece mukozada gözlemlendi. İnflamasyon tüm barsak duvarında vardı ancak yoğunluğu değişiklik göstermekteydi. Hiperemi öncelikle lamina propria ve serozada dikkat çekmekteydi. Barsak duvarında görülen hiperemi, inflamasyon, ödem ve villus değişiklikleri (villuslarda genişleme ve küntleşme) ayrı ayrı 0-3 üzerinden puanlandı. Herbir denek için his-

Tablo 4. Gruplara göre histopatolojik değişikliklerin puanlaması

Grup	n	Ortalama Puan
1(SF.24)	12	4.9±1.4
2(SS.24)	11	4.5±1.2
3(E.24)	10	2.8±0.8
4(SF.48)	10	7.4±1.7
5(SS.58)	9	6.3±1.6

p<0.05 Grup 1-3

p<0.05 Grup 1-4

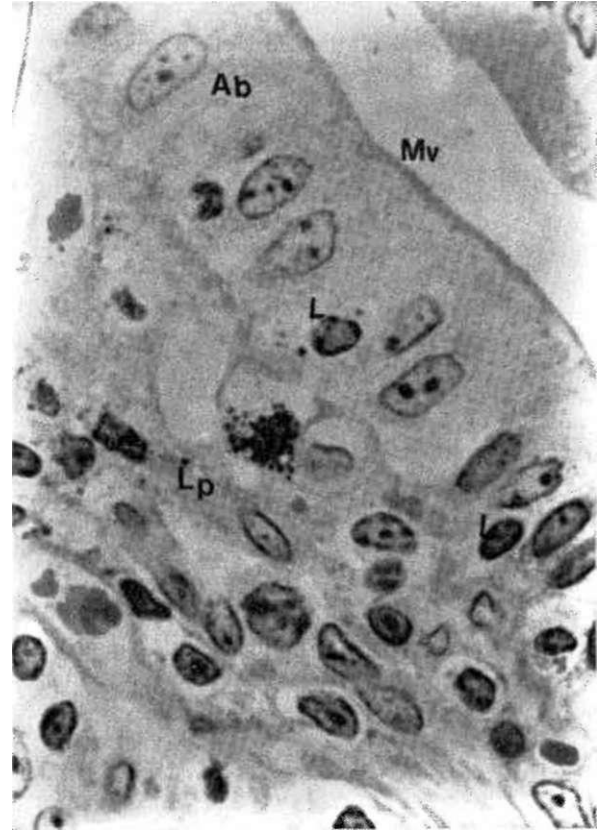
p<0.05 Grup 2-5

topolojik parametrelere verilen puanlar toplanarak, toplam histopatolojik puan bulundu. Bu puanlamaya göre histopatolojik değişiklikler Tablo 4'de görülmektedir.

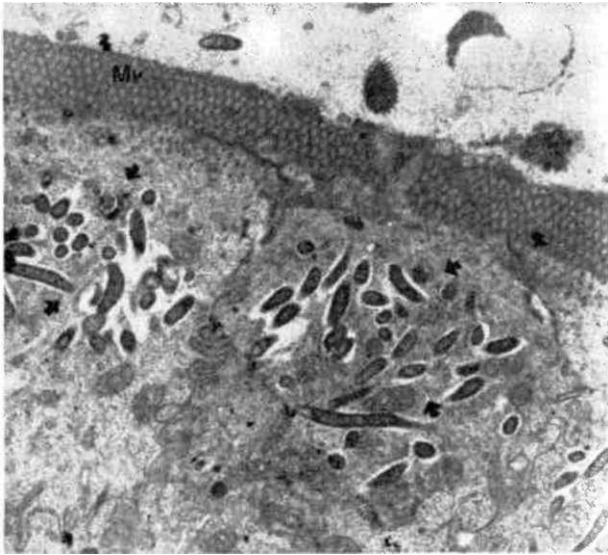
E vitamini ve sandostatin uygulanan gruplarla kontrol grubu karşılaştırıldığında E vitamini grubunda histopatolojik bozuklukların daha az olduğu gözlemlendi (p<0.05) (Tablo 4). 24 ve 48. saatlere göre kontrol ve Sandostatin grupları kendi içlerinde karşılaştırıldığında süre uzadıkça histopatolojik bozuklukların arttığı tespit edildi (p<0.05) (Tablo 4).

