

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANA BİLİM DALI**

**İNTRAABDOMİNAL ENFEKSİYONDA SPLENEKTOMİNİN
İMMÜNOLOJİK ETKİLERİ**

Dr.Afiq Qocayev

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA
2018**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANA BİLİM DALI**

**İNTRAABDOMİNAL ENFEKSİYONDA SPLENEKTOMİNİN
İMMÜNOLOJİK ETKİLERİ**

Dr. Afiq Qocayev

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Derya KARAKOÇ**

**ANKARA
2018**

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında gösterdiği destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Derya Karakoç'a, çalışmanın her aşamasında bilgi vetercübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Güneş Esendağlı'ya, çalışmanın sürdürülmesinde ve takibinde özverili çalışan Uzm. Biyolog. Ece Tavukçuoğlu'na, Biyolog Feyzagül Özbay'a, cerrahi kısmında yardımlarından dolayı Uzm. Biyolog. Erkan Ermiş'e; her zaman varlıklarını ve desteklerini hissettiğim aileme ve genel cerrahi hocalarım, asistan arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Afiq Qocayev

ÖZET

Gocayev A. İntraabdominal enfeksiyonda splenektominin immünolojik etkileri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi, Ankara 2018.

İntraabdominal enfeksiyon immünolojisinde lökosit yüzey belirteçlerinin, miyeloid kökenli hücre ve alt gruplarının önemi araştırılmaktadır. CD11b+ miyeloid kökenli hücreler, Gr-1+ granülositik ve Gr-1+ monositik hücreler, CD80, CD206, F4/80 gibi lökosit yüzey belirteçleri enfeksiyonun önemli çalışma parametreleri arasındadır. Dalak, monositlerin ve makrofajların esas yerleşim bölgesidir. Splenektominin intraabdominal enfeksiyondaki rolü ve oluşturduğu immünolojik değişiklikler tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bu çalışmada, splenektominin intraabdominal enfeksiyonda lökosit alt grupları ve lökosit yüzey belirteçleri üzerindeki immünolojik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya toplam 48 adet 6 haftalık Balb-c türü fare dahil edildi. Fareler kontrol, sham-çok erken enfeksiyon, splenektomi-çok erken enfeksiyon, sham-erken enfeksiyon, splenektomi-erken enfeksiyon, sham-geç enfeksiyon ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarına ayrıldı. Enfeksiyon çekal ligasyon ve ponksiyon (CLP) yapılarak sağlandı. Kontrol grubuna herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. Sham gruplarına laparotomi, splenektomi gruplarına ise splenektomi yapıldıktan sonra (çok erken enfeksiyon grubuna 2 gün sonra, erken enfeksiyon grubuna 2 hafta sonra, geç enfeksiyon grubuna 4 hafta sonra) CLP yapılarak polimikrobiyal sepsis oluşturuldu ve 48 saat sonra değerlendirme parametreleri elde edildi. Farelerin enfeksiyon sonrası vücut ağırlıkları ve vücut sıcaklıkları ölçüldü. Farelerden alınan peritoneal lavaj sıvıları ve periferik kan örneklerinde CD11b+ hücreler, granülositik, monositik hücreler ve CD80, F4/80, CD206 ekspresyonu akım sitometrik immünofenotiplendirme ile analiz edildi.

Splenektomi uygulanmasının intraabdominal enfeksiyonda vücut sıcaklığını ve vücut ağırlığını etkilemediği, periferik kanda CD11b hücre, granülositik hücre ($p=0.50$) ve monositik hücre ($p=0.81$) dağılımında, granülosit ve monositlerde CD80 ekspresyonunda istatistiksel anlamlı değişikliğe neden olmadığı saptandı. Peritoneal lavaj sıvısı incelemesinde splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında granülositik hücre, monositik hücre, makrofajlarda CD206 ekspresyonu, CD80 ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmadı. Bu çalışmada, splenektominin intraabdominal enfeksiyonda mortalite üzerine etkisi görülmedi.

Bu çalışmada splenektominin vücut ağırlığı, vücut sıcaklığı, mortalite, kanda CD11b hücre, granülositik hücre, monositik hücre, bu hücrelerde CD80 ekspresyonu, peritoneal lavaj sıvısında granülositik hücre, monositik hücre, bu hücrelerde CD206, F4/80, CD80 ekspresyonu ile temsil edilen immünolojik parametreler üzerine etkisi saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: Miyeloid kökenli hücre, splenektomi, intraabdominal enfeksiyon

ABSTRACT

Gojayev A. Immunological effects of splenectomy in intraabdominal infection. Hacettepe University School of Medicine, General Surgery Residency Thesis, Ankara 2018.

The importance of leukocyte surface markers and myeloid origin cells and in intra-abdominal infection immunology is under investigation. CD11b⁺ myeloid origin cells, Gr-1⁺ granulocytic cells, Gr-1⁺ monocytic cells, leukocyte surface markers such as CD80, CD206 and F4/80 are among the important parameters of the infection. The spleen is the main site of monocytes and macrophages. The role of splenectomy in intra-abdominal infection and the immunological changes it causes could not be fully uncovered.

The aim of this study was to evaluate the immunological effects of splenectomy on leukocyte subsets and leukocyte surface markers in intra-abdominal infection.

A total of 48 six week old Balb-c mice were included in the study. The mice were divided into the following groups: control, sham-very early infection, splenectomy-very early infection, sham-early infection, splenectomy-early infection, sham-late infection and splenectomy-late infection. Infection was applied by cecal ligation and puncture (CLP). No surgical procedure was applied to the control group. After performing laparotomy for the sham groups and splenectomy for the splenectomy groups (2 days later for the very early infection group, 2 weeks later for the early infection group, and 4 weeks later for the late infection group), polymicrobial sepsis was created by performing CLP and evaluation parameters were obtained after 48 hours. Post-infection body weights and body temperatures of the mice were measured. CD11b⁺ cells, granulocytic cells, monocytic cells and CD80, F4/80 and CD206 expression in peritoneal lavage fluids and peripheral blood samples from the mice were analyzed by flow cytometric immunophenotyping.

It was found that splenectomy did not affect body temperature and body weight in intra-abdominal infection, and that it did not cause statistically significant changes in CD11b cell, granulocytic cell ($p=0.50$) and monocytic cell ($p=0.81$) distribution in peripheral blood and in the CD80 expression in granulocytes and monocytes. In peritoneal lavage fluid examination, there was no significant difference between the splenectomized and non-splenectomized groups in terms of granulocytic cells, monocytic cells, CD80 expression and CD206 expression in the macrophages. In this study, there was no effect of splenectomy on mortality in intra-abdominal infection.

In this study, no effect of splenectomy was determined on body weight, body temperature, mortality and immunologic parameters expressed by CD11b cells, granulocytic cells, monocytic cells, CD80 expression in these cells, granulocytic cells and monocytic cells in peritoneal lavage fluid and CD206, F4/80 and CD80.

Keywords: Myeloid derived cell, splenectomy, intraabdominal infection.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	14
2. GENEL BİLGİLER	15
2.1. İntraabdominal Enfeksiyonlar	15
2.1.1. İntraabdominal Enfeksiyonların Sınıflandırılması	15
2.1.2. İntraabdominal Enfeksiyonda Bakteriyoloji	16
2.1.3. Klinik bulgular	17
2.1.4. Laboratuvar bulgular	17
2.1.5. Tanı	17
2.1.6. Tedavi	17
2.1.7. Antibiyotik tedavisi	18
2.1.8. Peritonitte prognozu belirleyen skarlama sistemleri	20
2.1.9. İntraabdominal Enfeksiyonda İnflamatuvar Mediyatörlerin Rolü	21
2.2. Deney Hayvanlarında Deneysel Sepsis Modelleri	23
2.2.1. Cerrahi Olmayan Modeller	23
2.2.2. Cerrahi Modeller	24
2.3. Dalak	26
2.3.1. Dalağın Anatomi ve Fonksiyonları	26
2.3.2. Splenektominin Tarihçesi	26
2.3.3. Splenektomini Endikasyonları	27
2.3.4. Splenektominin Komplikasyonları	27

2.3.5. Splenektominin Hematolojik Parametrelerde Oluşturduğu Geçici Değişikler	28
2.3.6. Splenektominin Hematolojik Parametrelerde Oluşturduğu Kalıcı Değişikler	28
2.4. İmmün Sistemin Tanıtımı	30
2.4.1. Myeloid Kökenli Hücreler	30
2.4.2. Lenfoid Kökenli Hücreler	31
2.5. Lökosit Yüzey Belirteçlerinin Enfeksiyonda Rolü	33
2.6. Splenektominin İmmünolojik Etkileri	35
3. MATERYAL ve METOD	36
3.1. Deney Hayvanları ve Protokolü	36
3.2. Çalışma Grupları	36
3.3. Anestezi	38
3.4. Cerrahi Teknik	38
3.5. Değerlendirme Parametreleri	45
3.6. İstatiksel Analizler	46
4. BULGULAR	47
4.1. Ağırlık	47
4.2. Vücut Sıcaklıkları	50
4.3. Periferik Kanda Miyeloid Kökenli Hücre Oranları ve Bazı Lökosit Yüzey Belirteç Oranları	53
4.3.1. Periferik kanda Lökositlerde CD11b+ hücre dağılımı	53
4.3.2. CD11b hücrelerde Gr-1+bright hücre dağılımı	55
4.3.3. Periferik kanda monositik hücre dağılımı	57
4.3.4. Periferik kanda granülositlerde CD80 ekspresyonu	58
4.3.5. Periferik kanda monositik hücrelerde CD80 ekspresyonu	59
4.4. Peritoneal Lavaj Sıvısında Miyeloid Kökenli Hücre Grupları Dağılımı ve bazı lökosit yüzey belirteç ekspresyon düzeyleri	61
4.4.1. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerinde F4/80 ekspresyonu	61
4.4.2. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerde granülositik (Gr-1 bright) hücre dağılımı	63

4.4.3. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerde monositik (Gr-1 moderate) hücre dağılımı	64
4.4.4. Peritoneal lavaj sıvısında makrofajlarda CD80 ekspresyonu	65
4.4.5. Peritoneal lavaj sıvısı makrofajlarında CD206 ekspresyonu	66
4.5. Mortalite	67
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ	73
7. KAYNAKLAR	74



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AML	: Akut miyelositik lösemi
CASP	: Colon ascendens stent peritonitis (Çıkan kolona yerleştirilmiş stent ile oluşturulan peritonit)
CD	: Cluster of differantiation (Diferansiyasyon kümesi)
CLP	: Cecal ligation and punction (Çekal ligasyon ve ponksiyon)
CLRs	: C-tip Lektin reseptörleri
CPSE	: Ciddi postsplenektomik enfeksiyon
CSF	: Koloni stimüle edici faktör
DAMP	: Damage - associated molecular pattern (Hasar ilişkili moleküler patern)
DİK	: Dissemine intravasküler koagülasyon
ESBL	: Extended spectrum b - lactamase (Geniş spektrumlu b – laktamaz)
FPSİ	: Fırsatçı postsplenektomi enfeksiyonları
G-CSF	: Granülosit - koloni stimüle edici faktör
GİS	: Gastrointestinal sistem
HMGB1	: High mobility group box protein 1
İAE	: İntraabdominal enfeksiyon
IgA	: İmmünglobulin A
IgE	: İmmünglobulin E
IgG	: İmmünglobulin G
IgM	: İmmünglobulin M
IQR	: İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık
İTP	: İmmün trombositopenik purpura
KML	: Kronik miyelositik lösemi
LPS	: Lipopolisakarit
MCV	: Mean corpuscular volüm (Ortalama eritrosit hacmi)
MHC	: Major histocompatibility complex
MHC	: Major histocompatibility complex
MMR	: Makrofaj mannoz reseptörü
PAMP	: Patojen ilişkili moleküler patern
PRR	: Patern tanıyan reseptör
RLRs	: Retinoik asid indükleyici gen benzeri reseptörler

RES	: Retikuloendotelyal sistem
RAGE	: Receptor for advanced glycation end product
RDW	: Red Cell Distribution Width (Eritrosit dağılım genişliği)
TLRs	: Toll benzeri reseptörler
TNF	: Tümör nekroz faktör
VRE	: Vankomisin rezistan enterokok
JNK	: c-JUN N-terminal kinaz



RESİMLER DİZİNİ

Resim		Sayfa
Resim 3.1.	Farede laparotomi için boyama ve hazırlık.	39
Resim 3.2.	Farede orta hat ve cilt kesisi.	40
Resim 3.3.	Farede dalak mobilizasyonu ve splenik damarların bağlanması.	41
Resim 3.4.	Splenektomi sonrası fare.	42
Resim 3.5.	Çekum mobilizasyonu ve 1 cm'lik segmentin ligasyonu.	43
Resim 3.6.	Çekal ligasyon ve ponksiyon aşaması.	44



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 4.1.	Sham-çok erken enfeksiyon ve splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında hayvan ağırlıkları.	47
Şekil 4.2.	Sham-erken enfeksiyon ve splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında hayvan ağırlıkları.	48
Şekil 4.3.	Sham-geç enfeksiyon ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında hayvan ağırlıkları.	49
Şekil 4.4	Sham-çok erken enfeksiyon ve splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında vücut sıcaklık değişimi.	50
Şekil 4.5.	Sham-erken enfeksiyon grubu ve splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında vücut sıcaklık değişimi.	51
Şekil 4.6.	Sham-geç enfeksiyon ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında vücut sıcaklıkları değişimi	52
Şekil 4.7.	Periferik kanda CD11b+ miyeloid kökenli hücrelerin oranı.	54
Şekil 4.8.	Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücre dağılımı	56
Şekil 4.9.	Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücre dağılımı.	57
Şekil 4.10.	Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerde CD80 ekspresyon oranı	58
Şekil 4.11.	Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerde CD80 ekspresyon oranı	60
Şekil 4.12.	Peritoneal lavaj sıvısında F4/80 fare makrofaj yüzey belirteç oranı	62
Şekil 4.13.	Peritoneal lavaj sıvısında CD11b+Gr-1 bright+ hücre dağılımı.	63
Şekil 4.14.	Peritoneal lavaj sıvısında CD11b+Gr-1 moderate hücrelerin oranı	64
Şekil 4.15.	Peritoneal sıvıdaki F4/80 makrofajlarda CD80 ekspresyon yüzdesi(%).	65
Şekil 4.16.	Peritoneal lavaj sıvısında F4/80+ makrofajlarda CD206 ekspresyon oranı	66
Şekil 4.17.	Gruplarda mortalite oranları.	67

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
Tablo 3.1.	Gruplar ve yapılan uygulamalar	37
Tablo 4.1.	Periferik kanda CD11b hücrelerin ortanca ve IQR değerleri.	54
Tablo 4.2.	Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerin ortanca ve IQR değerleri.	55
Tablo 4.3.	Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerin ortanca ve IQR değerleri.	57
Tablo 4.4.	Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerde CD80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.	58
Tablo 4.5.	Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerde CD80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.	59
Tablo 4.6.	Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerinde F4/80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.	61
Tablo 4.7.	Peritoneal lavaj sıvısında Gr-1 bright (granülositik) hücre dağılımının ortanca ve IQR değerleri.	63
Tablo 4.8.	Peritoneal lavaj sıvısında Gr-1 moderate (monositik) hücre dağılımının ortanca ve IQR değerleri.	64
Tablo 4.9.	Peritoneal lavaj sıvısında F4/80 makrofajlarda CD80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.	65
Tablo 4.10.	Peritoneal lavaj sıvısında F4/80 makrofajlarda CD206 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.	66

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Peritoneal boşluğun mikrobiyal kontaminasyonu peritonit veya intraabdominal enfeksiyon olarak adlandırılır. Etiyolojisinden bağımsız olarak her bir intraabdominal enfeksiyon sırasında, peritoneal boşlukta ve periferik kanda önemli immünolojik değişiklikler oluşmaktadır. Son zamanlarda, intraabdominal enfeksiyon immünolojisinin araştırılması, lökosit yüzey belirteçleri, miyeloid kökenli hücre ve alt gruplarının önemini ortaya koymuştur. Yapılan çalışmalarda intraabdominal enfeksiyon sırasında CD11b+ miyeloid kökenli hücrelerin, Gr-1+ granülositik ve Gr-1+ monositik hücrelerin, CD80, CD206, F4/80 gibi lökosit yüzey belirteçlerinin arttığı tespit edilmiştir (1-3). Peritonitin erken döneminde granülositler, geç döneminde mononükleer hücreler baskındır (4). Peritonit geliştiğinde nötrofiller enfeksiyon bölgesine hızlıca göç edip mikroorganizmaların ölümüne neden olur ve aynı zamanda diğer immün hücrelerin göçü için sinyal üretirler. Geç dönemde ise monosit ve lenfositler daha baskın hale gelir, monositler enflamatuvar makrofajlara dönüşür ve fagositik fonksiyon görür (5).

Dalak humoral ve hücreli immün sistemde önemli rolü olan bir organdır. Aynı zamanda monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerin esas yerleşim yeridir. Dalağın kırmızı pulpasında monositler, marjinal zonunda ise makrofaj ve dendritik hücreler depolanır. Buradaki makrofajlar F4/80 molekülünü yüksek düzeyde eksprese ederken, monositler CD11b molekülünü yüksek düzeyde eksprese eder. Enfeksiyon geliştiğinde splenik monositler enfekte ve hasarlanmış dokuya göç eder. Bu da dalağın enfeksiyondaki düzenleyici rolünü göstermektedir (6). Travma, malignite, hematolojik hastalıklar ve başka birçok nedenle splenektomi yapılan hastalarda *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza* (%6), *Neisseria meningitidis* gibi kapsüllü bakterilere karşı yatkınlık olduğu saptansa da, splenektominin intraabdominal enfeksiyonda immünolojik etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı deneysel intraabdominal enfeksiyon modelinde splenektominin lökosit alt gruplarında ve lökosit yüzey belirteçlerinde oluşturduğu immünolojik etkileri araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.İntraabdominal Enfeksiyonlar

Peritoneal boşluğun mikrobiyal olarak kontaminasyonu terminolojide peritonit veya intraabdominal enfeksiyon olarak adlandırılır.

2.1.1. İntraabdominal Enfeksiyonların Sınıflandırılması

İntraabdominal enfeksiyonlar primer peritonit, sekonder peritonit ve tersiyer peritonit olarak sınıflandırılır. Primer peritonitler steril intraabdominal boşluğa uzaktaki enfeksiyonun hematogen yayılımı veya direkt bulaşmasıyla olur. Genellikle asit ve böbrek yetmezliği nedeniyle peritoneal diyaliz alan hastalarda gelişir. Bu enfeksiyonlar monomikrobiyal olup genellikle cerrahi müdahale gerektirmez. Sekonder peritonit peritoneal kavitenin karın içi organ perforasyonu, enfeksiyonu veya şiddetli inflamasyonu sonucunda kontaminasyon ile oluşur. Tersiyer peritonit ise en az 48 saat gerekli medikal ve cerrahi tedaviye rağmen klinik olarak peritonit bulgularının devam etmesi veya yeniden başlamasıdır. Genelde immünsüpresif hastalarda ortaya çıkar (7, 8).

Primer Peritonit

- A. Çocuklarda spontan peritonit
- B. Erişkinde spontan peritonit
- C. Kronik ambulator peritoneal dializ hastalarındaki peritonit
- D. Tuberkülöz peritoniti

Sekonder Peritonit

- A. Akut spontan peritonit
 - 1. Gastrointestinal perforasyon
 - 2. Bağırsak duvarı nekrozu
 - 3. Pelvik peritonit
 - 4. Bakteriyel translokasyon sonrası peritonit

B. Ameliyat sonrası peritonit

1. Anastomoz sızdırması

2. Güdük kaçağı

C. Posttravmatik peritonit

1. Künt travma sonrası peritonit

2. Penetran travma sonrası peritonit

Tersiyer peritonit

A. Patojensiz peritonit

B. Mantar peritoniti

C. Düşük patojenik bakteri ile olan peritonit

2.1.2. İnteraabdominal Enfeksiyonda Bakteriyoloji

Peritonitin farklı tiplerinin mikrobiyolojisini değerlendirmeden önce gastrointestinal sistem (GİS) florasını gözden geçirmek gerekmektedir. Proksimalden distale doğru bakteri sayısı ve tipi artmaktadır. Mide ve duodenumda, aerobik (koliform) ve oral anaerobik flora baskın olurken, kolona doğru ilerledikçe zorunlu ve fakültatif anaerobların sayısı artmaktadır (9).

Primer peritonitler monomikrobiyal olup, geç kızlarda genelde enfektif ajan *Streptococcus*, sirotik hastalarda *Enterococcus*, peritoneal diyaliz hastalarında ise *Staphylococcus aureus*’ tur (10).

Sekonder peritonitler polimikrobiyal olup enfektif ajan kontaminasyon kaynağına bağlı olarak değişmektedir.

Mide ve duodenum kaynaklı: *Streptococcus*, *Lactobacillus*.

Biliyer kaynaklı: *E.coli*, *Klebsiella*, *Enterococcus*.

İnce barsak kaynaklı: *E.coli*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*

Kolon kaynaklı: *Bacteroides fragilis*, *Clostridium*, *Klebsiella*,

Peptostreptococci

Tersiyer peritonit ise daha çok immünkompromize hastalarda gelişir ve en sık rastlanan etkenler düşük virülanslı *Enterococcus*, *Candida*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterobacteriaceae*’ dır (7).

2.1.3. Klinik bulgular

İntraabdominal enfeksiyon, genel durum değişikliği (bilinç değişikliği, renk değişikliği), vital bulgularda değişiklikler (ateş, taşikardi, takipne, hipotansiyon), bulantı, kusma, distansiyon, karın ağrısı, rebound, defans gibi klinik belirtilerle ortaya çıkmaktadır.

