

Farklı uzunluktaki incebarsak rezeksiyonu ile kısa barsak sendromu oluşturulan sıçanlarda enteral glutaminin adaptasyona etkisi

Şenol GEDİK, Selçuk OTÇU, Hayrettin ÖZTÜRK, Nihal KILINÇ, Ali İhsan DOKUCU, Abdurrahman ÖNEN

Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Çocuk Cerrahisi, Diyarbakır, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ve Patoloji Anabilim Dalları, Diyarbakır. [Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi, Anabilim Dalı, Bolu, Şişli Etfal Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul]

Özet

Amaç: Bu çalışmada farklı uzunlukta incebarsak rezeksiyonu yapılarak kısa barsak sendromu (KBS) oluşturulan sıçanlarda adaptasyon sürecinde glutaminin etkileri araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 35 adet sıçan kullanıldı. Grup 1'deki (sham) sıçanlara sadece laparotomi uygulandı. Grup 2 ve grup 3'teki sıçanlara %65 incebarsak rezeksiyonu, grup 4 ve grup 5'teki sıçanlara %85 incebarsak rezeksiyonu yapılarak KBS oluşturuldu. Grup 3 ve grup 5'teki sıçanlara 2,5 g/kg/gün glutamin oral olarak 21 gün süresince verildi. Sıçanların kilo takibi yapıldı ve incebarsak biyopsileri alındı.

Bulgular: KBS oluşturulan sıçanların tümünde 1-6. günden itibaren belirgin olarak ishal ve kilo kaybı gelişti ($p<0.05$). Grup 3'teki sıçanlar ile grup 2 ve grup 4'teki sıçanlar arasında 18.günden sonra kilo artışı anlamlı idi ($p<0.05$). Villus yüksekliği, kript derinliği, mukozal kalınlık ve mitoz sayısında grup 3'teki değerler ile diğer grupların değerleri arasında belirgin fark vardı ($p<0.05$).

Sonuç: Daha az incebarsak rezeksiyonu uyguladığımız grup 3 sıçanlarda geriye kalan barsağın ve glutamin tedavisinin olumlu etkilerinin sonucu olarak daha iyi adaptasyon geliştiği inancındayız.

Anahtar kelimeler: Kısa barsak sendromu, adaptasyon, glutamin

Summary

The effect of enteral glutamine on adaptation process in short bowel syndrome induced rats through small intestinal resection of varied length

Aim: The purpose of the study was to determine the effect of glutamine on adaptation process in short bowel syndrome (SBS) induced rats through small intestinal resection of varied length.

Material and Method: A total of 35 rats were used in this study. Laparotomy alone was performed in group 1 rats (sham). Short bowel syndrome was induced by performing small intestinal resection of 65% in groups 2 and 3, and 85% in groups 4 and 5. Glutamine was orally administered at a dose of 2.5 g/kg/day in groups 3 and 5 for 21 days. The rats were followed-up in terms of weight, and small intestinal biopsies were taken at the end of the study.

Results: Significant diarrhea and weight loss developed in SBS induced rats between days 1-6 ($p<0.05$). Weight gain after 18th day of glutamine administration was significantly higher in group 3 compared to groups 2 and 4. In terms of villus height, crypt depth, mucosal thickness and mitosis count, there was a significant difference between group 3 and other groups in which resection alone was performed (groups 2 and 4).

Conclusions: In group 3 rats undergone less small bowel resection, we think that intestinal adaptation develops better in the remaining bowel due to the effect of glutamine.

Key words: Short bowel syndrome, adaptation, glutamine

Giriş

Kısa Barsak Sendromu (KBS) nekrotizan enteroko-

lit, volvulus ve intestinal atreziye bağlı farklı klinik tablolar ile ortaya çıkabilir. KBS'deki patolojik değişiklikler; intestinal emilim yüzeyi kaybı, ishal, kilo kaybı, steatore ve beslenme bozukluğuna neden olabilecek biçimde malabsorbsiyon ile karakterizedir (11,26).