b-)Yarıince Kesit Işık Mikroskobu Ve Elektron Mikroskobu Bulguları: 24 saatlik kontrol ve Sandostatin gruplarından elde edilen yarıince kesitlerde, ışık mikroskobu bulgularıyla uyumlu olarak villuslarda epitelin oldukça iyi korunmasına karşın bazı yerlerde küçük odaklar biçiminde döküldüğü, lamina proprianın ödemli, genişlemiş, damarlardan zengin olduğu saptandı.

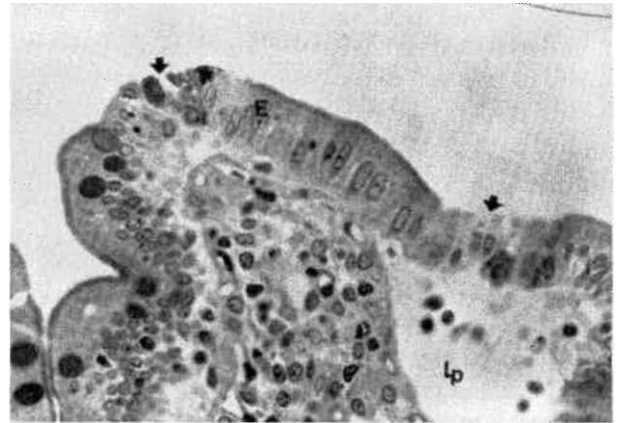
Kript histolojik yapılat 48 saatlik gruplara göre daha iyi korunmuş olarak bulundu. Absorptif epitelin ince yapısının incelenmesinde hücreler arası komşuluklar ve apikal mikrovillüs yapıları normal bulundu. Işık mikroskopunda epitel hücrelerinin apikal sitoplazmalarında gruplar biçiminde ve gölge olarak görülen yapıların, elektromikrograflarda kesit geçişine bağlı ince, uzun, iğ biçiminde, ovalden yuvarlağa kadar değişen şekillerde barsak florası bakterilerinden E.Coli'ye alt görünümle uyumlu olduğu gözlemlendi. Bu yapıların çoğunun iç yapılarının homojen, koyu, bazılarının ise daha açık görünümde oldukları saptandı. Çevrelerinde kendi zarlarından başka zar görülmedi. İnce yapı düzeyinde epitel hücrelerinin çekirdekleri ve sitoplazmaları normal görünümde bulundu (Şekil 1). E vitamini uygulanan gruptan elde edilen yarı ince kesitlerde yukarıda tanımlanmış olan değişikliklerin azalmış olduğu, özellikle epitel örtüsünün normal yapısının korunduğu, lamina propriadaki ödemin azaldığı saptandı (Şekil 2). 48 saatlik kontrol ve Sandostatin gruplarından elde edilen yarıince kesitlerde benzer bulgular gözlemlendi. Çoğunu absorptif hücrelerin oluşturduğu ve aralarında goblet hücrelerinin bulunduğu, tek katlı prizmatik epitel ile örtülü villuslarda yer yer küçük dökülme bölgelerinin bulunduğu gözlemlendi. Lamina proprianın bu bölgelerde barsak lümenine açıldığı dikkati çekti. Lamina propriaların hücreden zengin ve ödemli olduğu gözlemlendi. Ödemli alanlarda serbest olarak yuvarlak hücrelerin yer aldığı dikkati çekti (Şekil 3). 48 saatlik Sandostatin ve kontrol gruplarından elde edilen doku kesitlerinden çekilen elektromikrograflarda absorptif epitel hücrelerinin ve goblet hücrelerinin normal yapılarını korudukları görüldü. Bu grubun yarıince kesitlerinde absorptif epitelin



Şekil 2. 24 saatlik t vitamini grubuna ait yarıince kesit. Tek sıralı prizmatik absorptif epitel ve lamina propria normal görünümündedir. Ab Absorptif epitel hücresi, L: Lenfosit, Mv: Mikrovillüs, Lp: Lamina propria (Metilenmavisi-Azur il X 100).