2.1.4. Laboratuvar bulgular

İntraabdominal enfeksiyonda lökositoz, lökopeni, formülde sola kayma, asidoz, böbrek fonksiyon bozuklukları, karaciğer fonksiyon bozuklukları, peritoneal lavajda ml'de 500' den fazla lökosit varlığı gibi bulgular görülmektedir.

2.1.5. Tanı

Tanıda fizik muayene, laboratuvar testleri, kültürler, direkt grafiler, ultrasonografi, bilgisayar tomografi, tanısal peritoneal lavaj ve tanısal laparoskopi en önemli metodlardır.

2.1.6. Tedavi

Tedavideki temel prensipler sıvı-elektrolit replasmanı, organ fonksiyon desteği, ampirik antibiyotik tedavisi ve enfeksiyon kaynağının kontrolüdür. Ancak tedavinin içeriği peritonitin sınıflandırılmasına (primer, sekonder, tersiyer) göre değişmektedir.

Primer peritonitler monomikrobiyal olup genelde cerrahi müdahale gerektirmez. Peritoneal diyaliz alan hastalarda tipik olarak kültürde gram pozitif mikroorganizma saptanmakla birlikte *E.Coli*, *K.pneumoniae*, *Pneumococcus*'lar ve diğer mikroorganizmalar da tespit edilmektedir. Tedavide 14-21 gün duyarlı antibiyotik tedavisi verilir. Dirençli enfeksiyon durumunda kalıcı kateterlerin (periton diyaliz kateteri) çıkarılması gerekebilir (7).

Sekonder peritonit peritoneal kavitenin karınıçi organ perforasyonu (en sık), enfeksiyonu veya şiddetli inflamasyonu sonucunda kontaminasyon ile oluşmaktadır. Sekonder peritonit tedavisinde esas hedefler kaynak kontrolünü sağlamak, uygun antibiyotik tedavisini başlamak ve organ yetmezliğini önlemek için gerekli resusitasyonu uygulamaktır. Etiyolojinin çoğunluğunu oluşturan peptik ülser

perforasyonları (%31) başlangıçta kimyasal özellikte olsa da, daha sonra translokasyon nedeniyle enfekte olurlar. Bu hastalar şiddetli ağrı nedeniyle hastaneye erken başvururlar ve primer onarım yapılır. Duodenum perforasyonunda anastomoz kaçağı ve sütür hattının açılmasına bağlı mortalite daha yüksektir.

Kolon perforasyonları genellikle divertikülit veya kansere ikincil gelişir ve sekonder peritonitlerin %20'sini oluşturur. Tedavisi hastalıklı segmentin rezeksiyonu ve kolostomi açılmasıdır.

Nekrotizan pankreatitlerde karın içi enfeksiyonların esas oluşum mekanizması bakteriyel translokasyon sonucu kimyasal peritonitin bakteriyel peritonite dönüşümüdür. Pankreasın proteolitik enzimlerine sekonder gelişen doku nekrozu ve bunun intestinal bakterilerle enfekte olması, mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir.

Ameliyat sonrası peritonit genellikle postoperatif 5-7'ci günlerde anastomoz veya dikiş hattından sızdırmaya bağlı gelişir. Anastomoz hattının veya sağlıklı bağırsak segmentinin rezeksiyonu uygun tedavi yaklaşımıdır. Tanıda gecikmenin olması mortaliteyi artırır (8).

Tersiyer peritonit en az 48 saat gerekli medikal ve cerrahi tedaviye rağmen klinik olarak peritonit bulgularının devam etmesi veya yeniden başlamasıdır. Genelde immünsüpresif hastalarda ortaya çıkar. Etkenleri çoğunlukla virülansı düşük, ancak antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalardır. Tersiyer peritonitte *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Enterococcus faecium*, koagulaz negatif *Staphylococcus epidermidis* ve *Candida Albicans* çok rastlanan mikroorganizmalardır. Uygun antibiyotik verilen hastalarda bile mortalite %50'ye ulaşabilmektedir (11).

2.1.7. Antibiyotik tedavisi

Giderek artan antibiyotik rezistansı bu konuda yeni güncel tedavi prensiplerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. İntraabdominal enfeksiyonları oluşma kaynağına göre **toplum kökenli** ve **hastane kökenli** olmak üzere iki farklı grupta ele almak gerekir. Sepsise doğru ilerleyen intraabdominal enfeksiyonlarda (İAE) kültür sonuçları 48-72 saat içinde çıktığı için erken zamanda ampirik olarak antibiyotik tedavisi başlanmalıdır.

Toplum kökenli İAE'larda esas patojenler *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* ve bazen *Bacteriodes fragilis* gibi GİS florasının üyeleri olup tedavisinde dar spektrumlu antimikrobiyal ajanlar genelde yeterlidir (12). Hastane kökenli ve toplum kökenli İAE'larda ampirik tedavide en önemli problemlerden biri ESBL (extended-spectrum b-lactamase) üreten bakterilerdir (13). Toplum kökenli İAE'larda ESBL üreten bakteriler için risk faktörleri son 90 günde İAE nedeniyle antibiyotiğe maruz kalma veya ESBL üreten *Enterobacteriaceae* ile kolonizasyonudur (14).

Hastane kökenli İAE, enfeksiyon kaynağının kontrolünden sonra 48 saat geçen hastalarda, yakın 90 gün içinde hospitalizasyon öyküsü olan hastalarda ve yakın 30 gün içinde agresif intravenöz tedavi (hemodiyaliz, kemoterapi) alan hastalarda oluşan intraabdominal enfeksiyonlardır. Hastane kökenli İAE'ların etkenlerini daha rezistans flora oluşturmaktadır. Bu rezistan flora gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*, ESBL üreten *K.pneumoniae*, *E.coli* ve *Vancomycin-resistant enterococci* (VRE) dahildir. Hastane kökenli İAE'larda ameliyat sırasında mutlaka kültür alınmalıdır, sonraki tedavi kültür sonucuna ve yapılacak antibiyograma göre düzenlenmelidir (14).

Komplike olmayan İAE'larda (komplike olmayan apandisit veya komplike olmayan kolesistit gibi) definitif kaynak kontrolü yapılırsa rutin ameliyat sonrası antibiyotik tedavisine gerek yoktur. **Komplike İAE**'larda ise gerekli kaynak kontrolü yapılmasına rağmen kısa süreli (3-5 gün) antibiyotik tedavisi verilmesi önerilmektedir (15).

Antibiyotik seçimi, hastanın klinik durumuna göre yapılmaktadır. Beta-laktam/betalaktamaz inhibitör kombinasyonu gram-pozitif, gram-negatif ve anaerob mikroorganizmalara etki olmaktadır. **Amoksisilin/klavulonat** daha ılımlı toplum kökenli İAE' larda, **Piperasilin-tazobaktam** ise anaerobların ve *Pseudomonas*'ların neden olduğu daha ağır İAE'larda kullanılmaktadır (16).

Sefotaksim ve **Seftriakson** dahil üçüncü jenerasyon sefalosporinler **Metronidazole** birlikte ılımlı İAE'larda kullanılmaktadır. Dördüncü jenerasyon üyesi olan **Sefepim**, üçüncü jenerasyon sefalosporinlerden daha geniş spektrumlu olup AmpC-üreten organizmalara karşı etkilidirler. Sefepim ampirik tedavide de

kullanılabilir, ancak anaeroblara karşı etkili olmadıkları için Metronidazolle beraber kullanılmaktadır (17).

Siprofloksasin ve **Levofloksasin** gibi Fluorokinolonlar çoğu zaman beta-laktam allerjisi olan ılımlı İAE'larda kullanılmaktadır (18).

Karbapenemler geniş spektrumlu olup gram-pozitif ve gram-negatif aerob ve anaerob İAE'larda kullanılmaktadır. Bu gruptan olan **Ertapenem** ESBL-üreten patojenlere karşı etkili olsa da, *P.aeruginosa* ve *Enterococcus*'lara karşı etkisi bulunmamaktadır. **Meropenem** ve **İmipenem**ise non-fermentatif gram-negatiflere karşı etkilidir. Karbapenemler yıllardır *Enterobacteriaceae*'nin neden olduğu multidrug-resistant enfeksiyonlarda kullanılmıştır ancak günümüzde *K.pneumoniae*'da direnç gelişmiştir (19).

Aminoglikozitler gram-negatif bakterilere karşı etkili olsa da toksik yan etkilerinin çok fazla olması nedeniyle rutin ampirik tedavide önerilmemektedir (20).

Tigesiklin komplike İAE'larda bazen ampirik tedavi olarak kullanılmaktadır. Anaeroblara, karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* ve *Acinetobacter*'lere karşı etkili olsa da, *P.aeruginosa* ve *P.mirabilis*'e karşı etkili değildir (21).

Candida için ampirik anti-fungal tedavi genel olarak hastane kökenli İAE'larda özellikle yakın zamanda ameliyat geçirmiş, anastomoz kaçağı nedeniyle opere edilmiş hastalarda önerilmektedir. Toplum kökenli İAE'larda bazı müstesna durumlar dışında (immünkompromize durumlar, kemoterapi ve glukokortikoid alan immünsüprese hastalar) *Candida* için ampirik anti-fungal tedavi önerilmemektedir. IDSA (Infection Disease Society of America) kılavuzuna göre yakın tarihte abdominal cerrahi geçirmiş olma, anastomoz kaçağı, nekrotizan pankreatit gibi *Candida* için risk oluşturan durumlarda ve uygun antibiyotik kullanılmasına rağmen klinik durumu kötüleşen hastalara *Candida* için ampirik anti-fungal tedavi önerilmektedir. Bu amaçla daha çok **Flukonazol** gibi azoller ve ekinokandinler kullanılmaktadır (22).

2.1.8. Peritonitte prognozu belirleyen skarlama sistemleri

Peritonitin ciddiyetini ve prognozunu belirlemek için APACHE II, Mannheim peritonit indeksi, Altona peritonit indeksi, Progresif peritonit skoru, Imrite skoru, SAPS skoru (simplified acute physiology score) gibi birçok skarlama sistemleri

kullanılmakla birlikte, bunlardan son zamanlarda en çok Mannheim peritonit indeksi ve APACHE II skorum sistemi kullanılmaktadır (23).

Mannheim skorum sistemine yaşı 50'den fazla olması, kadın cinsiyet, organ yetmezliği, malignansi varlığı, semptomların ameliyat öncesi dönemde devam etme süresi, sepsisin kolonik kaynaklı olmaması, diffüz jeneralize peritonit varlığı ve eksudanın temiz, bulanık veya fekal içerikli olması gibi kolay değerlendirilebilir faktörler dahil edilmiştir. Mannheim peritonit indeksi diğer skorum sistemleriyle kıyaslandığında peritonitte mortalitenin önceden belirlenmesinde daha avantajlı ve efektif bir skorum sistemidir (24).

Yapılan çalışmalarda Mannheim peritonit indeksinin peritonitin mortalitesinin belirlenmesinde daha kolay kullanılabileceği ve hesaplanabileceği gösterilmiştir. APACHE II skorum sistemi daha geniş bir skorum sistemi olup birçok laboratuvar bulguları içerdiğinden hesaplanması daha zor ve kullanımı daha kısıtlıdır (24).

2.1.9. İntraabdominal Enfeksiyonda İnflamatuvar Mediyatörlerin Rolü

İntraabdominal enfeksiyonda inflamatuvar mediyatör veya belirteçleri araştırmanın en önemli amaçları erken tanı koymak, komplikasyonları önlemek, sepsisin patogenezi anlamak ve hedef tedavi (target therapy) geliştirmektir. En çok araştırılan biyobelirteçlere CRP, Prokalsitonin, TNF-alfa, İL-6, İL-8, İL-10, DAMP örnek gösterilebilir (25).

CRP

Abdominal enfeksiyon veya abdominal cerrahi sonrası gelişen komplikasyonları araştıran ve CRP'yi biyobelirteç olarak ele alan 33'ten fazla çalışma yapılmıştır. Abdominal cerrahi sonrası CRP değeri 1. günde artmaya başlamakta ve ameliyat sonrası 2. günden, ameliyat sonrası 3. güne kadar geçen saatlerde tepe değeri yapmaktadır. Daha sonra azalmaya başlamakta ve ameliyat sonrası 5. günde eğer enfeksiyon veya komplikasyon gelişmezse bazal değerine dönmektedir. Eğer persistan yüksek değeri veya ameliyat sonrası 5 günde 100 mg/l üzerinde bir değeri görülürse bu apse veya anastomoz kaçağı gibi septik komplikasyonların gelişmesinin bir göstergesi olabilmektedir (26).

Prokalsitonin

Prokalsitonin ameliyattan hemen sonra artmaya başlamakta, ameliyat sonrası 2. ve ameliyat sonrası 3. günlerde gerileme eğiliminde olmaktadır. İntraabdominal enfeksiyonu mevcut olan hastalarda prokalsitonin değerlerinin persistan yüksek kalması sepsisli hastalarda mortalite oranının yüksek olacağını göstermektedir. Bu nedenle prokalsitonin değeri abdominal sepsiste antibiyotik tedavisi için bir kılavuz olabilmektedir (27, 28).

İL-6

İL-6 değeri ameliyat sırasında yara kapatılma anından itibaren artmaya başlamakta ve ameliyat sonrası 1. güne kadar tepe değerine ulaşmaktadır. Sonra düşmeye başlamakta ve ameliyat sonrası 3. günde bazal değerine ulaşmaktadır. İntraabdominal enfeksiyonu veya sepsisi olan hastalarda İL-6 değerleri çok yükseldiğinden sepsisin indikatörü gibi kullanılabilmektedir (29). Yine de İL-6' ya bağlı çalışmalarda henüz tatmin edici sonuçlara ulaşılamamıştır.

DAMP

DAMP hasar ilişkili moleküler patern olup, bu gruba mtDNA, HMGB1 örnek olarak gösterilebilir. HMGB1 kromatin bağlayıcı faktör gibi davranan nükleer bir proteindir. HMGB1' in nekrotik hücrelerden pasif, inflamatuvar hücrelerden aktif olarak sekrete edilerek bazı reseptörlere yüksek olarak bağlanma afinitesi vardır. Bunlar arasında RAGE (receptor for advanced glycation end products), Toll-like receptors (TLR)-2, TLR-4, TLR-9 vardır. RAGE extraselüler HMGB1'in hücre içi etkilerine aracılık eden reseptörü olup hücre diferansiyasyonu, hücre göçü, tümör metastazı ve inflamasyonda da rol oynamaktadır. Tümör hücrelerinde daha çok membrana bağlı HMGB1 protein birikimi olduğu gösterilmiştir. HMGB proteinler büyüme ve gelişmede önemli role sahiptir. HMGB1 knockout farelerin doğumdan sonra 24 saat içinde öldükleri gösterilmiştir. HMGB1 akut inflamatuvar yanıt, kronik inflamasyonda ve yara iyileşmesinde de rol oynamakta olup aktive olmuş makrofajlardan sekrete edilen HMGB1 immün yanıtta rol alan diğer hücreleri aktive etmekte ve böylece bir sitokin gibi immün aktivitede rol oynamaktadır. HMGB1 aynı zamanda HMGB1/RAGE etkileşimi ile JNK (c-Jun N-terminal kinase) aktivasyonu,

kaspaz-3 ve kaspaz-9 upregölasyonu üzerinden makrofaj aktivasyonu yapmaktadır. Nekroza uğrayan hücrelerden salınan HMGB1 DAMP proteini olarak rol oynamakta, immün hücreleri aktive etmekte ve fagositozu arttırmaktadır. Bu nedenle HMGB1 immün sistem hastalıklarının seyrinde, teşhis ve hastalık prognozunun belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. HMGB1 protein düzeyinin, çalışmalarda sağlıklı hastalarla kıyaslandığında peritonitli hastalarda daha yüksek olduğu saptanmıştır (30, 31).

2.2. Deney Hayvanlarında Deneysel Sepsis Modelleri

Deneysel sepsis modelleri cerrahi ve cerrahi olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

2.2.1. Cerrahi Olmayan Modeller

2.2.1.1. Endotoksin uygulama modeli

Bu modelde endotoksin olarak gram (-) bakteri membranının parçası olan lipopolisakarit (LPS) kullanılmakta ve LPS intravenöz, intraperitoneal veya intratekal yolla deney hayvanının vücuduna enjekte edilmektedir. İnsanlarla kıyaslandığında laboratuvar hayvanlarının LPS'ye karşı hassasiyeti daha düşüktür ve sepsis oluşturmak için daha yüksek doza ihtiyaç duyulmaktadır. Tavşanlar, koyunlar ve primatlar endotoksine karşı yüksek sensitivite gösterirken, köpekler, kediler ve kemirgenlerin sensitivitesi daha düşüktür. LPS uygulandıktan sonra TNF-alfa, İL-1, İL-6, İL-8 gibi proinflatuar sitokinlerde artış olmakta ve 4,5 saat içinde tepe değerine ulaşmakta, daha sonra insandaki sepsisin aksine çok kısa zaman içinde gerilemektedir. LPS sepsis modelinin bazı dezavantajları vardır. LPS sepsis modelinde hayvanda gelişen kardiyovasküler değişimler insandakine uymamaktadır. Bu sepsis modelinde sitokin cevabı çok hızlı, çok güçlü ancak çok kısa süreli oluşmakta, bu da insanda gelişen sepsise uymamaktadır. Bu detayları dikkate alarak LPS uygulanması sepsisten daha ziyade endotoksemi veya endotoksemik şokun patofizyolojisini araştırmak için kullanılabilir (32, 33).

2.2.1.2. Patojenlerin intravasküler uygulanması

Bu modelde *E.coli* daha sıklıkla olmakla birlikte farklı canlı mikroorganizmalar intravasküler olarak uygulanmaktadır. En önemli avantajı cerrahi müdahale gerektirmemesi ve cerrahinin oluşturabileceği yan etkilerden kaçınılmasıdır. Gerekli resüsitasyon yapılmadığında erken ölüm olması en önemli dezavantajıdır (34).

2.2.2. Cerrahi Modeller

2.2.2.1. Çekum ligasyonu ve ponksiyonu - CLP

CLP modeli en çok kullanılan modellerden biridir. Bu modelde küçük bir insizyonla laparotomi yapıldıktan sonra çekum ligasyonu yapılmakta ve sonrasında çekuma enjektörle ponksiyon yapılmaktadır. Çekuma ponksiyon yapmanın amacı polimikrobiyal peritonit oluşturmak, ligasyon yapmanın amacı ise bağırsakta nekroz oluşturmaktır. Birkaç saat sonra deney hayvanlarında hipotermi, letarji, takipne, taşikardi, hipotansiyon, diyare ve anoreksi ortaya çıkmaktadır. CLP ilişkili sepsiste insanlardaki sepsise uygun olarak pro-inflamatuar ve kompensator anti-inflamatuar fazlar gelişmektedir (35). İnsanlarda olduğu gibi CLP sepsisinde hayvanlarda da İL-6 düzeyi sağkalımla ilişkilidir. Bu modelde semptomlar ve sepsisin ağırlığı ligasyonun uzunluğu, perforasyon için kullanılan enjektörün boyutu, perforasyonun sayısı ve ameliyat sonrası terapi gibi birçok faktöre bağlıdır. Ligasyonun uzunluğunun artması, perforasyon sayısının 1' den fazla olması, ponksiyon için kullanılan enjektörün çapının büyük olması yüksek mortaliteyle sonuçlanmaktadır. CLP modeli daha çok fare ve ratlarda uygulanmaktadır. Plazma ve peritonda olan pro-inflamatuar sitokinlerin miktarı ise enjektör çapıyla ilişkilidir. 18 G, 21 G, 25 G enjektörle yapılan CLP' lerde mortalite sırasıyla %100, %50 ve %5 olarak görülmüştür. Ameliyat sonrası antibiyotik ve sıvı resusitasyonu yapılmasının farelerde CLP sepsisinde mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (36).

CLP modelinin avantajı kolay cerrahi prosedür olması, peritonun mikst florayla kontamine olması vedevitalize dokunun olması ile perfore apandisit veya divertikülit hatırlatmasıdır (37). Dezavantajları ise intestinal kaçağın miktarının kontrol edilememesi ve sonuç olarak septik manifestasyonun çok değişken olması,

sepsisten daha çok apse oluşma ihtimalidir. Diğer bir dezavantajı bu modelde hayvanların mortalite oranının yüksek olması ve bu nedenle standardize etmenin zor olmasıdır (38).

2.2.2.2. ıkan kolon duvarına stent yerleştirerek oluşturulan sepsis modeli -Colon ascendens stent peritonitis model (CASP)

CASP yeni geliştirilmiş polimikrobiyal diffüz septik peritonit modelidir. İlk defa farelerde, daha sonra ratlarda yapılmıştır. Bu modelde median laparotomiyle karına girildikten sonra ileoçekal valvden stent çıkan kolona yerleştirilmekte ve bu yolla intestinal içeriğin devamlı peritoneal boşluğa akması sağlanmaktadır. Bunun sonucunda polimikrobiyal sepsis ve peritonit oluşmaktadır. CASP ve CLP arasındaki en önemli farklardan biri CASP modelinde daha güçlü sitokin salgılanması, daha yüksek bakteriyemi ve diffüz peritonitin gelişmesidir. CASP modelinde ise serum sitokinleri 6-18 saat içinde artmakta ve deneyden 1-2 gün sonra hayvanda gelişen multiorgan yetmezliğinden dolayı mortalite gelişmektedir. Sepsisin ağırlığı ve mortalitesi stentin çapına bağlıdır. Fekal kaçağı önlemek için stent çıkarılabilir. CLP'den bir diğer farkı çekum kanlanması bozulmadığı için çekum nekrozu ve apse gelişmemesidir. CASP'ın dezavantajı daha kompleks ve zor cerrahi prosedür gerektirmesidir (39, 40).