Adres: Hayrettin Öztürk, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, 14280 Bolu
Yayına kabul tarihi: 15.3.2006

KBS olan hastalarda genellikle intestinal adaptasyonun göstergesi villus sayısının artışı ve buna bağlı olarak gelişen villus hiperplazisidir (16). Barsak mukozasında trofik etkilere sahip olan ve intestinal adaptasyonda etkisi olan birçok madde tanımlanmıştır; bunlar bombesin (4), transforming growth faktör-beta (8), epidermal growth faktör (3), growth hormon (21), insülin benzeri growth faktör (12) ve glutamindir (2).

Esansiyel olmayan bir amino asit olan glutamin enterositler, immün hücreler ve hızlı büyüyen dokular için kritik bir enerji kaynağıdır (22). Glutaminin eksikliğinde intestinal atrofi ve permeabilitede artış olur (14,27). Bundan dolayı kısa barsak durumunda intestinal mukozaya devamlı bir glutamin kaynağı gerekir (17,27).

Bu çalışmadaki amacımız; farklı uzunlukta incebarsak (İB) rezeksiyonu uygulayarak KBS oluşturduğumuz sıçanlarda, enteral glutaminin intestinal adaptasyondaki etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma protokolü Dicle Üniversitesi Araştırma Merkezi (DÜSAM) etik kurulu tarafından onaylandı. Çalışmada ortalama ağırlıkları 450 g (375-450 g) olan 35 adet erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Çalışma için sıçanlar 5 gruba ayrıldı. Grup 1 (n=7); Sham-kontrol grubu, grup 2 (n=7); % 65 İB rezeksiyonu uygulanan sıçanlar, grup 3 (n=7); % 65 İB rezeksiyonu + oral glutamin verilen sıçanlar, grup 4 (n=7); % 85 İB rezeksiyonu, grup 5 (n=7); % 85 İB rezeksiyonu + oral glutamin verilen sıçanlardan oluşturuldu. 60 mg/kg intramüsküler ketamin HCl anestezisi altında Sham-kontrol grubundaki sıçanlara sadece laparotomi uygulandı ve herhangi bir işlem yapılmadı. Diğer gruplarda farklı uzunlukta rezeksiyon yapıldı.

Grup 2 ve 3'teki sıçanlara % 65 ve Grup 4 ve 5'teki sıçanlara % 85 İB rezeksiyonu uygulandıktan sonra 6/0 vicryl ile tam kat olarak jejun-ileal anastomoz yapıldı (Resim 1,2). Tüm sıçanlara işlemden 24 saat sonra su, 48 saat sonra standart laboratuvar yemi verildi. Grup 3 ve 5'teki sıçanlara işlemden 72 saat sonra 2,5 gr/kg glutamin sularına katıldı. Sıçanların suları günlük olarak değiştirildi.

Resim 1. Rezeksiyon yapılan bağırsak miktarı.

Resim 2. Anastomoz öncesi kalan bağırsak miktarı.

Tüm sıçanlar 3 gün ara ile tartılıp kilo değerleri kaydedildi. İlk işlemden 21 gün sonra tüm sıçanların İB biyopsileri alındı. Sıçanların yaşamı yüksek doz tiyopental sodyum verilerek sonlandırıldı.

Histolojik inceleme için örnekler, 24 saat % 10 formalin içinde tespit edildikten sonra parafin bloklara dik olarak gömüldü ve transvers düzlemde 4 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-Eosin (H/E) ile boyama yapıldı.

Kesitlerde; villus yüksekliği, kript derinliği ve mukozal kalınlığı 10 X büyütmede, mitoz sayısı ise 40 X büyütmede hesaplandı. İki bağımsız grup arasında farklılığın ortaya çıkarılması için parametrik ANOVA (post hoc Scheffe) testi kullanıldı, p değeri 0.05'ten küçük olduğu zaman fark anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Grup 2 ve 3 sıçanlardan birer, Grup 4'de 2 ve Grup 5'de 1 sıçan işlemlerden sonra öldü. Bu sıçanların ye-

rine yeni sıçanlar dahil edilerek grup sayıları tamamlandı.

