

EGE ÜNİVERSİTESİ NÜKLEER BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**SIÇANLARDA GUANİN NÜKLEOTİDİ İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ DİYETLE BESLEMENİN
BAKTERİYEL TRANSLOKASYONA ETKİSİNİN
^{99m}Tc-*E.COLI* KULLANILARAK İNCELENMESİ**

Aslı ÇITAK

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma YURT LAMBRECHT

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 622.02.01

Sunuş Tarihi: 05.01.2012

Bornova-İZMİR

2012

Aslı ÇITAK tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Sıçanlarda Guanin Nükleotidi ile Zenginleştirilmiş Diyetle Beslemenin Bakteriyel Translokasyona Etkisinin ^{99m}Tc-*E.Coli* Kullanılarak İncelenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 05.01.2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:**İmza****Jüri Başkanı** : Prof. Dr. Fatma YURT LAMBRECHT

.....

Raportör Üye : Prof. Dr. Perihan ÜNAK

.....

Üye : Prof. Dr. Osman YILMAZ

.....

ÖZET**SIÇANLARDA GUANİN NÜKLEOTİDİ İLE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ DİYETLE BESLEMENİN BAKTERİYEL
TRANSLOKASYONA ETKİSİNİN ^{99m}Tc-*E. COLI* KULLANILARAK
İNCELENMESİ**

ÇITAK, Aslı

Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma YURT LAMBRECHT

Ocak 2012, 52 sayfa

Bakteriyel translokasyon, barsak obstrüksiyonu durumunda bakterilere karşı barsak mukozası ve barsak duvarının bariyer özelliğini yitirmesinin bir sonucu olarak oluşur. İmmün sistemini güçlendiren immünonütrientler ile enteral beslenme, barsak bariyerini kalınlaştırarak bakteriyel translokasyonu önlemektedir.

Bu çalışmanın çıkış noktası; immünonütrientlerden olan guaninin barsak tıkanıklığı oluşturulmuş sıçan modellerinde, barsak bakteri translokasyonu üzerine etkisi olup olmadığının araştırılmasıdır.

Wistar Albino sıçanlar üç gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu normal sıçan yemi ile beslenirken, diğer iki gruba guanince zenginleştirilmiş diyetler ile beslenmiştir. Tüm sıçanlara barsak obstrüksiyonu oluşturulup, ^{99m}Tc işaretli *E.coli* enjekte edilmiştir. Bakteriyel translokasyon radyoaktivite ölçümü ile tayin edilmiştir.

Guaninin barsak obstrüksiyonu durumunda bağışıklık sistemi ve barsak bariyerini güçlendirerek, bakteriyel translokasyonun önlenmesinde kullanılabilmesi muhtemel görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel translokasyon, Teknesyum-99m-*E.coli*, barsak obstrüksiyonu, guanin, sıçan, nükleotid

ABSTRACT

**INVESTIGATION OF EFFECT OF FEEDING WITH ENRICHED
DIET WITH GUANINE NUCLEOTIDE ON BACTERIAL
TRANSLOCATION USING ^{99m}Tc-*E.COLI* IN RATS**

ÇITAK, Aslı

MSc in Nuclear Sciences

Supervisor: Prof. Dr. Fatma YURT LAMBRECHT

January 2012, 52 pages

Bacterial translocation occurs as a result of the loss in case of intestinal obstruction of barrier property of intestinal mucosa and intestinal wall against bacteria. Enteral nutrition with immunonutrients strengthens the immune system thickens intestinal barrier and so bacterial translocation is prevented.

The purpose of this study is to investigate to the effect of guaninin from immunonutruent on bacterial translocation in rat models with intestinal obstruction.

Wistar albino rats were divided into three groups. The control group was fed with normal chow diet, the other two groups were fed with diets supplemented guanine. All rats was formed intestinal obstruction, the rats were injected with ^{99m}Tc labeled *E. coli*. Bacterial translocation was determined by measurement of radioactivity.

Guanin seems likely to be used in the prevention of bacterial translocation in case of intestinal obstruction by strengthening intestinal barrier and the immune system.

Key Words: Bacterial translocation, Tecnesyum-99m-*E.coli*, intestinal obstruction, guanine, rat, nucleotide

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince engin bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak, her konuda yanımda olarak beni destekleyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatma YURT LAMBRECHT'a,

Enstitümüzün laboratuvarında her türlü çalışma imkanını sağlayan Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı başkanı ve enstitü müdürümüz Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK'a,

Çalışmamın laboratuvar aşamasında bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı Anabilim Dalı başkanı Veteriner Hekim Prof. Dr. Osman YILMAZ'a,

Laboratuvar çalışmamın histopatolojik analiz aşamasında bana yardımcı olan Dokuz Eylül Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Çetin PEKÇETİN'e,

Çalışmamın gerçekleştirebilmem için gerekli bakteri teminini sağlayan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından Sayın Prof. Dr. Alper TÜNGER'e

Tez ve laboratuvar çalışmalarımda bana her türlü desteği sağlayıp, yardımseverliğini esirgemeyen Dr. Kübra DURKAN'a,

Laboratuvar çalışmalarımda elinden gelen her türlü yardımı esirgemeyip bana yardımcı olan Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencisi sevgili arkadaşım Uğur OFLAZ'a,

Her koşulda maddi, manevi destek ve büyük özveriyle yanımda olan AİLEME,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Barsak Anatomisi	3
2.1.1. Kalın Barsak	3
2.1.2. İnce Barsak	5
2.2. Barsak Florası	6
2.3. Bakteriyel Translokasyon	7
2.3.1. Bakteriyel translokasyona karşı savunma mekanizmaları	8

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.2. Bakteriyel translokasyonun nedenleri	9
2.4. Barsak Obstrüksiyonu (Tıkanıklığı)	10
2.4.1. Fonksiyonel obstrüksiyonlar	11
2.4.2. Mekanik obstrüksiyonlar	12
2.5. Bakteriyel Translokasyonun Engellenmesinde Enteral Beslenmenin Rolü	13
2.6. Nükleotidler	16
2.6.1. Guanin	19
2.7. <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>).....	20
2.8. Teknesyum- 99m Kimyası	21
2.9. Barsak Obstrüksiyonlu Sıçan Modelinde ^{99m} Tc- <i>E.Coli</i> Kullanımı	24
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	25
3.1.1. Kullanılan kimyasallar	25
3.1.2. Kullanılan cihazlar	26

İÇİNDEKİLER(devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2. <i>Escherichia coli</i> 'nin ^{99m} Tc ile İşaretlenmesi	26
3.3. Diyetlerin Hazırlanması	27
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması	28
3.5. Biyodağılım Çalışması	30
3.5.1. Cerrahi prosedür ve ^{99m} Tc- <i>E.coli</i> aşılması	30
3.5.2. Bakteriyel translokasyon analizi	34
3.6. Histopatolojik Analiz	35
3.7. İstatistiksel Analizler	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1. <i>E.coli</i> 'nin ^{99m} Tc ile İşaretleme Verimi	36
4.2. Biyodağılım Sonuçları	36
4.3. Histopatoloji Sonuçları	42
4.4 İstatistik Analiz Sonuçları	43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	45

İÇİNDEKİLER(devam)

Sayfa

6. KAYNAKLAR DİZİNİ 47

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 İnce barsağın kısımları	4
2.2 Barsağın yapısının şematik olarak gösterimi	5
2.3 Guaninin molekül yapısı	19
2.4 <i>E.coli</i> bakteri kümesinin elektron mikroskopunda büyütülmüş görüntüsü ..	20
2.5 ⁹⁹ Mo'un bozunum şeması	22
3.1 Pellet haline getirilen diyetlerin hazırlanması	28
3.2 Wistar Albino sıçanların diyetlerine göre gruplara ayrılması	29
3.3 Anestezi edilen sıçanın traş dezenfeksiyonu	31
3.4 Batının açılması	31
3.5 İleum ve sekumun birleşme hizası bağlanarak obstrüksiyon oluşturulması	32
3.6 Mekanik ince barsak obstrüksiyon modeli (Basit obstrüksiyon)	32
3.7 ^{99m} Tc- <i>E.coli</i> 'nin enjeksiyonu	33
3.8 Operasyonun ardından açılan batının kapatılması	34

ŞEKİLLER DİZİNİ(devamı)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Aktivite değerlerinin (cps/g) organlara göre değişimi	38
4.2 İleum aktivite değerlerinin (cps/g) gruplar arasındaki değişimi	39
4.3 KG ile I.grubun organ başına düşen aktivite değerlerinin karşılaştırılması.	39
4.4 KG ile II.grubun organ başına düşen aktivite değerlerinin karşılaştırılması.	40
4.5 I. grup ile II.grubun aktivite değerlerinin karşılaştırılması	41
4.6 İleumların histopatolojik görüntüleri (100 µm)	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Barsak obstrüksiyonların görülme sıklığı	12
2.2 İmmünonütrientler	14
3.1 Normal sıçan yemi temel besin maddeleri	27
4.1 ^{99m} Tc ile <i>E.coli</i> 'lerin (%) işaretlenme verimleri	36
4.2 ^{99m} Tc- <i>E.coli</i> biyodağılım sonuçları (cps/g) ve istatistiksel analiz değerleri	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
<i>Tc</i>	Technetium (Teknesyum).
<i>Mo</i>	Molibden
<i>Ru</i>	Rutenyum
<i>ATP</i>	Adenozin trifosfat
<i>DNA</i>	Deoksiribonükleik asit.
<i>RNA</i>	Ribonükleik asit.
 <u>Kısaltmalar</u>	
<i>E.coli</i>	Escherichia coli.
MLN	Mezenterik Lenf Nodları
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome (Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu)
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome (Çoklu Organ Yetmezliği Sendromu).

1. GİRİŞ

Barsak obstrüksiyonu (tıkanıklığı) akut batının önemli nedenlerinden biri ve sık karşılaşılan bir tıbbi sorundur. Mekanik obstrüksiyonlar kanser, karın içi yapışıklıklar ve fitik gibi birçok hastalığın sonucunda oluşur (Karakoç et al., 2006).

Erişkinlerde jejunum (ince barsağın orta kısmı) ve ileum steril kabul edilir. Normal şartlarda ince barsaklardaki bakteri düzeyi maksimum 10^4 civarındadır, fakat obstrüksiyon oluşumu gibi durumlarda bakteriler hızla çoğalmaya başlarlar. Böylelikle bakteri düzeyi 10^9 - 10^{10} 'a kadar artar (Karatepe, 2008; Cagatay, 2006). Barsak duvarının görevi; antijenlerin organ içlerine girerek nüfus etmelerini önlemek için bariyer oluşturarak bakteriyel translokasyonu engellemek, vücudu ikincil enfeksiyonlardan ve birçok organ işlevsizliğine yol açan sepsislerden (enfeksiyona karşı organizmanın gösterdiği inflamatuvar bir yanıt) korumaktır. Mekanik ince barsak obstrüksiyonlarında; barsak duvarının endotoksin ile bakterilere karşı bariyer özelliğini ve barsak mukozasını kaybetmesi sonucu, hipermetabolizmin gelişmeleri, sepsisler ve bakteriyel translokasyonlar oluşur (Wiest et al., 2003; Quirino et al., 2007). Bakteriyel translokasyon fizyolojik düzeylerde gerçekleşir ve bu da immün sisteminin uyarılmasında etkili olur.

Hemorajik şok, barsak obstrüksiyonu, mesenterik iskemi, sarılık, kardiojenik şok ve immün sisteminin zayıflaması bakteriyel translokasyona sebep olan etmenler olarak sayılabilirler (Azuma et al., 2009).

İmmünonütrientler başta olmak üzere çeşitli besin maddelerinin sistemik bozukluklardan sonra barsak bariyerini koruyup, güçlendirdiği literatürde belirtilmiştir. Glutamin, arjinin, nükleotid, omega 3 yağ asitleri ve probiyotikler immünonütrientleri oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda arjinin aminoasitlerin barsak obstrüksiyonu sonrasında yara iyileşmesini ve barsaktaki mukoza yenilenmesini ilerlettiği belirtilmiştir. Glutamin immünonütrientlerinin ise bakteriyel translokasyonu engelleyici bir girişimi olmadığı saptanmıştır (Devreniz et al., 2003,

Gianotti et al., 1993; Wiemann et al., 1998; Oliveria et al., 2006; Vianna et al., 2010; Mattar et al., 2001).

Diniz ve arkadaşları tarafından ^{99m}Tc -*E.coli* kullanılmış ve normal yem ile beslenen obstrüksiyonlu sıçanlarda bakteriyel translokasyon denenmiştir. Sonuç olarak da barsak duvarından ^{99m}Tc -*E.coli* geçişini engellemekte yeterli olmadığı saptanmıştır (Diniz et al., 2005).

Oliveira ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise glutamin destekli diyetle ve normal diyetle beslenen sıçanlarda barsak obstrüksiyonu gerçekleştirilmiş ve bakteriyel translokasyon incelenmiştir. Verilere göre glutamin destekli diyet ile beslenen sıçanların ^{99m}Tc -*E.coli* geçişini engellemediği saptanmıştır (Oliveria et al., 2006; Santos at al., 2010).

Quirino ve arkadaşları aynı yöntemi kullanarak bu kez arjinin destekli diyet ile sıçanlarını besleyip, bakteriyel translokasyon denenmiş ve arjininin bakteriyel translokasyonu azaltıcı etkisi olduğu ortaya konulmuştur (Quirino et al., 2007 ; Viana et al., 2010).