2.2.2.3. Patojen implantasyon modeli

İlk başlarda bu model hayvanların kendi fekal materyaliyle yapılmış ve başarısız olmuştur. Daha sonra farklı hayvanlardan, insandan alınan fekal materyal kullanılarak daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. İntraperitoneal olarak fekal materyalin implante edilmesi insandaki sepsise benzer olayların gelişmesine neden olmaktadır. Bu modelde mortalite yüksektir. Bunu dikkate alarak Ahrenholz ve Simmons fekal materyali fibrin pıhtısı içinde peritona inoküle etmişlerdir. Fibrin pıhtısı bakterilerin fibrin dışına çıkmasını önleyerek kronik intra-peritoneal apse ve bunun zemininde septik odak oluşmasını sağlamıştır (41).

2.3. Dalak

2.3.1. Dalağın Anatomi ve Fonksiyonları

Dalak 9-11. kosta arasında lokalize, 150 gr ağırlığında ve kan akımı 200-300 ml/dak olan en büyük retiküloendotelyal sistem (RES) organıdır. Kırmızı pulpa, beyazpulpa ve marjinal zon olmak üzere 3 zondan oluşan parankim yapısına sahip olan dalak vücutta bir çok önemli görevi üstlenmektedir. Bunlardan başlıcaları filtrasyon, konakçı defans, depolama, hematopoez, yara iyileşmesi ve malign tümör hücreleri üzerine etkileri olarak sayılabilir. Dalağın hasarlanmış ve yaşlanmış eritrositlerin, anormal lökositlerin ve trombositlerin kandan uzaklaştırılması, pnömokok gibi kapsüllü bakteriler başta olmak üzere değişik sayıdaki bakteriyel partiküllerin filtrasyonu, dolaşımdaki bakterilere karşı spesifik antikor yapılması, antikorla işaretli bakterilerin fagositozu, T ve B lenfositlerin olgunlaşması, opsoninler ve tufsin üretimi, properdin üreterek komplemanın aktivasyonunda alternatif yolun başlatılması gibi hem hümmoral hemde hüccresel bağışıklıkta önemli rolü mevcuttur.

2.3.2. Splenektominin Tarihçesi

1549'da İtalya'da Neopolitan cerrah Adriano Zaccaria 24 yaşlı kadın hastada malarial splenomegali nedeniyle splenektomi yapmıştır.

1590'da Franciscus Rosetti ilk defa başarılı parsiyel splenektomi yapmıştır.

1678'de Nicholas Matthias travma sonrası splenektomi yapmıştır.

1826'da Quittembaum ilk defa tümör nedeniyle splenektomi gerçekleştirmiştir.

1910'da Mayo splenorafi yapmıştır.

1919'da Morris ve Bullock dalaksız kobaylarda enfeksiyonun arttığını göstermiştir.

1953'de King ve Shumacker hereditör sferositoz nedeniyle splenektomi yapılan çocuklarda fulminan sepsis geliştiğini göstermiştir.

1991'de Delaitre ilk laparoskopik splenektomiyi yapmıştır (42)

2.3.3.Splenektomini Endikasyonları

Splenektominin en sık endikasyonu travmadır. Elektif splenektominin en yaygın nedeni ise İTP'dir.

1)Travma: Abdominal künt travma sonrası rüptür, ameliyat sırasında iatrojenik yaralanma.

2)Hematolojik nedenler: Herediter sferositoz, orak hücreli anemi, otoimmün hemolitik anemi, talasemi, İTP.

3)Neoplaziler: KML, AML, PolisitemiaVera, Miyelofibrozis, Lenfoma, Splenik tümörler

4)Depo hastalıkları: Nieman Pick, Gaucher, Amiloidoz

5)Benign nedenler: Dalak kisti, apsesi, dalak ven trombozu

2.3.4. Splenektominin Komplikasyonları

1-Akut dönem: Kanama, atelektazi, plevral efüzyon, pnömoni, akut pankreatit, ileus

2-Uzun dönem: Pulmoner hipertansiyon, arteriyel tromboz, venöz tromboz, pulmoner enfeksiyon

Splenektomiden sonra mortalitesi %50-70'e varan en önemli komplikasyonlardan biri ciddi postsplenektomik enfeksiyondur (CPSE). Dalak başta makrofajların esas kaynağı olmakla beraber IgM'in en önemli üretim yeridir. Splenektomi yapıldığında özellikle kapsüllü bakterilere karşı bu savunma gücü ortadan kalktığı için CPSE gelişmesi için uygun ortam oluşmaktadır. CPSE gelişmesinde en önemli ajanlar *Streptococcus pneumoniae* (%57), *Haemophilus influenza* (%6), *Neisseria meningitidis* (%3,7) ve *Plasmodium falciparum*, *Babesiamicroti*, *Capnocytophagacanimorsus* gibi diğer ajanlardır (43).

CPSE'nin splenektomiden sonra gelişme insidansı ilk 10 yılda %33 olarak gösterilmiştir. Travma nedeniyle yapılan splenektomilerden sonra gelişme ihtimali hematolojik nedenler için yapılan splenektomilere oranla daha düşüktür. İmmünsüpresif, kemoterapi ve radyoterapi öyküsü olan hastalarda daha sık gelişmektedir. Genelde ateş, baş ağrısı, miyalji, diyare, karın ağrısı, bulantı, kusmayla başlar ve sonrasında hipotansiyon, anüri, DİK, bakteriyel sepsise ilerleyip mortal seyredebilmektedir(44).

2.3.5. Splenektominin Hematolojik Parametrelerde Oluşturduğu Geçici Değişiklikler

Splenektomi yapılması kan tablosunda lökositoz, trombositoz, Howell-Jolly cisimciği, hedef hücre oluşması gibi birçok değişiklere neden olmaktadır. Bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. B. Wernick ve arkadaşları dalak travması olan hastaları splenektomi uygulanan, embolizasyon yapılan ve medikal takip edilen olarak 3 gruba ayırmış ve hematolojik markerlerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada uygulanan tedaviden sonraki (splenektomi, embolizasyon veya medikal takip) 100. cü saatten itibaren hastaların hemogram parametreleri 1080. saate (45. güne) kadar takip edilmiştir. Çalışmanın sonucunda eritrosit sayısının, RDW ve MCV değerlerinin splenektomi grubunda daha yüksek değerlere ulaştığı saptanmıştır. Splenektomi grubunda daha belirgin olmak üzere kanda beyaz küre sayısında işlem sonrası dönemde geçici yükselme olduğu, daha sonrasında ise normal değerlerine döndüğü görülmüştür. Lökosit alt gruplarına bakıldığında ise nötrofil ve monosit sayısının da aynı şekilde splenektomi grubunda daha belirgin olmakla geçici yükselme ve normale döndüğü tespit edilse de, lenfosit sayısı yükselme göstermiş ve özellikle splenektomize hastalarda yüksek değerlerde sabit kalmıştır. Bu 45 günlük takip süresinde trombosit sayısında splenektomi grubunda daha belirgin olmak üzere yükseliş saptanmıştır. Splenektomi sonrası kalıcı trombositoz oluşması birçok çalışmada gösterilmiş ve splenektominin bu özelliğinden İTP ve hereditör sferositoz gibi hastalıklarda faydalanılmıştır (45).

2.3.6. Splenektominin Hematolojik Parametrelerde Oluşturduğu Kalıcı Değişiklikler

Splenektomi sonrası kısa dönemde (haftalar ve aylar içerisinde) lökosit ve trombosit sayısının araştırıldığı çalışmalar çok sayıda olsa da uzun dönemde yapılan çalışma çok azdır. Bu anlamda Rab ve arkadaşlarının yaptığı çalışma değerlidir. Bu çalışmaya travma, hereditör sferositoz, İTP, Hodgkin lenfoma nedeniyle splenektomi yapılmış ve splenektomiden sonra en az 5 yıl geçmiş hasta grupları dahil edilmiştir. Travma nedeniyle splenektomize grupta kanda eozinofil, bazofil, nötrofil, lenfosit, monosit sayılarının, IgM, IgA ve IgG değerlerinin normal popülasyonla kıyaslandığında yüksek olduğu görülmüştür. Hereditör sferositoz grubunda da lökosit

(özellikle monosit, nötrofil) ve trombosit sayı artmıştır. Travma grubuyla kıyaslandığında bu grupta Natural Killer hücre sayı daha çok artmıştır. Hodgkin lenfoma nedeniyle splenektomize hastalarda ise alınan kan örneklerinde lenfosit sayısı ve özellikle CD4+ T lenfosit sayısı diğer gruplara göre daha düşük saptanmıştır. Bu lenfosit sayısındaki düşüklük birçok çalışmada radyoterapi ve kemoterapiye bağlanmıştır. İTP nedeniyle splenektomi uygulanan hastalardaki değişikliklerin travma grubundaki değişikliklere benzer olduğu görülmüştür. Sonuç olarak benign nedenli splenektomize hastalarda trombositoz ve lenfositoz kalıcı hematolojik bulgu olarak saptanmıştır. Splenektomize hastalardaki lenfositoz bazen yanlışlıkla düşük dereceli enfeksiyon bulgusu olarak yorumlanabilmektedir. Ancak splenektomi yapılan hastalarda lenfosit artışı normal olarak kabul edilmelidir (46).

Splenektominin hemogramdaki değişiklikleri aynı zamanda farelerde yapılan deneysel çalışmalarla da araştırılmıştır. Sipka ve arkadaşlarının farelerde yaptığı çalışmada splenektomiden sekiz ay sonra kan örnekleri alınmış ve nötrofil sayısında artış, lenfosit sayısında ise düşüş saptanmıştır. İnsan ve hayvanlarda ortaya çıkan bu uyumsuzluk hayvanlarda deneyin daha kısa zaman aralığında yapılmasına bağlanmıştır (47).

2.3.7. Splenektomize Hastalarda İmmünoprofilaksi

Asplenik hastalarda *Pneumococcus*, *Haemophilus influenza B* ve *Meningococcus C* gibi kapsüllü mikroorganizmalara karşı yatkınlık ve bunun sonucunda da ciddi postsplenektomik enfeksiyon durumu oluşmaktadır. Bunu dikkate alarak splenektomize hastalarda bu gibi patojenlerin oluşturduğu enfeksiyonları önlemek için aşılar geliştirilmiştir.

Polivalan pnömokok aşısı 23 serotipin kapsüller polisakaridini içermektedir ve optimal antikor cevabını oluşturmak için elektif splenektomiden minimum iki hafta önce yapılmalıdır. Acil vakalarda ise splenektomiden hemen sonra yapılmasıyla, iki hafta sonra yapılması arasında serum antikor konsantrasyonu açısından bir fark saptanmamıştır (48). Asplenik hastaların reimmünizasyonu beş yılda bir yapılmalıdır (49).

Haemophilus influenza tip B aşısı elektif vakalardan en az iki hafta önce, acil vakalardan ise iki hafta sonra postoperatif olarak yapılmalıdır (50).

Meningokok aşısı elektif splenektomiden iki hafta önce ve acil splenektomiden iki hafta sonra yapılmalıdır. Eğer hasta kemoterapi, radyoterapi, sistemik steroid tedavisi gibi immünsüpressif tedavi alıyorsa aşılar en az üç ay geciktirilmelidir (51).

2.4. İmmün Sistemin Tanıtımı

Lökositler doğal bağışıklığı oluşturan miyeloid hücreler ve edinsel bağışıklığı oluşturan lenfoid hücrelere ayrılmaktadır.

2.4.1. Myeloid Kökenli Hücreler

2.4.1.1. Granülositik hücreler

Granülositler lökositlerin %55-65 kısmını oluşturup, fagositoz yeteneğine sahip inflamasyon sahasına ilk varan hücrelerdir. Granülositlerenötrofil, bazofil ve eozinofiller dahildir.

2.4.1.2. Nötrofiller

Nötrofiller ortak miyeloid progenitör hücreden granülosit koloni stimüle edici (G-CSF) faktör etkisiyle oluşmaktadır. Lökositler içerisinde kanda en yüksek oranda (%60-70) bulunan bu granüllü fagositoz yeteneğine sahip hücreler, granüllerinde bulunan lizozim, laktoferrin, hidrolaz, miyeloperoksidaz gibi enzimlerle bu görevi yapar. Nötrofiller öncelikli fagositlerdir. Enfeksiyon durumu geliştiğinde enfeksiyon bölgesine hızlıca göç edip mikroorganizmaların ölümüne neden olmakta ve aynı zamanda diğer immün hücrelerin göçü için sinyal üretmektedirler (4).

2.4.1.3. Eozinofiller

Eozinofillerin hem fagositoz, hem de zedeleyici granül içeriğini dışa salgılayarak parazitleri yok etme özelliği vardır. Parazitik enfeksiyonlarda ve alerjik reaksiyonlarda rolü vardır.

2.4.1.4. Bazofiller ve Mast hücresi

Bu hücreler İgE reseptörleri taşırlar ve alerjik, inflamatuvar reaksiyonlarda yer alırlar.

2.4.1.5. Monositler

Diğer bir miyeloid hücre olan monositler koloni-stimüle edici faktör (CSF) etkisiyle ortak miyeloid progenitör hücrelerden oluştuktan sonra dokulara geçmekte ve dokulara spesifik makrofajlara dönüşmektedirler. Monositler enfeksiyon odağına nötrofillerden sonra gelerek fagositik fonksiyon görmektedirler. Bu hücreler aynı zamanda eritrositleri, ölü hücreleri, hücre debrislerini de fagosit ederler. Monosit/makrofajlar dokularda farklı hidrolitik enzimler, oksidatif metabolizma ürünleri, sitokin (TNF-a, IL-1, IL-6, IL-12, IL-15 gibi) ve kemokinler aracılığıyla proinflamatuvar ve antiinflamatuvar görevlerde bulunurlar. Makrofajlar sitokin üretimi ile hem doğal hem de edinsel immünitede önemli görev yapmaktadır (52).

Makrofajlar antijen prezente eden hücrelerdir. Fagosit ettiği yabancı antijenleri küçük parçalara ayrılmış peptidler şeklinde MHC 2 antijenleri ile kompleks oluşturarak Th hücrelerine sunarlar. Böylece edinsel immünitenin başlamasında önemli rol üstlenmektedir (53).

2.4.2. Lenfoid Kökenli Hücreler

2.4.2.1. T lenfositler

T lenfositler ilk olarak kemik iliğinde lenfoid progenitör hücrelerden oluştuktan sonra timusa geçer ve orada olgunlaşırlar. CD4+ yüzey markeri içerenler yardımcı T hücreler-Th, CD8+ içerenler ise sitotoksik T hücreler olarak adlandırılmaktadırlar. CD8+ T hücreler de kendi arasında efektör ve bellek CD8+ T hücreleri alt gruplarına ayrılmaktadırlar. CD4+ Th hücreler ise Th1, Th2, Th17 ve regülatör T (Treg) subgruplarına ayrılmaktadırlar (54).

2.4.2.2. B lenfositler

B lenfositler kemik iliğinde ortak progenitör hücrelerden köken alsa da, T lenfositlerden farklı olarak kemik iliğinde olgunlaşmaktadır. B lenfositler aktive

olduklarında plazma hücrelerine diferansiye olur ve antikor üreterek humoral immünitede önemli rol üstlenir (55).

2.4.2.3. Natural killer (Doğal öldürücü hücreler, NK)

Natural killer hücreler de kemik iliğinde ortak lenfoid progenitör hücrelerden oluşmakta ve daha sonrasında kan, karaciğer, dalak, timüs, bağırsak ve plasenta gibi farklı dokulara yerleşmektedir. Natural killer hücreler de sitotoksik hücrelerdir ve perforinler, granzimler salgılayarak sitolize neden olmaktadır (56).

2.4.2.4. Peritonitte granülosit ve mononükleer hücrelerin rolü

Peritonitin erken fazında granülositler, geç fazında mononükleer hücreler baskındır. Granülosit ve mononükleer hücrelerin olay yerine göçünde kemokinlerin çok önemli rolü vardır. Enfektif ajanla karşılaşan peritoneal makrofajlar TNF α ve IL-1 β salgılar ve bu sitokinler ise mezotel hücreler tarafından CXC ve CC kemokinlerinin salgılanmasına yol açar. CXC kemokinler öncelikle granülositlerin göçünü aktive ederken, CC kemokinler mononükleer hücrelerin göçünü aktive eder. Aktive olmuş granülositler bir yandan sitokin salgılayarak enflamasyonu artırırken, diğer yandan bakterileri fagositoza uğratır. Daha sonra geç fazda kemokin spektrumunun CC kemokin yönüne kayması sonucunda monosit ve lenfositler daha baskın hale gelir ve monositler enflamatuvar makrofajlara dönüşür. Bunun dışında aynı zamanda mast hücreleri histamin, kinin, lökotrien, prostasiklin salgılayarak peritonun ve damarların permeabilitesini artırır (5).

2.4.2.5. Peritonitte lenfositlerin rolü

Enflamasyon sırasında mast hücreleri IL-4, dendritik hücreler ve makrofajlar ise, IL-12 salgılar. IL-4 Th hücrelerini Th2 yönünde, IL-12 ise Th1 yönünde olgunlaşmasını düzenler. Th1 hücreler makrofajları, NK (natural killer) hücrelerine CD8 $^{+}$ T hücrelerini aktifleştirerek hücre içi patojenlerle savaşır. Th1 hücreleri tarafından üretilen sitokinler makrofajları aktive eder ve sitotoksik lenfositlerin (CTL) oluşumunda yer alırlar ve bu hücre-aracılı immün yanıtla sonuçlanır. Buna karşın, Th2 hücreleri tarafından üretilen sitokinler B hücrelerinin aktive olmasına yardım eder, bu antikor üretimiyle sonuçlanır (57).

CD8⁺ T lenfositler perforin, granzimler ve sitokinler salgılayarak mikroorganizmaların sitolizine neden olmaktadır. Th1 hücreler otoimmünite ve hücre içi patojenlere karşı bağışıklıkta, Th2 hücreler hücre dışı parazitlere karşı bağışıklıkta, Th17 hücreler ekstraselüler bakterilere, funguslara karşı bağışıklıkta, Treg hücreler ise immün toleransta rol almaktadır (54).

2.5. Lökosit Yüzey Belirteçlerinin Enfeksiyonda Rolü

Lökositler yüzeylerinde çok sayıda farklı moleküller taşırlar. Bu moleküllerden bazıları hücrelerin farklılaşması ve olgunlaşması sırasında meydana gelir ve bu moleküllerden dolayı ayrı bir hücre grubu oluşturur. Bu lökosit yüzey molekülleri CD (Cluster differentiation) sistem olarak bilinmektedir.

CD11b

CD11b integrin molekülüdür, diğer adı makrofaj-1 antijen (MAC-1) olan bu yüzey belirteçi monosit ve nötrofil gibi fagositler tarafından eksprese edilir. İnflamasyon sırasında hücrelerarası adhezyon molekülü, fibrinojen gibi ligandlara bağlanarak görev yapar. CD11b⁺ nötrofiller bir enfeksiyon belirteçi olarak tanımlanır. Yapılan çalışmalarda septik hastalarda nötrofillerde CD11b ekspresyonu daha yüksek olarak saptanmıştır (1). Sepsis ve enfeksiyon sırasında aynı zamanda monositlerde de CD11b ekspresyonunun yükseldiği belirtilmiştir (58).

CD45

CD45 diğer adı LCA (Leukocyte Common Antigen) olan bu yüzey belirteçi tüm lökositlerde eksprese olur ve lökositlerin büyüme ve diferansiyasyonunda görev yapar.

CD80

CD80 monosit ve B lenfositlerin yüzey belirteçi olup, kostimülatör moleküldür ve CD86 ile beraber T lenfositlerin CD28 reseptörüne bağlanarak T hücrelerin proliferasyonunu, İL-2 salgılanmasını artırarak T hücre aracılı bağışıklıkta rol alırlar. Yapılan çalışmalarda *T.gondii* enfeksiyonunda monositlerde CD80 ve CD86 ekspresyonunun yükseldiği saptanmıştır (59). Nolan ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı polimikrobiyal sepsis modelinde sepsis sırasında monositlerde

CD80 ekspresyonunun arttığı ve CD80/86 moleküllerinin bloke edilmesinin sepsisin mortalitesini ve inflamatuvar sitokin salgılanmasını azalttığı gösterilmiştir (2).

CD206

CD206 diğer adı Makrofaj mannoz reseptörü (MMR) olup, makrofajlar, dendritik hücreler ve endotelial hücreler tarafından eksprese edilirler. CD206-nın endositoz, fagositoz, istenmeyen mannoglikoproteinleri temizlemek yoluyla immün homeostazi sağlamak gibi önemli fonksiyonları vardır. CD206 özellikle *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus*, *Yersinia pestis*, *Candida albicans*, *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, *HIV*, *influenza virüsü*, *Leishmania* gibi birçok bakteri, fungus, virüs ve parazitlerin mannan kaplı hücre duvarları sayesinde tanınarak makrofajların tarafından fagositoza uğratılmasını temin eder (60).

Yapılan bazı çalışmalarda bazı kanser türlerinde tümör ilişkili makrofajlarda (TAMs-tumor-associated macrophages) CD206 molekülünün yüksek düzeyde eksprese edildiği saptanmış ve bunun üzerinden hedef anti-kanser tedavi geliştirilmeye çalışılmıştır (3, 61).

F4/80

F4/80 insandaki karşılığı EMR1 olan fare makrofaj yüzey belirteçidir. F4/80 Kupffer hücreleri, dalağın kırmızı pulpadaki makrofajları, bağırsağın lamina propriası, cildin langerhans hücreleri gibi çeşitli makrofajları tarafından eksprese edilirler. Fare dalağında kırmızı pulpadaki makrofajların ayırteci özelliği F4/80 eksprese etmeleridir (CD11b+/F4/80+/CD68+). Kırmızı pulpadaki bu makrofajlar eski ve hasarlı kırmızı kan hücrelerinin klirensinde rol alırlar. Beyaz pulpadaki makrofajlar F4/80 eksprese etmezler. Yapılan çalışmalarda anti-F4/80 antikorunun verilmesinin dalak makrofajlarında sitokin (TNF-a, İL-12, İFN) salgılanmasını inhibe ettiği görülmüştür (62). F4/80-nin insandaki homoloğu EMR-1 olsa da, EMR-1 insanda mononükleer fagositik hücrelerde yoktur, eozinofillere mahsus bir yüzey belirtecidir (63).