Şekil 1. 24 saatlik Sandostatin grubuna ait elektron mikrografta, komşu iki absorptif epitel hücresi görülmektedir. Apikal sitoplazmada çok sayıda ince, uzun, oval yada yuvarlak biçimde, çoğunun içeri homojen koyu boyalı mikroorganizmalar saptanmıştır (ok). Komşu hücre bağlantılarında bir değişiklik dikkati çekmemiştir. Benzer olarak mikrovilluslarda (Mv) normal görünümündedir (Uranil asetat-kurşun sitrat X 8500).



Şekil 3. 48 saatlik Sandostatin grubuna ait yarıince kesit. Villuslarda biçim bozukluğu görülmektedir. Epitel örtüsünde (E) yer yer dökülme (ok), lamina propriada (Lp) ödem nedeni ile şişme ve yuvarlak hücre artımı saptanmıştır. Hücrelerin apikallerinde topluluklar halinde bakteri silüetleri görülmektedir f (Metilen mavisi-Azur !! X 40).

apikal sitoplazmalarında siluet halinde de olsa bakteriyel translokasyon yoğun olarak gözlenmişken, elektron mikroskopideki kesitlerde taranan alanlarda bu bakteriler görülmedi.

TARTIŞMA

İntestinal obstrüksiyonda barsak hareketlerinde, absorpsiyon ve sekresyon fonksiyonlarında ciddi değişiklikler meydana gelir. Barsak duvarının beslenmesi bozulur, mukozal harabiyet oluşur. Bunlara ekolojik denge bozukluklarının eklenmesi ve immün sistemin olaya katılmasıyla henüz basit mekanik intestinal obstrüksiyon evresinde bile bakteriyel translokasyonla, barsak sistemik enfeksiyon ve multiorgan yetmezliği için rezervuar bir kaynak haline alır (6, 8, 34-6). Terminal ileum düzeyinde oluşan obstrüksiyonlarda bakteriyel translokasyonun daha fazla olduğu gösterilmiştir (10). Bizde bu yüzden çalışmamızda terminal ileum seviyesinde bir obstrüksiyon oluşturmayı uygun bulduk.

Helton S. yaptığı bir çalışmada Sandostatin'in deneysel kolitte bakteriyel translokasyonu engellediğini göstermiştir. Mekanizmasını tam açıklayamamakla birlikte Sandostatin'in lokal intestinal immün savunma mekanizmalarını kuvvetlendirdiğini ileri sürmüş, fagositik aktiviteyi ve intrasellüler bakteri öldürme fonksiyonlarını arttırdığını belirtmiştir (22). İntestinal obstrüksiyonda direk olarak Sandostatin'in bakteriyel translokasyona etkisini araştıran bir çalışma yoktur. Yapılan deneysel çalışmalarda Sandostatin'in, intestinal obstrüksiyonda yaşam süresini artırdığı (24), barsaklarda sıvı emilimini artırıp sekresyonu azalttığı (2, 37), VIP, gastrin, sekretin, pankreatik polipeptid, insülin, glukagon ve diğer tüm gastrointestinal sekresyonları azalttığı (2, 23, 27), biliyer obstrüksiyonda intrinsek myoelektrikal aktiviteyi artırarak bakteriyel çoğalmayı engellediği (28), asetik asite bağlı kolitte mukozal hasarı önlediği (30) ve raflarda RES aktivitesini sitimüle ettiği (38) gösterilmiştir. Öte yandan diğer bazı çalışmalarda ise Sandostatin'in intestinal rezeksiyonlardan sonra postrezeksiyonel hiperpilaziyi önlediği (39) intestinal kan akımını azalttığı (26) ve intestinal motiliteyi azalttığı (27) gibi etkilerinin olduğu da ileri sürülmüştür. Haskel Y. tarafından yapılan bir çalışmada da elementel diyetle bağlı bakteriyel translokasyonda, diyetle fiber katılmasıyla translokasyonun azaldığı ancak fiberden zengin diyet alan raflara Sandostatin verilmesiyle fiberin bu olumlu etkisinin ortadan kalktığı gözlenmiştir (40).

