

# Sialoadenektomi ve Geniş İnce Barsak Rezeksiyonu Uygulanan Ratlarda L-Glutaminin(L-GLT) Barsak Adaptasyonu Üzerine Etkisi

## THE EFFECT OF L-GLUTAMINE ON INTESTINAL ADAPTATION IN THE RATS AFTER SIALOADENECTOMY AND SMALL BOWEL RESECTION

Dr.Celalettin VATANSEV, Dr.Faruk AKSOY, Dr.Adil KARTAL,  
Dr.Sami BİLİCİ, Dr.Metin BELVİRANLI, Dr.Ömer KARAHAN

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi ABD, KONYA

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada; ratlarda iki taraflı submandibüler glandektomi (Sialoadenektomi) ile endojen Epidermal Büyüme Faktörünün(EBF) asıl kaynağı ortadan kaldırılarak L-Glutaminin sialoadenektomi sonrası oluşan mukozal atrofi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

**Durum Değerlendirmesi:** Barsak rezeksiyonu sonrası intestinal adaptasyon gelişmesinde lüminal besinler, endojen büyüme ve hormonal faktörler etkilidir. Lüminal besinler içinde L-Glutamin barsak mukozal hücreleri için önemli bir yakıt olup, mukozal atrofiyi önlemektedir.

**Materyal-Metod:** xx Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nde yapılan çalışmada 45 adet erkek rat sıvı diyete uyum için preoperatif 48 saat standart Total Parenteral Nutrisyon (TPN) solusyonu ile oral beslendi. Ratlar 15'er deneklik üç gruba ayrıldı.

1.Grup (Kontrol Grubu): Sham sialoadenektomi + Barsak rezeksiyonu + Oral TPN Solüsyonu

2.Grup (Glutaminsiz Grup): Sialoadenektomi + Barsak rezeksiyonu + Oral TPN Solüsyonu

3.Grup (Glutaminli Grup) : Sialoadenektomi + Barsak rezeksiyonu + Oral TPN Solüsyonu + L-Glutamin ( Gavaj)

Postoperatif 7.günde intestinal adaptasyon göstergelerinin incelenmesi için ratlar sakrifiye edildi.

**Çıkarımlar:** 3.grupta ortalama villus yüksekliği ve kript derinliği açısından 1.ve 2.gruba oranla anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ( $p=0,0001$ ). 2.grupta villus yüksekliği ve kript derinliğinde 1.gruba göre azalma anlamlıydı ( $p=0,0001$ ). Ortalama goblet proliferasyonu yönünden tüm gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ )

**Sonuçlar:** Sialoadenektomili ratlarda %50 ince barsak rezeksiyonu sonrası intestinal adaptasyonda gavajla verilen L-Glutaminin EBF gibi etkili ve değerli olduğu, mukozal atrofiyi önlediği, goblet hücre proliferasyonuna etkisi olmadığı gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Epidermal büyüme faktörü, L-Glutamin, ince barsak adaptasyonu, sialoadenektomi, ince barsak rezeksiyonu

### SUMMARY

Luminal foods, endogenous secretions and hormones are effective in the process of intestinal adaptation after intestinal resection. Submandibulary gland is the main source of EGF(Epidermal Growth Factor) in rats. Removal of the glands(Sialoadenectomy) will cause depletion of EGF in rats. The aim of this study was to investigate the effect of L-glutamine to compensate the effect of

sialoadenectomy during massive intestinal resection in rats. This study was performed in the Medical Research Center Of xx. Forty five rats were fed by mouth with TPN solution before 48 hours and for seven days after the operation. The rats were divided into 3 groups each of which included 15 rats. Group I: Sham sialoadenectomy+small bowel resection+oral TPN solution. Group II: Sialoadenectomy+small bowel resection+oral TPN solution. Group III: Sialoadenectomy+small bowel resection+oral TPN solution+ L-Glutamine. All rats were sacrificed at 7<sup>th</sup> day of the operation for the evaluation of intestinal adaptation. There was a significant increase in villous length and crypt depth, in group III when compared to Group I and II (p=0.0001). There was also a meaningful decrease in villous length and crypt depth in Group II compared to Group I (p=0.0001). There was no significant changes in goblet cell proliferation between the groups (p > 0.05). L-glutamine can prevent mucosal atrophy like EGF in rats with sialoadenectomy and small bowel resection.

**Keywords:** Epidermal growth factor, L-Glutamin, intestinal adaptation, sialoadenectomy, small bowel resection

Geniş ince barsak rezeksiyonundan sonra geride kalan barsakta adaptasyon mekanizmaları devreye girer. Bunun sonucunda sayıları artmadan villuslar uzarken, enterositlerin sayıları ve yenilenme hızları artar (1,2).