2.6. Splenektominin İmmünolojik Etkileri

Splenektomi periferik kan mononükleer hücreleri, karaciğer Kupffer hücreleri, alveolar makrofajları, mezenterik lenf nodları, peritoneal makrofajlar gibi immün sistemin farklı dokularında farklı etkiler oluşturmaktadır. Dalak vücutta en büyük lenfoid organ olup, konakçı savunmasında büyük rolü vardır. Splenektomi T hücre düzeyinin düşmesine, endotoksin ve kanla taşınan patojenlerin klirensinin, fagositik aktivitenin, T hücre sayısı ve fonksiyonlarının azalmasına yol açmaktadır. Bunun dışında karaciğer Kupffer hücrelerinin bakterisid etkilerinin ve LPS cevabının bozulmasına, *E.coli* alımının azalmasına neden olmaktadır. Splenektomi yapılması aynı zamanda peritoneal makrofajların bakterisid etkisini ve TNF-alfa üretimini azaltır, alveolar makrofajların *Pneumococcus* ve *Pseudomonas* gibi hücre içi mikroorganizmaların öldürmesini bozar (64).

Bu değişikliklerle beraber splenektomi immün sistemin farklı dokularında **sitokin üretimini** de farklı şekilde etkilemektedir.

Farelerde yapılan çalışmalarda splenektomiden iki hafta sonra karaciğer Kupffer hücreleri, alveolar makrofajlar ve peritoneal makrofajlarda İL-6 ve TNF-alfa üretimini arttığı gösterilmiştir. İL-10 üretimi karaciğer Kupffer hücrelerinde splenektomiyi takiben artsa da, diğer iki makrofaj grubunda sham grubuna göre değişmemiştir. Yapılan çalışmalarda splenektomiden iki hafta sonrasında periferik kan mononükleer hücreler tarafından İL-6, İL-10 ve TNF-alfa üretiminin azaldığı gösterilmiştir. Mezenterik lenf nodlarında ise LPS stimülasyonu sonrasında splenektomize farelerde İL-6, TNF-alfa, İL-10 azaldığı görülmüştür (64). Splenektominin periferik kanda ve peritoneal lavaj sıvısında lökosit yüzey belirteçlerini nasıl etkilediğine dair ise, literatürde henüz çalışma bulunmamaktadır.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Deney Hayvanları ve Protokolü

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik kurulunun 26.12.2017 tarih, 2017/76 kayıt ve 2017/76-01 karar numaralı izin alındı.

Deneyler Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Onkoloji İmmünoloji Ünitesi Laboratuvarında gerçekleştirildi. Helsinki deklarasyonu hayvan deneyleri ile ilgili etik yasa uyarınca; deney hayvanları laboratuvarında yetiştirilen, ağırlıkları 20-25 gr arasında değişen, standart laboratuvar yemi ile beslenen ve normal musluk suyu verilen, 48 adet altı haftalık Balb-c cinsi dişi fare kullanıldı. Deney hayvanları oda sıcaklığında tutuldu ve kafeslerde takip edildi.

Çalışmaya toplam 48 adet, altı haftalık Balb-c cinsi dişi fare dahil edildi. Hayvanlar; kontrol grubu, sham-çok erken enfeksiyon grubu, sham-erken enfeksiyon grubu, sham-geç enfeksiyon grubu, splenektomi-çok erken enfeksiyon grubu, splenektomi-erken enfeksiyon grubu, splenektomi-geç enfeksiyon grubu olmak üzere 7 gruba ayrıldı. (Tablo 3.1).

3.2. Çalışma Grupları

Çalışmaya toplam 7 grup dahil edildi.

1-Kontrol grubu: (6 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere cerrahi işlem yapılmadı. Diğer gruplarla beraber peritoneal lavaj sıvısı ve kan örnekleri elde edildi.

Sham grupları

2-Sham-çok erken enfeksiyon grubu: (6 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere orta hat kesi ile laparotomi yapıldı. Laparotomiden iki gün sonra CLP uygulandı. CLP yapıldıktan 48 saat sonra ise peritoneal lavaj sıvısı ve kan örnekleri elde edildi.

3-Sham-erken enfeksiyon grubu: (6 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere orta hat kesi ile laparotomi yapıldı. Laparotomiden iki hafta sonra CLP uygulandı. CLP yapıldıktan 48 saat sonra ise peritoneal lavaj ve kan örnekleri elde edildi.

4-Sham-geç enfeksiyon grubu: (6 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere orta hat kesi ile laparotomi yapıldı. Laparotomiden dört hafta sonra CLP uygulandı. CLP yapıldıktan 48 saat sonra ise peritoneal lavaj sıvısı ve kan örnekleri elde edildi.

Deney grupları

5-Splenektomi-çok erken enfeksiyon grubu: (8 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere orta hat kesi ile splenektomi yapıldı. Splenektomiden iki gün sonra CLP uygulandı. CLP yapıldıktan 48 saat sonra ise peritoneal lavaj sıvısı ve kan örnekleri elde edildi.

6-Splenektomi-erken enfeksiyon grubu: (8 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere orta hat kesi ile splenektomi yapıldı. Splenektomiden iki hafta sonra CLP uygulandı. CLP yapıldıktan 48 saat sonra ise peritoneal lavaj sıvısı ve kan örnekleri elde edildi.

7-Splenektomi-geç enfeksiyon grubu: (8 adet Balb-c fare) Bu grupta olan farelere orta hat kesi ile splenektomi yapıldı. Splenektomiden dört hafta sonra CLP uygulandı. CLP yapıldıktan 48 saat sonra ise peritoneal lavaj sıvısı ve kan örnekleri elde edildi.

Tablo 3.1. Gruplar ve yapılan uygulamalar

Gruplar	Yapılan uygulamalar
Kontrol (n=6)	Cerrahi uygulanmadı
Sham-çok erken enfeksiyon(n=6)	Laparotomi, 2 gün sonra CLP, 48 saat sonra örnekler elde edildi
Sham-erken enfeksiyon (n=6)	Laparotomi, 2 hafta sonra CLP, 48 saat sonra örnekler elde edildi
Sham-geç enfeksiyon (n=6)	Laparotomi, 4 hafta sonra CLP, 48 saat sonra örnekler elde edildi
Splenektomi-çok erken enfeksiyon (n=8)	Splenektomi, 2 gün sonra CLP, 48 saat sonra örnekler elde edildi
Splenektomi-erken enfeksiyon (n=8)	Splenektomi, 2 hafta sonra CLP, 48 saat sonra örnekler elde edildi
Splenektomi-geç enfeksiyon (n=8)	Splenektomi, 4 hafta sonra CLP, 48 saat sonra örnekler elde edildi

3.3. Anestezi

Tüm gruplar için genel anestezi Ketamin Hidroklorür-%5 (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve Ksilazin- %2 (Alfazyne® %2, 20 mg/ml, 30 ml, Alfasan İnt B V. Hollanda) kombinasyonu 120 ul intraperitoneal verilerek sağlanmıştır.

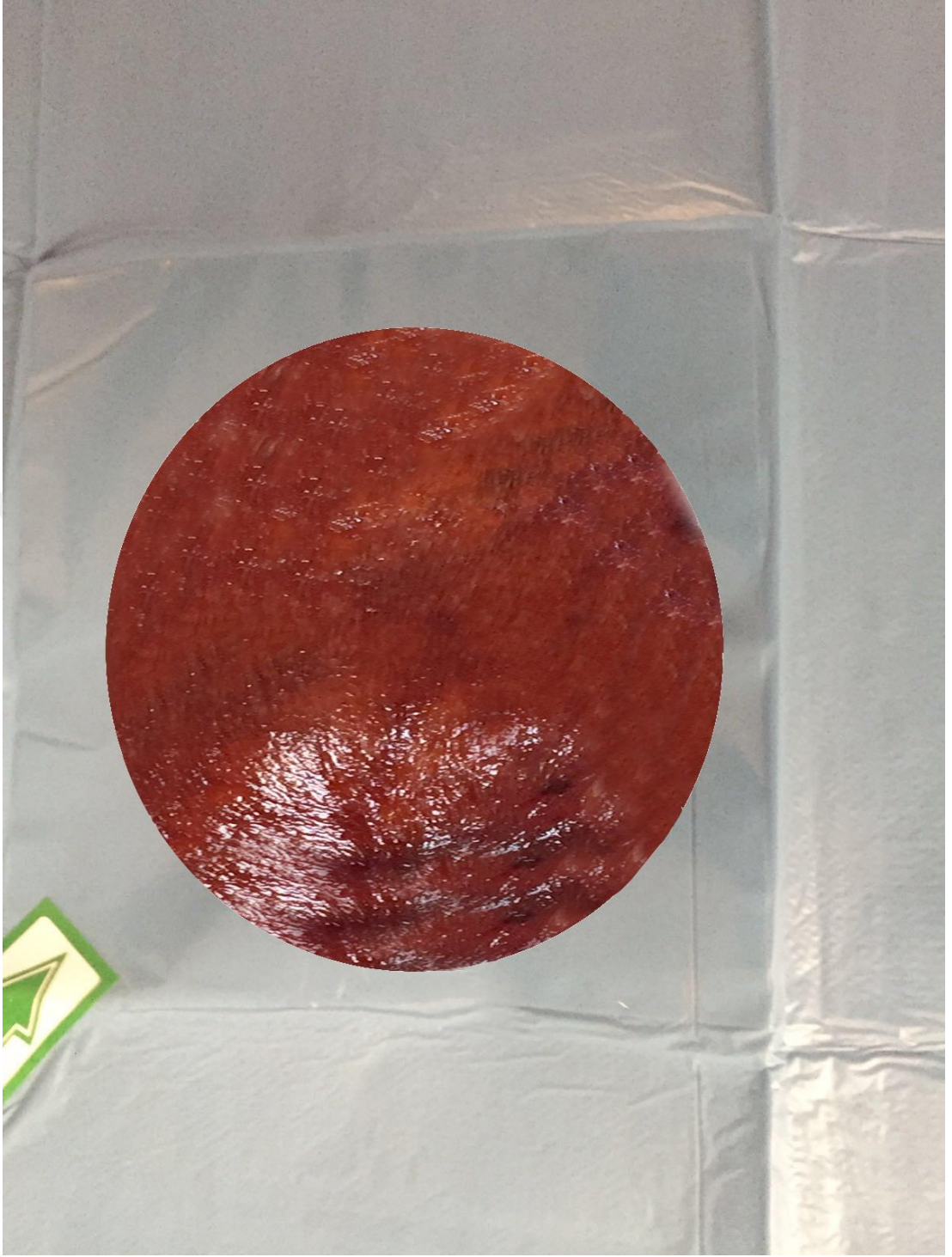
3.4. Cerrahi Teknik

Balb-c türü farelere Ketamin Hidroklorür-%5 (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve Ksilazin- %2 (Alfazyne® %2, 20 mg/ml, 30 ml, Alfasan İnt B V. Hollanda) kombinasyonu dilüe edilerek intraperitoneal olarak enjekte edildi. Daha sonra supin pozisyonda sabitlenen farelerin ameliyat bölgesi Polividon-iyot %10'la (Batticon® solüsyon, Adeka, Türkiye) temizlendi.

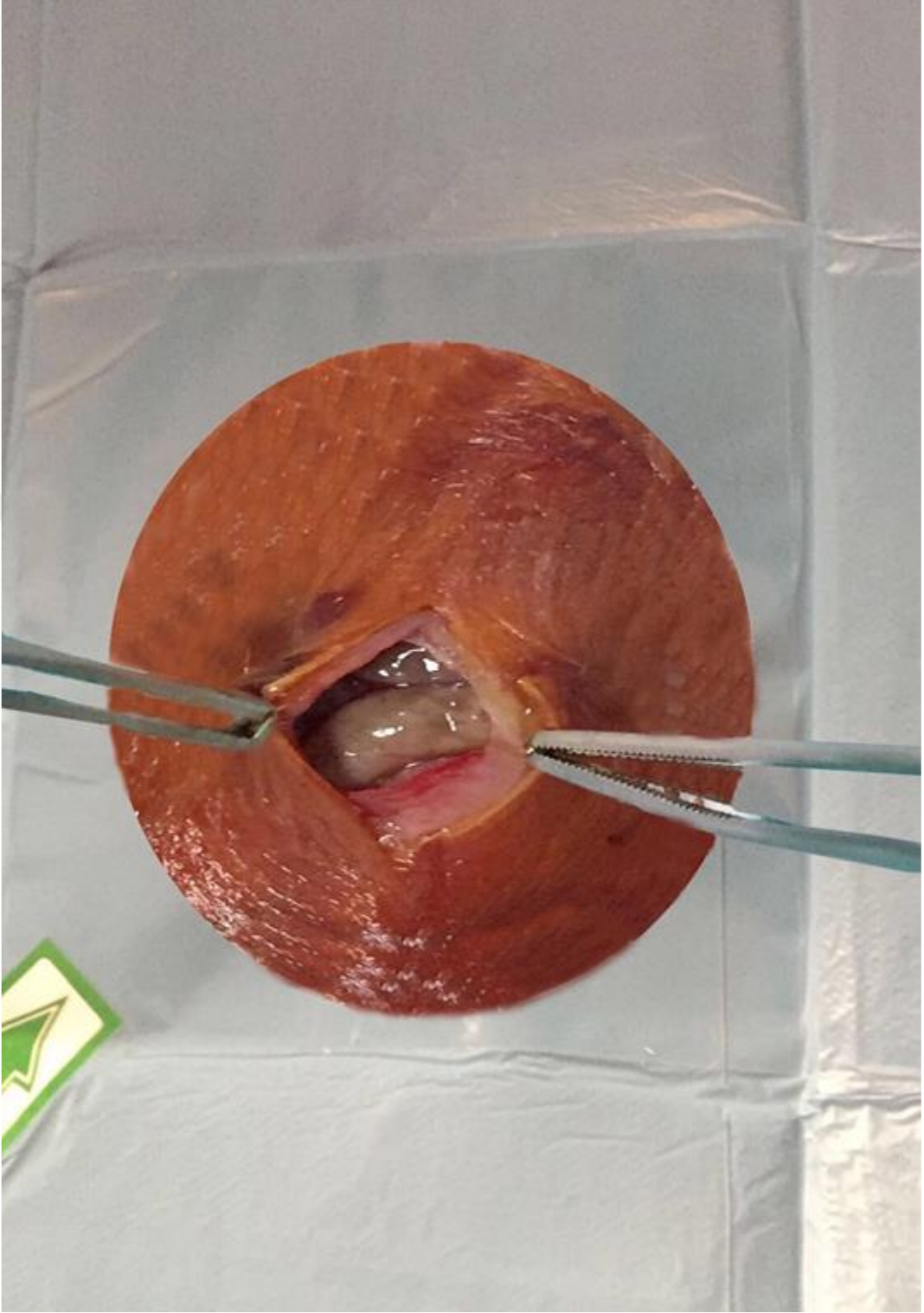
Laparotomi 11 numara bistüri ile orta hat kesi ile cilt, cilt altı ve periton kesilerek yapıldı. Splenektomi yapılan gruplarda dalak penset ile hafifçe tutulup mide, pankreas ve bağırsaklardan ayrıldıktan sonra splenik damarlar 5-0 ipekle bağlandı. Kanama kontrolü sağlandıktan sonra karın 5-0 ipekle kapatılarak ameliyat sonlandırıldı.

CLP uygulanan gruplarda detayları yukarıda verildiği gibi anestezi uygulandıktan sonra supin pozisyonda laparotomi yapıldı. Çekum mobilize edildi ve distal 1 cm'lik kısmı 5-0 ipekle bağlandıktan sonra en uç noktasından 25 gauge enjektörle 1 kere perforasyon oluşturuldu. Sonrasında çekum karın içine bırakıldı ve karın anatomik olarak 5-0 ipekle kapatıldı.

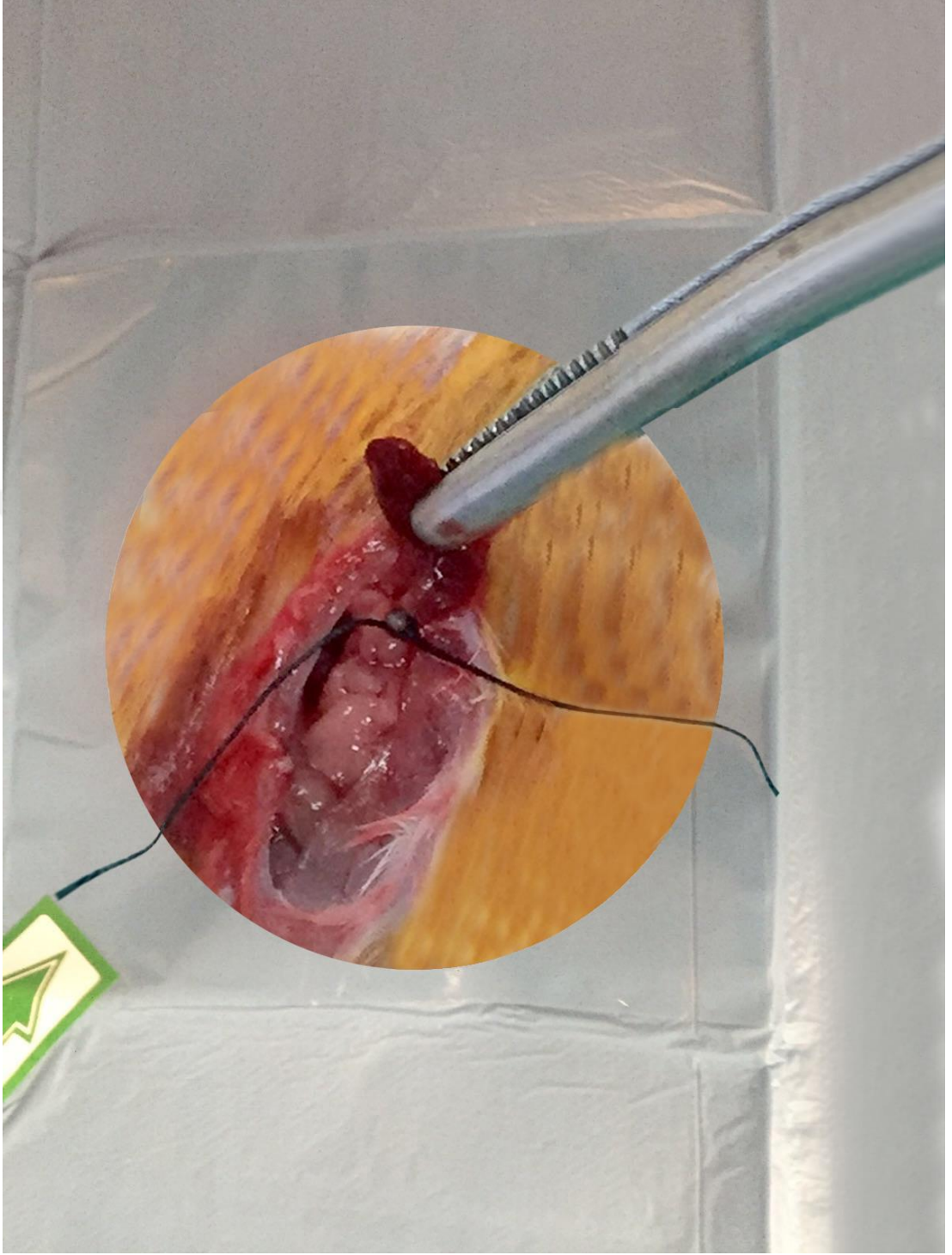
Deneyler sonlandırıldıktan sonra eter ile sedasyon altında periton içine 2 ml serum fizyolojik verilerek karın masajı yapıldı ve sonra laparotomi yapılarak peritoneal lavaj sıvısı alındı. Sonrasında periferik kan örneği alındı.



Resim 3.1. Farede laparotomi için boyama ve hazırlık.



Resim 3.2. Farede orta hat ve cilt kesisi.



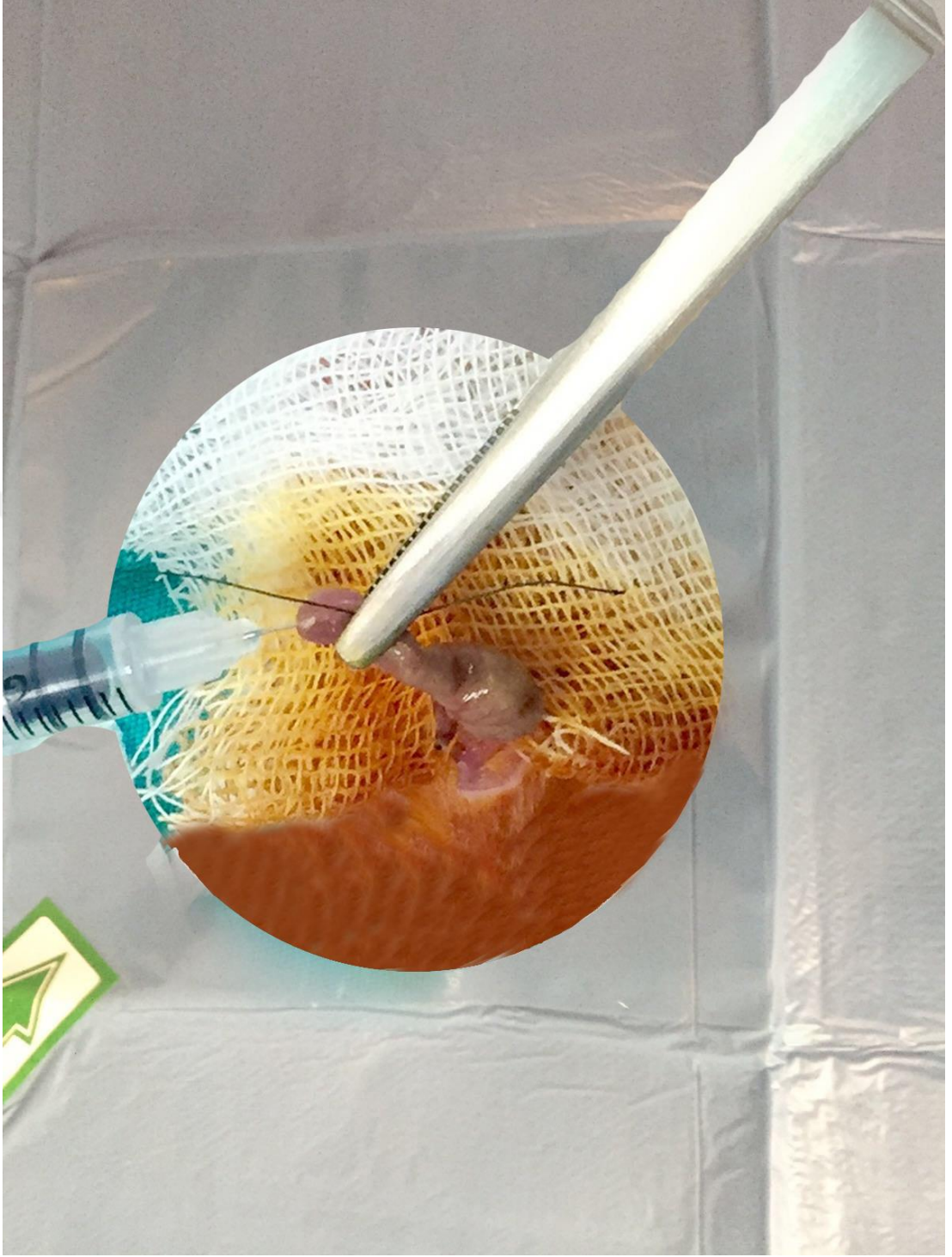
Resim 3.3. Farede dalak mobilizasyonu ve splenik damarların bağlanması.