Barsak obstrüksiyonlu sıçan modellerinde bakteri geçişleri, Oliveria ve arkadaşları ile Quirino ve arkadaşları tarafından ^{99m}Tc işaretli *E.coli* metoduyla gözlenmiştir. Bu çalışmada da ^{99m}Tc işaretli *E.coli* metodu kullanılmıştır. Çünkü bu metod hem hızlı sonuç verir hem de basittir (Oliveria et al., 2006; Quirino et al., 2007).

Bu çalışmada immünonütrientlerden nükleotidlerin pürin grubunda yer alan guanini içeren özel diyetin, barsak tıkanıklığı oluşturulmuş sıçanlarda bakteri translokasyonu üzerine etkisinin; ^{99m}Tc ile işaretli *E.coli* kullanarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Barsak Anatomisi

2.1.1. Kalın barsak

İnsanlarda kalın barsak üç kısma ayrılır:

- çekum,
- kolon,
- rektum (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Bağirsak>, 2010).

Kalın barsağın görevi suyu ve elektrolit emilimini sağlamak, içindeki maddelerin ilerlemesini ve depolanmasını sağlamaktır. Bunun yanında bakterilerin emilmemiş karbonhidratlardan oluşturduğu yağ asitlerininide absorbe eder

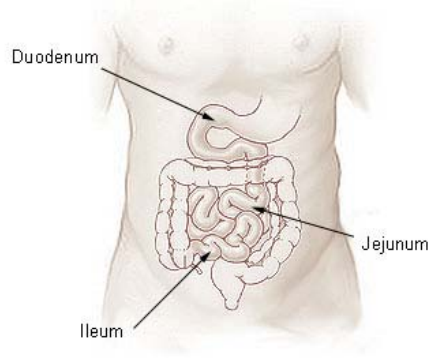
(http://www.doktorumonline.net/mid/disorders/Ince_ve_Kalin_Bagirsak_Hastaliklari.htm, 2010).

2.1.2. İnce barsak

İnsanlarda ince barsak da üç kısma ayrılır:

- duodenum,
- jejunum,
- ileum

Bu kısımlar Şekil 2.1’de gösterilmektedir (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Bağirsak>, 2011).



Şekil 2.1 İnce barsak kısımları

Besinlerin sindiriminin ve emiliminin gerçekleştiği hayati bir organdır. Uzunluğu yaklaşık 5 m olup bunun % 60' ı ilium, % 40' ı duodenum ve jejunum tarafından oluşturulur.

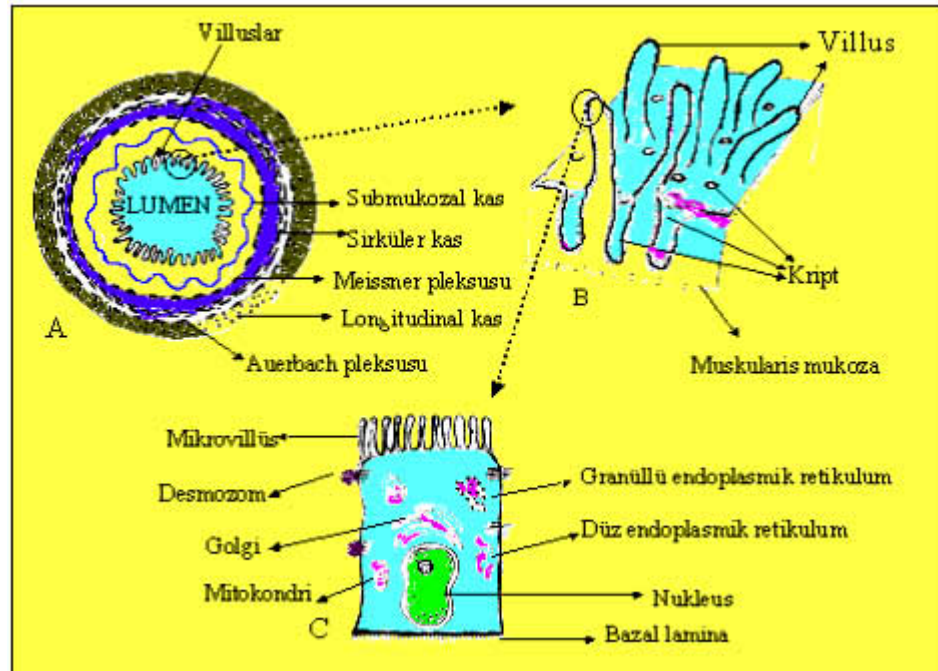
İleumun çapı 3.5 cm kadardır ve hemen hemen tümüyle peritonla örtülüdür. Karın arka duvarına peritonun uzantısı olan mezenter denilen yapı aracılığıyla asılmıştır. Mezenterin içinde de ileumu besleyen çok sayıda ince damarlar bulunmaktadır. Bu damarlar süperior mezenterik arter denilen atardamarın dallarıdır (www.saglik.im/jejunum-ve-ileum, 2001).

İnce barsağın emilim alanı 200-400 m² kadardır. Yüzey alanındaki bu genişlik barsak mukazası, villuslar ve mikrovilluslar sayesinde oluşturulur. Villuslar ince barsak lumenine doğru çıkıntı yapan uzantılardır, mikrovillusler ise yaklaşık 1 µm uzunluğunda, 0.1 µm çapında olup enterositlerin uzantılarıdır. Villüslerin venöz dolaşımı portal sisteme dökülür, lakteal ismi verilen lenfatik damarlar emilen yağın torasik duktusa iletilmesini sağlarlar (Şekil 2.2).

İnce barsak hücreleri 4 gruba ayrılabilir. Bunlar enterositler, goblet hücreleri, Paneth hücreleri ve endokrin hücrelerdir. Hücrelerin % 95 i enterositler, enterositlerin mikrovillusleri içinde hidrolaz peptidaz gibi enzimler, taşıyıcı proteinler ve çeşitli ligandlar için reseptörler bulunur.

İnce barsakta emilim villuslarda meydana gelirken, kriptlerde yerleşen hücreler sekresyon yaparlar. İnce barsakta baskın olay emilim olduğu halde bazı patolojik durumlarda sekresyon ön plana çıkabilir, bakteriyel toksinler, safra tuzları, sitokinler, prostoglandinler ve bazı hormonlar sekresyonu uyarabilir.

Goblet hücrelerinde mukus oluşturulur, enteroendokrin hücreler peptid hormonlar ve parakrin maddeler sekrete ederler. Paneth hücreleri kriptlerin dip kısmında yer alır ve lizozim ve defensin gibi maddeler salgılayarak mukozanın korunmasında rol alırlar (<http://www.drahmetdobrucali.com/wp-content/uploads/ince-barsak-fizyolojisi>, 2009).



Şekil 2.2 Barsak yapısının şematik olarak gösterilmesi. (A) Barsak lümeni içine doğru uzanan villüs yapısı, (B) Villüs yapısının büyütülmüş hali, (C) Enterosit ve apikal bölgesindeki mikrovillus yapısı.

2.1.2.1. İnce barsak lenfoid dokusu

Barsak mukozası virüsler, bakteriler ve gıda proteinleri gibi birçok antijenin emilimine karşı bedenimizin savunma hattını oluşturur. Tüm barsak büyük bir lenfoid dokusudur. Barsak lumeninden antijenlerin mukozaya girişi,

Peyer plakları içinde yer alan bir tür epitel hücresi üzerinden gerçekleşir. Bu özel epitel hücresine M hücresi denir. Epitelin altında yerleşmiş olan lenfositler bu antijen ile stimule olurlar, yarılmış olan bu lenfositler lokal mezenterik lenf nodlarına, oradan da torasik duktusa giderler ve dolaşıma geçerler. Bir süre sonra uyarılmış lenfositler barsak mukozasına immunglobulin üreten plazma hücreleri olarak geri dönerler, salgılanan ana immunglobulin monomerik Ig A'dır. Dimerik Ig A barsaktan antijen emilimini azaltır, bakterilerin mukozaya yapışmasını azaltır. İnce barsağın lenfoid dokusu (Gut-associated lymphoid tissue, GALT) lamina propria ve epitel içinde yer alan hücresel birimlerden meydana gelir. GALT antijenlere karşı lokal immun cevap oluşturabilir, bazı durumlarda savunmaya katkıda bulunan lokal immun yanıt, bazen de hipersensitivite reaksiyonlarına yol açarak mukoza harabiyeti yaratır. Böylece bakteriler barsak bariyerini aşarak steril organlara geçiş yapabilirler (<http://www.drahmetdobrucali.com/wp-content/uploads/ince-barsak-fizyolojisi>, 2009).

2.2. Barsak Florası

Barsak florasında bilinen 500 tür bakteri mevcuttur ve bunlar 100 trilyon civarındadır ve insan hücrelerinin 10 katıdır. Sağlıklı bir insanda barsak florasındaki bakterilerin % 98'i faydalı bakterilerdir. Bu oranının azalması ile onların yerine patojen bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitler yerleşir. Kişide immün sistemi zayıflaması, bakteriyel translokasyon, alerji, enfeksiyona karşı dayanıksızlık, iltihaplı hastalıklar vb. rahatsızlıklar ortaya çıkar.

Barsak florasının bozulması zamanla pankreas, karaciğer, mide ve barsakların ürettiği enzimin kalitesinin düşmesi nedeniyle kişide yağlanma, şişmanlık, damar sertliği ve alerji gibi hastalıklar ortaya çıkar. Ayrıca barsak florasının bozulması diş eti iltihaplanması, lenf bezlerinin iltihaplanması, bakteriyel translokasyon ile iç organların steril durumlarını yitirmesi sonucunu doğurur (<http://www.uslanmam.com/hastalik-turleri/448839-bagirsak-florasi.html>, 2009).

2.3. Bakteriyel Translokasyon

Barsak bariyerinden portal sisteme geçiş, seçici bir mukozal bariyer tarafından kontrol edilmektedir. Normal koşullarda barsak bariyerindeki normal flora bakterilerinin ya da patojenite kazanmış bakterilerin mukozal bariyeri geçmesi imkansızdır. Ancak; barsak tıkanıklığı gibi bazı durumlarda istenmeyen mikroorganizmalar bu bariyeri geçerek mezenterik lenf nodlarına, başta dalak olmak üzere steril organlara, kana sistemik dolaşıma yayılırlar. Bu geiše bakteriyel translokasyon adı verilir (Wiest et al., 2003, Sarı., 2003).

1891 ve 1895 yıllarında Berg ve Garlington hayvan deneylerinde yaşayabilen bakterilerin bozulmamış barsak duvarından getiğı hipotezini ortaya atmışlardır. 1979 yılında da bu olay bakteriyel translokasyon olarak tanımlanmıştır. Bakteriyel translokasyon aynı zamanda “barsak kökenli sepsis hipotezi” olarak da adlandırılır. Bu hipotez bakteriyel translokasyonun oluşumunu, sonuçlarını ve beraberinde getirdiğı cevapları açıklar.

Gastrointestinal sistem sindirim sistemi dışında hormon üretimi ve bağışıklık sisteminin de önemli bir parçasıdır. Barsak ayrıca mikroorganizmalara ve antijenlere karşı ‘barsak bariyer fonksiyonu’ olarak adlandırılan bariyer görevi görmektedir. Bu bariyerin aşılmasında, barsak duvarı normal sindirim sistemi fonksiyonunu yitirerek bakterilere karşı verilecek cevap engellenir. Bu da bakteriyel translokasyona zemin hazırlamaktadır. Barsaktaki normal mekanizmanın bozulması sonucu bakteri ya da endotoksin mukozal bariyeri geçerek barsağın proinflamatuvar organ gibi davranarak kemokinlerin artışına, sitokin salınmasına ve diğere proinflamatuvar ara ürünlerin oluşmasına ve bunun sonucuda sistemik inflamatuvar cevap sendromu başlangıcı (SIRS) ve çoklu organ disfonksiyonunu sendromu (MODS) gelişimine ve genişleyen bağışıklık yanıtını tetikleyebilir. Böylece bakteriyel translokasyon bağışıklık sisteminin zayıflamasıyla sonuçlanabilir (Gatt et al., 2007).

Barsak kökenli sepsis hipotezinin diğ er bir modifikasyonu barsak-lenf teorisi, barsak duvarın submukozal lenfleri içindeki immün hücrelerin ve makrofajların ya da MLNs'lerin yayılan bakterilerin çoğ unu tutulduğ unu gösterir. Bununla birlikte canlı kalan bakteriler barsakta üretilmiş kemokinler ve sitokinler ile birlikte ölü bakterilerin hücre duvarı ve onların protein bileş enleri, mezenterik lenfler yoluyla sistena sili'ye (barsakta lenf yollarının birinci lumbal vertebra hizasında döküldüğü yer), ordan da kalbin sağ tarafına ulaşarak genel dolaşıma katılır. Bu inflamatuar ürünler sonra pulmoner (akciğ erle ilgili) dolaşıma girerler ve akciğ erde alveoler makrofajları aktive ederler ve böylece akut akciğ er hasarı ve erişkin respiratuar distres sendromu (ARDS) ve MODS ilerlemesine katkıda bulunurlar. Bu teori Moure ve arkadaşları tarafından yayınlanan çalışmada doğrulanmıştır. Fakat politravma hastaları portal venö anında bakteri ve endotoksinleri göstermekte başarısız olmuşlardır (Gatt et al., 2007).