Çalışmamızda 24. ve 48. saatlerde mezenter lenf nodları, karaciğer, dalak, periton ve kana olan translokasyon oranlarında Sandostatin'in etkili olmadığını gözledik. Bulguların bu şekilde çıkmasının çeşitli nedenleri olabilir. Bizce bunlardan en önemlisi Sandostatin'in pasaj üzerine olan etkilerinin bu çalışmada önemini yitmesidir. Komplet mekanik intestinal obstrüksiyon oluşturulduğundan literatürde belirtilen myo-

elektrikal aktiviteyi artırıcı etki ve/veya intestinal motiliteyi azaltıcı etkilerinin bu modelde etkili olmadığını düşünmekteyiz. Hernekadar literatürde Sandostatin'in immün sistem mekanizmalarını destekleyici etkisinden bahsedilse de (22, 38), başka çalışmalarda mezenterik kan akımını azalttığı gösterilmiştir (26, 41). Bu durum zaten intestinal obstrüksiyonda beklenen iskemik değişiklikler artırıcı bir faktör olabilir. Barsak kan akımının bozulması Sandostatin'in immün sistem üzerine beklenen olumlu etkisini ortadan kaldırmış olabilir.

Fuller K.G. ve Berg R.D. 1985 yılında yaptıkları bir çalışmada nonspesifik immünmodülatörlerin mezenter lenf nodlarına bakteriyel translokasyonu azalttığını göstermişlerdir (6). Bu amaçla yapılan çalışmalarda propionibacterium acnes, gluçan-P ve muramyl dipeptide gibi nonspesifik makrofaj aktivatörleri kullanılmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalarda vitamin E'nin hücrel ve humoral immüniteyi stimüle ettiği (42-46), makrofaj aktivasyonunu artırdığı (32,43,46), IL-2 düzeyini artırıp PGE2 düzeyini azalttığı (42, 47) ve antioksidan etki gösterdiği (33, 42, 43) bildirilmiştir. Çalışmamızda vitamin E, kontrol ve sandostatin gruplarına göre bakteriyel translokasyonu azalttı, ancak aradaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmadı, yukarıda bahsedilen etkileriyle vitamin E'nin immün sistemi kuvvetlendirerek ve mukozal bariyerin bozulmasını önleyerek etkili olduğu düşünülebilir. Denek sayısının az olması da istatistiki değerlendirmeyi olumsuz yönde etkilemiş olabilir.

Bakteriyel translokasyon açısından kontrol ve Sandostatin grupları kendi aralarında süreyle mukayese edildiğinde 24. ve 48. saatler arasında belirgin fark gözlemlendi (Tablo 1). Mezenter lenf nodlarında 24. saatte kontrol grubunda %41.6, Sandostatin grubunda %41.6, Sandostatin grubunda %54.5 oranında bakteri gösterilmişken, 48 saatte bu oranlar kontrol grubunda %90, Sandostatin grubunda %100'e çıkmıştır. Karaciğer, dalak, periton ve sistemik kan dolaşımında da benzer sonuçlar bulunmuştur. Bakteriyel translokasyonla süre arasındaki ilişki literatürde takışılmış ve intestinal obstrüksiyondan 6 saat sonra mezenter lenf nodlarına, 24 saat sonra da diğer organlara bakterilerin yayıldığı gösterilmiştir (20). Bizim çalışmamızda da literatür verilerine uygun olarak bakteriyel translokasyonun obstrüksiyon süresiyle paralel olarak arttığını gözledik (Tablo 1). Çalışmamızda bakteriyemi 24. saatten sonra gözlenmiş olup ilk 24 saatte hiçbir denekte kanda bakteri izole edilmemiştir. Daha önce Deitch E.A. tarafından yapılan bir çalışmada da bakteriyeminin 24. saatten sonra geliştiği gösterildi (20). Aynı çalışmada ayrıca obstrüksiyondan sonra 24. saate kadar geçen süre içerisinde ileumdaki bakteri konsantrasyonunun arttığı, bu saatten sonra bakteri çoğalmasında belirgin bir artış olmadığı gösterilmiştir (20). Bizde 24. ve 48. saatlerde ileumdaki bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak fark bulamadık. Bakteriyel translokasyon görülen organlarda ise süre uzadıkça