Resim 3.4. Splenektomi sonrası fare.



Resim 3.5. Çekum mobilizasyonu ve 1 cm'lik segmentin ligasyonu.



Resim 3.6. Çekal ligasyon ve ponksiyon aşaması.

3.5. Değerlendirme Parametreleri

1. Hayvanların ağırlıkları: Tüm gruplarda her gün ağırlıklar ölçüldü.

2. Vücut sıcaklıkları: CLP yapıldıktan sonra sabah ve akşam olmak üzere günde iki kere vücut sıcaklıkları rektumdan ölçüldü.

3. Periferik kan analizi: Tüm gruplarda deneyler sonlandırıldıktan sonra akım sitometri cihazı ile CD11b⁺, Gr-1 bright⁺ granülositik, Gr-1 moderate⁺ monositik hücre grupları dağılımı ve bu hücrelerde CD80 ekspresyonu değerlendirildi.

4. Peritoneal lavaj sıvısı analizi: Tüm gruplarda deneyler sonlandırıldıktan sonra akım sitometri cihazı ile Gr-1 bright⁺ granülositik, Gr-1 moderate⁺ monositik hücre grupları dağılımı, CD11b⁺ hücrelerde F4/80 ekspresyonu, F/80⁺ makrofajlarda CD80 ve CD206 ekspresyonu değerlendirildi.

5. Mortalite: Deney grupları CLP sonrası 48 saat izlendi ve mortalite gelişen splenektomili ve splenektomi yapılmayan gruplar karşılaştırıldı.

Akım sitometri: Elde edilen lavaj örnekleri Ficoll 1119 ayırılması yapılarak toplanan hücreler anti-CD11b (APC anti-mouse CD11b Antibody clone: M1/70, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri), anti-F4/80 (anti-mouse F4/80-FITC clone: BM8, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri), anti-CD206 (anti-mouse CD206-APC clone: C068C2, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri) ve anti-CD80 (APC anti-mouse CD80 Antibody clone: 16-10A1, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri) antikorlarla işaretlenerek akım sitometri analizi yapıldı. Alınan kan örneklerinden miyeloid kökenli hücrelerin dağılım grupları, nötrofillerin hücre aktivasyon durumu akım sitometri yöntemiyle araştırıldı. Kan örneklerine Ficoll 1119 yoğunluk gradient ayırılması yapıldı. Bu işlem sonrası toplanan hücreler anti-CD45 (APC anti-mouse CD45 Antibody clone: 30-F11, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri), anti-CD11b (APC anti-mouse CD11b Antibody clone: M1/70, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri), anti-CD80 (C anti-mouse CD80 Antibody clone: 16-10A1, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri), anti-Ly6G ve anti-Ly6C (anti-mouse Ly-6G/Ly-6C-PE clone: RB68C5, Biolegend, Amerika Birleşik Devletleri) antikorları ile işaretlenerek FACS Aria-II akım sitometri cihazıyla (Becton-Dickinson, Amerika Birleşik Devletleri) analiz edildi.

3.6. İstatiksel Analizler

Veri analizi için SPSS 21 programı (Chicago, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılmıştır. Verileri tanımlamada sayısal değişkenler için ortanca, en küçük ve en büyük değerler verilirken kategorik değişkenler için sayı ve yüzde değerleri verilmiştir. Her bir kategoride gözlem sayılarının az olduğu değişkenler için yalnızca tanımlayıcı istatistikler ve grafikler verilmiştir. İncelenen grupları farklı özelliklere göre karşılaştırmak için sayısal değişkenlerde grup sayısı iki olduğu durumda Mann Whitney U istatistiği, grup sayısı üç olduğu durumda ise Kruskal Wallis test istatistiği kullanılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



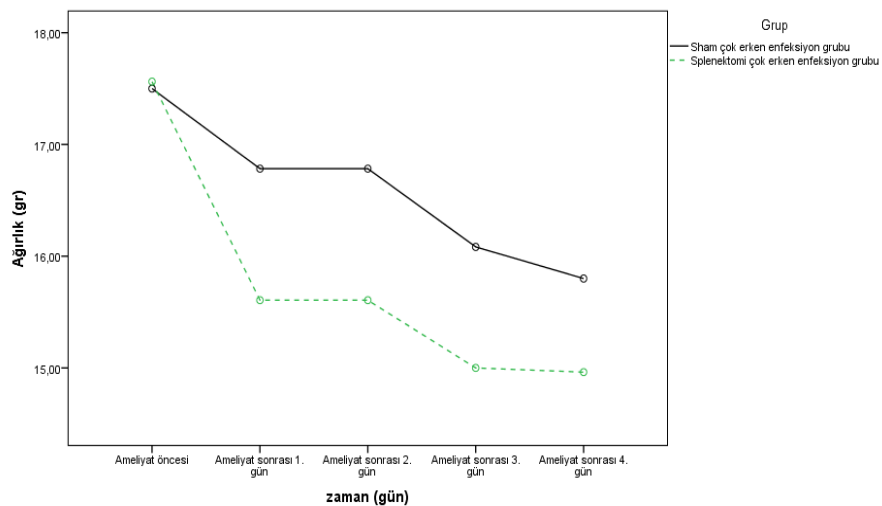
4. BULGULAR

Hayvanlarda değerlendirme parametreleri olarak hayvan ağırlıkları, vücut sıcaklıkları, periferik kan örneklerinde CD11b⁺ , Gr-1 bright⁺ granülositik, Gr-1 moderate⁺ monositik hücre grupları dağılımı ve bu hücrelerde CD80 ekspresyonu, peritoneal lavaj sıvısında Gr-1 bright⁺ granülositik, Gr-1 moderate⁺ monositik hücre grupları dağılımı, CD11b⁺ hücrelerde F4/80 ekspresyonu, F4/80⁺ makrofajlarda CD80 ve CD206 ekspresyonu ve mortalite analizi yapıldı.

4.1. Ağırlık

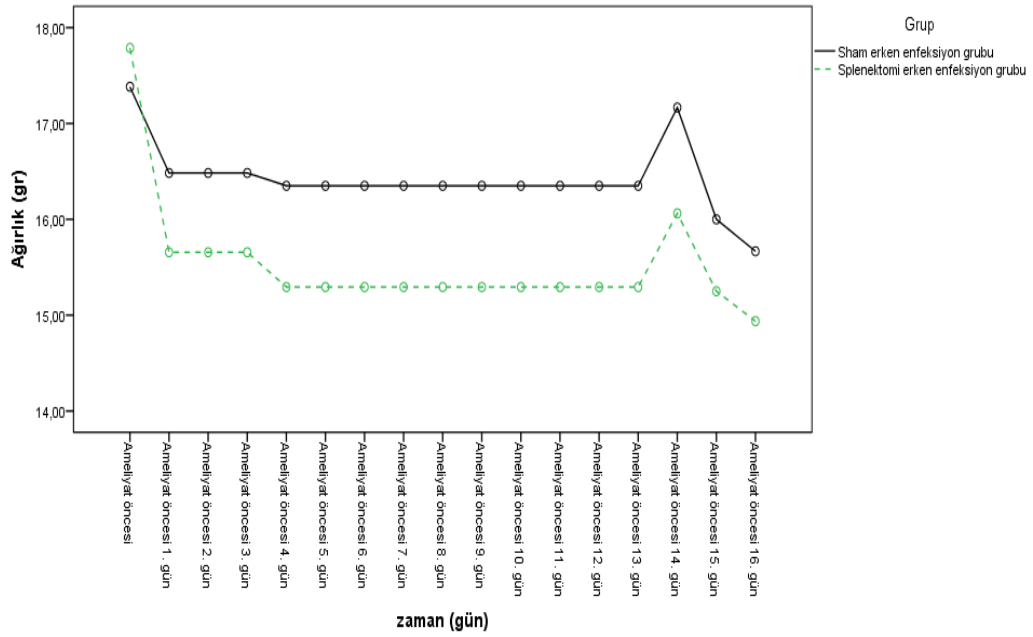
Gruplara göre hayvanların ağırlıkları ameliyattan önce ve ameliyattan sonra (laparotomi veya splenektomi) her gün ölçüldü. Her grup zaman aralığına göre kendi eşdeğer grubuyla vücut ağırlıkları açısından kıyaslandı. Hem Sham-çok erken enfeksiyon, hem de Splenektomi-çok erken enfeksiyon grubunda ameliyat sonrasında vücut ağırlıklarında azalma izlendi.

Farelerde erken dönemde enfeksiyon geliştiğinde kilo kaybı devam etse de, splenektomili ve splenektomisiz fareler arasında istatistiksel anlamlı fark olmadı. Sham-çok erken ve splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında farelerin ağırlık değişimi Şekil 4.1’de verilmiştir.



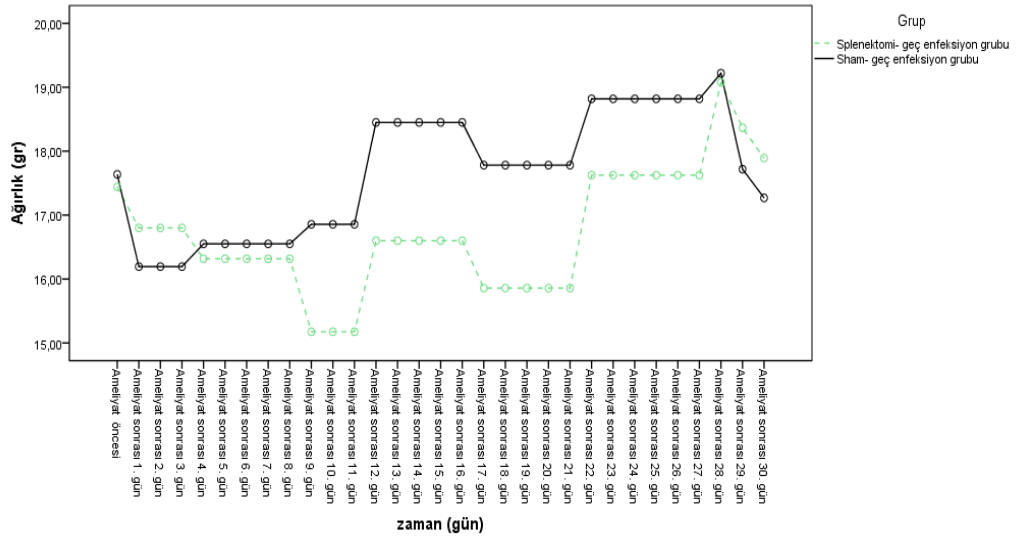
Şekil 4.1. Sham-çok erken enfeksiyon ve splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında hayvan ağırlıkları.

Sham-erken enfeksiyon ve Splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında farelerde ilk hafta vücut ağırlığında azalma olsa da, daha sonra vücut ağırlığı stabil seyretti. CLP yapıldıktan sonra her iki grupta vücut ağırlığında azalma olsa da, splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında kilo kaybı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Sham-erken ve splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında farelerin ağırlık değişimi Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil4.2. Sham-erken enfeksiyon ve splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında hayvan ağırlıkları.

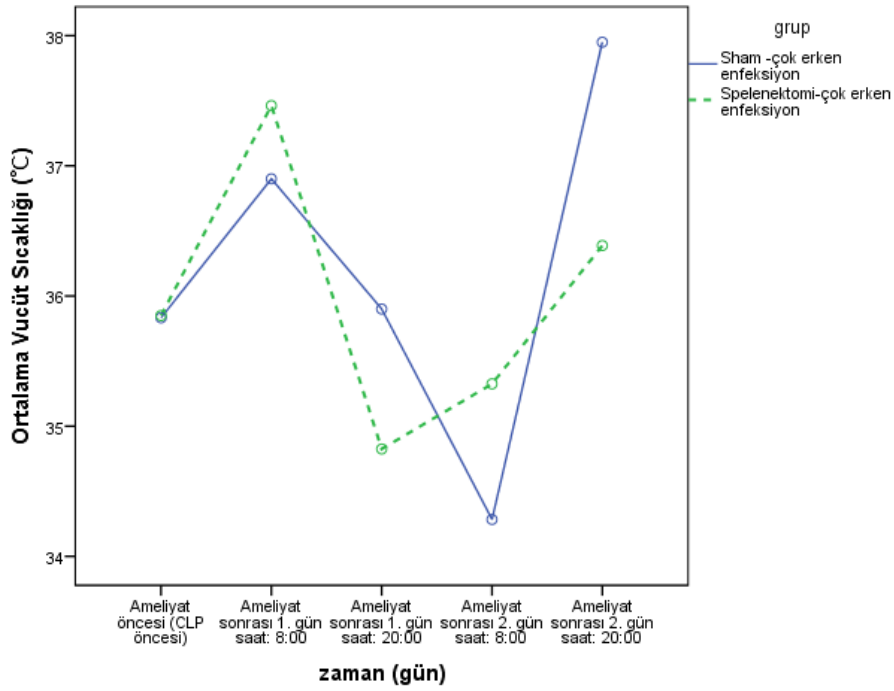
Sham-geç enfeksiyon ve Splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında farelerin ameliyat öncesi ve sonrası dört hafta boyunca ağırlıkları tartıldı. Geç dönemde intraabdominal enfeksiyon oluşturulduğunda splenektomili ve splenektomisiz farelerde kilo kaybı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Sham-geç enfeksiyon ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında farelerin ağırlık değişimi Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Sham-geç enfeksiyon ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında hayvan ağırlıkları.

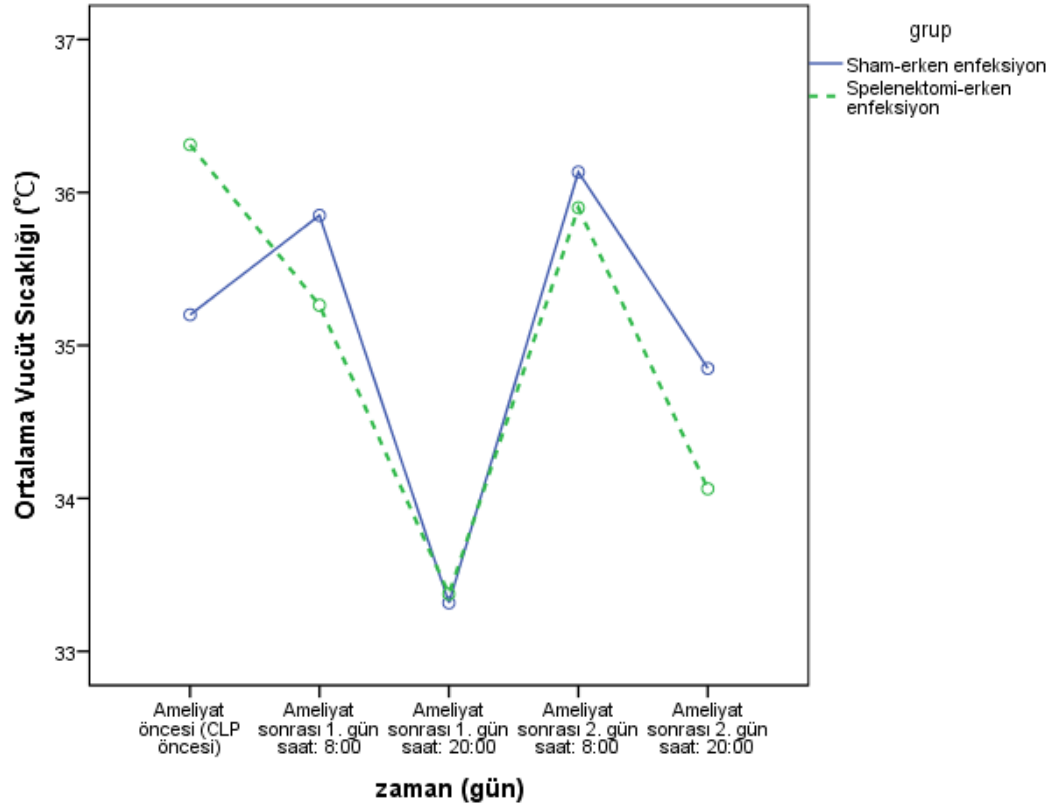
4.2. Vücut Sıcaklıkları

İşlem planlanan farelere CLP yapılmadan önce ve CLP yapıldıktan sonra CLP sonrası 1. gün ve 2. günlerde sabah ve akşam olmak üzere toplam 5 kere rektumdan vücut sıcaklıkları ölçüldü. Splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında CLP sonrası vücut sıcaklığı değişiminde anlamlı fark saptanmadı. Sham-çok erken ve splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında farelerin vücut sıcaklık değişimleri Şekil 4.4'te verilmiştir.



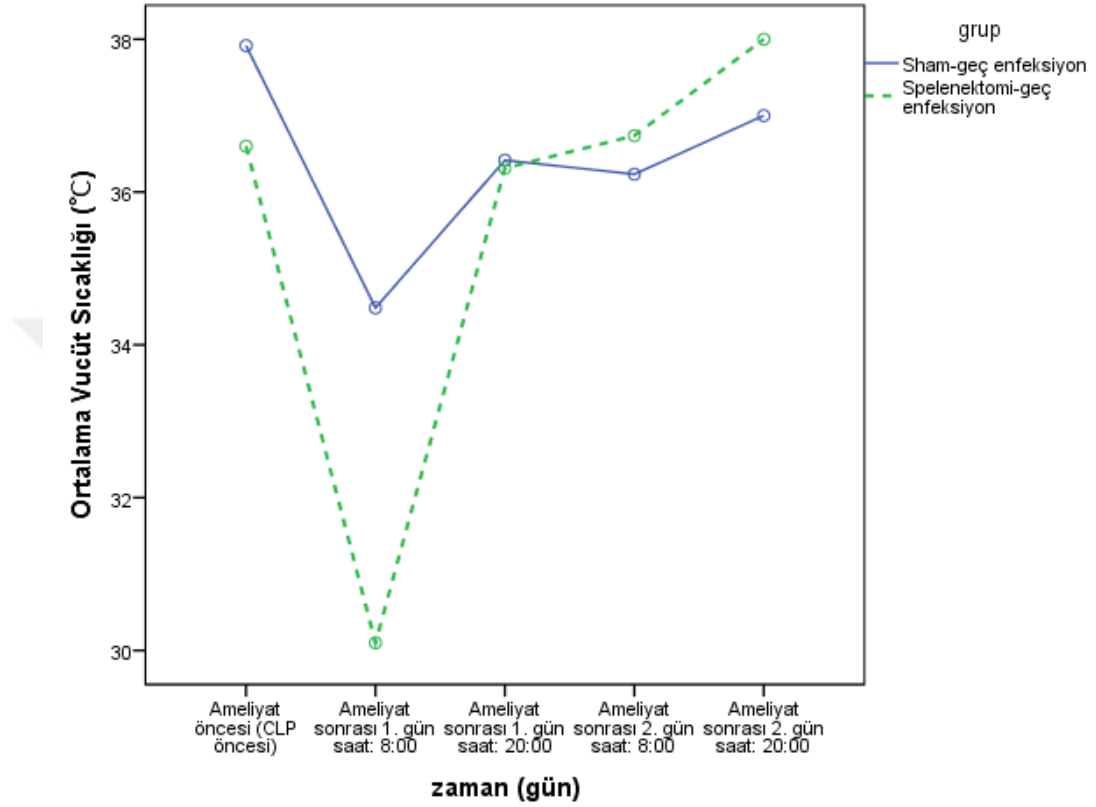
Şekil 4.4. Sham-çok erken enfeksiyon ve splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında vücut sıcaklık değişimi.

Erken enfeksiyon gruplarında splenektomili ve splenektomisiz farelerde vücut sıcaklığı değişiminde istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. CLP sonrası Sham-erken ve splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında farelerin vücut sıcaklık değişiklikleri Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5. Sham-erken enfeksiyon grubu ve splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında vücut sıcaklık değişimi.