Barsaktan bakteri translokasyonu arttıkça hastaların septisemi tablosu ağırlaşır ve multi organ yetmezliğ inin gelişmesine sebep olur. Bunun sonucu olarak da hastalarda morbidite ve mortalite oranı %30-100 değ işir. Sepsis tablosunun şiddetine göre cerrahi müdahale yapılan hastalarda çoklu organ yetmezliğ i gelişir ve ölüme neden olur (Petroianu et al., 2010; Sarı, 2002).

2.3.1. Bakteriyel translokasyona karşı savunma mekanizmaları

Barsağ ın bakteriyel translokasyona karşı savunma mekanizmaları üç ana başlıkta sıralanmaktadır.

1. Mekanik Savunma Mekanizması:

- * barsak peristalzmi (dairesele kasılma ve gevş emeyle barsak içeriğ inin ilerlemesini sağ layan hareket)
- * mukus salgılanması (goblet hücreleri tarafından gerçekleştir)
- * epitelyum yenilenmesi
- * epitel bariyeri

2. Bakteriyel Savunma Mekanizması:
 - * bakteriyel antagonizma
 - * koloni direnci
3. İmmünolojik Savunma Mekanizması:
 - * Makrofajlar
 - * İmmünoglobulin salgınlanması

barsak bakteri veya endotoksinlerinin sistemik organ ve dokulara ulaşmasını engeller (Karatepe, 2008).

2.3.2. Bakteriyel translokasyonun nedenleri

1. Mukozal bariyerin bütünlüğünün kaybolması
2. Mukoza azalması
3. Barsak tıkanıklıkları
4. Lümen içi flora dengesinin kontrolsüz geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile bozulması
5. Sistemik her türlü immün yetmezliğe zemin hazırlayan durumlarda mukozal bariyer hasarları olarak sıralanabilirler (Karatepe, 2008).

Bakteri translokasyonu mekanizması normal bakteriyel floranın ekolojik dengesinin bozulması, intralüminal aşırı çoğalması, intestinal mukozal bütünlüğün fiziksel yapısının bozulması ve konakçı immün sisteminin bozulması olarak görülmektedir. Bu mekanizmaların bir veya bir kaçının rol oynadığı bakteri translokasyonu, daha önceden birçok hastada sebebi bilinmeyen klinik olarak şiddetli septik durumların başlıca nedeni olarak gözlenmiştir. Bu olay barsak duvarının, immün sisteminin ve normal gastrointestinal florasının bozulması durumunda gözlenmekte ve bakteri artışına sebep olmaktadır. Bu durumdaki hastalar için kullanılan antibiyotikler barsak mikroflorasının normal ekolojisini değiştirirler. Böylece kolonizasyon rezistansı bozulur potansiyel patojenlerin sayısı artar (Azuma et al., 2009).

Gastrointestinal sistemde, normal koşullarda içeriğin mililitresinde yaklaşık 10^{12} bakteri ve 10^9 potansiyel patojenik gram negatif enterik bakteri ile, konağı öldürebilecek miktarın çok üzerinde endotoksin bulunmaktadır. Bu bakterilerden en önemlilerinden biri de *E.coli* dir. Barsak tıkanıklığı sonucu mezenterik lenf nodüllerinde (MLN), karaciğerde, dalakta ve akciğerde geçen bakteriler genellikle mikrobiyal kültür teknikleriyle sayımların yapıldığı deneysel modellerde değerlendirilmiştir. Bakteriyel translokasyonun gerçekleşebilmesi için bakterilerin öncelikle barsaktaki mukozal bariyeri geçmesi gereklidir. Mukozal alanın aşılmasının ardından mezenterik lenf nodu (MLN), karaciğer, dalak, akciğer gibi steril organlara geçerek ve sistemik kan dolaşımına katılırlar. Bakterilerin mukozal bariyeri aşma yolları şu şekilde bilinmektedir: endositoz ile enterositlerle (ince barsak mukozasının epitelinde bulunan emme hücreleri) direkt dokulara yayılımı ile barsak çeperi taşınımı ile ve mukozal hasarın ardından mukozanın bağ dokusu geçişleri ile taşınımıdır (Karatepe 2008).

Bakterilerin mukozal bariyeri aşmasının ardından steril organlara geçişleri ve sistemik kan dolaşımına katılmaları ise iki yolla gerçekleşir. Bunlardan birincisi makrofajların fagozitosuyla olur. Bakterilerin mukozal bağ dokusunu aşmasının hemen ardından makrofaj dokularınca alınmasıdır. Makrofajlar tarafından yutulan bakteriler MLNs'a iletilirler ve makrofajlardan serbest bırakılarak sistemik dolaşıma geçerek vücuda yayılırlar (Wiest et al., 2003).

2.4. Barsak Obstrüksiyonu (Tıkanıklığı)

Barsak obstrüksiyonu, akut batının önemli nedenlerinden biri ve sık karşılaşılan bir tıbbi sorundur (Küpeli, H, 2005). Genel Cerrahi servisine başvuran hastaların en az %20'sini barsak obstrüksiyonu gözlenir.

Pilordan (yemek borusu ile on iki parmak barsağı arasındaki sindirim kanalı) distale (uca doğru) doğru sindirim kanalı içeriğinin ilerleyişi lokal veya sistemik bir

nedenle engele uğradığında oluşan tıkanıklığa barsak obstrüksiyonu (tıkanıklığı) denir (Arıtış, 2010; Eroğlu, 2008).

Gastrointestinal sistem cerrahi müdahalesinden sonra oluşan barsak zedelenmesi, barsak obstrüksiyonunun en yaygın sebebidir. Zedelenme sonucunda barsak mukozası etrafındaki dokuların inflamasyonu ile birlikte bir yapışıklık oluşabilir. Bunun sonucunda barsak hareketleri ile birlikte veya başka sebeplerle barsaklar birbiri içine geçerek barsaklar tıkanır (Karakoç ve Hamaloğlu, 2006).

Barsak obstrüksiyonları oluş mekanizmalarına göre 2 kısımda sınıflandırılırlar:

1) Fonksiyonel Obstrüksiyonlar

- a. paralitik obstrüksiyon
- b. psödo-obstrüksiyonu

2) Mekanik Obstrüksiyonlar

- a. akut/kronik
- b. parsiyel/tam
- c. basit/kapalı ans
- d. gangrenöz/nongangrenöz (Eroğlu, 2008).

2.4.1. Fonksiyonel obstrüksiyonlar

Barsak içeriğinin yavaşlaması veya durmasıyla oluşan, mekanik engelleme olmadan barsağın işlevini kaybetmesi sonucu ortaya çıkan tıkanıklıktır. Paralitik obstrüksiyon ve psödo-obstrüksiyonu olmak üzere iki çeşidi vardır. Paralitik obstrüksiyon, barsak mekanizmasının refleks gibi etmenlerle herhangi bir şekilde

uyarılmasının sonucunda oluşur. Psödo-obstrüksiyon ise gastrointestinal sinir ve/veya kasların işleyişini bozan normal dışı uyarılarla tıkanıklık oluşur (Küpeli, H, 2005).

2.4.2. Mekanik obstrüksiyonlar

Mekanik barsak obstrüksiyonları hem ince barsakta hem de kalın barsakta gerçekleşirler. İnce barsakta meydana gelen mekanik obstrüksiyonlara proksimalin (distalin tersi) sıvı ve gaz birikimi sebebiyle gerilmesine neden olur. Barsak hareketinin obstrüksiyonun proksimalinde artışı, barsak dokusunda ödem oluşmasına yol açar. Distalde kalın barsak hareketleri ise proksimalde artan ödemler nedeniyle kısıtlanır (Küpeli, H, 2005).

İnce barsak obstrüksiyonları genellikle batın içi yapışıklıklara, fıtıklara ve kansere bağlıdır.

2003 yılında yapılan bir araştırmada barsak obstrüksiyonlarının nedenlerine göre görülme sıklıkları Çizelge 2.1’de yer almaktadır.

Çizelge 2.1 Barsak obstrüksiyonların görülme sıklığı

Obstrüksiyonun Yeri	Nedenleri	Sıklık (%)
İnce Barsak(%85)	Yapışıklıklar	60
	Fıtıklar	15
	Tümörler	15
	Diğer	10
Kalın Barsak (%15)	Kolon Tümörü	65
	Divertikülit	20
	Volvulus	5
	Diğer	10

Barsak lümenindeki tıkanıklık, içten ya da dıştan gelen baskı gibi nedenlere bağlı ise mekanik obstrüksiyon söz konusudur. Mekanik obstrüksiyonun oluşma nedenlerine göre çeşitleri aşağıdaki gibidir.

Akut / kronik obstrüksiyon: Gelişme hızına bağlı olarak isimlendirilirler.

Parsiyel / Tam obstrüksiyon: Obstrüksiyon, barsak içeriğini tam olarak ya da tam olmayan (parsiyel) şekilde tıkanabilir.

Kapalı ans obstrüksiyonu: Barsağın mezenteri de içine alacak şekilde iki noktada tıkanmasıdır.

Basit obstrüksiyonu: Barsağın tek bir noktadan tıkanmasıdır. Bu durum da bakteri çoğalmalarına yol açar.

Normal şartlarda ince barsaklardaki bakteri düzeyi $10^4/\text{ml}$ 'yi geçmez. Obstrüksiyon söz konusu olduğunda ise bakteri düzeyi 10^9 - $10^{10}/\text{ml}$ 'a kadar artar. Hem bakteri cinsi (en sık *E.coli*, *Streptococcus fecalis*, *Klebsiella*) hem de ince barsak florasında değişimler gözlenir.

Barsak permabilitesinin artmasına barsak duvarında pasif ve aktif transport sistemlerin bozulmasına neden olur. Barsak duvarının görevi, mikroorganizma ve antijenlerin lümeninden penetrasyonlara karşı bir bariyer oluşturmak, vücudu ikincil bir enfeksiyondan ve birçok organ işlevsizliğine yol açan sepsislerden (enfeksiyona karşı organizmanın gösterdiği inflamatuvar bir yanıt) korumaktır. Mekanik ince barsak obstrüksiyonlarında, barsak mukozasında kayıplar gözlenir ve barsak duvarı endotoksin ve bakterilere karşı bariyer özelliğini kaybeder. Bunun sonucunda;hipermetabolizma gelişmeleri, sepsisler ve bakteriyel translokasyonlar oluşur (Wiest et al., 2003).

2.5. Bakteriyel Translokasyonun Engellenmesinde Beslenmenin Rolü

İmmün sistem ile beslenme arasında çok yakın bir ilişki vardır ve yetersiz beslenme sadece enerji ve protein eksikliği olarak düşünülmemelidir. Bu nedenlerle beslenmede amaç sadece enerji ve protein gereksinimini karşılamak değil, bazı özel besinlerle hastanın hastalıklara karşı direncini artırmak ve inflamatuvar yanıtını

kendi yararına değiştirmektedir. Kişinin immün işlevlerinde yararlı etkiler gösteren besinlere immün besinler (immünonütrientler), bu besinlerle beslenmeye de immün beslenme denir.

İmmün besin olarak kabul edilen başlıca immünonütrientler izelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2 İmmünonütrientler

Omega-3 yağ asitleri
Prebiyotikler ve probiyotikler
Nükleotidler
Arjinin
Glutamin
Eser elementler; çinko, selenyum, demir, bakır
Vitaminler; A, E, C, B6, folik asit
Sülfürlü aminoasitler
Dallı-zincirli aminoasitler
Kısa zincirli yağ asitleri

İmmün beslenmenin başlıca uygulama alanları da cerrahi ve travma hastaları, kanserli hastalar, yoğun bakım gerektiren ağır hastalığı olanlar ve sepsis gibi ciddi enfeksiyonu olan hastalardır.

Bağışıklık sistemi kişiyi bakteri, virüs, fungus, protozoa gibi zararlı canlılara karşı korur, kanser hücreleri ve diğer yabancı maddelere karşı savaşır ve bazı uyarılara vücudun verdiği yanıtı dengeler.

İmmün beslenmeden amaç kişinin mukozal (vücudun deri dışında kalan ve dış ortamlarla ilişkide olan kısımları, örneğin; ağız içi, sindirim sistemi kanalı yüzeyi, vb), hücrel ve humoral immünitesini güçlendirmek ve lokal veya sistemik inflamasyonla savaşmaktır (Ozen, 2007).

Literatürde immünonütrientler ile enteral beslenmenin immün sistemini güçlendirip barsak bariyerini kalınlaştırarak bakteriyel translokasyonu engellediğini öne süren çalışmalar yer almaktadır. Bugüne değin olumlu sonuçların alındığı çalışmalarda kullanılmış başlıca immünnutrientler arasında, arjinin, nükleotidler, omega 3 yağ asitleri ve probiyotikler yer almaktadır. (Dervenis et al., 2003; Gianotti et al., 1993; Wiemann et al., 1998; Viana et al., 2010).

Enteral beslenme, günlük protein, kalori ve sıvı gereksinimleri ile diğer destek maddelerinin, gastrointestinal yoldan verilmesine denir. Enteral beslenmenin barsaktaki morfolojik değişiklikleri önlemede ve iyileştirmede etkili olduğu savunulmaktadır. Barsak lümeninde besinlerin eksikliği, mukoza kalınlığında azalma sonucunda mukozal bütünlüğün kaybına yol açar. Enteral beslenme ile barsak bariyerinde güçlenme ve mukoza salgılamasının onarılması sayesinde bakteriyel translokasyon önlenmektedir (Gasgrove, 1998).

Deneyisel bir akut pankreatit sıçan modelinde yapılan çalışmada enteral beslenme yoluyla beslenen sıçanlarda düşük endotoksin seviyesinde, mükemmel villüs yüksekliğine ve yüksek T-hücresi seviyeleri gözlenmiştir.