transloke olan bakteri sayısının arttığını ve bu farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu gözlemlenildi (Tablo 2). Sandostatin ve vitamin E bakteriyel çoğalmayı anlamlı olarak etkilemedi.

Bakteriyel translokasyona ilgili çalışmalarda en fazla transloke olan bakterinin E. Coli olduğu gösterilmiştir (6,7,10,36). Yaptığımız mikrobiyolojik analizlerde en fazla gr (-) basillerin ve özellikle de E.Coli'nin ürediğini gözlemlenildi. Bunu sırasıyla proteus, staphylococcus, enterococcus ve lactobacillus izlemiştir (Tablo 3). Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde nasokomial enfeksiyonlar sıklıkla gr (-) basillerden meydana gelir. Immünsüpressif hastalarda bu tür enfeksiyonlar sıklıkla ölümle sonuçlanmaktadır. Vitamin E'nin özellikle bakteriyel enfeksiyonlara karşı direnci artırdığı bilinmektedir (44, 45). Bu durumda vitamin E'nin bakteriyel translokasyonu azaltıcı etkisi yanında transloke olan bakterilerin enfeksiyon oluşturmalarını da önleyici etkisinden bahsedilebilir.

Barsak mukozası bakteriyel translokasyona karşı vücudu koruyan en önemli mekanizmalardan birisidir (6). Muhvihill S.J. yaptığı deneysel bir çalışmada intestinal obstrüksiyonda somatostatinin ileum duvarındaki hasarı azalttığını göstermişti. Başka bir çalışmada da asetik asite bağlı kolitte Sandostatin'in muhtemelen PAF aktivitesi, LT-B. ve PGE₂ salınımını azaltarak mukozal hasarı engellediği gösterilmiştir (30). Bu iki çalışmanın aksine somatostatinin ince barsaklarda postrezeksiyonel adaptasyonu bozduğu gösterilmiştir (39). Çalışmamızda 24 ve 48 saatlik Sandostatin gruplarının kontrol gruplarına göre ileumdaki hasarı kısmen engellediği görüldü (Şekil 3) ancak bu fark istatistiki olarak anlamlı değildi (Tablo 4). Sandostatin ve kontrol grupları elektron mikroskopi düzeyinde incelendiğinde de her iki grupta epitel hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmaları normal yapıda bulundu. Kontrol ve Sandostatin grupları kendi içlerinde süreyle mukayese edildiğinde 24 saatlik gruplarda hücreler arası komşulukların ve apikal mikrovillusların yapılarının bozulmamış olduğu göze çarpmaktadır. 48 saatlik kontrol ve Sandostatin gruplarında ise villuslarda epitel hücrelerinin yer yer döküldüğü ve lamina propria'nın barsak lümenine açıldığı dikkati çekmektedir (Şekil 3). Görüldüğü gibi 24. saatte sonra barsak mukozasındaki harabiyet belirgin olarak artmakta ve intestinal bakteriler kolayca lümeninden transloke olmaktadır. 24 saatlik Sandostatin grubuna ait elektromikrograflarda transloke olan bakteriler hücre içinde gözlemlendi. Bu bakterilerin hangi mekanizmayla hücreye girdiğini söylemek zordur. Ancak çevrelerinde kendi zarlarından başka zar görülmemesi ve translokasyon görülen hücre bölümünün apikalinde mikrovilluslar arasında silüet halinde küçük alanlarda boşluklar görülmesi (Şekil 1) bu bakterilerin fagositoz dışında başka bir mekanizmayla doğrudan en-