Geç enfeksiyon gruplarında splenektomili ve splenektomisiz farelerde vücut sıcaklığı değişimi açısından sadece CLP sonrası 1. gün sabah saatlerinde anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.02$). CLP sonrası Sham-geç ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında farelerin vücut sıcaklık değişimleri Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Sham-geç enfeksiyon ve splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında vücut sıcaklıkları değişimi

4.3. Periferik Kanda Miyeloid Kökenli Hücre Oranları ve CD80 Lökosit Yüzey Belirteç Ekspresyonu Oranları

Alınan kan örneklerinde lökosit alt grupları ve lökosit yüzey belirteçlerinin ortanca değerleri ve çeyrekler arası aralık (İnterquartile range-IQR) değerleri hesaplandı. IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtildi. Aynı zamanda gruplarda lökosit alt grupları ve lökosit yüzey belirteçleri yüzdelerinde olan değişiklikler şekillerde ifade edildi.

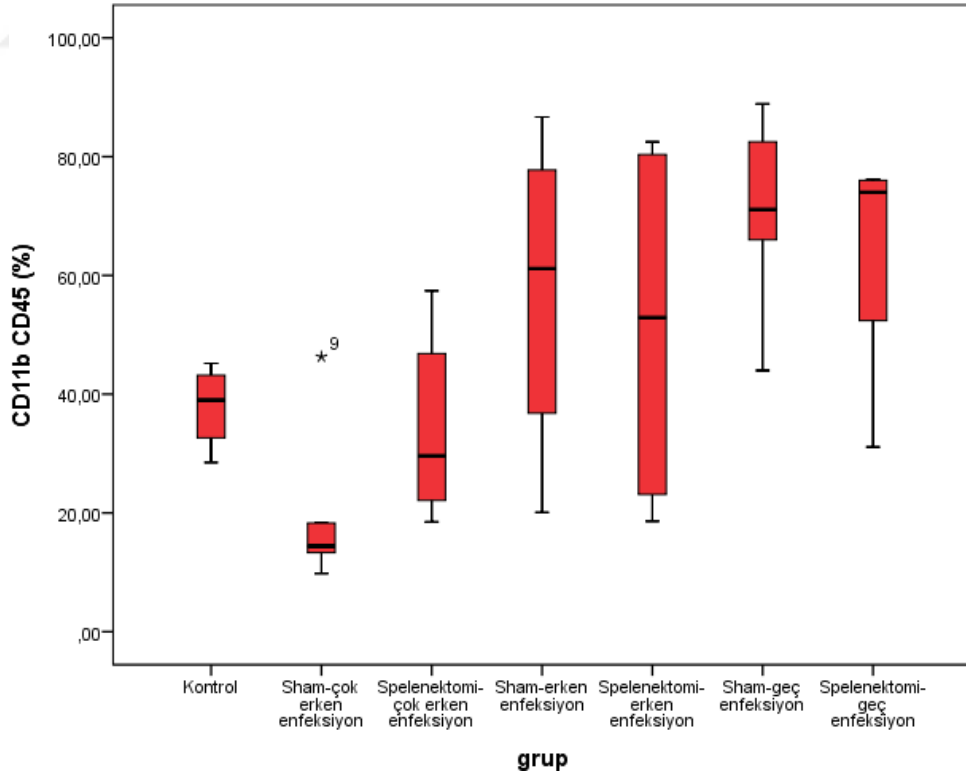
4.3.1. Periferik kanda Lökositlerde CD11b+ hücre dağılımı

Periferik kan analizinde yedi grup arasında CD11b hücre dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.009$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda ise Sham-çok erken ve Sham-geç enfeksiyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.01$). Farelerde periferik kanda CD11b+ miyeloid kökenli hücrelerin Sham-erken enfeksiyon, Splenektomi-erken enfeksiyon, Sham-geç enfeksiyon, Splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında artışı saptandı. Periferik kanda CD11b+ hücre dağılımının ortanca ve IQR değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Sham-geç enfeksiyon grubunda bu artış Sham-çok erken enfeksiyon grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu ($p=0.01$). Splenektomi yapılan ve yapılmayan gruplar arasında CD11b hücre oranı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Splenektomi sonrası intraabdominal enfeksiyon erken dönemde geliştiğinde CD11b+ miyeloid kökenli hücre oranında azalma gözlenirse de, 2. haftadan sonra geliştiğinde CD11b+ hücre oranında artış gözlemlendi . Periferik kanda gruplar arasında CD11b+hücre dağılımı Şekil 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Periferik kanda CD11b hücrelerin ortalanca ve IQR değerleri.

Gruplar	CD11b hücreler (%)
	Ortanca (*IQR: 25 ve 75. persentil)
Kontrol	39,00 (30,5-44,2)
Sham-çok erken enfeksiyon	14,40 (12,4-25,3)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	29,60 (18,6-55,8)
Sham-erken enfeksiyon	61,15 (28,4-82,2)
Splenektomi- erken enfeksiyon	52,90 (20,8-81,4)
Sham-geç enfeksiyon	71,10 (55,0-85,7)
Splenektomi-geç enfeksiyon	74,00 (41,7-76,1)

Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.

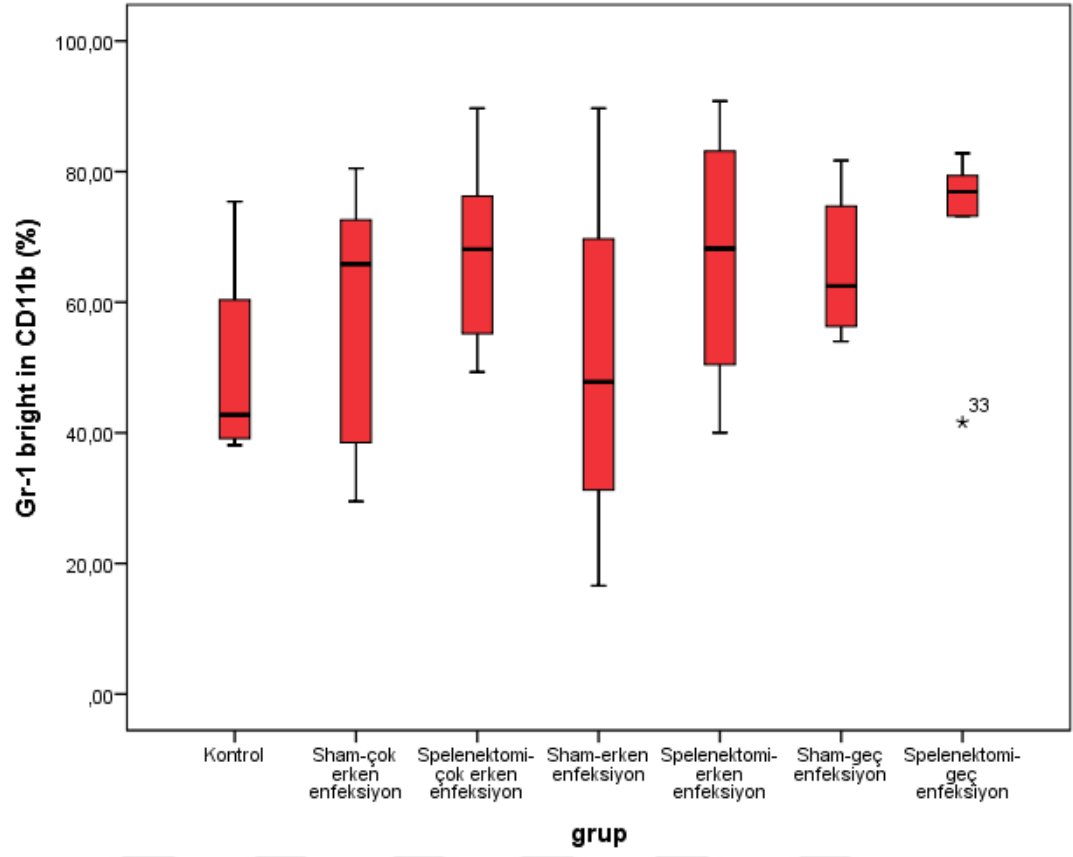
**Şekil 4.7.** Periferik kanda CD11b+ miyeloid kökenli hücrelerin oranı (%).

4.3.2. CD11b hücrelerde Gr-1 bright (granülositik) hücre dağılımı

Splenektomi sonrası intraabdominal enfeksiyon geliştiğinde periferik kanda Granülositik (CD11b+Gr-1+bright) hücre artışı izlendi. Periferik kanda Gr-1+bright hücrelerin ortanca ve IQR değerleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Splenektomi yapılmayan gruplarda ise laparotomiden sonra erken dönemde intraabdominal enfeksiyon geliştiğinde Granülositik hücre oranında artış, geç dönemde geliştiğinde ise Granülositik hücre oranında azalma gözlemlendi. Bu değişiklik Şekil 4.8’de verilmiştir. Ancak gruplar arasında analiz yapıldığında periferik kanda Granülositik (CD11b+Gr-1+bright) hücre dağılımı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.2. Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerin ortanca ve IQR değerleri.

Gruplar	Gr-1 bright (granülositik) hücreler (%)
	Ortanca (*IQR: 25 ve 75. persentil)
Kontrol	42,75 (38,6-67,8)
Sham-çok erken enfeksiyon	65,85 (36,2-74,5)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	68,10 (51,0-78,3)
Sham-erken enfeksiyon	47,80 (23,9-79,7)
Splenektomi- erken enfeksiyon	68,20 (45,2-86,9)
Sham-geç enfeksiyon	62,50 (55,1-78,2)
Splenektomi-geç enfeksiyon	76,90 (57,4-81,1)
Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.	



Şekil 4.8. Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücre dağılımı (%).

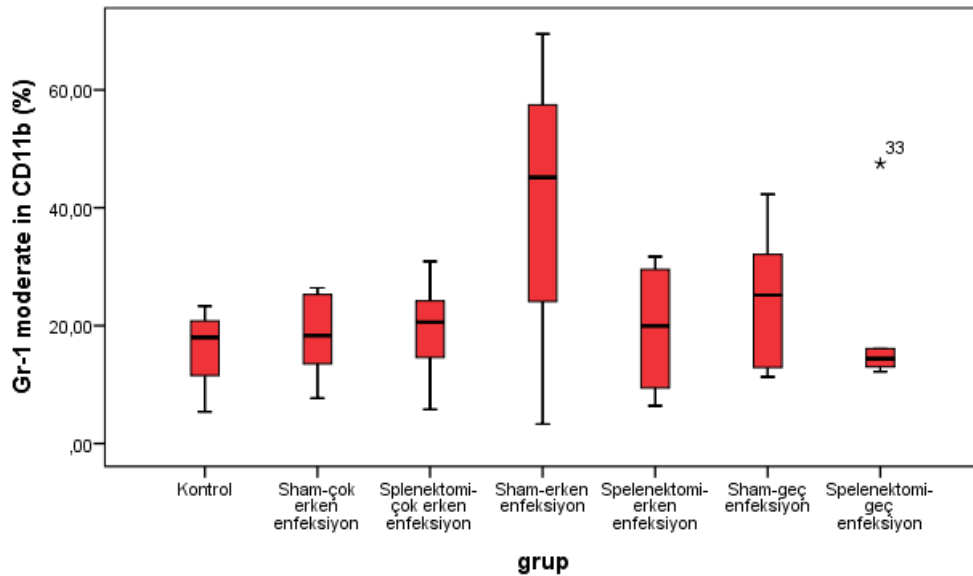
4.3.3. Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücre dağılımı

Gruplar arasında monositik hücre dağılımı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Gruplarda belirgin monositik hücre artışı saptanmadı. Periferik kanda monositik hücre dağılımının ortanca ve IQR değerleri Tablo 4.3'te ve oluşan değişimler Şekil 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.3. Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerin ortanca ve IQR değerleri.

Gruplar	Gr-1 moderate (monositik) hücreler (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. persentil)
Kontrol	18,00 (8,4-22)
Sham-çok erken enfeksiyon	18,30 (12-25)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	20,60 (14-25,8)
Sham-erken enfeksiyon	45,15 (13,7-63)
Splenektomi- erken enfeksiyon	19,95 (7,9-30,6)
Sham-geç enfeksiyon	25,20 (12-37,2)
Splenektomi-geç enfeksiyon	18,30 (12,6-31,8)

Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.



Şekil 4.9. Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücre dağılımı.

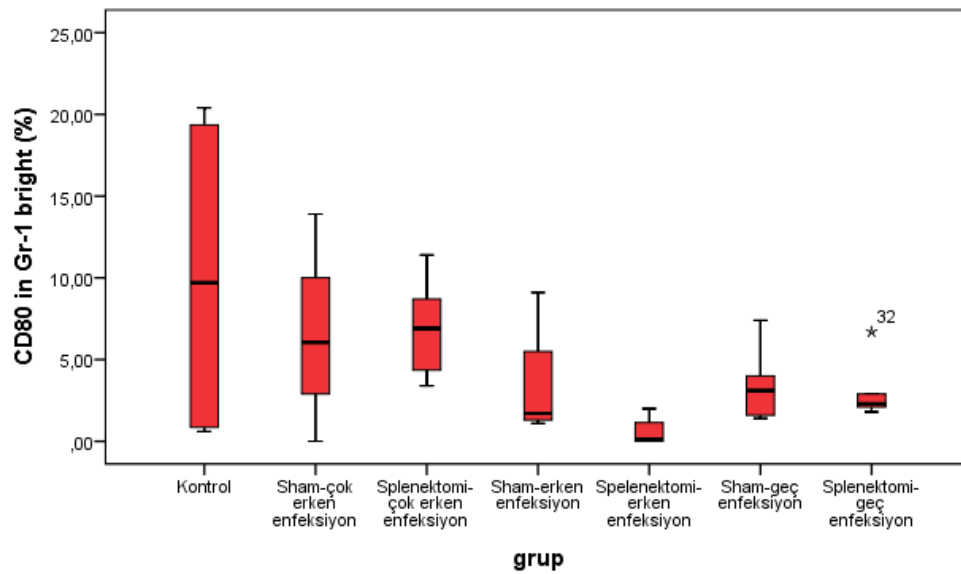
4.3.4. Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerde CD80 ekspresyonu

Yapılan kan analizinde gruplar arasında granülositik hücrelerde CD80 ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Periferik kanda granülositlerde CD80 ekspresyonunun ortanca ve İQR değerleri Tablo 4.4'te ve oluşan değişiklikler Şekil 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.4. Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerde CD80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.

Gruplar	Gr-1 bright (granülositik) hücrelerde CD80 ekspresyonu (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. persentil)
Kontrol	9,70 (0,7-19,8)
Sham-çok erken enfeksiyon	6,05 (2,1-10,9)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	6,90 (3,8-8,9)
Sham-erken enfeksiyon	1,70 (1,2-7,3)
Splenektomi- erken enfeksiyon	0,15 (0-1,5)
Sham-geç enfeksiyon	3,1 (1,5-5,7)
Splenektomi-geç enfeksiyon	2,3 (1,9-4,8)

Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.



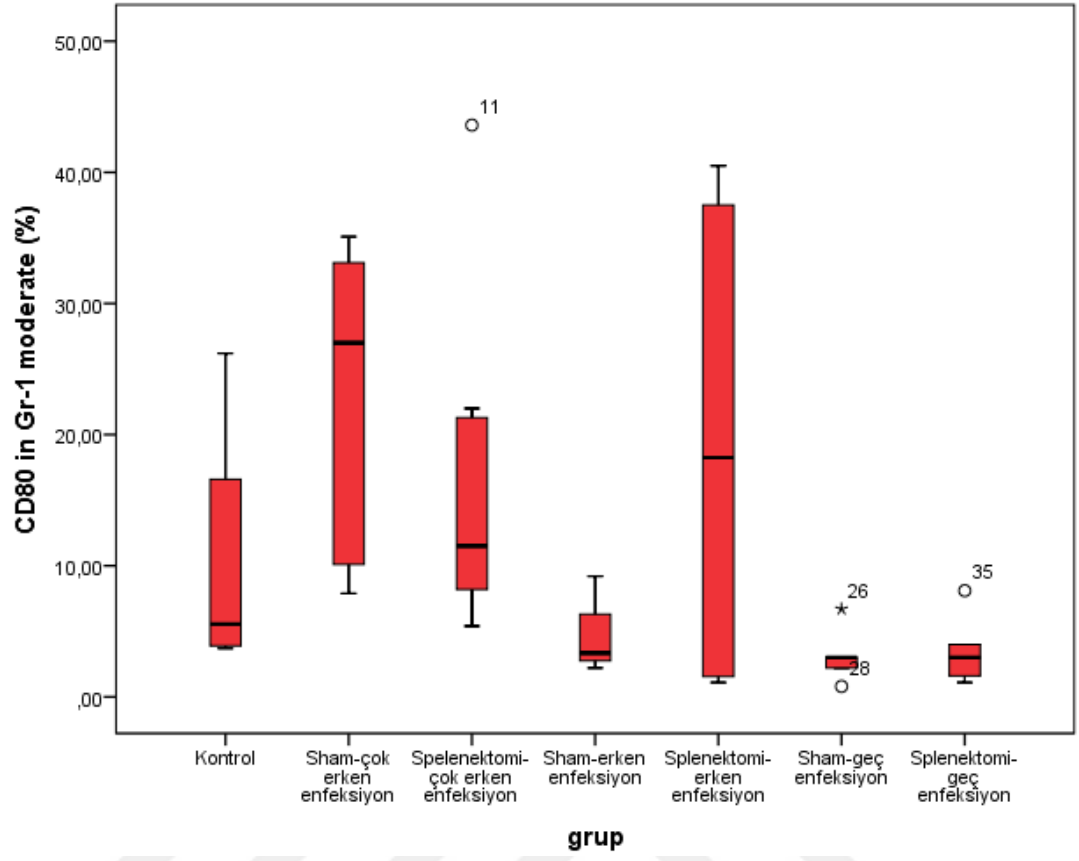
Şekil 4.10. Periferik kanda Gr-1 bright (granülositik) hücrelerde CD80 ekspresyon oranı (%).

4.3.5. Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerde CD80 ekspresyonu

Çalışmamızda periferik kanda Sham-çok erken enfeksiyon, Splenektomi-çok erken enfeksiyon, Splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında monositik (CD11b+Gr-1moderate+) hücrelerde CD80 ekspresyonunda artış gözlemlendi. Periferik kanda monositik hücrelerde CD80 ekspresyonunda oluşan bu değişiklikler Şekil 4.11’de, ortanca ve IQR değerleri ise Tablo 4.5’te verilmiştir. Splenektomiden sonra erken dönemde gelişen intraabdominal enfeksiyon sonrası CD80 ekspresyonunda artış gözlemlense de, geç dönemde splenektominin etkisi görülmedi. Yapılan analizde monositik (CD11b+Gr-1moderate+) hücrelerde CD80 ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0.013$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda Sham-çok erken enfeksiyon grubunda Sham-geç enfeksiyonla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ($p=0.046$). Splenektomili ve splenektomisiz grupların karşılaştırılmasında ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.5. Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerde CD80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.

Gruplar	G-1 moderate (monositik) hücrelerde CD80 ekspresyonu (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. persentil)
Kontrol	5,50 (3,8-21,4)
Sham-çok erken enfeksiyon	27,00 (9,5-33,6)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	11,50 (8-22)
Sham-erken enfeksiyon	3,35 (2,4-4,75)
Splenektomi- erken enfeksiyon	18,25 (1,3-39)
Sham-geç enfeksiyon	3,00 (1,5-4,85)
Splenektomi-geç enfeksiyon	3,00 (1,35-6,06)
Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.	



Şekil 4.11. Periferik kanda Gr-1 moderate (monositik) hücrelerde CD80 ekspresyon oranı (%).

4.4. Peritoneal Lavaj Sıvısında Miyeloid Kökenli Hücre Grupları Dağılımı ve F4/80, CD80, CD206 lökosit yüzey belirteç ekspresyon düzeyleri

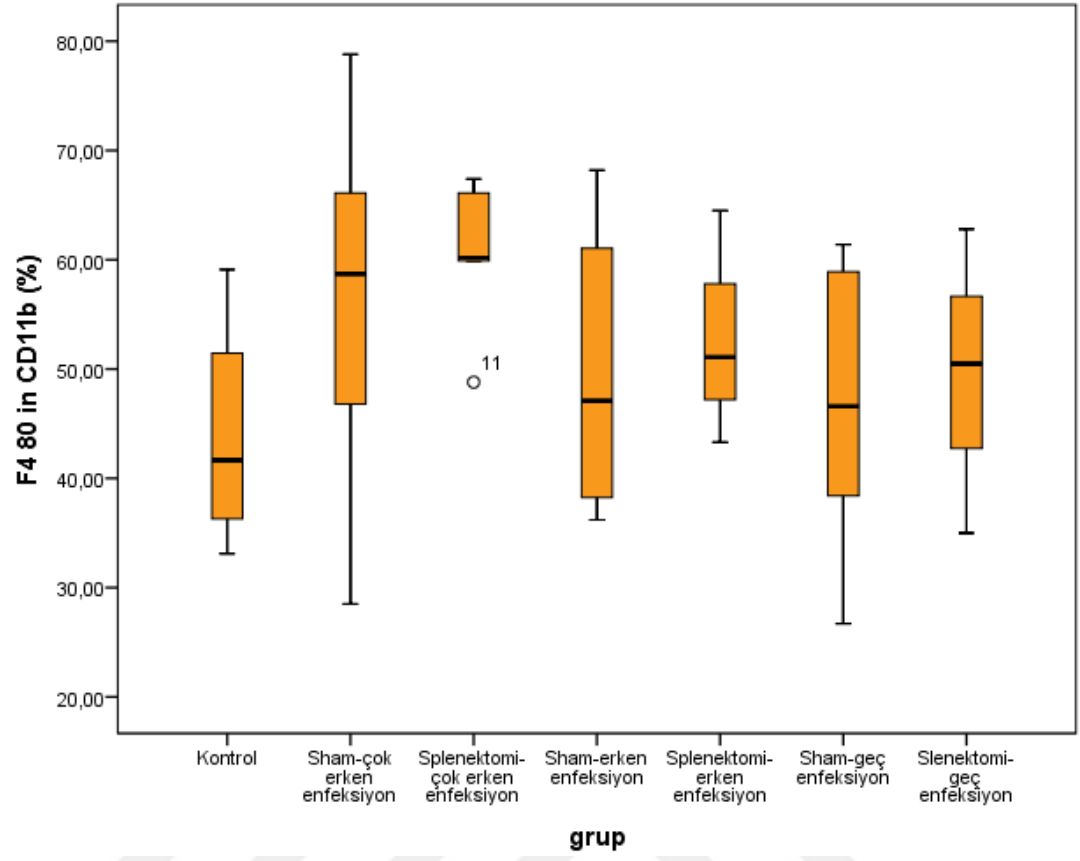
Peritoneal lavaj sıvısı örneklerinde lökosit alt grupları ve bazı lökosit yüzey belirteçlerinin ortanca değerleri ve çeyrekler arası aralık (İnterquartile range-IQR) değerleri hesaplandı. IQR :İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtildi. Lökosit alt grupları ve lökosit yüzey belirteçleri yüzdelerinde oluşan değişiklikler şekillerle ifade edildi.

