

Splenektomi Yapılan Sıçanlarda İntraperitoneal Dren Uygulaması Sonrası Bakteriyel Translokasyon

BACTERIAL TRANSLOCATION AFTER INTRAPERITONEAL DRAIN IN THE SPLENECTOMIZED RATS

Mahmut BAŞOĞLU*, Mehmet İlhan YILDIRGAN*, Kamil Yalçın POLAT*,
Cemal GÜNDOĞDU**, İbrahim KAVAK*, Selahattin ÇELEBİ***

* Dr.,Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD,

** Dr.,Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,

*** Dr.,Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, ERZURUM

Özet

Bu çalışmadaki gayemiz intra peritoneal drenlerle bakteriyel translokasyon olup olmadığı ve splenektominin olabilecek bakteriyel translokasyona etkisini araştırmaktır. Bu durumu değerlendirmek amacıyla sağlıklı wistar albino türü ratlar kullanıldı. Denekler her grupta 10' ar adet olmak üzere dört gruba ayrıldılar. Grup I; Sham operasyonu yapıldı, Grup II; intraperitoneal dren uygulandı, Grup III; splenektomi + İntraperitoneal dren uygulandı, Grup IV; splenektomi yapıldı. Laparotomiden bir hafta sonra deneklerin karnına dren yerleştirildi. Bunu takip eden 2. Günde yeniden laparotomi yapıldı. Kan, MNL, karaciğer, akciğer ve böbrekten doku örnekleri alındı. Ayrıca çekuma kolotomi yapılarak çekal içerikten kültür için materyal alındı. Kan kültürlerinde üreme olmadı. Grup II' de diğer gruplara göre bakteriyel translokasyon oranı anlamlı derecede yüksek bulundu. Çekum kültürlerinde de Grup II' de diğer gruplara göre anlamlı derecede bakteri kolonizasyonu oluştuğunu belirlendi. Histopa-tolojik incelemede splenektomi yapılan deneklerde ileumun mukozal bariyerinin korunduğu ve daha az hücre infiltrasyonu olduğu görüldü.

Sonuç olarak; intraperitoneal biyomateryallerle bakteriyel translokasyon oluştuğu ve splenektominin bunu azaltığını gözledik.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel traslokasyon, Splenektomi

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:190-195

Summary

The aim of this study was to investigate the possible presence of bacterial translocation associated with the use of abdominal rubber drains and the effect of splenectomy to this event. For this purpose, healthy Wistar Albino rats were used. Animals were divided into 4 groups, each containing 10. In group I: sham-operation, in group II: intraperitoneal rubber drain, in group III: splenectomy plus intraperitoneal rubber drain and group IV splenectomy were performed. Rubber drain was insided into peritoneum one week after laparotomy. Two days after rubber drain implantation, relaparotomy was done. Specimens from liver, lung, kidney, blood and MNL were obtained. Additionally, cecum was excised and luminal content was taken for culture. No grow was seen in blood cultures. Bacterial translocation was found significantly higher in group II than in other groups. It was seen that formation of bacterial colonisation was also considerably prominent in group II when compared to other groups. Histopathologic evaluation showed that in splenectomy-applied groups, barrier of ileal mucosa was protected and inflammatory cell infiltration was lower.

As a conclusion, we observed that bacterial translocation occurred with intraperitoneal biomaterials and splenectomy decreased the rate of bacterial translocation.