terositlerin sitoplazmalarına girdiğini ve bu giriş bölgelerinin hızla rejenere olduğunu düşündürmektedir. Alexander J.VV'de daha önce yaptığı bir çalışmada E. Coli'nin fagositoz dışında başka bir mekanizmayla enterositlere direk olarak girdiğini belirtmişti (9). Kanımızca deney gruplarının zaman aralıklarının daha sıklaştırılmasından sonra alınacak örneklerin incelenmesinde translokasyon mekanizmasıyla ilgili olarak daha ayrıntılı yorumlar yapılabileceği olacaktır.

Vitamin E membran metabolizmasında rol alan intestinal hücreleri koruyucu etki göstermektedir (33). Ayrıca PGE₂ düzeyini azalttığı bilinmektedir (47). Bu çalışmada da vitamin E kontrol ve Sandostatin gruplarına göre mukozal hasarı belirgin oranda azalttı ve bu sonuç istatistiki olarak anlamlı bulundu (p<0.05) (Şekil 2). Vitamin E ile ilgili olarak barsak duvarında ortaya çıkan olumlu değişikliklerin, vitamin E'nin antioksidan ve membran stabilizatör etkileri yanında PGE₂ düzeyini azaltmasına bağlı olduğu düşünülebilir. Vitamin E mukozal hasarını önleyerek ve immün sistemi stimüle ederek bakteriyel translokasyonu azaltmış olabilir. Bu deneysel çalışmanın sonuçlarına göre özellikle vitamin E'nin intestinal obstrüksiyonda istatistiksel olarak anlamlı oranda mukozayı koruyucu etki gösterdiği ve istatistiki olarak anlamlı oranda mukozayı koruyucu etki gösterdiği ve istatistiki olarak anlamlı olmasa da bakteriyel translokasyonu azalttığı ileri sürülebilir. Öte yandan Sandostatin'in intestinal obstrüksiyonda barsak duvarı ve bakteriyel translokasyon üzerine olumlu veya olumsuz anlamlı bir etkisi gözlemlenmedi. Bu sonuçlar malign parsiyel obstrüksiyonlarda ve intestinal obstrüksiyonun erken dönemlerinde vitamin E'nin bakteriyel translokasyonu azaltmaya yönelik faydalı etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Her ne kadar klasik kitaplarda intestinal obstrüksiyonda nonoperatif tedaviye 48 saatte cevap alınmayan vakalarda cerrahi tedavinin uygulanması gerektiği vurgulansa da, bakteriyel translokasyonun daha erken dönemlerde başladığı bir gerçektir. Bu durumda barsak beslenmesinin henüz bozulmadığı dönemde bile bakteriler karın içi organlara geçebilmektedir. Çalışmamızda önce 48 saatlik intestinal obstrüksiyon grupları karşılaştırıldı, gerek makroskopik gerekse de mikroskopik olarak her iki grupta barsak duvarında ileri derecede bozukluklar tesbit edildi. Yine her iki grupta çok yüksek oranda bakteriyel translokasyon görüldü. Bunun üzerine 24 saatlik gruplarla çalışmaya devam edildi. 24 saatlik gruplarda bile özellikle vitamin E'nin barsak duvarındaki hasarı azaltması ve bakteriyel translokasyonu kısmen engellemesine rağmen bu sürenin dahi komplet mekanik intestinal obstrüksiyon için uzun olduğunu düşünmekteyiz. Bu durumu çalışmanın önemli bir sonucu olarak belirtmek istiyoruz. Bu çalışmanın devamı olarak 12 ve 6 saatlik dönemlerdeki sonuçların araştırılması ve kısmi intestinal obstrüksiyonda benzer çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Upset PA. Small bowel obstruction in Current Surgical Therapy. Edt: Gay MS. Fourt edition, Mosby Company, USA. 1992; 98-101.
2. Mulhivill SJ, Passes TN, Fonklasrud EW, et al. The effect of somatostatin on experimental intestinal obstruction. Ann Surg. 1989; 207: 169-73.
3. Bizer LS, Liebling RW, et al. Smaal bowel obstruction. Surgery. 1989; 89: 407-13.
4. Shields R. The absorption and secretion of fluid and electrolytes by the obstructed bowel B J Surg 1965; 52: 774-9.
5. Cohn I, Chappus CW. Bowel obstruction in Gastrointestinal Emergencies. Edt: Mark B Taylor. Secondedition, Williams and Wilkins Company, Maryland, USA. 1993; 32: 374-91.
6. Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. J Med: 1992; 23: 217-44.
7. Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. Arch Surg. 1989; 124: 699-701.
8. Fukushima R, Gionotti L, Alexander JW. The Primer site of bacterial translocation. Arch Surg 1994; 129: 53-8.
9. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, et al. The process of microbial translocation. Ann Surg 1990; 212: 496-512.