Enteral besinin proksimal olarak gastrointestinal sisteme kolesistokinin yayım yoluyla teslimi pankreatik salgı olan ekzokrinin uyarılmasına neden olduğu ve cerrahiye olan ihtiyacı azalmakta olduğu ileri sürülmüştür (Wiest et al., 2003).

Travmalı veya ileri derecede genel durumu bozulmuş hastalarda bakteri translokasyonunu önleyen savunma sistemleri işlevlerini yitirir. Bu hastalar sıklıkla immünsüpresyondadır. Bu durumdaki hastalarda immünonütrientlerin

kullanılmasıyla barsak fonksiyonlarının düzelmesi, enfeksiyon komplikasyonlarının azalması yanı sıra bu durumdaki hastaların hastanede kalma sürelerinde kısaltma ve morbiditede azalma, tekrarlayan enfeksiyonlarda azalma, iyileştirmeyi hızlandırma, yaşam kalitesini arttırma, hastane masraflarında ve mortalite oranında azalmalar gibi çok önemli faydalar sağlar (Quirino et al., 2007; Aydogan et al., 2007).

Bugüne değin olumlu sonuçların alındığı çalışmalarda kullanılmış başlıca immunnutrientler arasında glutamin, arjinin, nükleotidler, omega 3 yağ asitleri ve probiyotikler yer almaktadır (Santos et al., 2010; Derveniz et al., 2003; Gianotti et al., 1993; Wiemann et al., 1998; Oliveria et al., 2006; Viana et al., 2010).

Santos ve ark.ları deneysel sıçan modelinde barsak bariyerine ve bakteriyel translokasyona glutaminin etkisini incelemek üzere yaptıkları çalışmada, barsak obstrüksiyonu oluşturulan sıçanlarda glutamin ile enteral beslenmeleri sonucu intestinal bariyer fonksiyonunun güçlenip bakteriyel translokasyonun engellendiğini gözlemlemişlerdir (Santos et al., 2010).

2.6. Nükleotidler

Nükleotidler, enerji bakımından zengin ve hücrelerdeki metabolik süreçleri (temel olarak biyosentezleri) yürüten bileşiklerdir. Hücre metabolizmasına katılan biyomoleküllerdir (Ozen, 2007).

Nükleotidler, bir azotlu baz, bir pentoza bir fosfatın bağlanmasıyla oluşurlar:



Nükleotidlerin azotlu bazları, pürin ve pirimidin olmak üzere ikiye ayrılırlar. Pürin ve pirimidinler heterosiklik bileşiklerdir. Benzen yapısındaki karbon atomlarından ikisinin yerine azot atomlarının geçmesiyle pirimidin halkası oluşmaktadır; pirimidin ve imidazol halkalarının kondense olmalarıyla da pürin halka sistemi meydana gelmektedir.

Pirimidin bazları sitozin (C), timin (T) ve urasil (U) bazlarından oluşur. Pürin bazları adenin (A) ve guanin (G)den oluşmaktadır; hipoksantin ve ksantin ise adenin ve guanin metabolizmasında ara ürünlerdir; insanlar pürin katabolizmasının son ürünü olarak okside bir pürin olan ürik asidi atılma uğratırlar.

Kahve, çay ve kakao gibi bitkilerde farmakolojik özellikleri olan metillenmiş pürinler bulunur. Adenin ve guanin hem DNA'da hem RNA'da bulunurlar. DNA ve RNA yapısında yer alan pürin ve pirimidin bazları ileri derecede konjuge yapılar oldukları için nükleik asitlerin yapısını, elektron dağılımını ve ışık absorpsiyonunu etkilemektedir. Pirimidinler düzlemsel, pürinler ise düzlemsel yapıya yakın büzülmüş yapı göstermektedirler.

Nükleotidlerin fonksiyonları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- 1) Nükleik asitlerin alt üniteleridirler.
- 2) Nükleotidler, hücrede kimyasal enerjiyi taşırlar.
- 3) Nükleotidler, birçok enzim ko-faktörlerinin komponentleridirler.
- 4) Bazı nükleotidler selüler haberleşmede aracılırlar.
- 5) Bazı nükleotidler kanser hücrelerinin ya da bazı virüslerin çoğalmasını önlemek için kullanılmaktadırlar (<http://www.mustafaaltinisik.org>; <http://www.oytunerbas.com>).

Hücrelerin yapıtaşları (DNA ve RNA sentezi) olduklarından tüm hayvansal ve bitkisel gıdalarda doğal olarak bulunurlar. Anne sütüne (70 mg/l nükleotid içerir) benzetmek için son yıllarda bebek mamalarına da konulmaktadır. Birçok metabolik olayın mediyatörü olmaları yanında enerji transferi (ATP ve GTP yapımı) ve hormonal sinyallerin koordinasyonundan da sorumludurlar. Karbohidrat, protein, yağ ve nükleik asit metabolizmasında önemli rol oynarlar. Endojen sentezleri kompleks

ve enerji gerektiren bir durum olduğundan stres durumlarında dışarıdan sağlanmaları önem taşır.

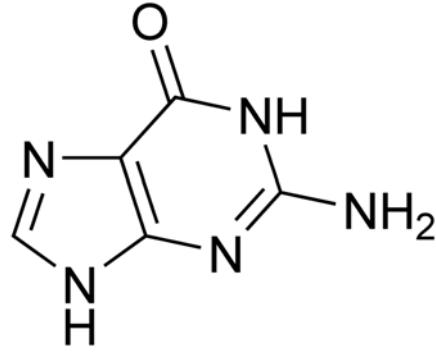
Nükleotid desteği yeni doğanlarda, aksine çalışmalar olsa da, bifidobakteri ağırlıklı bir floranın oluşmasına katkıda bulunur. Doğal öldürücü hücre sitotoksitesi ve makrofajlardan interlökin-2 üretimini artırır. H.inflenza tip b aşısı sonrası antikor titresini yükseltirler. Serum IgA düzeylerini artırır. Yetersiz olduğunda hızlı çoğalan hücrelerde azalma olur. Barsak mukoza bütünlüğünün korunmasında, mikrofloranın düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Ayrıca demir biyoyararlanımını artırır, lipid metabolizmasını düzenlerler (esansiyel yağ asidi sentezi), karaciğer ve bağırsak gelişimini uyarırlar ve vücuttaki zedelenmelerin onarılmasını sağlarlar. Fakat nükleotid desteği ile yapılan klinik çalışmalar sepsis ve ishal sıklığına, normal ağırlıkta olan bebeklerin büyümelerine belirgin yararlı bir etki yapmamıştır. Büyüme ve stres durumlarında gereklilikleri mutlak olmasına rağmen şimdiye kadar yapılan klinik çalışmalarda prematürelde bazı immün parametreleri iyileştirmeleri, intrauterin büyüme geriliği olanlarda yakalama büyümesine katkı yapmaları ve malnütre çocuklarda büyümeyi olumlu etkilemeleri dışında etkinlikleri gösterilmemiştir. Tüm bu yararlı etkilerine rağmen eksikliğine bağlı bir klinik hastalık tanımlanmamıştır. Muhtemelen besin kaynaklarından yeterli miktarlarda alınmaktadır. Erişkinler günlük yaklaşık 1-2 g nükleotid tüketirler (hayvansal proteinler, baklagiller, maya, bezelye, süt) (Balzan, et al., 2007).

Besinlerle alınan nükleotid asitler (RNA ve DNA) pankreatik sıvıdaki ribo ve deoksiribonükleazlar, oligonükleotidlere parçalanır ve pankreatik fosfodiesterazlarla mononükleotidlere hidrolize olurlar (Ozen, 2007; Mattar et al., 2001; Sarı, 2002; Gosgrove, 1998). Mononükleotidlerden fosfatları ayırarak nükleozidleri açığa çıkar. Barsak hücreleri nükleozidleri direk ya da şekerlerini ayırdıktan sonra emilimini sağlar. Bu durumda serbest bazlar açığa çıkar. Diyetle gelen sindirim sisteminden emilen bazlar, dokularda nükleik asitlerinin sentezinde pek kullanılmazlar. Pürinler ürik aside çevrilir ve idrarla atılır.

Nükleotidler DNA ve RNA nükleik asitlerin prekürsörleridir. Sindirim sisteminden alınan nükleotidler gastrointestinal sistem mukoza hücreleri, lenfositler ve makrofajlar gibi hızlı büyüyen hücrelerin replikasyonu artırır. Bunun sonucunda immün cevabını daha kuvvetli oluşmasını sağlar. Bu durum hayvan modellerinde enfeksiyon direncini arttırdığı gösterilmiştir. Bağışıklık sistemini kuvvetlendirici besinlerle beslenmenin yoğun bakım hastalarında enfeksiyon komplikasyonları azalttığı gösterilmiştir (Ozen, 2007; Weimann et al., 1998; Dervenis et al., 2003; Sarı, 2002).

2.6.1 Guanin

Guanin, nükleotidlerin pürin grubunda yer alır. DNA'daki diğer pürin türeviden adeninden daha kolay okside olur. Molekül içi hidrojen bağlarının düzenli olması nedeniyle erime noktası 350 °C gibi yüksek bir değerdedir. Bu düzenli bağları dolayısıyla ile guanin suda tam olarak çözünmez ancak seyreltik asit ve bazlar ile çözünebilir. Molekül yapısı Şekil 2.3'te yer almaktadır.

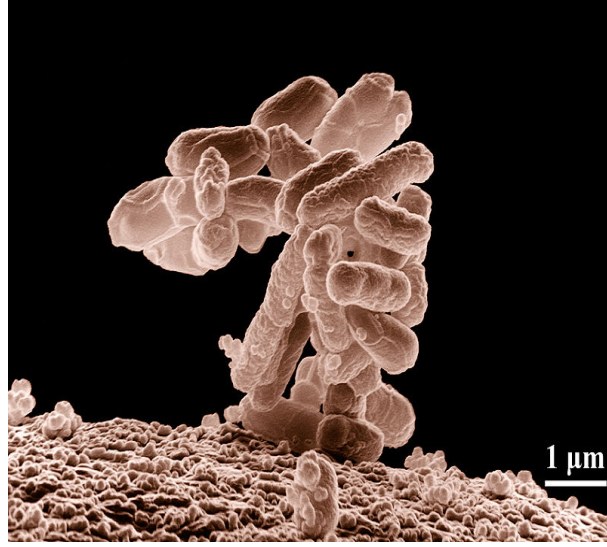


Şekil 2.3 Guaninin molekül yapısı

Guanin ayrıca bazı balıkların pullarında, memelilerin karaciğer ve pankreasında bulunur (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Guanin>, 2011).

2.7. *Escherichia coli* (*E.coli*)

Escherichia coli memeli hayvanların kalın barsaklarında yaşayan faydalı bakteri türlerindedir (Şekil 2.4). Genellikle *E. coli* kısaltmasıyla veya koli basili olarak adlandırılırlar.



Şekil 2.4 *E.coli* bakteri kümesinin elektron mikroskopunda büyütülmüş görüntüsü

Gram-negatif bir bakteri olan *E. coli* endospor oluşturmaz, pastörizasyon veya kaynatma ile ölür. Memeli hayvanların barsaklarında büyüdüğü için en iyi vücut sıcaklığında çoğalır.

E. coli, normal barsak florasına ait olup, barsaklarda yaşayan bakterilerden oluşan enterik bakteriler ailesinde yer alır. 1-2 µm uzunluğunda ve 0.1-0.5 µm

çapında olan *E.coli* bakterisi çubuk şeklindedir (tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli, 2011).

Escherichia coli enfeksiyonları yeni doğan çocuklarda ve hayvanlarda sepsisemi ve ishale neden olan oldukça yaygın olan bakteriyel hastalıklardır. Hastalıklar insanların barsaklarında ve barsakları dışında farklı şekillerde oluşabilirler.

Patojenik *E.coli* suşları, kanlı ishal ve karın ağrıları ile sonuçlanan hemorajik enfeksiyonlara ve hatta kimi zaman hayati öneme sahip komplikasyonlara neden olabilen toksin oluştururlar (Dinçer., 2011).

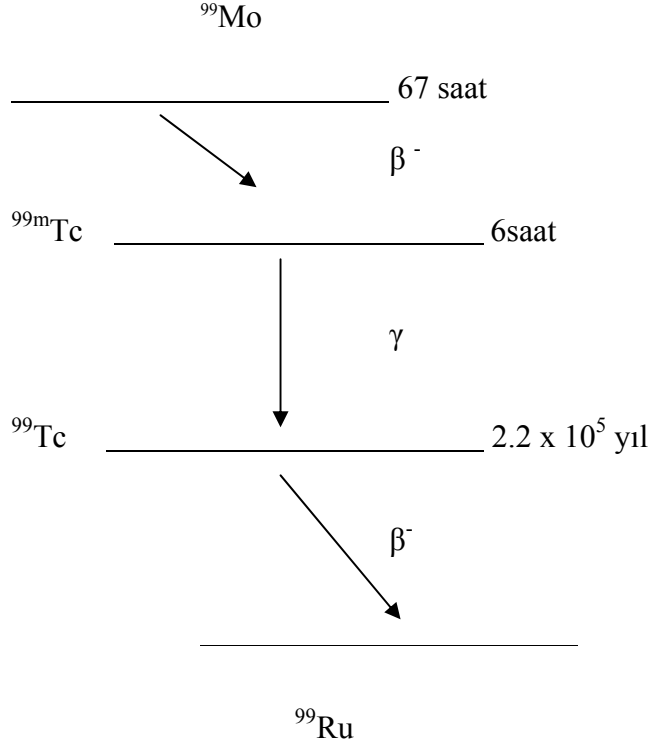
Bakteriyel translokasyon nedeni ile sistemik dokularda en çok görülen ve izole edilen bakteri *E.coli*'dir (Diniz et al., 2005).