Tüm grupların 21 günlük takiplerinde elde edilen kilo değişimi Tablo I'de sunulmuştur. İnce barsak rezeksiyonu yapılan sıçanlarda 1. günden sonra sulu dışkılama ve kilo kaybı gelişmeye başladı. Gruplardaki sıçanların kilo değerleri istatistiksel olarak incelendiğinde, 6. günden sonra sham-kontrol grubu ile rezeksiyon yapılan gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p<0.05$). Grup 3'teki sıçanlar ile grup 2 ve grup 4'teki sıçanların kilo değerleri arasında 18. günden sonra anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Enteral gluta-

Resim 4. Glutamin sonrası sayıca artmış mitotik hücreler (H&E, 40 X büyütmede).

min verilen grup 5'teki sıçanlarda kilo artışı olmasına rağmen glutamin verilmeyen grup 2 ve grup 4'teki sıçanların kilo değerleri arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

Gruplar villus yüksekliği, mitotik hücrelerin sayısı, kript derinliği ve mukoza kalınlığı yönünden karşılaştırıldığında, grup 3 ile grup 2 ve 4'teki sıçanların villus yükseklik değerleri arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Ayrıca grup 5 ile grup 4'teki sıçanların yukarıda belirtilen histolojik değerleri arasında anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Grup 3 ile grup 5 arasında fark bulunamadı ($p>0.05$). (Tablo II, Resim 3,4,5).

Resim 3. Glutamin sonrası villuslarda uzama ve genişleme (H&E, 10 X büyütmede).

Tablo 1. Grupların yirmi bir günlük sürede kilolarının gram olarak ortalama değerleri.

	0. gün	3. gün	6. gün	9. gün	12. gün	15. gün	18. gün	21. gün
Grup 1	456±25	457±25	458±24	461±23	464±24	465±24	466±24	468±24
Grup 2	443±37	407±39	388±40*	369±35*	353±35*	339±36*	329±37*	319±37*
Grup 3	462±40	430±37	399±53*	383±46*	383±43*	390±44*	394±46†	398±47†
Grup 4	447±31	425±32	406±28*	386±20*	370±22*	356±19*	339±21*	325±18*
Grup 5	442±21	427±33	403±20*	387±24*	371±22*	367±23*	350±24	343±24

*: $P<0.05$ grup 1 ile karşılaştırıldığında.

†: $P<0.05$ grup 2 ve 4 ile karşılaştırıldığında.

Tablo 2. Grupların histopatolojik ölçümlerinin sonuçları.

	Villus Yüksekliği (µm)	Mitoz sayısı (100 kript)	Mukoza Kalınlığı (µm)	Kript Derinliği (µm)
Grup 1	257±44	6±1	635±37	132±38
Grup 2	257±67	10±0	721±95	190±20
Grup 3	557±60*	17±1*	942±88*	281±22*
Grup 4	262±50	10±1	728±69	195±26
Grup 5	421±56*‡	15±1*‡	790±74*‡	260±30*‡

*: $P<0.05$, grup 1 ve grup 2 ile karşılaştırıldığında.

‡: $P>0.05$, grup 4 ile karşılaştırıldığında.

Resim 5. Glutamin sonrası kriplerde derinleşme (H&E, 10 X büyütmede).

Resim 6. Kontrol grubunda villusların görüntüsü (H&E, 10 X büyütmede).

Resim 7. Kontrol grubundaki mitotik hücrelerin dağılımı (H/E, 40 X büyütmede).

Tartışma

İB'in anatomik ve/veya işlevsel uzunluğundaki yetersizliğin sonucu olarak ortaya çıkan KBS, hala klinik bir sorun olmaya devam etmektedir. Malabsorbsiyonun şiddeti rezeksiyon yeri ve uzunluğuna, ileoçekal valvin varlığı ya da yokluğuna, cerrahi sonrası adap-

tasyonun derecesine bağlıdır ⁽¹⁴⁾. KBS olan hastaların medikal tedavisinde genellikle üç amaç ön plana çıkmıştır. Akut dönemde sıvı tedavisi ve metabolik anormalliklerin düzeltilmesi, nütrisyonel destek ve adaptasyon sürecinin ilerletilmesi ⁽⁵⁾.