Barsak adaptasyonunda lümen içi besinler, iç salgılar ve hormonlar etkilidir (3,4,5,6). Bunların arasında L-Glutamin(L-GLT) ile epidermal büyüme faktörü(EBF)'nin özel bir yeri vardır. Glutamin ve EBF'nin sonuç olarak ince barsak rezeksiyonu sonrası barsak adaptasyonunda yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (7,8,9,10,11). Yapılan hayvan çalışmalarıında sialoadenektomi (Submandibuler glandektomi) sonrasında endojen EBF'nin plazma seviyelerinde ileri derecede azalma ve rezeksiyon sonrası ince barsak adaptasyon gücünde zayıflama olduğu gösterilmiştir (12). Çalışmamızda, ratlarda bilateral submandibüler glandektomi (Sialoadenektomi) yapılarak endojen EBF'nin asıl kaynağı ortadan kaldırıldı ve geniş ince barsak rezeksiyonu uygulandı. Postoperatif dönemde beslenmeye eklenen L-GLT'in EBF'nin eksikliğini gidermedeki etkinliği, barsak atrofisini hangi düzeyde önlediği veya barsak adaptasyonuna katkısı araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD tarafından Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmada 250-300 gr. ağırlığında Wistar-Albino türü 45 erkek rat kullanıldı.

Özel kafeslerde barındırılan ratlar ameliyattan önce 48 saat süre ile 21 °C'de sıvı diyetle alıştırmak ve beslenmenin üniform (İzokalorik-izonitrojenik) olmasını sağlamak amacıyla standart total parenteral nütrisyona (TPN) solüsyonu [(Aminosteril

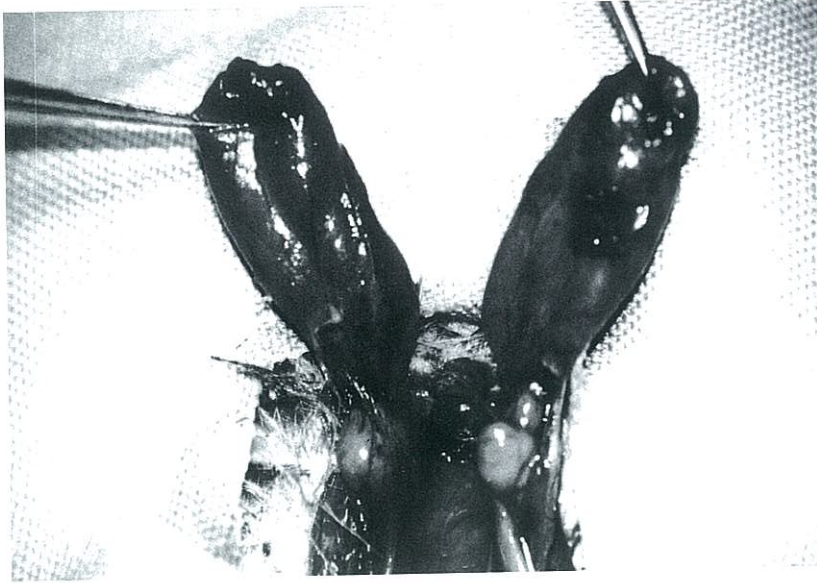
L 400 (Fresenius AG) 1,5g nitrojen/kg/gün + %30'luk hipertonic glukozdan 100 kcal/kg/gün)] (13) ile oral beslendi. Her deneğe 200 cc/gün içme suyu ayrı şişede verildi. Ratlar üçüncü gün 15'er deneklik 3 guruba ayrıldı.

- 1.Grup(Kontrol grubu): Sham Sialoadenektomi + Barsak rezeksiyonu + Oral TPN solüsyonu
- 2.Grup: Sialoadenektomi + Barsak rezeksiyonu + Oral TPN solüsyonu
- 3.Grup:Sialoadenektomi + Barsak rezeksiyonu + Oral TPN solüsyonu + Gavaj ile L-GLT

Tüm gruplardaki ratlar 80 mg/kg/İM ketamin HCL ile uyutuldu. Karın ve servikal bölgeler tıraş edildikten sonra steril şartlarda 2 cm'lik transvers kesi ile submandibuler tükrük bezleri bulundu (Resim 1). Birinci grupta(Kontrol) bezler bulunduktan sonra amaçsız manüple edildi. Submandibüler kesi kapatıldıktan sonra deneklere 3 cm'lik median kesi ile laparotomi yapıldı. Treitz ligamentinin 5cm distalinden itibaren 30 cm'lik barsağın mezosu bağlanıp kesilerek % 50 proksimal ince barsak rezeksiyonu uygulandı. Enteroenterostomi 6/0 polyglactin 910 (Vicryl) ile tek planda yapıldı. Karın 4/0 polypropylen ile devamlı tarzda dikildi.

İkinci grupta submandibuler bezler diseke edildikten sonra ilgili kanalları 6/0 ipekle bağlandı ve bilateral olarak çıkartıldı. Daha sonra kontrol grubunda olduğu gibi % 50 proksimal ince barsak rezeksiyonu eklendi. Üçüncü gruptaki deneklere ikinci grup ratlarda yapılan girişimlerin aynısı uygulandı.