Key Words: Bacterial translocation, Splenectomy

T Klin J Med Sci 1998, 18:190-195

Bakteriyel translokasyon (BT), enterik bakterilerin epiteliyal mukozalardan geçerek lamina propriaya, oradan da mezenterik lenf nodlarına ve

diğer organlara yayılmasıdır (1-5). Travma, cerrahi, sepsis gibi durumlardan sonra Retikuloendotelial sistem' in (RES) fagositöz ve kan dolaşımındaki partikülleri temizleme kapasitesinin bozulduğu bildirilmiştir (6). Dalağın organizmayı infeksiyonlara karşı koruduğu bilinen bir gerçektir (7). Klinik olarak, splenektomi yapılan hastalarda, ankapsüle mikroorganizmalar ölümcül sepsis oluşturabilmektedir (7,8). Son çalışmalarda da splenektominin;

Geliş Tarihi: 09.12.1996

Yazışma Adresi: Dr.Mahmut BAŞOĞLU
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi AD, ERZURUM

akciğer ve karaciğer gibi diğer organlarda makro-fajların fonksiyonunu değiştirebildiği gösterilmiştir (9). Bu çalışmalar splenektominin barsağın antibakteriyel defansında düzenleyici rol oynayıp oynamadığı sorusunu gündeme getirmektedir (7).

Peritoneal kavitede sıklıkla dren, sütür, vasküler protez gibi yabancı materyaller kullanılmaktadır. Organizma bu gibi materyalleri yabancı cisim olarak tanımladığından akut veya kronik inflamatuvar reaksiyon verebilir (10). Bazı araştırmacılar biomateriyallerin intraperitoneal implantasyonu bakteriyel translokasyon oluştuğunu iddia etmişlerdir (11). Bakteriyel translokasyonu önlemede MNL, jejunum, kalın barsaklar ve barsak yakınındaki lenfoid dokular (payer plakları ve lenfoid nodüller) konakçının lokal defansında önemli bir yer teşkil ederler (12). Biomateriyallerin oluşturduğu ekstraintestinal inflamatuvar reaksiyon sebebiyle bakteriler intestinal mukoza ve daha sonra da lamina propriaya geçerler. Oradan da sistemik sirkülasyona ve diğer organlara taşarlar (10,13).

Biz bu çalışmada intraperitoneal biomateriyallerle bakteriyel translokasyon oluşup oluşmadığını ve bu duruma splenektominin etkisini araştırmayı amaç edindik.

Materyel ve Metod

Bu çalışmada 40 adet, 320-370 g ağırlığında, sağlıklı wistar albino türü erkek ratlar kullanıldı. Denekler bir hafta aynı laboratuvar şartlarında tutuldular. Deneyden önce 24 saat aç bırakıldılar. Denekler her grupta 10'ar tane olmak üzere dört gruba bölündü. Ether anestezisiyle steril şartlarda tüm deneklere laparotomi yapıldı.

Grup 1: bu gruptaki deneklere laparotomi yapıldı ve karın kapatıldı (sham operasyonu).

Grup 2: intraperitoneal dren tatbik edildi.

Grup 3: splenektomi + intraperitoneal dren uygulandı.

Grup 4: splenektomi yapıldı.

Splenektomi yapılırken pankreasın kuyruğuna zarar vermemeye çalışıldı. Dalağın arteri 3/0 ipekle bağlandıktan sonra splenektomi yapıldı. Laparotomiden 1 hafta sonra steril koşullarda ve ether anestezisiyle tüm deneklere karının orta hattından 2 cm lik keski yapıldı. Grup 2 ve Grup 3 de ki deneklere $\cong 6$ cm²'lik lastik dren karının sağ alt

tarafına yerleştirildi. Drenlerin dışarıyla irtibatları kalmayacak şekilde karın kapatıldı. Dren konulduktan 2 gün sonra yeniden steril şartlarda laparotomi yapıldı. Mikrobiyolojik incelemeler için V. Cava'dan 2 ml kan alındı. Kanlar aerobik ve anaerobik kültür şişelerine (Bac T Alert) konuldu. Dokulardaki bakteri kolonizasyonunu göstermek için steril şartlarda tüm deneklerde aynı bölgelerden olmak üzere MLN, karaciğer, akciğer, böbrek (sağ) doku parçaları alındı. Bu parçalar petri kutusunda ezildi. Tyoglukolatlı besi yerine ekildi. Burada üreme olanlardan aerobik ve anaerobik incelemeler için kanlı agar ve EMB (Eosin Metilen Bleu) agar besiyerine ekim yapıldı. Anaerobik kültürler için 48-72 saat, aerobik kültürler için 24-48 saat etüvde bekletildiler. Üreme olanlara daha sonra bakteri tiplemesi yapıldı.