4.4.1. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerinde F4/80 ekspresyonu

Peritoneal lavaj sıvısında tüm gruplarda CD11b hücrelerinde F4/80 ekspresyonu artsa da, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerde F4/80 ekspresyonundaki değişiklikler Şekil 4.12’de, ortanca ve IQR değerler ise Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerinde F4/80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.

Gruplar	CD11b hücrelerde F4/80 ekspresyonu (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. Persentil)
Kontrol	41,6 (34,7-55,2)
Sham-çok erken enfeksiyon	58,7 (42,2-69,2)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	60,2 (54,3-66,7)
Sham-erkenenfeksiyon	41,1 (37,2-64,6)
Splenektomi- erken enfeksiyon	51,1 (43,3-66,6)
Sham- geçenfeksiyon	46,6 (32,5-60,1)
Splenektomi-geç enfeksiyon	50,5 (35-75)
Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.	



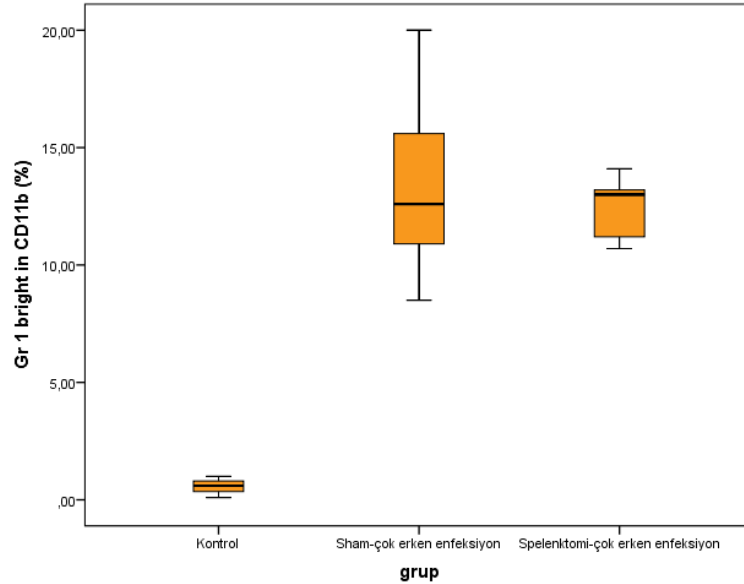
Şekil 4.12. Peritoneal lavaj sıvısında F4/80 fare makrofaj yüzey belirteç oranı (%).

4.4.2. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerde granülositik (Gr-1 bright) hücre dağılımı

Peritoneal lavaj sıvısı akım sitometri analizinde hem Sham-çok erken enfeksiyon, hem de Splenektomi-çok erken enfeksiyon grubunda granülositik hücre artışı görüldü. Bu artış Şekil 4.13'te, ortanca ve IQR değerler ise Tablo 4.7'de verilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0.037$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.7. Peritoneal lavaj sıvısında Gr-1 bright (granülositik) hücre dağılımının ortanca ve IQR değerleri.

	Gr-1 bright (granülositik) hücreler (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. prsentil)
Kontrol	0,60 (0,1-0,9)
Sham-çok erken enfeksiyon	12,6 (10,3-16,7)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	13,0 (10,9-13,65)
Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.	



Şekil 4.13. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b+Gr-1 bright+ hücre dağılımı (%).

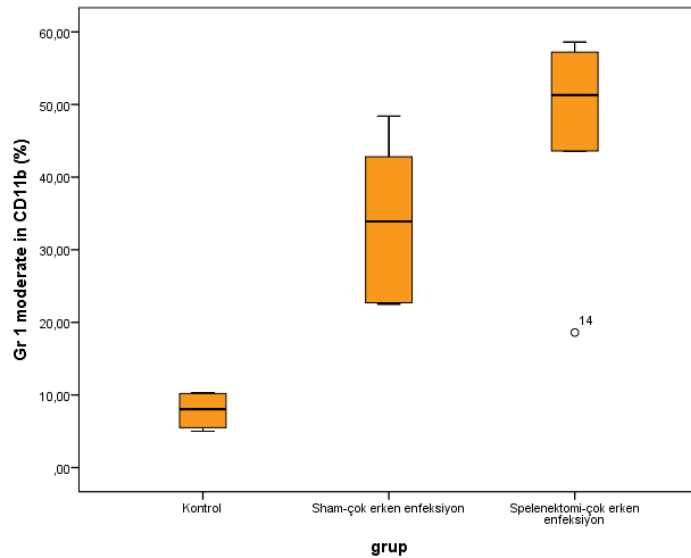
4.4.3. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b hücrelerde monositik (Gr-1 moderate) hücre dağılımı

Peritoneal lavaj sıvısında hem Sham-çok erken enfeksiyon grubunda, hem de Splenektomi-çok erken enfeksiyon grubunda monositik hücre artışı izlendi. Bu artış Şekil 4.14’de, ortanca ve IQR değerler ise Tablo 4.8’de verilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0.009$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda Splenektomi-çok erken enfeksiyon grubunda Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı artış saptandı ($p=0.007$). Splenektomi-çok erken enfeksiyon ve Sham-çok erken enfeksiyon grubu arasında ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.8. Peritoneal lavaj sıvısında Gr-1 moderate (monositik) hücre dağılımının ortanca ve IQR değerleri.

	Gr-1 moderate (monositik) hücreler (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. persentil)
Kontrol	8,05 (5,2-10,2)
Sham-çok erken enfeksiyon	33,9 (22,6-44,2)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	51,3 (31,1-57,9)

Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.



Şekil 4.14. Peritoneal lavaj sıvısında CD11b+Gr-1 moderate hücrelerin oranı (%).

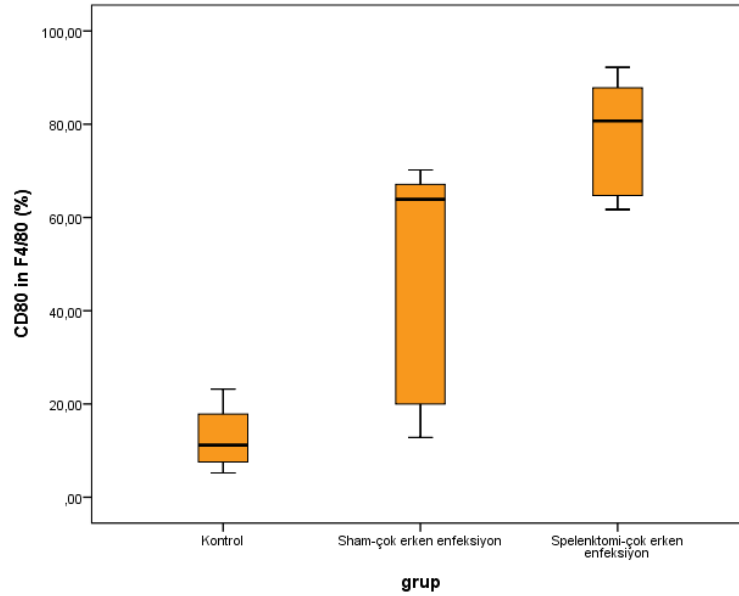
4.4.4. Peritoneal lavaj sıvısında makrofajlarda CD80 ekspresyonu

Çalışmamızda hem Sham-çok erken enfeksiyon, hem de Splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında peritoneal lavaj sıvısında F4/80+ makrofajlarda CD80 ekspresyon düzeyinin arttığı izlendi. Bu artış Şekil 4.15’de, ortanca ve IQR değerler ise Tablo 4.9’de verilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.013$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda Splenektomi-çok erken enfeksiyon ve Kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı fark olduğu görüldü ($p=0.010$). Splenektomi-çok erken ve Sham-çok erken enfeksiyon gruplar arasında ise istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

Tablo 4.9. Peritoneal lavaj sıvısında F4/80 makrofajlarda CD80 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.

	F4/80 makrofajlarda CD80 ekspresyonu (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. persentil)
Kontrol	11,2 (6,3-20,5)
Sham-çok erken enfeksiyon	63,9 (18,2-67,8)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	80,7 (63,2-90,0)

Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.



Şekil 4.15. Peritoneal sıvıdaki F4/80 makrofajlarda CD80 ekspresyon yüzdesi (%).

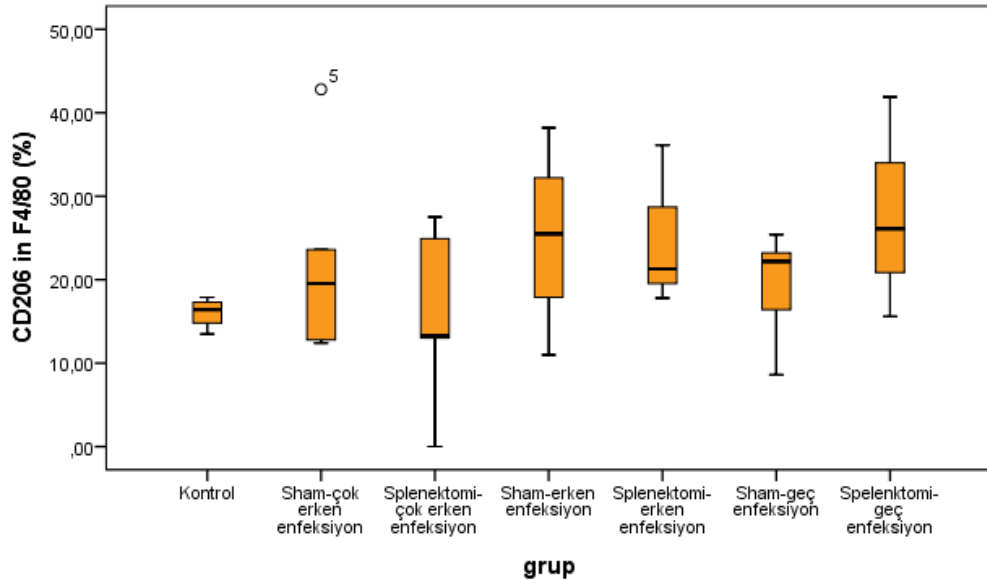
4.4.5. Peritoneal lavaj sıvısı makrofajlarında CD206 ekspresyonu

Peritoneal lavaj sıvısı analizinde makrofajlarda CD206 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı. Peritoneal lavaj sıvısında makrofajlarda CD206 ekspresyonundaki değişiklikler Şekil 4.16'da ve CD206 ekspresyonunun ortanca ve İQR değerleri ise Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. Peritoneal lavaj sıvısında F4/80 makrofajlarda CD206 ekspresyonunun ortanca ve IQR değerleri.

Gruplar	F4/80 makrofajlarda CD206 ekspresyonu (%)
	Ortanca (*IQR: 25. ve 75. persentil)
Kontrol	16,4 (14,1-17,6)
Sham-çok erken enfeksiyon	19,5 (12,7-28,4)
Splenektomi-çok erken enfeksiyon	13,3 (6,5-26,2)
Sham-erkenenfeksiyon	25,5 (14,4-35,2)
Splenektomi- erken enfeksiyon	21,3 (17,8-31,2)
Sham- geçenfeksiyon	22,2 (12,5-24,3)
Splenektomi-geç enfeksiyon	15,6 (26,1-39,1)

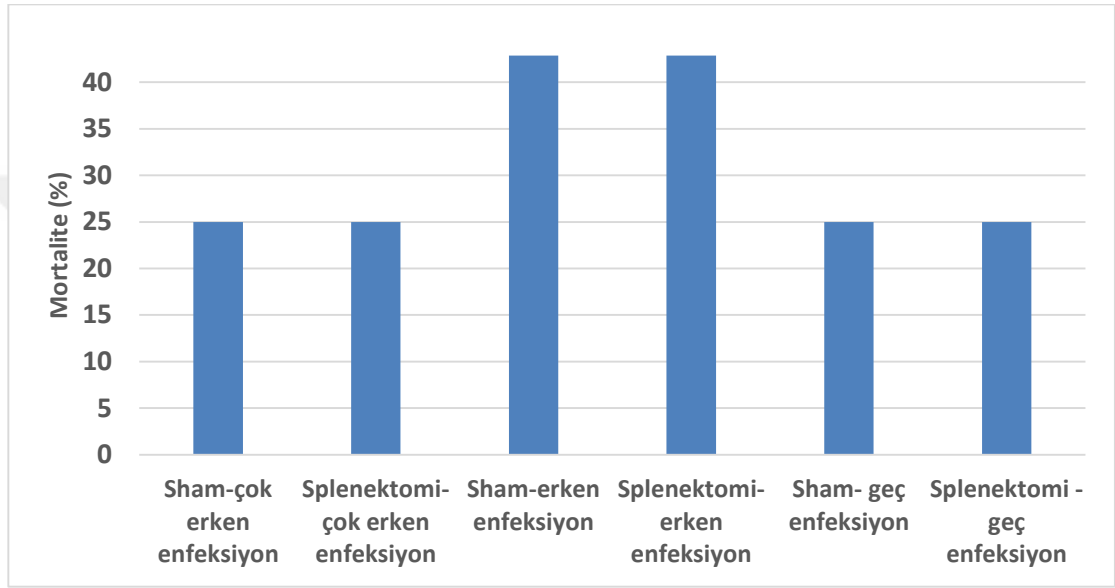
Açıklama: *IQR : İnterquartile range- Çeyrekler arası aralık 25. ve 75. persentile karşılık gelen değerlerle belirtilmiştir.



Şekil 4.16. Peritoneal lavaj sıvısında F4/80+ makrofajlarda CD206 ekspresyon oranı (%).

4.5. Mortalite

Splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında mortalite açısından anlamlı fark bulunmadı. Çok erken enfeksiyon gruplarında mortalite oranı %25, erken enfeksiyon gruplarında %42, geç enfeksiyon gruplarında %25 oldu. Bu şekilde splenektominin intraabdominal enfeksiyonda mortalite üzerine etkisi saptanmadı. Mortalite oranları Şekil 4.17’de verilmiştir.



Şekil 4.17. Gruplarda mortalite oranları.

5. TARTIŞMA

Dalak vücutta birçok önemli görevi üstlenmektedir. Dalağın hasarlanmış ve yaşlanmış eritorisitlerin, anormal lökositlerin ve trombositlerin kandan uzaklaştırılması, pnömokok gibi kapsüllü bakteriler başta olmakla birlikte değişik sayıdaki bakteriyel partiküllerin filtrasyonu, dolaşımdaki bakterilere karşı spesifik antikor yapılması, antikorla işaretli bakterilerin fagositozu, T ve B lenfositlerin olgunlaşması, opsoninler ve tuftsin üretimi, properdin üreterek komplemanın aktivasyonunda alternatif yolun başlatılması gibi hem hümmoral hemde hüccresel bağışıklıkta önemli rolü mevcuttur (65).

Splenektomiden sonra gelişen mortalitesi %50-70'e varan en önemli komplikasyonlardan biri olan ciddi postsplenektomik enfeksiyon (CPSE) özellikle kapsüllü bakterilere karşı oluşur. CPSE gelişmesinde en önemli ajanlar *Streptococcus pneumoniae* (%80), *Haemophilus influenza* (%6), *Neisseria meningitidis* (%3,7) ve *Plasmodium falciparum*, *Babesiamicroti*, *Capnocytophaga canimorsus*, *Salomnella* ve *Escherichia coli* gibi diğer ajanlardır (66).

Splenektominin *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza*, *Neisseria meningitidis* gibi kapsüllü bakterilerin yol açtığı solunum yolları enfeksiyonlarında immünolojik etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılsa da intrabdominal enfeksiyonda splenektominin immünolojik etkilerine dair çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Splenektominin intraabdominal enfeksiyonları nasıl etkilediği halen tartışma konusudur. Çalışmaların çoğu deneysel hayvan çalışmaları olup, insanlarda splenektominin intraabdominal enfeksiyon üzerine etkilerini araştıran çalışmalar yeterli sayıda değildir. Cristoph Lichtenstern ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada splenektomilive splenektomisiz hastalarda peritonitin seyri araştırılmıştır (67). Gruplar arasında mortalite, sağkalım, mekanik ventilatör desteği süresi açısından fark görülmezken, splenektomili hastalarda böbrek yetmezliği ve diyaliz ihtiyacı daha fazla olmuştur. Bununla da fareler üzerinde yapılmış çalışmaların aksine splenektominin intraabdominal sepsiste mortaliteyi etkilemediği gösterilmiştir.

Ali Naycı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada splenektomi yapılmış sıçanlarda intraabdominal sepsisin kolon anastomozu iyileşmesini olumsuz

etkilemediği gözlenmiştir (68). Bu çalışmanın yapılma amacı karın travmasına bağlı ve ya bazı özel majör cerrahilerde eşzamanlı bağırsak onarımı ve splenektomi yapılmasının gerekebilmesidir. Bu durumlarda splenektomi yapılmasının bağırsak anastomozu iyileşmesi için risk oluşturmadığını göstermiştir (68).

Splenektominin intraabdominal enfeksiyonda immünolojik düzeyde etkilerini araştıran çalışmalardan Jared M. Huston ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ilgi çekicidir (69). Bu çalışmada CLP yapılarak intraabdominal sepsis oluşturulmuş farelerde splenektominin High mobility group box1 (HMGB1) salgılanmasını azalttığı ve bu şekilde farelerde polimikrobiyal sepsiste sağkalımı olumlu etkilediği gözlenmiştir. İntraabdominal sepsiste apoptotik hücrelerin splenik makrofajları aktive ederek HMGB1 salgılanmasını arttırdığı gösterilmiştir. Sepsis sırasında apoptoz primer olarak dalak ve timüs gibi lenfoid organlarda oluşmaktadır. Splenektomi yapılan farelerde dalağın ortadan kalkmasının apoptotik hücrelerin azalmasına ve aynı zamanda splenik makrofajlar olmadığı için HMGB1 düzeyinin azalmasına, bu şekilde HMGB1-aracılı sepsiste mortalitenin azalmasına yol açtığı gözlenmiştir. HMGB1 proteini letal sepsiste geç mediatördür, peritonit geliştikten 18 saat sonra ortaya çıkar ve yapılan çalışmalarda rekombinat HMGB1 verilmesinin farelerde septik bulguların ortaya çıkmasına neden olduğu görülmüştür (70, 71). Bu çalışmada aynı zamanda splenektomize farelerde kanda Th1 lenfositlerin salgıladığı İL-2, İL-12 düzeylerinin azaldığı, Th2 lenfositlerin salgıladığı İL-4 ve İL-10 düzeylerinin ise değişmediği saptanmıştır. Aynı zamanda splenektomi yapılmış farelerde karaciğer dokusunda ödem ve inflamasyonun daha az olduğu gözlenmiştir. Tüm bu sonuçlarla splenektominin sepsiste koruyucu etkiye sahip olabilme teorisi ileri sürülmüştür (72). Ancak bunun tam tersini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Luis Sergio Nassif ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada travmatik kolon hasarı oluşturulmuş splenektomize ratlarda mortalitenin dalağı korunmuş ratlardan daha yüksek olduğu görülmüştür (73).

Bizim yaptığımız çalışmada splenektomili ve splenektomisiz intraabdominal enfeksiyon modelinde farelerin ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası ağırlık ölçümleri yapıldı. Splenektomili ve splenektomisiz gruplarda CLP uygulanarak intraabdominal enfeksiyon oluşturulduktan sonra kilo kaybı gözlemlendi. Ancak splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında kilo kaybı açısından anlamlı fark saptanmadı

Çalışmamızda CLP öncesi ve CLP yapıldıktan sonra tüm gruplarda farelerin 2 gün sabah ve akşam olmak üzere toplam 5 kere rektumdan vücut sıcaklıkları ölçüldü. Tüm gruplarda vücut sıcaklığının sabah ve akşam değişken (hipotermi-hipertermi) seyrettiği gözlemlendi. Çok erken enfeksiyon ve erken enfeksiyon gruplarında splenektomili ve splenektomisiz farelerde vücut sıcaklığı açısından anlamlı fark bulunmadı. Geç enfeksiyon gruplarında da CLP sonrası 1. gün sabah dışında splenektomili ve splenektomisiz farelerde vücut sıcaklığı açısından anlamlı fark saptanmadı. Geç enfeksiyon gruplarında CLP sonrası 1.gün sabah saatlerinde farelerde vücut sıcaklığı açısından anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.02$).

Bu çalışmada periferik kanın miyeloid kökenli hücre ve onun monositik ve granülositik alt grupları, CD80 lökosit yüzey belirteçi ekspresyonu açısından akım sitometri ile analizi yapıldı.

Farelerde periferik kanda CLP sonrası CD11b+ miyeloid kökenli hücrelerin Sham-erken enfeksiyon, Splenektomi-erken enfeksiyon, Sham-geç enfeksiyon, Splenektomi-geç enfeksiyon gruplarında artışı saptandı. Sham-geç enfeksiyon grubunda bu artış Sham-çok erken enfeksiyon grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı oldu ($p=0.01$). Literatürdeki çalışmalarda septik hastalarda nötrofillerde CD11b ekspresyonu daha yüksek olarak saptanmış (1), aynı zamanda monosit CD11b ekspresyonunun da sepsis ve enfeksiyonda yükseldiği belirtilmiştir (58). Çalışmamızda splenektomi yapılan ve yapılmayan gruplar arasında CD11b+ hücre oranı açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Splenektomi sonrası intraabdominal enfeksiyon erken zamanda geliştiğinde CD11b+ miyeloid kökenli hücre oranında azalma gözlemlense de, 2. haftadan sonra artış gözlemlendi.