2.8. Teknesyum-99m (^{99m}Tc) Kimyası

Sentetik bir element olan teknesyum, periyotlar cetvelinde ilk keşfedilen elementtir. Adını Yunanca'da sentetik anlamına gelen technetos'tan alır. İtalyan bilim adamları Carlo Perrier ve Emillio Segre tarafından 1937 yılında siklotron molibdenin 8MeV enerjili döteryum ile ışınlanması sonucu elde edilmiştir. Daha kısa yarı ömürlü ($t_{1/2}$: 6 saat) Tc olarak isimlendirilen radyoaktif element elde edilir (Zolle., 2007).

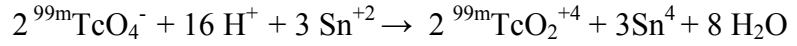
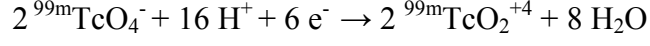
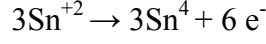
⁹⁹Mo/^{99m}Tc jeneratörü 1965 yılında Brookhaven Ulusal Laboratuvarında klinik uygulamalar için yapılmıştır. ^{99m}Tc jeneratörden perteknetat formunda elde edilir.

⁹⁹Mo yarı ömrü 6 saat, 740-780 keV enerjili beta bozunumu ile % 87'si ^{99m}Tc'a % 13'ü ^{99m}Tc'a dönüşür. ^{99m}Tc yarı ömrü 6,02 saat olup 140 keV enerjili gama bozunumuyla izomerik geçiş ile ^{99m}Tc'a dönüşür. ^{99m}Tc beta yayılımı ile ve $2,1 \times 10^5$ yıl yarı ömürlü ⁹⁹Ru'a bozunur. Bozunum şeması Şekil 2.5'te yer almaktadır (Ünak., 1996).

Şekil 2.5 ^{99}Mo 'un bozunum şeması

Teknesyumun tabiatta kararlı izotopları yoktur. Nükleer tıpta çok kullanıldığı için kimyasal özellikleri iyi araştırılmış ve +1'den, +7'ye kadar oksidasyon kademeleri tanımlanmıştır. +7 en kararlı olduğu kademedir. Bugün bilinen radyofarmasötiklerdeki oksidasyon kademeleri +3, +4, +5 ve nadir olarak da +1'dir. ^{99m}Tc jeneratörden +7 değerlikli olarak elde edilir. Bu en kararlı halidir. İşaretleme yapabilmek için önce teknesyumu indirgemek gerekir. Bu amaçla birçok kimyasal madde ve elektrolitik denenmesine rağmen rutinde en yaygın kullanılanı +2 değerlikli kalay tuzlarıdır (SnCl_2). İndirgenmiş teknesyum muhtelif iyon ve moleküller ile kompleks yaparak bağlanır. Kompleks yapma özelliği bir geçiş elementi olmasından kaynaklanır (Demir., 2008).

Aşağıdaki denklem $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'nin Sn(II) ile asidik ortamda indirgenmesini göstermektedir.



Perteknetat'ı indirgemek için kalay klorür, kalay sitrat, kalay tartarat, konsantre HCl, sodyum borhidrit, demir sülfat çeşitli indirgen ajanlar kullanılmaktadır (Ünak, 1996).

^{99m}Tc 'in ideal nükleer özellikleri, radyonüklit jeneratör sistemi olarak dünyada kullanımı ve yeni işaretleme tekniklerindeki gelişmeler nedeniyle hızlı gelişme göstermiştir. Temin edilmesi kolay ve ucuzdur. Görüntüleme radyofarmasötiklerinin %90'ından fazlası ^{99m}Tc ile işaretlidir.

^{99m}Tc radyofarmasötikleri organ spesifik ve akciğer (emboli), kalp (iskemi/damar tıkanıklığı) ve beyin (perfüzyon bozukluğu) gibi organların kan akışını belirlemede, tiroid, karaciğer (fagositik fonksiyon), böbrek ya da hepatobilayer (karaciğer ve safra yolları) sisteminin fonksiyonel durumunu değerlendirmede ve tümörlerin kas yapısındaki metastatik büyümelerinin belirlenmesinde kullanım için uygundur (Zolle, 2007).

2.9. Barsak Obstrüksiyonlu Sıçan Modelinde ^{99m}Tc-*E.Coli* Kullanımı

Radyofarmasötikler iltihabi ve enfeksiyonlu dokuların görüntülenmesinde geniş bir yelpazede kullanılmıştır. ^{99m}Tc ile yapılan çalışmalar da genellikle nükleer tıpta enfeksiyon görüntülemesi yapılmaktadır. Radyoişaretli bakteri ile bakteri translokasyonun incelendiği araştırmalar yapılmıştır. Son zamanlarda bakterilerin barsaktan translokasyonunun belirlenmesinde radyonüklidlerle işaretli bakteri yöntemi kullanılması araştırmalarda önem kazanmaktadır. Bu yöntemin klasik yöntemlere göre birtakım avantajları bulunmaktadır. Deneysel hayvan modellerinde bakteriyel translokasyonu belirlemekte ve geçiş miktarını tespit etmek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en eski olanı mikro kültür yöntemi ile organlardaki bakterilerin tek tek sayılması gerekmektedir. Bakterilerin tek tek sayılma yönteminde geçen süre çok fazladır ve bu süreçte epitel engeli aşan bakteriler ölmektedir (Wiest and Rath, 2003). Bakterilerin canlılığının korunamaması da translokasyona uğrayan bakterilerin sağlıklı bir şekilde belirlenmesini engellemektedir. *E.coli* bakterisinin ^{99m}Tc ile işaretlenmesi yönteminde radyoaktivite sayımı yapılarak translokasyon tespit edilir. Ayrıca bakterilerin tek tek sayılmasında aseptik şartlar gerekmektedir. Radyoaktif maddeyle işaretleme yönteminde ise aseptik şartlara gerek yoktur. ^{99m}Tc ile işaretleme yönteminin hızlı olması, basit olması ve aseptik koşullar gerektirmemesi bakteriyel translokasyonun bu yöntemi diğer yöntemlere göre avantajlı kılmaktadır (Oliveira et al., 2006).

Bu çalışmanın amacı; immünonütrientlerde guanini içeren özel diyetin, barsak tıkanıklığı oluşturulmuş sıçanlarda bakteri translokasyonu üzerine etkisi olup olmadığının araştırılmasıdır. Bakteri geçişini incelemek için ^{99m}Tc ile işaretli *E.coli* yöntemi tercih edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

- Tc-99m ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) (Monrol A.Ş) (Şifa Üniversitesi Hastanesi Nükleer Tıp'tan sağlanmıştır),
- Kalay klorür dihidrat ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck),
- Dietileter ($\text{C}_2\text{H}_5\text{-C}_2\text{H}_5$) (Merck),
- Serum fizyolojik (SF) (%0.9 NaCl çözeltisi),
- Guanin (Sigma A.Ş),
- Sıçan yeni (Tariş Yemta'dan sağlanmıştır),
- Ketamin,
- Ksilazin,
- Formaldehit,
- Ksilin,
- Etil Alkol,
- Hematoksilen-eozin,
- Entellan,
- *Escherichia coli* (*E.coli*).

3.1.2. Kullanılan cihazlar

- ❖ RAD-501 Cd(Te) tek kanallı sayım sistemi (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- ❖ Santrifüj (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- ❖ Leica döner mikrotom (D. E. Ü. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı),
- ❖ Olympus BX-51 mikroskop (D.E.Ü. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı),
- ❖ Olympus DP-71 video kamera (D. E. Ü. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı).

3.2. *Escherichia coli*'nin ^{99m}Tc ile İşaretlenmesi

Radyoişaretlemede kullanılan *Escherichia coli* (ATCC-25922) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından, ^{99m}Tc ise Şifa Üniversitesi Hastanesi'nden temin edilmiştir. *E.coli* ^{99m}Tc ile kalay klorür indirgeme yöntemine göre işaretlenip, işaretlenme verimi tespit edilmiştir (Sonugelen et al., 2006; Sonugelen et., al, 2006; Diniz et al., 1999).

1mg/ml kalay klorür, 1ml *E.coli* (10^8 CFU/ml) içeren tüpe eklendi, 37°C de 10 dakika inkübe edildi. 37 MBq Na^{99m}TcO₄ eklenerek tekrar 10 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından 25 dakika 3000 rpm'de (devirde) santrifüjlenip; çökelek oluşumu sağlandı. Oluşan çökelek 3 kez 1'er ml su ile yıkanıp santrifüjlendi. Böylece *E.coli*, ^{99m}Tc ile radyo işaretleme işlemi gerçekleştirilmiş oldu.

İşaretlemenin ardından; üst ve alt (çöken kısım) fazlardan insülin enjektörü yardımıyla 100'er µl alınıp; RAD 501 tek kanallı analizör ile donatılmış Cd(Te)

dedektöründe aktivite sayımları yapıldı (Yamamoto et al., 1997; Batista et al., 2011; Sonugelen et al., 2006; Sonugelen et., al, 2006; Diniz et al., 1999).

İşaretleme verimi aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\% \text{ işaretleme verimi} = [\text{alt (çökelen) kısım sayımı} / (\text{alt} + \text{üst kısım}) \text{ sayımı}] \times 100$$

3.3. Diyetlerin Hazırlanması

Diyetlerin hazırlanmasında normal sıçan yemi olarak Tariş Yemta kobay yemi kullanılmıştır. Tariş Yemta kobay yeminin temel besin maddeleri Çizelge 3.1'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1 Normal sıçan yemi temel besin maddeleri

Tariş Yemta Kobay Yemi Temel Besin Maddeleri		
Su	(% en çok)	12
Ham Protelin	(% en az)	14
Lysine	(% en az)	5
Methionine	(% en az)	0,5
Sistin	(% en az)	-
Ham Selüloz	(% en çok)	11
Ham Kül	(% en çok)	10
HCL'de çözünmeyen kül	(% en çok)	2
Kalsiyum	(% en az-en çok)	1,3-2,5
Fosfor	(% en az)	1
Sodyum	(% en az-en çok)	0,5-1
NaCl	(% en çok)	1
Metabolik Enerji	(Kcal ME/Kg-en az)	2600

Normal sıçan yemine G11950 kodlu Sigma guanin katkı maddesi eklenmiştir. Kullanılan guanin miktarı deney gruplarına göre farklılık göstermektedir. II. grup için 245 gr normal sıçan yemine 5 gr guanin, III. grup için ise 490 gr normal sıçan yemine 10 gr guanin ilave edilmiştir.

Öncelikle sıçan yemi toz haline getirilmiştir. Ardından guanin ve su ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenize edilen diyetler normal sıçan yemi ebatında pellet haline getirilmiştir (Şekil 3.1). Pellet oluşturulan diyetler 45-50°C’de 8 saat boyunca kurutulmuştur (Quirino et al., 2007; Diniz et al., 2005).



Şekil 3.1 Pellet haline getirilen diyetlerin hazırlanması

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 21 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanılmıştır. Çalışmada konvensiyonel şartlarda yetiştirilen 12 saat gece ve 12 saat gündüz fotoperiyodi uygulanan adlibitum olarak beslenen sağlıklı sıçanlar kullanılmıştır.

Sıçanlar rastlantısal olarak 7’şer hayvandan oluşan 3 gruba ayrılmıştır. Guaninle zenginleştirilmiş besin maddesinin kullanımının, barsak obstrüksiyonlu sıçan modelinde bakteriyel translokasyona etkisi değerlendirileceği için, birinci grup (I) kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. I.grup (KG) normal sıçan yemi ile beslenmiştir. İkinci grup (G1) ve üçüncü grup (G2) guaninli diyet ile beslenen

gruplardır. Guanin miktarının bakteriyel translokasyona etkisini tayin edebilmek amacıyla farklı iki grup (grup II ve III) oluşturulmuştur (Şekil 3.2).

Tüm gruptaki sıçanlara, barsak obstrüksiyon modeli uygulanmıştır. Obstrüksiyonun ardından $^{99m}\text{Tc-E.coli}$ aşılması yapılmıştır.

Bu deney grupları:

I.Grup (KG): Kontrol grubu normal sıçan yemi ile beslenip, obstrüksiyon yapılmıştır ve 37 MBq $^{99m}\text{Tc-E.coli}$ aşılacaktır.

II. Grup (G1): Guaninle zenginleştirilmiş (400 mg/kg/gün) diyet ile beslenip, obstrüksiyon yapılmıştır ve 37 MBq $^{99m}\text{Tc-E.coli}$ aşılacaktır.

III. Grup (G2): Guaninle zenginleştirilmiş(800 mg/kg/gün) diyet ile beslenip, obstrüksiyon yapılmıştır ve 37 MBq $^{99m}\text{Tc-E.coli}$ aşılacaktır.