Kolonik floranın incelenmesi için çekuma kolotomi yapıldı. Çekumdan dışkı örneği alındı ve tartıldı. Daha sonra 5cc tyoglukolatlı besi yerine konuldu. İyice karıştırılarak hemojenize edildi. Süratle bakteriyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Bunlardan aerobik ve anaerobik incelemeler için kanlı agar ve EMB agar besi yerine ekim yapıldı.

Aerobik ve anaerobik bakteriler için gram başına " coloni formit unit " (CFU/g) olarak hesaplandı.

Tüm olguların terminal ileumundan alınan doku örnekleri hematoksilin eosin ile boyanarak standart ışık mikroskopuyla histolojik yapı izlendi.

İstatiksel incelemede ANOVA (tek yönlü) varyans analizi yapıldı. Alt grupların farklılık testlerinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Kalitatif kültürler için Yates düzeltmeli x2 testi uygulandı. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Sonuçlar

Doku ve drenen alınan kültürlerde E. coli, P. mirabilis, E. aerogenes, E. faecalis, B. subtilis, Difteroid basiller, Clostridium cinsi basiller, bacteroides gibi mikroorganizmalar üredi. Dokulara en çok transloke olan bakterinin E. coli olduğunu tespit ettik. Grup 1'in doku kültürlerinde üreme olmadı. Hiç bir denneğin kan kültüründe üreme olmadı. Grup 1 ile grup 2 arasında istatistiki yönden fark anlamlıydı (Tablo 1) (karaciğer; p<0.05, MNL, akciğer, böbrek; p< 0.01). Grup 3' de grup 2 'e oran-

Tablo 1. Bakteriyel translokasyonun organlardaki görülme oranları

Grup	Karaciğer	MNL	Akciğer	Böbrek
Grup I	0/10*	0/10**	0/10**	0/10**
Grup II	6/10	8/10	7/10	7/10
Grup III	1/10	2/10*	1/10**	1/10**
Grup IV	2/10	1/10**	1/10**	1/10**

Grup II ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı * P<0.05, ** P<0.01

la anlamlı derecede daha az pozitif bakteri kültürü oluştu (Tablo 1) (MNL; p<0.05, akciğer ve böbrek p<0.01). Grup 4 ile grup 2 arasında da fark anlamlıydı (Tablo 1) (MNL, böbrek; p<0.01, akciğer p<0.05).

Deneklerin çekumunun içeriğinde üretilen Gr (-) bakteri ve gram (-) fakültatif anaerobik bakteri popülasyonları Tablo 2'de verilmiştir (CFU/g). İmplantasyondan 2 gün sonra her üç gruptaki bakteri popülasyonları grup 2 ile karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p<0.01).

Terminal ileumun histopatolojik incelemesinde, Grup 1'deki deneklerde mukozanın normal olduğunu tespit ettik (Resim 1). Grup 2'de mukoza villusların atrofi, subepitelial ödem ve ileri derecede iltihabi hücre infiltrasyonu oluşmuştu (Resim 2). Grup 3 ve grup 4'de ise orta derecede ödem ve az miktarda iltihabi hücre infiltrasyonu oluşmuştu (Resim 3).