KBS'nda olumlu prognoz için anahtar rolü olduğu düşünülen villus hiperplazisi; luminal beslenme, pankreo-bilier sekresyonlar ve hormonal faktörlere bağlı olarak değişir ⁽⁹⁾. İB uzunluğunun % 50-60'nın rezeksiyonunundan sonra geriye kalan barsak mukozasındaki adaptasyonun İB'in işlevlerini korumada önemli bir oran olduğu bilinir. Masif İB rezeksiyonu uygulanan ve adaptif sürecin yetersiz kaldığı KBS'de rezidüel barsak uzunluğu ortalama % 10-25 arasındadır. Bu deneysel çalışmada değişik uzunlukta İB rezeksiyonu (% 65 ve % 85) yapılarak KBS oluşturuldu. KBS'lu sıçanlarda ishal, kilo kaybı gibi klinik bulgular ve histopatolojik olarak mukozaya hiperplazisi ortaya çıktı. Bu bulgular % 65 ve % 85 İB rezeksiyonu yapılan gruplarda hemen hemen benzerdi.

Glutaminin etkinliği, intestinal emilim ve trofik bozuklukların bulunduğu klinik ve deneysel çalışmalarda araştırılmıştır (19,24). Glutamin kan dolaşımında bulunan amino asitlerin yaklaşık % 20'sini oluşturur (24). Onun enterositlerin büyümesi ve enerji sağlanmasında primer kaynak olduğu düşünülür ve sodyum ve suyun transportunu artırır (23,28). Glutamin aynı zamanda dokular arasında nitrojen transportu, protein ve amino asit sentezinde önemli bir rol oynar ve lipidlerle beraber renal amonyak sentezi için önemli bir öncüdür (20). Glutaminin dışarıdan ek olarak sağlanmasının faydalı etkileri cerrahi stres, kemik iliği transportu, immun supresör tedaviler ve yanıklar gibi katabolik durumlarda ortaya çıkar ve bu etkiler mukozal bütünlüğün korunması, bakteri ve toksinlerin translokasyonunun önlenmesini içerir (6,15). Ayrıca hem klinik ve hem de deneysel çalışmalar büyüme hormonu ile birlikte glutamin ilavesinin intestinal emilimi artırdığı ve barsakta tropik etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (2). Bu deneysel çalışmada, Glutaminin yukarıda anlatılan olumlu etkileri göz önüne alınarak enterositlerin özellikle büyümesi ve enerji gereksiniminin anlamlı derecede arttığı KBS'li sıçanlarda çalışılması amaçlanmıştır.

Tannuri ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptıkları çalışmada oral glutamin desteğinin jejunal kriplerde olumlu değişiklikler yanında intestinal mukozada daha önceden var olan bozuklukları düzelttiği gözlemlendi (25). Buna karşın, Yang ve arkadaşları geniş intestinal rezeksiyon uygulanan sıçanlarda glutaminin enteral bolus tarzında verilmesi sonrası postoperatif 10. günde intestinal adaptasyonun ilerletilmesinde tatmin edici sonuçlar alınmadığını belirttiler (29). Deneysel çalışmalardan elde edilen bulguların cesaret verici etkisiyle, Darmaun ve arkadaşlarının KBS'lu erişkin ve çocuklarda yaptıkları çalışmalarda ilk defa glutamin turnover oranında bir azalma olduğunu rapor ettiler (7). Onlar hem erişkinlerde ve hem de çocuklarda İB'in glutamin kullanımı için bir hedef organ olduğunu ileri sürdüler. Barbosa ve arkadaşları çocuk yoğun bakımda mekanik ventilasyon uygulanan infantlarda glutaminin etkinliğini ve toleransını araştırdılar (1). Glutamin ilave edilen diyetle bakteriyel infeksiyon oranı (% 20) plaseboya kıyasla (% 80) daha iyi idi. Wu ve arkadaşları da akut dönemde glutaminin besinlerin emilimini artırdığını buldular (10). Çalışmamızda villus yüksekliği, mitotik aktivite, kript derinliği ve mukoza kalınlığında artış glutamin tedavisi