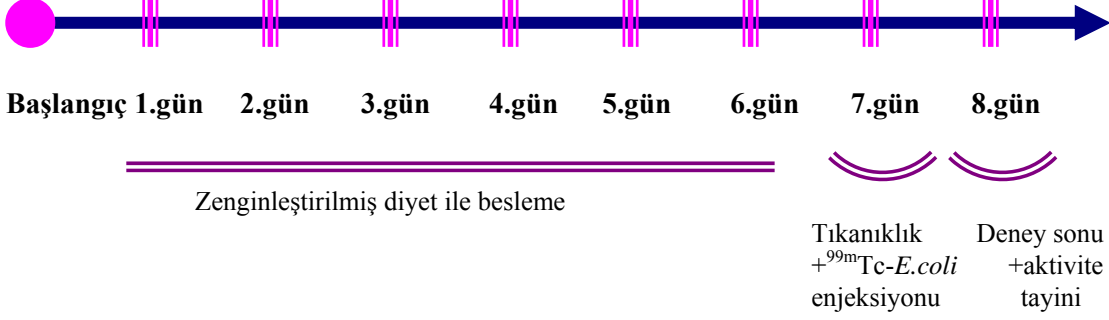


Şekil 3.2 Wistar Albino sıçanların diyetlerine göre gruplara ayrılması

Sıçanlar barsak obstrüksiyonu operasyonu olmadan önce 7 gün boyunca yukarıda belirtilen diyetler ile beslenmiştir. Gün içerisinde sıçanlar öncelikle guaninli

diyetlerle beslenerek ardından normal yem ile beslenmelerine takviye edilmiştir (Fukuwatari et al., 2001).

Deney zaman çizelgesi aşağıda gösterilmektedir:



3.5. Biyodağılım Çalışması

3.5.1. Cerrahi prosedür ve ^{99m}Tc-*E.coli* aşılması

Deneyin yapımında sıçanların kullanılabilmesi için Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Protokol No: 16/2011).

Sıçanlar kendi gruplarına özgü hazırlanan diyetlerle 7 gün beslendikten sonra 35 mg/g ketamin ve 5 mg/kg ksilazin ile tüm sıçanlar anestezide alınmıştır ve sırt üstü pozisyonda tespit edildikten sonra traş dezenfeksiyon yapılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Anestezi edilen sıçanın traş dezenfeksiyonu



Şekil3.4 Batının açılması

Daha sonra batın median hat üzerinde 2 cm'lik ensizyon yapılarak, ileum ve sekum birleşme hizasından 3/0 ipek ile tam barsak tıkanıklığı yapılmıştır (Şekil 3.4, Şekil 3.5).



Şekil 3.5 İleum ve sekumun birleşme hizası bağlanarak obstrüksiyon oluşturulması

Böylece literatürde belirtilen barsak obstrüksiyon modeli oluşturulmuştur (Şekil 3.6). (Diniz et al., 1999; Diniz et al., 2005; Demirkan et al., 2006; Oliveria et al., 2006; Viana et al., 2010).



Şekil 3.6 Mekanik ince barsak obstrüksiyon modeli (Basit obstrüksiyon)

Operasyon ile sekum ileum bileşkesi bağlanıp, obstrüksiyonun oluşturulmasının ardından tıkanık yapılan ve tam bağlanan barsak parçasının ön tarafına (cranialine) ^{99m}Tc ile işaretlenen *E.coli* (10^8 CFU/ml) insülin enjektörü ile barsak içine enjekte edilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 ^{99m}Tc -*E.coli*'nin enjeksiyonu

Hemen sonrasında batın kapatılarak, sıçanlar 24 saat boyunca derlenmeye bırakılmıştır. Bu esnada sıçanların normal yem ve su ile beslenmelerine devam edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Operasyonun ardından açılan batının kapatılması

3.5.2. Bakteriyel translokasyon analizi

Operasyondan 24 saat sonra eter anestezisinde sıçanlar sakrifiye edilmiştir. Mezenterik lenf nodu, karaciğer, akciğer, dalak organları, ileum çıkartılmıştır ve kan örneği alınmıştır.

Bu organların ağırlıkları tartılarak, Cd(Te) dedektöründe aktivite sayımları yapılmıştır. Aktivitelerinin ortalamaları alınarak her bir organ başına düşen bakteri tutulumları cps/g (gram başına düşen saniyedeki sayım) olarak tespit edilmiştir. Bu hesaplamalardan önce her bir organın aktivitelerinde zaman düzeltmesi hesabı yapılmıştır. Radyoişaretlemede kullanılan Tc-99m 6 saat gibi kısa bir yarı ömre sahiptir. ^{99m}Tc-*E.coli*'nin sıçanlara verilmesinin ardından, sıçanlar 24 saat bekletilmiştir. Bu nedenle zaman düzeltmesi yapılmış ve bu sayım değerleri kullanılarak, Excel programında organlardaki aktivite tutulumlarının zamana karşı biyodağılım grafikleri elde edilmiştir.

Aynı zamanda histomorfolojik değerlendirmeler için barsak ileumunun kraniyelinden tıkanıklığın olduğu yerin önünden örnek alınarak formaldehit de bekletilmiştir.

3.6. Histopatolojik Analiz

% 10 formaldehit içerisinde bekletilen ileum dokuları, klasik histoloji metoduyla analiz edilmiştir. Dokular parafin bloklara gömülmüştür. 6 µm'lik kesitler, döner mikrotom (Leica RM 2135, Leica Cihazı, Nussloch, Almanya) kullanılarak alınmıştır. Doku kesitleri ksilin ve saflaştırılmış alkolle sulandırılarak deparafinize edilmiştir. Hematoksilen-eozin ile boyanarak, entellan ile temizlenip sabitleştirilmiştir. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra, bilgisayar destekli görüntü analizörü sistemi ile donatılmış bir mikroskoptan (Olympus BX-51 Tokyo, Japonya) oluşan yüksek çözünürlüklü bir video kamera (Olympus DP-71, Japonya) kullanarak görüntüler alınıp incelenmiştir. Tüm kesitlerin dijital fotoğrafları çekilmiştir. Histopatolojik görüntüleri ve analiz ile ilgili bilgiler 4. Bölümde yer almaktadır.

3.7. İstatistiksel Analizler

Biyodağılım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak SPSS 16.0 programı (Tek Değişkenli Varyans Analizi ve Pearson Korelasyon) kullanılarak yapılmıştır. Tüm verilerin varyans analizleri yapılarak ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ olasılık değerleri anlamlı kabul edilmiştir. Bu değerlendirme sonuçlarına ilişkin bilgiler 4. Bölüm'de bulunmaktadır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *E.coli*'nin ^{99m}Tc ile İşaretleme Verimi

E.coli'nin Tc-99m ile işaretleme esnasında 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirirken, her defasında Cd(Te) dedektöründe aktivite ölçümleri alınmıştır. *E.coli*'nin % işaretleme verimi, yıkama öncesi ve yıkama sonrası aktivite değerleri ile hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). Bu işaretleme işlemi 6 kez yapılmış olup değerler bunların ortalamasıdır.

Çizelge 4.1 ^{99m}Tc ile *E.coli*'lerin (%) işaretleme verimleri

Bakterilerdeki (%) radyoaktivite								
Yıkama Öncesi			Yıkama Sonrası					
			1		2		3	
n	ortalama	std	ortalama	std	ortalama	std	ortalama	std
6	73,32	2,71	99,94	0,06	99,97	0,03	99,99	0,01

4.2. Biyodağılım Sonuçları

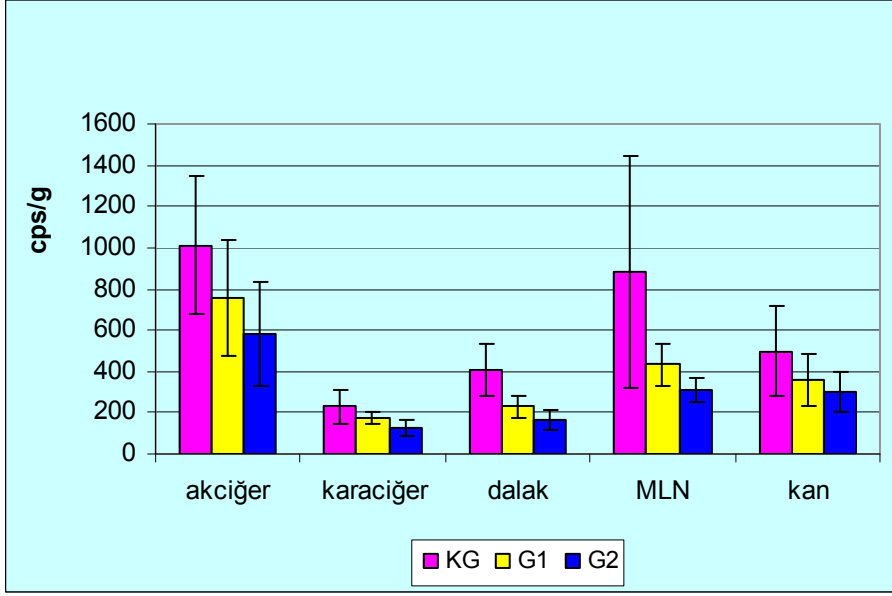
Gruplara ayrılan sıçanlarda yapılan biyodağılım çalışmasındaki ^{99m}Tc işaretli *E.coli* translokasyonu sonuçları aşağıdaki tabloda görülmektedir. Organ ve kana olan bakteri yayılımları Cd(Te) dedektöründe ölçülen ^{99m}Tc'in ortalama aktivite değerleri ile değerlendirilmiştir. Bu değerler gram başına düşen 20 saniyedeki (cps/g) aktivite olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.2 ^{99m}Tc-*E.coli* biyodağılım sonuçları (cps/g) ve istatistiksel analiz değerleri

<u>organ/kan</u>	<u>KG</u>	<u>G1</u>	<u>G2</u>	<u>p</u>
akciğer	1013,22±335,89	759,12±282,38	580,25±251,77	0,12
karaciğer	228,32±80,45	174,20±26,67	124,99±36,21	0,00
dalak	406,66±126,17	230,10±54,39	165,97±50,17	0,00
MLN	884,92±264,46	432,07±102,30	307,26±59,84	0,02
kan	498,86±220,59	358,28±124,89	301,07±98,87	0,20

^{99m}Tc-*E.coli* bakteriyel translokasyon biyodağılım sonuçları Çizelge 4.2’de organların gramı başına aktivite değerlerinin deney gruplarına göre değişim grafiği yer almaktadır. İleum hariç tüm organların aktivite değerleri kontrol grubunda (KG), G1 ve G2’ye göre daha yüksek olduğu; II. gruptaki (G2) değerlerin ise III. gruptakilere (G1) göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu da kontrol grubunda ileuma enjekte edilen ^{99m}Tc-*E.coli*’nin organlara yayılımının diğer gruplara göre fazla olduğunu göstermektedir. Guanin miktarının artırıldığı G2’de ise bakteriyel translokasyonun en az düzeyde olup, G1 ve KG ile belirgin bir fark olduğu sonucuna varılmaktadır.

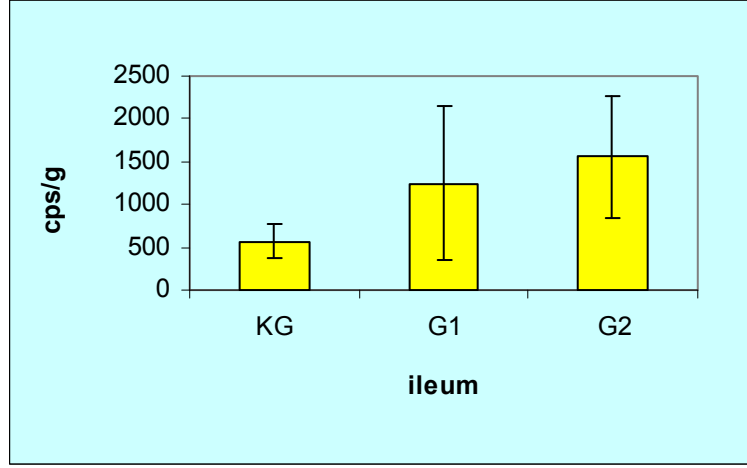
İleumdaki aktivite değerinin G2’de en yüksek olup KG’de en düşük olduğu saptanmıştır. Bu da guaninle zenginleştirilmiş diyet ile beslenen G2’de bakteriyel translokasyonun kısmen engellendiğini göstermektedir. G1’deki ileum aktivite değerlerinin G2’ye göre düşük olması, G2’ye göre daha çok bakteri translokasyonu olduğu sonucunu teyit etmektedir. Böylece guanin miktarının da bakteriyel translokasyonun engellenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Aktivite değerlerinin (cps/g) organlara göre değişimi

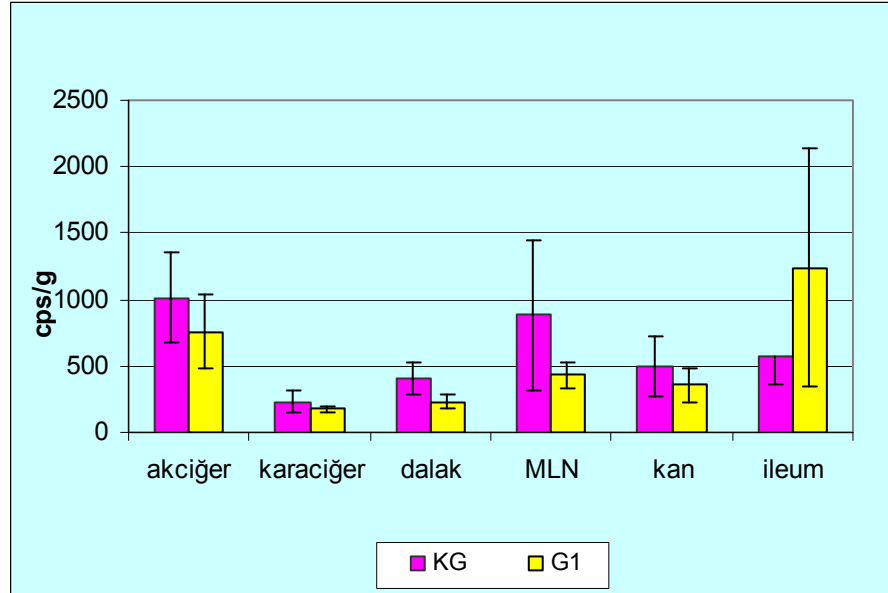
Biyodağılım sonuçlarından organların gramı başına aktivite değerleri yukarıdaki Şekil 4.1’de görülmektedir. En yüksek aktivite akciğerde (1013.22, 759.12, 580.25 cps/g), en düşük aktivite değerlerine (228.12, 174.2, 124.99 cps/g) ise karaciğerde saptandığı görülmektedir.