Tartışma

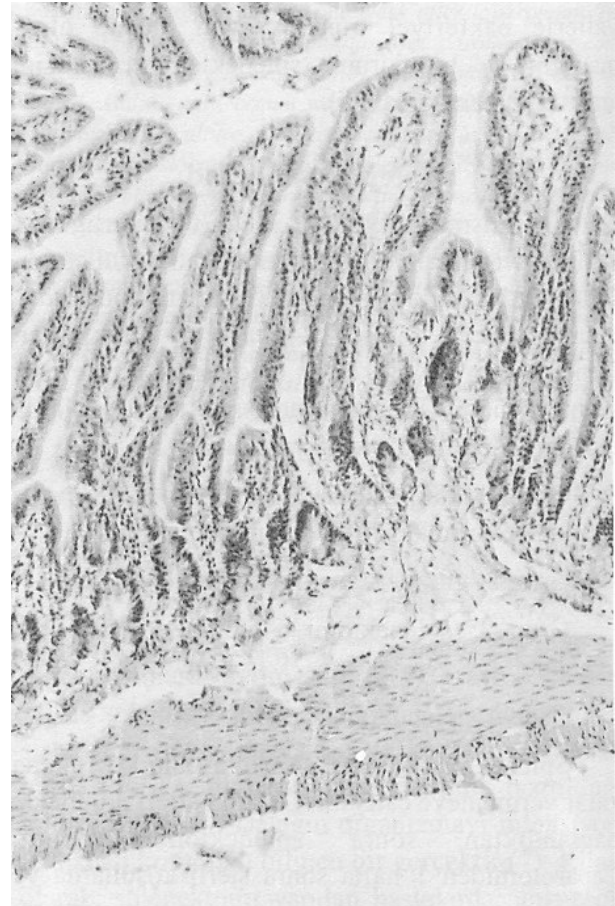
Barsaklardan BT yanık, hemorajik şok, endotoksemi, parenteral nütrisyon gibi çeşitli durumlarda oluştuğu rapor edilmiştir (2,6,14). RES' in başlıca fonksiyonu dolaşımdaki immun kompleksleri, bakterileri, endotoksinleri ve makromolekülleri ortadan kaldırmaktır (10). Dalak organizmayı mikroorganizmalara karşı korumada çok önemli rol oynar (7,15). İmmunosüpresif aktivite için temel organ olduğu bilinmektedir. Dalak dolaşımdan bakteri ve debrisleri temizler. Antikor ve immunolojik olarak önemli olan humoral faktörleri oluşturur (16). Bazı yayınlarda splenektominin yüksek mortalite ve morbiditeye sebep olduğu bildirilmiştir (8). Bizim yaptığımız çalışmada bu bulguların aksine splenektominin bakteriyel traslokasyonu azalttığını belirledik. Spaeth ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da splenektominin endotoksin ve bakterilere karşı organların cevabını düzenleyici rol oy-

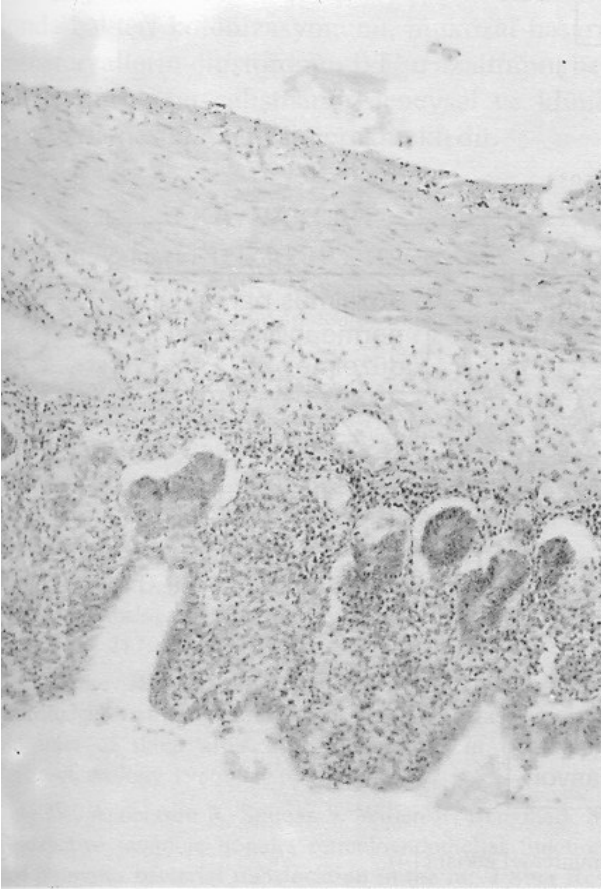
Tablo 2. Çekumdaki bakteriyel popülasyon (cfu/gr)