verdiğimiz gruplarda belirgindi. Bu sonuçlar tedavi vermediğimiz diğer deneysel gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı oranda artmıştı. Ayrıca % 65 İB rezeksiyonu uygulanan ve ek olarak glutamin tedavisi verdiğimiz grupta kilo alımı ve histopatolojik bulguların grup 5'e göre daha iyi olduğu saptandı. Grup 3 sıçanların adaptasyon sürecinin geriye kalan barsağın etkisi ve glutamin tedavisinin olumlu etkilerinin sonucu olarak daha hızlı geliştiği inancındayız.

Kaynaklar

1. Barbosa E, Moreira EA, Goes JE, Faintuch J: Pilot study with a glutamine-supplemented enteral formula in critically ill infants. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 54:21, 1999
2. Byrne TA, Persinger RL, Young LS, et al: A new treatment for patients with short bowel syndrome: growth hormone, glutamine and a modified fiber diet. *Ann Surg* 222:243, 1995
3. Chaet MS, Arya G, Ziegler MM, Warner BW: Epidermal growth factor enhances intestinal adaptation after massive small bowel resection. *J Pediatr Surg* 29:1035, 1994
4. Chu KU, Evers BM, Ishizuka J, et al: Role of bombesin on gut mucosal growth. *Ann Surg* 222:94, 1994
5. Collins By JB, Georgeson KE, Vicente Y, et al: Short bowel syndrome. *Semin Pediatr Surg* 4:60, 1995
6. Colomb V, Darcy VB, Jobert A, et al: Parenteral nutrition modifies glucose and glutamine metabolism in rat isolated enterocytes. *Gastroenterology* 112:429, 1997
7. Darmaun D, Messing B, Just B, et al: Glutamine metabolism after small intestinal resection in humans. *Metabolism* 40:42, 1991
8. Dignass AU, Podolsk DK: Cytokine modulation of intestinal epithelial cell restitution: central role of transforming growth factor-Beta. *Gastroenterology* 105:1323, 1993
9. Dowling RH : Small bowel adaptation and its regulation. *Scand J Gastroenterol Suppl* 74:53, 1982
10. Guo-Hao Wu, Zhao-Han Wu, Zhao-Guang Wu: Effects of bowel rehabilitation and combined trophic therapy on intestinal adaptation in short bowel patients. *World J Gastroenterol* 9:2601, 2003
11. Hofmann AF: Bile acid malabsorption cause by ileal resection. *Arch Int Med* 130:597, 1972
12. Huang KE, Chung DH, Hrnndon DN: Insulin-like growth factor I (IGF-1) reduces gut atrophy and bacterial translocation after severe burn injury. *Arch Surg* 128:47, 1993
13. Lentze MJ: Intestinal adaptation in short bowel syndrome. *Eur J Pediatr* 148:294, 1989
14. Nehra V, Camilleri M, Burton D, et al: An open trial of octreotide long-acting release in the management of short bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 96:1494, 2001
15. Noguchi Y, James H, Fischer JE, Hasselgren P: Increased glutamine consumption in small intestine epithelial cells during sepsis in rats. *Am J Surg* 173:199, 1997
16. Rodeberg DA, Chaet MS, Bass RC: Nitric oxide: an overview. *Am J Surg* 170:292, 1995
17. Sacks GS: Glutamine supplementation in catabolic pa-

tients. Ann Pharmacother 33:348, 1999

18. Sasaki K, Park JO, Bain A, et al: Glutamine protects function and improves preservation of small bowel segments. J Surg Res 73:90, 1997

19. Scolapio JS, McGreevy K, Tennyson GS, Burnett OL: Effect of glutamine in short-bowel syndrome. Clin Nutr 20:319, 2001