Bakteriyel translokasyonun gerçekleşmesinde birden fazla mekanizmanın etkili olduğu bilinmektedir. Bunlardan en önemlisi bakterilerin ve onların oluşturduğu zararlı mikroorganizmaların makrofajlar tarafından endositoz yoluyla barsaktan alınarak lenfotik yolla mezenterik lenf nodlarına taşınmaları şeklindedir. Bakteriler ilk adım olarak submukozal alana mukozal hasarlı bölgeden lamia propiaya doğrudan geçebilmektedirler. İkinci adım olarak da submukozal alandan MLN, dalak ve akciğere geçişi makrofajların fagositozuyla lenf nodlarına iletilmesiyle gerçekleşir. Şekil 4.1’deki sonuçlar incelendiğinde MLN’deki aktivite değerleri tüm gruplarda kana göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu da ^{99m}Tc-*E.coli*’nin lenfotik yol ile yayıldığını gösterir. Akciğer, dalak daha çok lenfojen sistemde yer alırlar. Karaciğer ise hemotojen sisteme dahil dir. Bu nedenledir ki tüm gruplarda en düşük aktivite değeri karaciğerde gözlenmektedir (Wiest and Rath, 2003; Çelik, 1998).



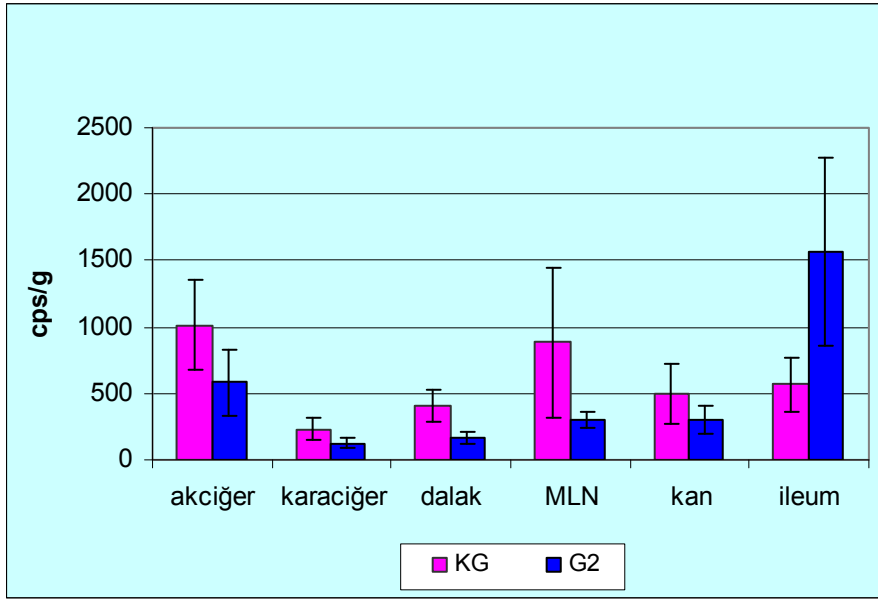
Şekil 4.2 İleum aktivite değerlerinin (cps/g) gruplar arasındaki değişimi

$^{99m}\text{Tc-E.coli}$ 'nin enjekte edildiği ileumdan alınan örneklerinin birim kütle başına aktivite değerlerinin deney gruplarına göre değişim grafiği ise Şekil 4.2'de yer almaktadır. G2'de ölçülen en yüksek aktivite değeri (1561.06 cps/g), bu grupta bakteri geçişinin engellenerek $^{99m}\text{Tc-E.coli}$ 'nin ileumda kaldığı diğer organlara geçişinin az olduğunu göstermektedir. G1'deki bakteri geçişi ise kontrol grubuna göre daha düşük; fakat G2'ye göre yüksek olduğu görülmektedir. Bu da guanin miktarının G2'ye göre düşük olduğundan kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.3 KG ile I.grubun organ başına düşen aktivite değerlerinin karşılaştırılması

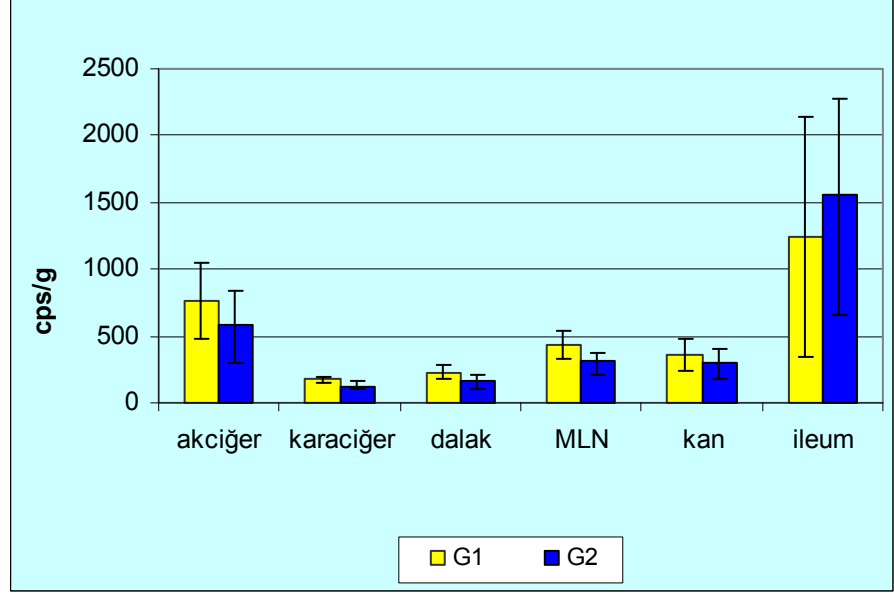
Kontrol grubu (KG) ile I.grubun (G1) kıyaslanması açısından oluşturulan organın gramı başına düşen aktivite değerlerini gösteren grafik Şekil 4.3'te yer almaktadır. Kontrol grubunun gram organ başına düşen aktivite değerleri tüm organlarda I.gruptakine göre yüksektir. I.grupta sıçanların guaninle zenginleştirilmiş yem ile beslenmesinden kaynaklı bakteriyel translokasyon kısmen engellenerek, $^{99m}\text{Tc-E.coli}$ 'nin ileumdan diğer organlara geçişi kontrol grubuna göre daha az gözlenmektedir. Bu nedenle ileumun aktivite değeri I. grupta 1241.56 cps/g değerinde olup, kontrol grubunun ileum aktivitesine (569.60 cps/g) göre daha yüksektir.



Şekil 4.4 KG ile II.grubun organ başına düşen aktivite değerlerinin karşılaştırılması

Kontrol grubu ile II. grubun kıyaslanması açısından Şekil 4.4 yer almaktadır. Şekil 4.3'te yer alan kontrol grubu ile G1'in karşılaştırılmasında olduğu gibi; organlardaki aktivite değerleri, G2 grubunda kontrol grubuna göre daha düşük, ileum aktive değeri ise daha yüksek ölçülmüştür. Fakat G2 ile kontrol grubu arasında daha belirgin fark vardır. Akciğerin gramı başına aktivite değeri tüm gruplarda ele alınırsa; kontrol grubunda 1013.22 cs/g, G1'de 759.12 cps/g G2'de ise 580.25 cps/g ölçülmektedir. Bu aktivite değerlerinden de görüldüğü üzere, G2 grubunda aktivite değerinde daha çok düşüş gözlenmiştir. Her organdaki aktivite farkı, G1'e göre daha

fazladır. İleumun aktivite değeri ise kontrol grubunun aktivite değerine göre çok daha yüksek gözlenmektedir. İleumun aktivite değeri kontrol grubunda 569.60 cps/g iken, G1 grubunda 1241.56 cps/g ve G2 grubunda ise 1561.06 cps/g olarak ölçülmüştür. Bu değerlerdeki artışın G2 grubunda daha yüksek olduğu görülmektedir.

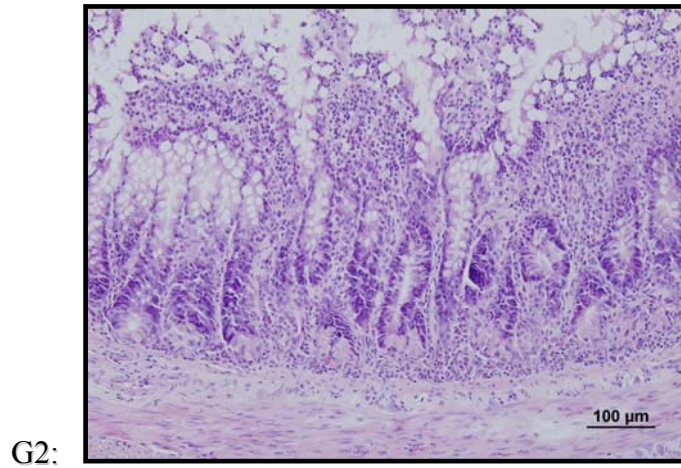
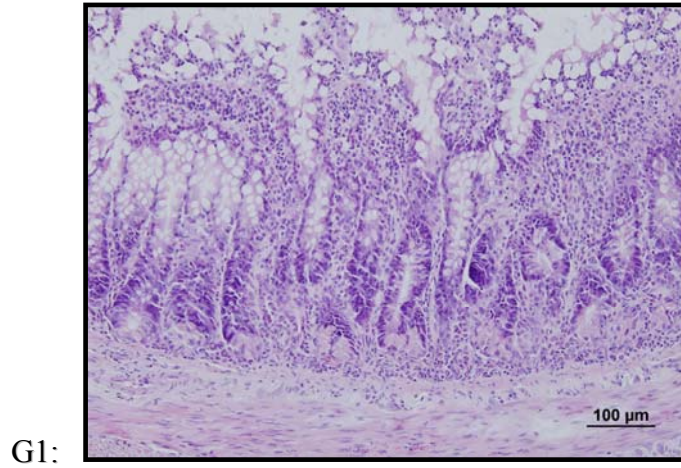
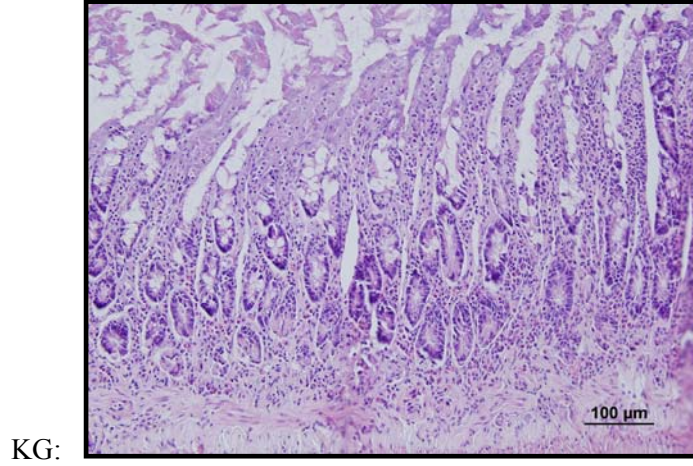


Şekil 4.5 I. grup ile II. grubun aktivite değerlerinin karşılaştırılması

Guaninle zenginleştirilmiş yem ile beslenen sıçanlardan oluşturulan G1 ve G2 grubunun karşılaştırılması Şekil 4.5'te grafiksel olarak verilmiştir. Bu grafik guanin miktarının bakteriyel translokasyona olan etkisini belirgin bir şekilde göstermektedir. Guanin miktarının daha yüksek olduğu diyetle beslenen G2 grubunda organ başına düşen aktivite değerleri G1 grubuna göre daha düşüktür ve aralarında belirgin bir fark vardır. İleum aktivitesi ise G2 grunda daha yüksektir.

4.3. Histopatoloji Sonuçları

İleumdan alınan örneklerin histopatolojik analizleri sonucu elde edilen görüntüler aşağıdaki gibidir:



Şekil 4.6 İleumların histopatolojik görüntüleri (100 µm)

G1 ve G2 grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında epitel ile goblet hücre sayısında artış ve mukoza bariyerindeki deformasyonun azaldığı gözlenmiştir. Epitel hücreler barsak bariyerini güçlendirirler, goblet hücreleri ise mukoza salgılanmasından sorumludurlar. Mukoza bariyerindeki deformasyonun düzelmesi ise daha güçlü bariyeri beraberinde getirir. Bu yenilenme ve artışlar bakteriyel translokasyonu engelleyici ve immün sistemini güçlendirici yönde etkilidirler. Böylece bakteriler, barsak bariyerini aşamayıp ileumda esir kalırlar.

Guaninle zenginleştirilmiş diyet ile beslenen G1 ve G2 ileum histopatolojilerinde ise belirgin farklıklar gözlenmektedir. Bu da biyodağılım sonuçlarıyla örtüşmektedir.