Grup	Çekal kültür
Grup I	432.40 ±49.07
Grup II	539.80 ±83.73*
Grup III	411.30 ±69.37
Grup IV	438.40 ±66.90

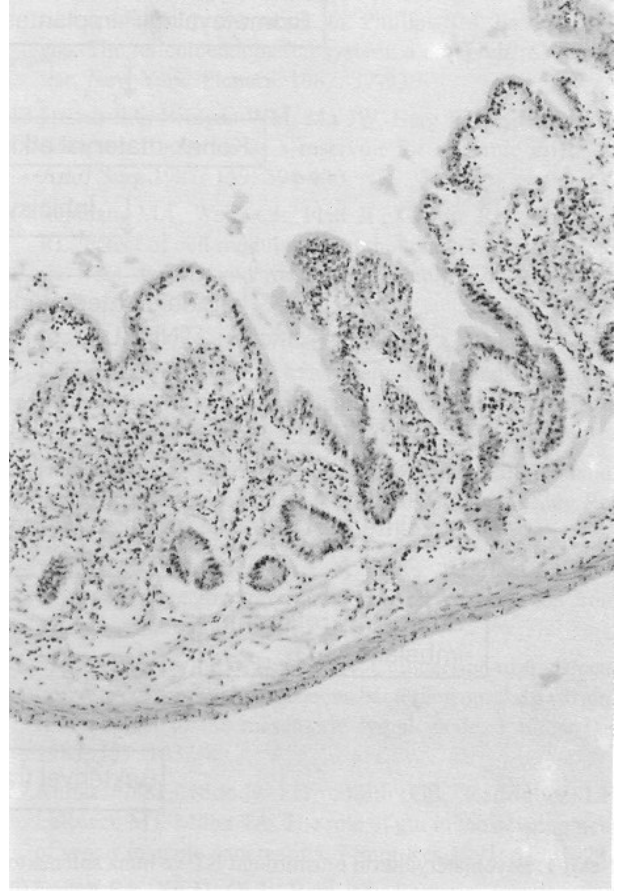
* Grup II' de diğer gruplara göre anlamlı ölçüde yüksek bakteri popülasyonu görülmektedir (p<0.01).

nayabiceği gösterilmiştir (7). Guo ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada splenektominin bakteriyel translokasyonu azalttığı görülmüştür (15).

**Resim 1.** Grup 1'de normal mukoza yapısı (H&E x 200).



Resim 2. Grup 2'de mukoza villuslarında atrofi, superepitelial ödem ve ileri derecede iltihabi hücre infiltrasyonu (H&E x 200).