10. Deitch EA, Bridges WM, Wen Ma J, et al. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. Am J Surg. 1990; 159: 394-401.
11. Deitch EA, Winterton J, Berg R. Effect of starvation malnutrition and travma on the gastrointestinal tract flora and bacterial translocation. Arch Surg. 1987; 112: 1019-24.
12. Deitch EA, Berg R, Specian R. Endotoxin promotes the translocation of bacteri from the gut. Arch Surg. 1987; 122: 185-90.
13. Sorl AJ, Rush BF, Lysz TW, et al. The gut as source of sepsis after hemorrhagic shock. Am J Surg 1988; 155: 187-92.
14. Deitch EA, Bridges RM. Effects of stress and travma on bacterial trnaslocation from the gut. J Surg Res 1987; 42: 536-42.
15. Deitch EA, Winterion J, Berg RD. Thermal injury promotes bacterial trnaslocation from the gastrointestinal tract in mice with impaired T-cell-mediated immunity. Arch Surg. 1986; 121: 97-100.
16. Deitch EA, Maejima K, Berg RD. Effect of orall antibiotics and bacterial overgrowth on the translocation of the gastrointestinal tract microflora in burned rats. J Trauma. 1985; 25: 385-92.
17. Morehouse JL, Specian RD, Stewart JJ, Berg RD. Translocation of indigenou bacteria from the gastrointestinal tract of mice after oral ricinoleic acid treatment. Gastroenterology. 1986; 91: 673-82.
18. Penn RL, Maca RD, Berg RD. Increased translocation of bacteria from the gastrointestinal tracts of tumor-bearing mice. Infect Immun. 1985; 47: 793-8.
19. Berg RD, Garlington AW. Translocation of certain indigenou bacteri from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a g^otobiotic mause model. Infect Immun. 1979; 23: 403-11.
20. Brooks SG, May J, Sedman P, et al. Translocation of enteric bacteria in humans. Br J Surg 1993; 80: 901-2.
21. Berg RD, Owens WE. Inhibition of transioccation of viable escherichia coli from the gastrointestinal tract of mice by bacterial antagonism. Infect Immun. 1979; 25: 820-7.
22. Helton S, Garcia R, Somatostatin analogue attenates bacterial translocation following hapten-induced colitis. Gastroenterology. 1993; 104: A712.
23. Thompson JS, Nguyen BT, Harty RF. Somatostatin analogue inhibitis intestina' regeneration. Arch Surg 1993; 128: 385-9.
24. Gittes GK, Nelson MT, Debas HT, et al. improvement in survival of mice with proximal small bowel obstruction treatment with ocreotide. Am J Surg 1992; 163: 231-3.
25. Mercadaste S. The use of ocreotide bowel obstruction. Palliative Medicine. 1993; 7: 78.
26. Price BA, Jaffe BM, Zinner MJ. Effect of exogenous somatostatin infusion on gastrointestinal blood flow and hormones in the consious dog. Gastroenterology. 1985; 88: 80-5.
27. Guandalini S, Kachor JF, Smith PL, et al. In vitro effects of somatostatin on ion transport in rabbit intestine. Am Physiol Soc. 1980; 667-78.
28. WAJMM, Haagh, Verheem A, et al. The effects of ocreotide on small bowel motilty and intestinal microflora in rats with biliary obstruction. Gastroenterology. 1994; 106: A340.
29. Verne GN, Edker EY, Hardy E, et al. Use of ocreotide and gastrointestinal manometry in idiopathic cronic intestinal pseudoobstruction. Gastroenterology. 1994; 106: A584.
30. Eliakim R, et al. Sandostatin effectively prevent colonic mo-cozal damage in acetic acid induced colitis. Gastroenterology. 1992; 102: A619.
31. Eliakim R, Karmeli F, Okon E, Rachmilewitz D. Ocreotide effectively devreases mucozal damage in experimental colitis. Gut 1993; 34: 264-9.
32. Tengerdy RP. Immunity and disease resistance in farm animals fed vitamin E supplement. Adv Exp Med Bio! 1990; 262: 103-10.
33. Melanaar J, Harmes FA, Braams WG, et al. Effect of vitamin E on membranes of the intestinal cell. Biochemistry 1968; 61: 982-8.
34. Wright HK, Bries JJO, Tilson MD. Water absorption in experimental closed segment obstruction of the ileum in man. Am J Surg. 1971; 121: 96-9.
35. Shikate J, Shide T, et al. Experimental studies on the hemodynamics of the small intestine following increased intraluminal pressure. Surg Gynecol Obstet. 1983; 156: 155-60.