20. Shanbhogue LK, Molenaar JC: Short-bowel syndrome: metabolic and surgical management. Brit J Surg 81:486, 1994

21. Shulman DI, Hu CS, Duckett G, Lavalley-Grey M: Effects of short-term growth hormone therapy a rats undergoing 75% small intestinal resection. J Pediatr Gastroenterol Nutr 14:3, 1992

22. Sigalet DL, Mackenzie SL, Hameed SM: Enteral nutrition and mucosal immunity: implications for feeding strategies in surgery and trauma. Can J Surg 47:109, 2004

23. Souba WW, Herskowitz K, Salloum RM, et al: Gut glutamine metabolism. J Parenter Enteral Nutr 14(4 Suppl):45S, 1990

24. Stumvoll M, Perriello G, Meyer C, Gerich J: Role of glutamine in human carbohydrate metabolism in kidney and other tissues. Kidney Int 55:778, 1999

25. Tannuri Uenis, Carraza FR, Iriya K: The effects of glutaminesupplemented diet on the intestinal mucosa of the malnourished growing rat. Rev Hosp Clin Fac Med S. Paulo 55:87, 2000

26. Tilson DM: Pathophysiology and treatment of short bowel syndrome. Surg Clin North Am 60:1273, 1980

27. Wilmore DW: The effect of glutamine supplementation in patients following elective surgery and accidental injury. J Nutr 131:2543S, 2001

28. Wiren M, Adrian TE, Arnelo U, et al: Early gastrointestinal regulatory peptide response to intestinal resection in the rat is stimulated by enteral glutamine. Dig Surg 16:197, 1999

29. Yang H, Larsson J, Permert J, et al: No effect of bolus glutamine supplementation on the post resectional adaptation of small bowel mucosa in rats receiving chow ad libitum. Dig Surg 17:256, 2000

30. Zhou X, Li YX, Li N, Li JS: Glutamine enhances the gut-trophic effect of growth hormone in rat after massive small bowel resection. J Surg Res 99:47, 2001

Çocuk Cerrahisi Uzmanlarının ve Avrupa Board Sınavı'nın yazılı aşamasını başarı ile geçenlerin dikkatine:

1. Avrupa Çocuk Cerrahisi Board Sınavı'nın son ve sözlü olan aşaması 1-2 Kasım 2006 tarihlerinde (Çarşamba-Perşembe günleri) 08.³⁰-18.⁰⁰ saatleri arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilecektir.
2. İki kurumumuzun sertifikaya olması ve önceki yıllardan da bir üyemizin bu sınavlara sınav komisyonu üyesi kapsamında katılması nedeniyle sınavda Türk Çocuk Cerrahisi öğretim üyeleri de görevlendirilmişlerdir.
3. Bu nedenle yabancı dil konusunda sorunu olan adayların, sözel sınavdan çekinmesini gerektiren sakıncalar ortadan kalkmış olmaktadır.
4. Başvuruların, Eylül başına kadar ilk sınavdaki gibi UEMS Avrupa Çocuk Cerrahisi Board Sınavı ile ilgili başvuru bölümüne Sn. Bn. Rosemary Mackenzie'ye yapılması gerekmektedir(E posta: exam@paediatricsurgeryexam.org veya rosemary@irslmackenzie.freeserve.co.uk adresi kullanılabilir)
5. Bu sınavı takibeden 3 Kasım 2006 Cuma günü Avrupalı Meslektaşlarımızın da gözlemci olarak katılacakları Ulusal Çocuk Cerrahisi Yeterlilik Sınavı Sözlü Aşaması gerçekleştirilecektir. Bilindiği gibi Avrupa Board Sertifikası'na sahip olan meslektaşlarımız için ayrı bir ulusal sertifika alınması gerekliliği bulunmamaktadır.

Yeterlilik sınavlarına katılacak meslektaşlarımızın takvimlerinde bu konuyu işaretlemelerini ve sınavın Adana'da başlayacak Ulusal Kongre'den hemen önce olacağını anımsatır, çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Türkiye Çocuk Cerrahisi Yeterlilik Kurulu