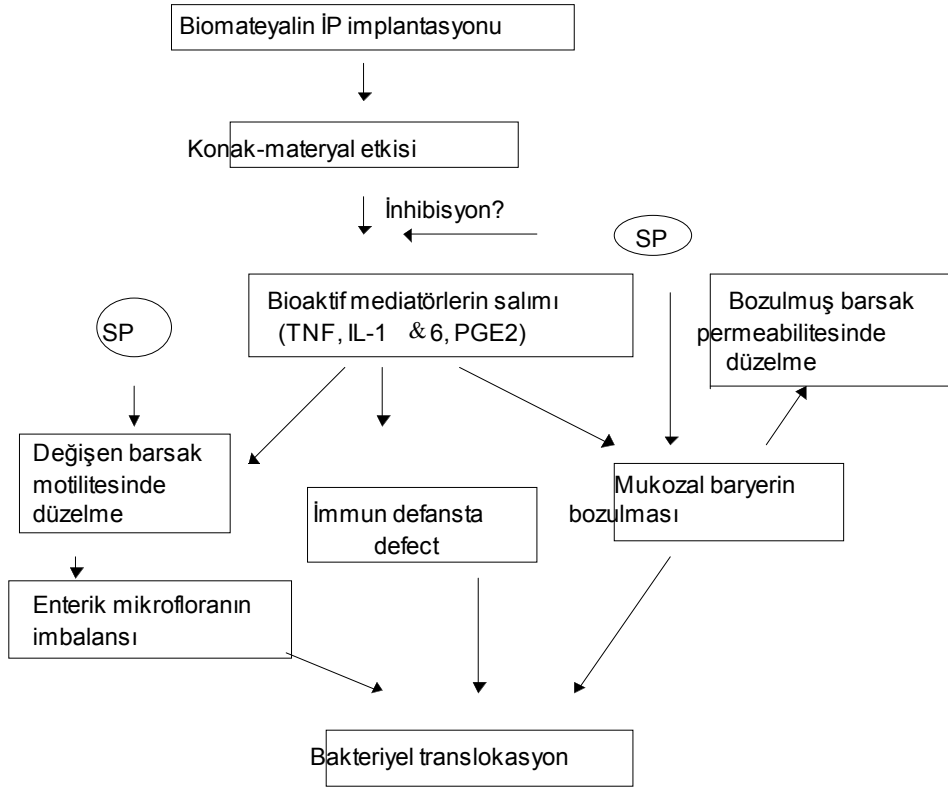
Resim 3. Grup 3-4'de orta derecede ödem ve az miktarda iltihabi hücre infiltrasyonu (H&E x 200).

İntraperitoneal kullanılan biomateryallerin BT' a sebep olduğu bilinmektedir (10). Biomateryaller BT' ye neden oldukları için immun cevabı bozarlar. Splenektomi sonrası da immun cevap bozulur. Bunun sonucu olarak BT insidansı artar. Ancak Spaeth ve arkadaşları splenektominin sağlıklı ratlarda endotoksinle oluşan BT'ye karşı rezistansı artırdığını rapor ettiler (7).

BT'nin mekanizması henüz tam olarak anlaşılammıştır. Ancak immun etkinliğin azalması, barsak bariyerinin fiziksel ve anatomik olarak bozulması, enterik mikrofloranın ekolojik dağılımının bozulması neden olarak gösterilebilir (6,16-20).

İmplant olan prostetik materyeller yabancı cisim olarak etki ederler ve organizmanın inflamatuvar cevabına sebep olurlar (10). Biomateryaller intestinal permeabilityi artırdığı, splenektominin

ise permeabilityi azalttığı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (15). Bazı çalışmalarda biomateryallerin sitokinlerin oluşmasına neden olduğu bildirilmektedir (21). Dalak diğer organlarda ki immün hücrelerin regülasyonunu düzenleyebilecek mediatörler oluşturabilmektedir. Bu düşünce splenektominin immün hücre popülasyonlarında ki hücrelerin değişiklikleriyle desteklenmektedir (22). Bu durumda mitojen aktivite sonucunda T hücrelerinde çoğalma olur ve serumda tuftsinin seviyesi azalır (23,24). Böylece biomateryallere karşı makrofaj cevabında gecikme veya bioaktif mediatörlerin salınmasında ki azalmayla, splenektominin biomateryellerin barsaktan BT'ü indüklemeye insidansını azalabileceğine inanılmaktadır (15) (Şekil 1). Çalışmamızda Grup 1' de hiçbir organda bakteri tespit edilemedi. Bu durum operasyona bağlı translokasyon olmadığını gösterdi. Diğer gruplarda ise MNL, akciğer, böbrek, karaciğer kültür-



Şekil 1. Biyomateryallerin oluşturduğu BT ve buna splenektominin muhtemel etkisi (14).

lerinde bakteri üredir. Splenektomi yapılan gruplarla grup 2 arasında anlamlı derecede farklar mevcuttur ($p<0.05$, $p<0.01$).