36. Roscher R, Oettinger W and Beger HG. Bacterial microflora, endogenous endotoxin and prostaglandins in small bowel obstruction. *Am J Surg.* 1988; 155: 348-55.
37. Mercadante S, Spoldi E, Caraceni A, et al. Ocreotide in relieving gastrointestinal symptoms due to bowel obstruction. *Palliative Medicine.* 1993; 7: 295-9.
38. Baxter JN, Jerkins SA, Doy DW and Shields R. Effects of a somatostatin analogue (SMS 201-995) on hepatic and splenic reticulo-endothelial function in the rat. *Br J Surg.* 1985;72:1005-8.
39. Bass BL, Fisher BA, Richardson C, et al. Somatostatin analogue treatment inhibits post-resectional adaptation of the small bowel in rats. *Am J Surg* 1991; 161: 107-12.
40. Haskel Y, Xu D, Lu Qi. et al. Elemental diet-induced bacterial translocation can be hormonally modulated. *Ann Surg.* 1993; 6: 634-43.
41. Lin TM, Evans DC, Shaar CJ and Root MA. Action of somatostatin on stomach, pancreas, gastric mucosal blood flow and hormones. *Am Physiol Soc.* 1983; 640-5.
42. Meydani SN, Meydani M and Blumberg JB. Antioxidants and the aging immune response. *Adv Exp Med Biol* 1990; 262: 57-67.
43. Bendich A. Antioxidant vitamins and their function in immune responses. *Adv Exp Med Biol* 1990; 262: 35-55.
44. LIM TS, Putt N, Safranski D, et al. Effects of vitamin E on cell-mediated immune responses and serum corticosteroid in young and maturing mice. *Immunology.* 1981; 44: 289-95.
45. Tengerdy RP, Heinzerling RH, Brown GL. Enhancement of the humoral immune response by vitamin E. *Int Arch Allergy* 1973; 44: 221-32.
46. Moriuchi S, Kobayashi N and Kishine Y. High dietary intakes of vitamin E and cellular immune functions in rats. *J Nutrition* 1990; 120(9): 1096-102.
47. Meydani SN, Meydani M, Verdant CP, et al. Vitamin E supplementation suppresses prostaglandin E₂ synthesis and enhances the immune response of aged mice. *Mech Ageing develop.* 1986; 34: 191-201.