Çalışmamızda periferik kanda miyeloid kökenli hücrelerin ayrı ayrı alt gruplarına bakıldı. Tüm gruplarda granülositik miyeloid kökenli granülositik hücre (CD11b+Gr-1 bright) oranında artış saptandı. Ancak splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Splenektomi sonrası intraabdominal enfeksiyon geliştiğinde periferik kanda Granülositik (CD11b+Gr-1+bright) hücre artışı görüldü. Splenektomi yapılmayan gruplarda ise laparotomiden sonra erken dönemde intraabdominal enfeksiyon geliştiğinde Granülositik hücre oranında artış, geç dönemde geliştiğinde ise azalma gözlemlendi. İntraabdominal enfeksiyon gelişen farelerde granülositik hücre artışı olması literatürdeki diğer

çalışmalarla uyumludur. Delano ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı polimikrobiyal sepsis modelinde CD11b+Gr-1+ granülositik hücrelerin CLP oluşturulduktan 12 saat sonra sham grubuna nispeten periferik kanda 3 kat arttığı gösterildi (74). Bu artış CLP sonrası kemik iliğinden nötrofillerin periferik dolaşıma geçmesiyle ilişkilidir. Nötrofiller enfeksiyon oluştuğunda immün sistemin ilk cevap oluşturan hücreleridir. Gr-1 granülositik hücrelerin enfeksiyondaki önemini göstermek için birçok çalışma yapılmıştır. Farelere anti-Gr-1 antikoru verilerek Gr-1 granülositik hücrelerin elimine edilmesinin *Toxoplasma gondii*, *Candida albicans*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis* gibi birçok enfeksiyon ajanına karşı yatkınlık oluşturduğu ve bu enfeksiyonların daha ağır seyrettiği gösterilmiştir (75).

Gruplar arasında miyeloid kökenli monositik hücre (CD11b+Gr-1 moderate) oranında istatistiksel anlamlı artış ve fark saptanmadı ($p=0.81$)

Granülositik (CD11b+Gr-1 bright+) hücrelerde CD80 ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark ve artış saptanmadı ($p=0.078$). Çalışmamızda periferik kanda Sham-çok erken enfeksiyon, Splenektomi-çok erken enfeksiyon, Splenektomi-erken enfeksiyon gruplarında monositik (CD11b+Gr-1 moderate+) hücrelerde CD80 ekspresyonunda artış gözlemlendi. Splenektomiden sonra erken dönemde gelişen intraabdominal enfeksiyon sonrası CD80 ekspresyonunda artış gözlemlense de, geç dönemde splenektominin etkisi görülmedi. Yapılan analizde monositik (CD11b+Gr-1 moderate+) hücrelerde CD80 ekspresyonu açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0.013$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda Sham-çok erken enfeksiyon grubunda Sham-geç enfeksiyonla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ($p=0.046$). Splenektomili ve splenektomisiz grupların karşılaştırılmasında ise istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. CD80 ekspresyonunun granülositik hücrelerde bu şekilde düşük, monositik hücrelerde ise yüksek saptanması literatür bilgisine uygundur. CD80 monosit ve B lenfositlerin yüzey belirteci olup, kostimülatör moleküldür ve CD86'la beraber T lenfositlerin CD28 reseptörüne bağlanarak T hücrelerin proliferasyonunu, İL-2 salgılanmasını artırarak T hücre aracılı bağışıklıkta rol alırlar. Yapılan çalışmalarda *T.gondii* enfeksiyonunda monositlerde CD80 ve CD86 ekspresyonunun yükseldiği saptanmıştır (59). Nolan ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı polimikrobiyal

sepsis modelinde sepsis sırasında monositlerde CD80 ekspresyonunun arttığı ve CD80/86 moleküllerinin bloke edilmesinin sepsisin mortalitesini ve inflamatuvar sitokin salgılanmasını azalttığı gösterilmiştir (2).

Peritoneal lavaj sıvısı miyeloid kökenli hücre alt grupları ve bazı lökosit yüzey belirteç ekspresyonu açısından değerlendirildi. Peritoneal lavaj sıvısında tüm gruplarda CD11b hücrelerinde F4/80 ekspresyonu artsa da, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Sham-çok erken enfeksiyon ve Splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında granülositik hücre (CD11b+Gr-1bright+) oranının arttığı izlendi. Granülositik hücre açısından splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Çalışmamızda peritoneal lavaj sıvısında hem Sham-çok erken enfeksiyon grubunda, hem de Splenektomi-çok erken enfeksiyon grubunda monositik (CD11b+Gr-1 moderate+) hücre artışı olsa da, splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında monositik hücre açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Literatürdeki çalışmalarda oluşturulan polimikrobiyal sepsis modellerinde farelerin peritoneal lavaj sıvısında nötrofil, monosit düzeyinin arttığı saptanmıştır (76). Çalışmamızda hem Sham-çok erken enfeksiyon, hem de Splenektomi-çok erken enfeksiyon gruplarında peritoneal lavaj sıvısında F4/80+ makrofajlarda CD80 ekspresyon düzeyinin arttığı izlense de, splenektomili ve splenektomisiz farelerde makrofajlarda CD80 açısından anlamlı fark görülmedi. Bakılan CD206 ekspresyonunda ise splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

Çalışmamızda splenektominin mortalite üzerine etkisi görülmedi. Splenektomili ve splenektomisiz gruplar arasında mortalite açısından fark saptanmadı. Bu bilgi literatürde olan bazı çalışmalarla uyumludur. Cristoph Lichtenstern ve arkadaşlarının insanlarda yaptığı çalışmada splenektomili ve splenektomisiz hastalarda mortalite açısından fark saptanmamıştır (67). Luis Sergio Nassif ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise peritonit oluşturulmuş splenektomize ratlarda mortalitenin daha yüksek olduğu görülmüştür (73).

6. SONUÇ

Çıkarımlar

1. Çalışmamızda periferik kan analizinde splenektomili ve splenektomisiz farelerde lökosit alt grupları ve lökosit yüzey belirteçleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

2. Peritoneal lavaj sıvısı incelmesinde splenektomili ve splenektomisiz farelerde lökosit alt grupları ve lökosit yüzey belirteçleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

3. Çalışmamızda intraabdominal enfeksiyonda splenektominin vücut ağırlığı ve vücut sıcaklığı üzerine etkisi görülmemiştir.

4. Bu çalışmada splenektominin mortalite üzerine etkisi görülmemiştir.

Sonuç: Farelerde yapılan bu deneysel çalışmada splenektominin intraabdominal enfeksiyonda vücut ağırlığı, vücut sıcaklığı, kan ve peritoneal lavaj sıvısı örneklerinde lökosit alt grupları ve CD80, CD206, F4/80 ile temsil edilen immün parametreler ve mortalite üzerine etkisi saptanmamıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Chishti AD, Shenton BK, Kirby JA, Baudouin SV. Neutrophil chemotaxis and receptor expression in clinical septic shock. *Intensive Care Med.* 2004;30(4):605-11.
2. Nolan A, Weiden M, Kelly A, Hoshino Y, Hoshino S, Mehta N, et al. CD40 and CD80/86 act synergistically to regulate inflammation and mortality in polymicrobial sepsis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177(3):301-8.
3. Allavena P, Chieppa M, Bianchi G, Solinas G, Fabbri M, Laskarin G, et al. Engagement of the mannose receptor by tumoral mucins activates an immune suppressive phenotype in human tumor-associated macrophages. *Clin Dev Immunol.* 2010;2010:547179.
4. Kumar V, Sharma A. Neutrophils: Cinderella of innate immune system. *Int Immunopharmacol.* 2010;10(11):1325-34.
5. Broche F, Tellado JM. Defense mechanisms of the peritoneal cavity. *Curr Opin Crit Care.* 2001;7(2):105-16.
6. Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, et al. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science.* 2009;325(5940):612-6.
7. Lopez N, Kobayashi L, Coimbra R. A Comprehensive review of abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2011;6:7.
8. Wittmann DH, Schein M, Condon RE. Management of secondary peritonitis. *Ann Surg.* 1996;224(1):10-8.
9. Holzheimer RG, Schein M, Wittmann DH. Inflammatory response in peritoneal exudate and plasma of patients undergoing planned relaparotomy for severe secondary peritonitis. *Arch Surg.* 1995;130(12):1314-9; discussion 9-20.
10. Marshall JC, Innes M. Intensive care unit management of intra-abdominal infection. *Crit Care Med.* 2003;31(8):2228-37.
11. Sass W, Bergholz M, Seifert J, Hamelmann H. [Splenectomy in adults and the OPSI (overwhelming postsplenectomy infection) syndrome]. *Dtsch Med Wochenschr.* 1984;109(33):1249-54.
12. Mazuski JE. Antimicrobial treatment for intra-abdominal infections. *Expert Opin Pharmacother.* 2007;8(17):2933-45.
13. Sartelli M, Catena F, Ansaloni L, Coccolini F, Corbella D, Moore EE, et al. Complicated intra-abdominal infections worldwide: the definitive data of the CIAOW Study. *World J Emerg Surg.* 2014;9:37.
14. Sartelli M, Weber DG, Ruppe E, Bassetti M, Wright BJ, Ansaloni L, et al. Antimicrobials: a global alliance for optimizing their rational use in intra-abdominal infections (AGORA). *World J Emerg Surg.* 2016;11:33.

15. Sartelli M, Chichom-Mefire A, Labricciosa FM, Hardcastle T, Abu-Zidan FM, Adesunkanmi AK, et al. The management of intra-abdominal infections from a global perspective: 2017 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2017;12:29.
16. Harris PN, Tambyah PA, Paterson DL. beta-lactam and beta-lactamase inhibitor combinations in the treatment of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae: time for a reappraisal in the era of few antibiotic options? *Lancet Infect Dis.* 2015;15(4):475-85.
17. Garbino J, Villiger P, Caviezel A, Matulionyte R, Uckay I, Morel P, et al. A randomized prospective study of cefepime plus metronidazole with imipenem-cilastatin in the treatment of intra-abdominal infections. *Infection.* 2007;35(3):161-6.
18. Sartelli M, Viale P, Catena F, Ansaloni L, Moore E, Malangoni M, et al. 2013 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2013;8(1):3.
19. Sartelli M, Weber DG, Ruppe E, Bassetti M, Wright BJ, Ansaloni L, et al. Erratum to: Antimicrobials: a global alliance for optimizing their rational use in intra-abdominal infections (AGORA). *World J Emerg Surg.* 2017;12:35.
20. Montravers P, Dupont H, Leone M, Constantin JM, Mertes PM, Societe francaise d'anesthesie et de r, et al. Guidelines for management of intra-abdominal infections. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2015;34(2):117-30.
21. Heizmann WR, Loschmann PA, Eckmann C, von Eiff C, Bodmann KF, Petrik C. Clinical efficacy of tigecycline used as monotherapy or in combination regimens for complicated infections with documented involvement of multiresistant bacteria. *Infection.* 2015;43(1):37-43.
22. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;62(4):e1-50.
23. V AM, C PM, S S, Srinivasarangan M. Efficacy of Mannheim Peritonitis Index (MPI) Score in Patients with Secondary Peritonitis. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(12):NC01-3.
24. Demmel N, Muth G, Maag K, Osterholzer G. [Prognostic scores in peritonitis: the Mannheim Peritonitis Index or APACHE II?]. *Langenbecks Arch Chir.* 1994;379(6):347-52.
25. Xiao Z, Wilson C, Robertson HL, Roberts DJ, Ball CG, Jenne CN, et al. Inflammatory mediators in intra-abdominal sepsis or injury - a scoping review. *Crit Care.* 2015;19:373.
26. Almeida AB, Faria G, Moreira H, Pinto-de-Sousa J, Correia-da-Silva P, Maia JC. Elevated serum C-reactive protein as a predictive factor for anastomotic leakage in colorectal surgery. *Int J Surg.* 2012;10(2):87-91.

27. Lindberg M, Hole A, Johnsen H, Asberg A, Rydning A, Myrvold HE, et al. Reference intervals for procalcitonin and C-reactive protein after major abdominal surgery. *Scand J Clin Lab Invest*. 2002;62(3):189-94.
28. Schroeder S, Hochreiter M, Koehler T, Schweiger AM, Bein B, Keck FS, et al. Procalcitonin (PCT)-guided algorithm reduces length of antibiotic treatment in surgical intensive care patients with severe sepsis: results of a prospective randomized study. *Langenbecks Arch Surg*. 2009;394(2):221-6.
29. Riche FC, Cholley BP, Panis YH, Laisne MJ, Briard CG, Graulet AM, et al. Inflammatory cytokine response in patients with septic shock secondary to generalized peritonitis. *Crit Care Med*. 2000;28(2):433-7.
30. Albayrak Y, Albayrak A, Celik M, Gelincik I, Demiryilmaz I, Yildirim R, et al. High mobility group box protein-1 (HMGB-1) as a new diagnostic marker in patients with acute appendicitis. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2011;19:27.
31. Yamanouchi S, Kudo D, Yamada M, Miyagawa N, Furukawa H, Kushimoto S. Plasma mitochondrial DNA levels in patients with trauma and severe sepsis: time course and the association with clinical status. *J Crit Care*. 2013;28(6):1027-31.
32. Copeland S, Warren HS, Lowry SF, Calvano SE, Remick D, Inflammation, et al. Acute inflammatory response to endotoxin in mice and humans. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12(1):60-7.
33. Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(10):854-65.
34. Redl H, Schlag G, Bahrami S. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. Edwin A Deitch. *Shock* 9(1):1-11, 1998. *Shock*. 1998;10(6):442-5.
35. Remick DG, Newcomb DE, Bolgos GL, Call DR. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture. *Shock*. 2000;13(2):110-6.
36. Ebong S, Call D, Nemzek J, Bolgos G, Newcomb D, Remick D. Immunopathologic alterations in murine models of sepsis of increasing severity. *Infect Immun*. 1999;67(12):6603-10.
37. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg*. 2001;88(1):22-30.
38. Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG, Kerby JD, Rue LW, 3rd, Bland KI, et al. Cecal ligation and puncture. *Shock*. 2005;24 Suppl 1:52-7.
39. Zantl N, Uebe A, Neumann B, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B, et al. Essential role of gamma interferon in survival of colon ascendens stent peritonitis, a novel murine model of abdominal sepsis. *Infect Immun*. 1998;66(5):2300-9.

40. Lustig MK, Bac VH, Pavlovic D, Maier S, Grundling M, Grisk O, et al. Colon ascendens stent peritonitis--a model of sepsis adopted to the rat: physiological, microcirculatory and laboratory changes. *Shock*. 2007;28(1):59-64.
41. Ahrenholz DH, Simmons RL. Fibrin in peritonitis. I. Beneficial and adverse effects of fibrin in experimental E. coli peritonitis. *Surgery*. 1980;88(1):41-7.
42. Dionigi R, Boni L, Rausei S, Rovera F, Dionigi G. History of splenectomy. *Int J Surg*. 2013;11 Suppl 1:S42-3.
43. Morgan TL, Tomich EB. Overwhelming post-splenectomy infection (OPSI): a case report and review of the literature. *J Emerg Med*. 2012;43(4):758-63.
44. Waldron DJ, Harding B, Duignan J. Overwhelming infection occurring in the immediate post-splenectomy period. *Br J Clin Pract*. 1989;43(11):421-2.
45. Wernick B, Cipriano A, Odom SR, MacBean U, Mubang RN, Wojda TR, et al. Temporal changes in hematologic markers after splenectomy, splenic embolization, and observation for trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2017;43(3):399-409.
46. Rab MAE, Meerveld-Eggink A, van Velzen-Blad H, van Loon D, Rijkers GT, de Weerd O. Persistent changes in circulating white blood cell populations after splenectomy. *Int J Hematol*. 2018;107(2):157-65.
47. Sipka S, Jr., Brath E, Toth FF, Aleksza M, Kulcsar A, Fabian A, et al. Cellular and serological changes in the peripheral blood of splenectomized and spleen autotransplanted mice. *Transpl Immunol*. 2006;16(2):99-104.
48. Howdieshell TR, Heffernan D, Dipiro JT, Therapeutic Agents Committee of the Surgical Infection S. Surgical infection society guidelines for vaccination after traumatic injury. *Surg Infect (Larchmt)*. 2006;7(3):275-303.
49. Immunisation against infectious disease: 1992 edition. *Commun Dis Rep CDR Wkly*. 1992;2(32):145.
50. Mourtzoukou EG, Pappas G, Peppas G, Falagas ME. Vaccination of asplenic or hyposplenic adults. *Br J Surg*. 2008;95(3):273-80.
51. Immunisation against infectious disease--1996 Edward Jenner Bicentenary Edition. *Commun Dis Rep CDR Wkly*. 1996;6(39):339.
52. Silva MT. When two is better than one: macrophages and neutrophils work in concert in innate immunity as complementary and cooperative partners of a myeloid phagocyte system. *J Leukoc Biol*. 2010;87(1):93-106.
53. Pieters J. MHC class II restricted antigen presentation. *Curr Opin Immunol*. 1997;9(1):89-96.
54. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood*. 2008;112(5):1557-69.

55. Tarlinton D, Good-Jacobson K. Diversity among memory B cells: origin, consequences, and utility. *Science*. 2013;341(6151):1205-11.
56. Lanier LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:225-74.
57. Williams MA, Bevan MJ. Effector and memory CTL differentiation. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:171-92.
58. Muller Kobold AC, Tulleken JE, Zijlstra JG, Sluiter W, Hermans J, Kallenberg CG, et al. Leukocyte activation in sepsis; correlations with disease state and mortality. *Intensive Care Med*. 2000;26(7):883-92.
59. Subauste CS, de Waal Malefyt R, Fuh F. Role of CD80 (B7.1) and CD86 (B7.2) in the immune response to an intracellular pathogen. *J Immunol*. 1998;160(4):1831-40.
60. Azad AK, Rajaram MV, Schlesinger LS. Exploitation of the Macrophage Mannose Receptor (CD206) in Infectious Disease Diagnostics and Therapeutics. *J Cytol Mol Biol*. 2014;1(1).
61. Matsui M, Shimizu Y, Kodera Y, Kondo E, Ikehara Y, Nakanishi H. Targeted delivery of oligomannose-coated liposome to the omental micrometastasis by peritoneal macrophages from patients with gastric cancer. *Cancer Sci*. 2010;101(7):1670-7.
62. Warschkau H, Kiderlen AF. A monoclonal antibody directed against the murine macrophage surface molecule F4/80 modulates natural immune response to *Listeria monocytogenes*. *J Immunol*. 1999;163(6):3409-16.
63. Hamann J, Koning N, Pouwels W, Ulfman LH, van Eijk M, Stacey M, et al. EMR1, the human homolog of F4/80, is an eosinophil-specific receptor. *Eur J Immunol*. 2007;37(10):2797-802.
64. Shih-Ching K, Choudhry MA, Matsutani T, Schwacha MG, Rue LW, Bland KI, et al. Splenectomy differentially influences immune responses in various tissue compartments of the body. *Cytokine*. 2004;28(3):101-8.
65. Timens W. The human spleen and the immune system: not just another lymphoid organ. *Res Immunol*. 1991;142(4):316-20.
66. Altamura M, Caradonna L, Amati L, Pellegrino NM, Urgesi G, Miniello S. Splenectomy and sepsis: the role of the spleen in the immune-mediated bacterial clearance. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2001;23(2):153-61.
67. Lichtenstern C, Zimmermann JB, Rahbari NN, Uhle F, Kerber S, Weismuller K, et al. Patients suffering due to complicated peritonitis may not benefit from splenectomy: clinical data from a retrospective study. *J Surg Res*. 2011;167(2):e345-55.
68. Nayci A, Cakmak M, Comelekoglu U, Renda N, Aksoyek S. The role of the spleen on colonic anastomotic healing. *J Invest Surg*. 2003;16(4):229-32.
69. Kono H, Fujii H, Ogiku M, Hara M, Tsuchiya M, Ishii K, et al. The Kupffer cell inhibition exacerbates but splenectomy prevents mortality in a rat septic peritonitis model. *J Surg Res*. 2012;175(1):101-12.

70. Yang H, Wang H, Czura CJ, Tracey KJ. The cytokine activity of HMGB1. *J Leukoc Biol.* 2005;78(1):1-8.
71. Li J, Wang H, Mason JM, Levine J, Yu M, Ulloa L, et al. Recombinant HMGB1 with cytokine-stimulating activity. *J Immunol Methods.* 2004;289(1-2):211-23.
72. Huston JM, Wang H, Ochani M, Ochani K, Rosas-Ballina M, Gallowitsch-Puerta M, et al. Splenectomy protects against sepsis lethality and reduces serum HMGB1 levels. *J Immunol.* 2008;181(5):3535-9.
73. Nassif LS, Repka JC, Nassif AC, Branco Filho AJ, Olandoski M. [Effects of splenectomy on peritonitis produced by a colonic injury: study in rats]. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2004;50(3):268-71.
74. Delano MJ, Kelly-Scumpia KM, Thayer TC, Winfield RD, Scumpia PO, Cuenca AG, et al. Neutrophil mobilization from the bone marrow during polymicrobial sepsis is dependent on CXCL12 signaling. *J Immunol.* 2011;187(2):911-8.
75. Egan CE, Sukhumavasi W, Bierly AL, Denkers EY. Understanding the multiple functions of Gr-1(+) cell subpopulations during microbial infection. *Immunol Res.* 2008;40(1):35-48.
76. Kuethe JW, Midura EF, Rice TC, Caldwell CC. Peritoneal wash contents used to predict mortality in a murine sepsis model. *J Surg Res.* 2015;199(1):211-9.