Bazı çalışmalarda BT ile çekal bakteri miktarı arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Kolondaki anaeroplara azalmasının aerobik gram (-) basillerin artmasına yol açacağı ve bunun BT için bir neden olabileceği ifade edilmiştir (19). Steffen ve Berg farelerde mezenterik lenf nodlarına bakteriyel translokasyonun oluşmasıyla çekumdaki bakterilerin artışı arasında bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (25). Anaeroplara fakültatif bakterilerin translokasyonunu ve çoğalmalarını kontrol ettiği düşünülmektedir (6). Barsaktaki bakterilerin çoğalması muhtemelen barsak mukozasında oluşan permeabilite değişikliklerinden ileri gelmektedir (25). TNF ve trombosit aktive edici faktörün barsak ve vasküler endoteliuma nekrotizan etkilere sahip olduğu düşünülmekte ve böylece mukozanın permeabilitesinde değişiklikler olabileceği varsayılmaktadır. Splenektomiyle enterik mikrofloranın

ekolojik dengesini düzeltebileceği ve biyoaktif mediatörlerin oluşumunu azaltabileceği düşünülmektedir (15). Çalışmamızda çekumda ki Gr (-) ve Gr (-) fakültatif anaerobik bakteri popülasyonunun grup 2'de diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek olduğu ($p<0.01$) bulundu. Bu sonuca göre splenektominin bakteri kolonizasyonunu değiştirdiği ve translokasyonu azalttığı belirlendi.

Histopatolojik incelemede intraperitoneal dren uygulanan grupta mukoza villuslarında atrofi, sup-epitelial ödem ve ileri derecede iltihabi hücre infiltrasyonu tespit edildi. Splenektomi yapılan gruplarda ise orta derecede ödem ve az miktarda iltihabi hücre infiltrasyonu olduğu belirlendi. Bu bulgular da yukarıda ki verilerimizi desteklemektedir. İntraperitoneal dren uygulanan gruplarda mukoza hasarı oluşmakta ve böylece muhtemelen bakteriyel translokasyona neden olmaktadır. Splenektomi yapılan gruplarda ise mukozada daha az hasar oluşmakta ve bakteriyel translokasyon daha az olmaktadır.