4.4 İstatistik Analiz Sonuçları

^{99m}Tc-*E.coli* bakterisi için organlar arasında Pearson Korelasyon Analizi yöntemi uygulanmıştır. (p<0.05). Person korelasyonuna göre işaretli bileşiğin tutulumu organlar arasında bir ilişki tanımlanmaktadır. ^{99m}Tc-*E.coli* bakterisi için, guaninli ve guaninsiz diyet çalışmaları karaciğer, dalak ve MLN için farklılık olduğunu, istatistiksel olarak da anlamlı olduğunu saptamıştır (p<0.05).

Quirino ve ark.ları barsak obstrüksiyon modelli sıçanlarda bakteriyel translokasyona immünonütrientlerde arjinin etkisini incelemişlerdir. Enteral beslenmeyle bir grupta 300 mg/gün ikinci grupta ise 600 mg/gün arjinin diyet uygulamış, bir grubu da kontrol grubu kabul etmişlerdir. Sıçanlara barsak obstrüksiyonu oluşturup, 12 MBq ^{99m}Tc-*E.coli* tayini ile bakteriyel translokasyon incelenmiştir. Sonuç olarak, arjinin diyet ile beslenen sıçanlarda bakteriyel translokasyon kontrol grubuna göre engellenmiştir (Oliveria et al., 2006; Quirino et al., 2007).

Oliveria ve ark.ları aynı çalışmayı glutamin için yapmışlardır. Fakat, bakteriyel translokasyonu engellemede glutamin herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (Oliveria et al., 2006; Quirino et al., 2007).

Bizim yaptığımız çalışma da çalışmalarla materyal ve metod olarak benzerlik göstermektedir. Ancak bizim çalışmamızda besin maddesini yapılan çalışmalardan farklı olarak guanin seçilmiştir. Guaninin bakteriyel translokasyona etkisi incelenip, diğer çalışmalarla benzer sonuçlar bulunmuştur.

5. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada barsak obstrüksiyonlu Albino Wistar sıçanlarda biyodağılım çalışması yapılarak, ^{99m}Tc işaretli *E.coli* metodu ile imminonütrientlerden guaninin bakteriyel translokasyona etkisi araştırılmıştır.

^{99m}Tc -*E.coli*'nin işaretleme verimi $\%95 \pm 2$ olarak saptanmıştır. Tüm gruplardaki sıçanlara barsak obstrüksiyonu oluşturularak, enjekte edilen ^{99m}Tc -*E.coli*'nin organlara ve kana yayılımı incelenmiştir.

Normal sıçan yemi ile beslenen kontrol grubundaki sıçanlarda ileumdaki ^{99m}Tc -*E.coli* translokasyonunun belirgin bir şekilde var olduğu gözlenmiştir. Barsak mukozasında kayıp ve bariyer hasarı translokasyonu tetikleyici etkiler olduğu histopatolojik sonuçlarla da desteklenmiştir.

Guaninle zenginleştirilmiş diyet ile beslenen II. grubun (G1) sıçanlarında ise bakteriyel translokasyonun kısmen engellendiği, barsaktan organ ve kana geçişi kontrol grubuna göre azaldığı saptanmıştır.

II. gruba göre daha fazla guaninle zenginleştirilmiş diyet ile beslenen sıçanların bulunduğu III. grup (G2) ise bakteriyel translokasyonun en çok engellendiği gruptur. İleuma enjekte edilen ^{99m}Tc -*E.coli*'nin birçoğu barsak bariyerini geçemeyip, ileumda hapsolmuştur.

Histopatolojik sonuçlarda guaninle zenginleştirilmiş diyet gruplarında; epitel hücrelerindeki artış ile barsak bariyerinin daha güçlü, goblet hücrelerinin artışıyla ise barsak mukozasının daha etkili olduğunu göstermektedir.

Guaninle zenginleştirilmiş diyet beklenildiği gibi bakteriyel translokasyonu kısmen engelleyip, barsak bariyerini ve immün sistemini güçlendirmiştir. Ayrıca; guanin miktarının da bakteriyel translokasyonu doğru orantılı bir şekilde etkilediği ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi ile de istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur.

Deneyde tercih edilen sıçanlar konvensiyonel şartlarda yetiştirilen sıçanlardır. Bundan sonraki aşamada denemeler mikrobiyolojik standartları daha yüksek olan spesifik patojen free ya da differend flora free sıçanlar kullanılarak çalışma klinik öncesi uygulamaya geçişte yararlı bir basamağa taşınabilir.

Gelecekte yapılabilecek olan çalışmalar, guanin miktarının optimizasyonu ile immünonütrientlerden guaninin de kullanılabilmesi konusunda ümit verici aday olabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Arıtış, Y.,** 2010. “İntestinal Obstrüksiyon”,
<http://www.genbilim.com/content/view>. (Erişim Tarihi: 25 Ağustos 2011)
- Aydoğan, A., Kismet, K., Kilicioglu, B., Erel, S., Ozcan, A.H., Gollu, A., Yildiz, E. and Akkus, M.A.,** 2007, Effect of various enteral nutrition solutions on bacterial translocation and intestinal morphology during the postoperative period, *Adv Ther*, 24:41-49
- Azuma, H., Mishima, S., Oda, J., Homma, H., Sasaki, H., Hisamura, M., Ohta, S. and Yukioka, T.,** 2009, Enteral supplementation enriched with glutamine, fiber and oligosaccharide prevents gut translocation in a bacterial overgrowth model, *J Trauma*, 66:110-114.
- Balzan, S., Quadros, C.,A., Cleva, R., Zilberstein, B. and Ceconello, I.,** 2007, Bacterial translocation: Overview of mechanisms and clinical impact, *J Gastroenterol Hepatol*, 22:464-471.
- Batista, M.A., Nicoli, J.R., Martins, S.F., Machado J.A.N., Arantes, R.M.E., Quirino, P.E.I., Correia, D.T.I.M. and Cardoso, N.V.,** 2011, Pretreatment with citrulline improves gut barrier after intestinal obstruction in mice, *J Parenter Enteral Nutr*, published online Nov 5. DOI:10.1177/0148607111414024
- Cagatay, A.,** 2006, The factors facilitating sepsis development and sepsis pathogenesis, *Ankem Derg*, 20:43-46.
- Demir, M.,** 2008, Nükleer Tıp Fiziği ve Klinik Uygulamaları, Bayrak Ofset, İstanbul, 306s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Demirkan, A., Aksoy, M., Kuzu, M.A. and Toruner, A.,** 2006, The Effects of indomethacine on intestinal permeability and bacterial translocation in intestinal obstruction, *J Ankara University Faculty of Medicine*, 59:119-127.
- Dervenis, C., Smailis, D. and Hatzitheoklitos, E.,** 2003, Bacterial translocation and its prevention in acute pancreatitis, *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*, 10:415-418.
- Dinçer, B. ve Sarımeahmetoğlu, B.,** 2011, Veteriner Hekimlik Veteriner Halk Sağlığı, Şafak Matbaacılık, Ankara, 227s.
- Diniz, S.O.F., Resende, B.M., Nunan, E.A., Simal, C.R.J. and Cardoso, V.N.,** 1999, ^{99m}Tcnetium labelled escherichia coli, *Appl Radiat Isot*, 51:33-36.
- Diniz, S.O.F., Barbosa, A.J.A., Araújo, I.D., Nelson.D.L., da Silva Machado, L.A., Filho, M. B. and Cardoso, V.N.,** 2005, Assessment of bacterial translocation in obstructive jaundice using Tc-99m *Escherichia coli*, *Braz Arch Biol Technol*, 48:45-49.
- Eroğlu, E.,** 2008. “İntestinal Obstrüksiyonlar”, <http://tip.sdu.edu.tr/akademikyapi/dersnotlar> (Erişim Tarihi: 25 Ağustos 2011)
- Fukuwatari, T., Marikawa, Y., Hayakawa, F., Sugimoto, E. and Shibata, K.,** 2001, Influence of adenine-induced renal failure on tryptophan-niacin metabolism in rats, *Biosci Biotechnol Biochem*, 65:2154-2161.
- Gatt, M., Reddy, B.S. and Macfie, J.,** 2007, Bacterial translocation in the critically ill-evidence and methods of prevention, *Aliment Pharmacol Ther*, 25:741-757.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gianotti, L., Alexander, W.J., Pyles, T. and Fukushima, R.,** 1993, Arginine-supplemented diets improve survival in gut derived sepsis and peritonitis by modulating bacterial clearance, *Ann Surg*, 217:644-654.
- Gosgrove, M.,** 1998, Nucleotides, *Nutrition*, 14:748-751.
- Karakoç, D. and Hamaloğlu, E.,** 2006, İntestinal Obstructions, *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci.*, 2:51-63p.
- Karatepe, E. 2008,** Barsak Tıkanmalarında Uygulanan Sağma Yöntemlerinin Bakteriyel Translokasyon Üzerine Etkileri, Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 28s (yayımlanmamış).
- Kupeli, H.,** 2005. "İntestinal Obstrüksiyon", tarcn.health.officelive.com/Documents/MBO.ppt (Erişim Tarihi: 25 Ağustos 2011)
- Mattar, A.F., Drongowski R.A., Coran A.G. and Harmon C.M.,** 2001, Effect of probiotics on enterocyte bacterial translocation in vitro, *Pediatr Surg Int*, 17:265-268.
- Oliveira, M.A., Lemos, D.S.L., Diniz, S.O.F., Coelho, J.V.C. and Cardoso, V.N.,** 2006, Prevention of bacterial translocation using glutamine:a new strategy of investigation, *Nutrition*, 22:419-424.
- Ozen, H.,** 2007, Immunonutrition, *Journal of Pediatrics Sciences*, 3:99-104.
- Petroianu, A., da Silva, R.G., Cardoso, V.N., Alberti. L.R. and da Silva M.G.,** 2010, Effect of spleen surgeries on Escherichia coli distribution on the mononuclear phagocytic system, *International Journal Of Surgery*, 8:48-51.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Quirino, J.E.P., Correia, M.I.T.D. and Cardoso, V.N.**, 2007, The impact of arginine on bacterial translocation in an intestinal obstruction model in rats, *Journal Of Clinical Nutrition*, 26:335-340
- Santos, R.G.C., Viana, M.L., Generoso, S.V., Arantes R.E. and Correia M.I.T.D.**, 2010, Cardoso V.N., Glutamine supplementation decreases intestinal permeability and preserves gut mucosa integrity in an experimental mouse model, *Journal Of Parenteral and Enteral Nutrition*, 34:408-413.
- Sarı, M.**, 2002, Splenektomi ve Femur Kırığının Bakteri Translokasyonu ve Karaciger Rejenerasyonu Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı
- Sonugelen, M., Iyiyapıcı Destan, U., Yurt Lambrecht, F. and Öztürk, B.**, 2006, Investigation of bacterial adherence to a non-precious alloy with radiolabeling method, *J Radioanal Nucl Chem*, 267:397-400.
- Sonugelen, M., Iyiyapıcı Destan, U., Yurt Lambrecht, F., Öztürk, B. and Karadeniz, S.**, 2006, Microbial adherence to a nonprecious alloy after plasma nitriding process, *Int J Prosthodont*, 19:202–204.
- Ünak, P.**, 1996, Ulusal Radyofarmasi Kursu Ders Notları Bölüm I Radyonüklidlerin Üretimi.
- Viana, M.L., Santos, R.G.C., Generoso, S.V., Arantes, R.M.E., Correia, M.I.T.D. and Cardoso, V.N.**, 2010, Pretreatment with arginine preserves intestinal barrier integrity and reduces bacterial translocation in mice, *Nutrition*, 26:218-223.
- Wiest, R. and Rath, H.C.**, 2003, Bacterial translocation in the gut, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 17:397-425.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Weimann, A., Bastian, L., Bischoff, W.E, Grotz, M., Hansel, M., Lotz, J., Trautwein, C., Tusch, G., Schlitt, H.J. and Regel, G., 1998, Influence of arginine, omega-3 fatty acids and nucleotide-supplemented enteral support on systemic inflammatory response syndrome and multiple organ failure in patients after severe trauma, *Nutrition*, 14:165-172.

Yamamoto,S., Wang, M., Adjei, A. and Ameho, C.K., 1997, Role of nucleosides and nucleotides in the immune system, gut reparation after injury, and brain function, *Nutrition*, 13:372-374.

Zolle, M., 2007, Technetium-99m pharmaceuticals preparation and quality control in nuclear medicine.

<http://tr.wikipedia.org/wiki/Bağirsak>

<http://www.bakterim.net/biyoloji/25713-sindirim-sistemleri.html>

<http://tr.wikipedia.org/wiki/Kalınbağirsak>

http://www.doktorumonline.net/mid/disorders/Ince_ve_Kalin_Bagirsak_Hastaliklari.htm

www.saglik.im/jejenum-ve-ileum

<http://www.drahmetdobrucali.com/wp-content/uploads/ince-barsak-fizyolojisi>

<http://www.uslanmam.com/hastalik-turleri/448839-bagirsak-florasi.html>

<http://www.mustafaaltinisik.org>

<http://www.oytunerbas.com>

<http://tr.wikipedia.org/wiki/Guanin>

http://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İzmir'de doğdum. İlköğretim ve lise öğrenimimi İzmir'de tamamladıktan sonra, 2005 yılında lisans eğitimime Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümümde başladım ve 2010 yılında mezun oldum. Aynı yıl Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım ve halen eğitimimi burada sürdürmekteyim.