Sonuç olarak; bu çalışma splenektominin kolonda bakteri kolonizasyonunu, mukozal hasarı, biyomateryallerin oluşturduğu BT' u azalttığını belirledik. Ancak bu çalışmanın deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Tokyay R, Zeinger ST, Loick HM, Heggers JP, Garza PD, Traber DL, Herndon DN. Mesenteric lymphadenectomy prevents postburn systemic spread of translocated bacteria. *Arch Surg* 1992; 127: 385-8.
2. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Gianotti L, Peck MD, Dunn DL, Pyles T, Childress CP, Ash SK. The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990; 212: 496-512.
3. Polat KY, Ören D, Çapan Y, Gündoğdu C, Çelebi F, Çelebi S. Bacterial translocation in experimental intestinal and reperfusion. *Tr J Med. Sciences* 1995; 23: 263-7.
4. Haskel Y, Xu D, Lu Q, Deitch E. Elemental diet-induced bacterial translocation can be hormonally modulated. *Ann Surg* 1993; 217: 634-43.
5. Morehouse JL, Specian RD, Steward JJ, Berg RD. Translocation of indigenous bacteria from the gastrointestinal tract of mice after oral ricinoleic acid treatment. *Gastroenterology* 1986; 91: 673-82.
6. Ding JW, Andersson R, Soltesz V, Willén R, Bengmark S. Obstructive jaundice impairs reticuloendothelial function and promotes bacterial translocation in the rat. *J Surg Res* 1994; 57: 238-45.
7. Spaeth G, Specian RD, Berg RD, Deitch EA. Splenectomy influences endotoxin-induced bacterial translocation. *J Trauma* 1990; 30: 1267-72.
8. Green JB, Shackford SR, Sise MJ, Fridlund P. Late septic complications in adults following splenectomy for trauma: a prospective analysis in 144 patients. *J Trauma* 1986; 26: 999-1004.
9. Billiar TR, West MA, Hyland BJ. Splenectomy alters kupfer cell response to endotoxin. *Arch. Surg* 1988;123:327-32.
10. Guo W, Andersson R, Wang X, Bengmark S. Effect of intraperitoneal prosthetic materials on reticuloendothelial function in the rat. *J. Surg. Res.* 1993; 55: 80-6.
11. Guo W, Andersson R, Ljungh A, Wang XD, Wandström T, Bengmark S. Enteric bacterial translocation after intraperitoneal implantation of rubber drain pieces. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 393-9.
12. Streilein JW, Stein-Streilein J, Head J. Regional specialization in antigen presentation. In: Phillips SM, Escobar MR, eds. *The reticuloendothelial system: a comprehensive treatise*. New York: Plenum, 1987: 37-93.
13. Deitch EA, Bridges WM, Ma JW, Berg RD, Specian RD. Obstructed intestine as a reservoir for systemic infection. *Am J Surg* 1987; 159: 394-400.
14. Maddaus MA, Wells CL, Platt JL, Condie RM, Simmons RL. Effect of cell modulation on the translocation of bacteria from the gut and mesenteric lymph node. *Ann Surg* 1988; 207: 387-398.
15. Guo W, Andersson R, Willén R, Ljungh A, Wang X, Liu X, Bengmark S. Bacterial translocation after intraperitoneal implantation of rubber fragments in the splenectomized rat. *J Surg Res* 1994; 57: 408-15.
16. Llende M, Santiago-Delpin EA, Lavergne J. Immunobiological consequences of splenectomy: a review. *J Surg Res* 1986; 40: 85-94.
17. Deitch EA, Sittig K, Li M, Berg R, Specian RD. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg* 1990; 159: 79-84.
18. Steffen EK, Berg RD, Deitch EA. Comparison of translocation rates of various indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph node. *J Infect Dis* 1988; 157: 1032-8.
19. Runkel NSF, Moody FG, Smith GS, Rodriguez LF, LaRocco MT, Miller TA. The role of gut in the development of sepsis in acute pancreatitis. *J Surg Res* 1991; 51: 18-23.
20. Deitch EA, Xu D, Qi L, Berg RD. Bacterial translocation from the gut impairs systemic immunity. *Surgery* 1991; 109: 269-76.
21. Cardona MA, Simmons RL, Kaplan SS. TNF and IL-1 generation by human monocytes in response to biomaterials. *J Biomed Mater Res* 1992;26:851-5.
22. Nielsen JL, Tauris P, Johnson HE, Ellegaard J. The cellular immune response after splenectomy in humans. *Scand J Hematol* 1983;31:85-8.
23. Amsbaugh DF, Orescott B, Baker PJ. Effect of splenectomy on the expression of regulatory T cell activity. *J Immunol* 1978;121:1483-5.
24. Constantopoulos A, Najjar VA, Smith TW. Tuftsin Deficiency: A new syndrome with defective phagocytosis. *J Pediatr* 1972; 80:564-7.
25. Steffen EK, Berg RD. Relationship between cecal population levels of indigenous bacteria and translocation to the mesenteric lymph nodes. *Infect Immun* 1983; 39: 1252-8.