Operasyon günü deneklere 10 ml/gün derialtına Isolyte M(0.28gr Na asetat,0.15gr KCl + 0.13gr K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0.09 NaCl, 0.021gr Nabisülfite/100ml) solüsyonundan verildi. Postoperatif birinci gün oral verilen standart TPN solüsyonu ile beslen-



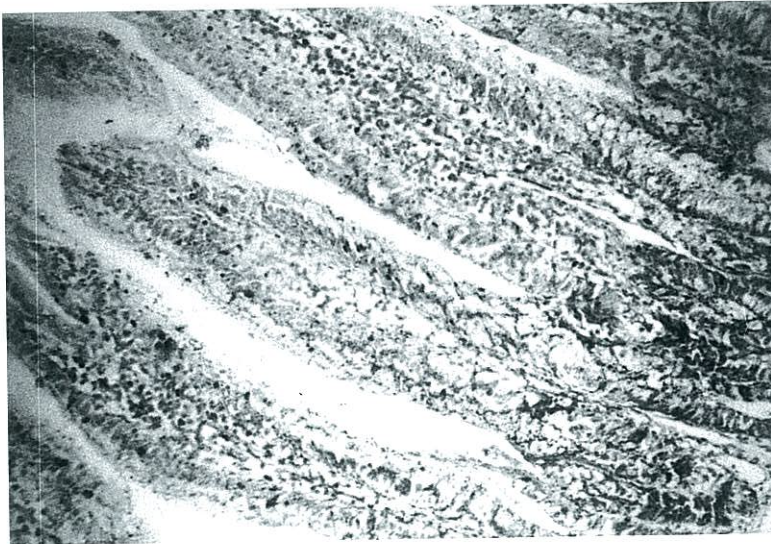
**Resim 1:** Prepare edilmiş submandibuler tükürük bezleri

meye başlandı ve 7 gün devam edildi. Üçüncü guruba 7 gün süre ile gavajla günde iki defa 12'şer saat ara ile L-GLT verildi. Denekler gün aşırı tartıldı. Klinik durumları, oral TPN solüsyonu ve L-GLT'i tolere etmeleri (Diare, kusma) yönünden değerlendirildi. Postoperatif 7.günde ratlar sakrifiye edildi. Anastomozdan sonraki ilk 7 cm'lik ince barsak segmenti çıkartıldı. Histolojik olarak değerlendirildi. Bunun için doku örnekleri %10'luk nötral formaldehitte tutuldu. Daha sonra hazırlanan parafin bloklardan en az 6 adet 5'er mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen eozinle boyandı. Kript derinliği, villus boyu ve goblet hücre sayısı değerlendirildi.

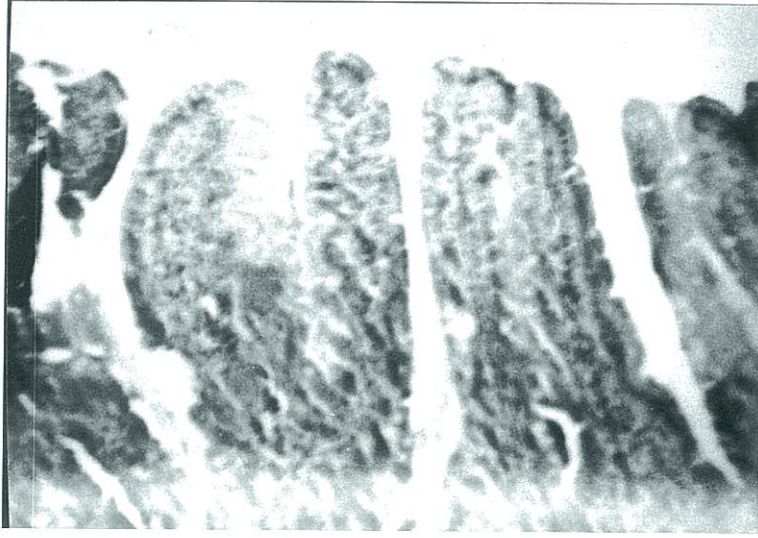
İstatistiksel değerlendirme nonparametrik varyans analizi olan Kruskal-Wallis testi (tek yönlü varyans analizi) kullanılarak yapıldı. Hangi grubun farklı olduğunu belirlemek için ikişer ikişer grupları karşılaştıran Bonferroni düzeltmeli Man-Whitney-U testi uygulandı. Villus ile kript derinliği arasındaki ilişkiyi belirlemek için Spearman korelasyon testi kullanıldı.

#### BULGULAR

Postoperatif dönemde deneklerin tümünde defekasyon sıklığında artış ve minimal kilo kaybı (%5-10) oldu. Kontrol gurubundaki bir denekte



**Resim 2:** Glutaminsiz grupta villus yapılarında atrofik görüntü (H-EX10)



**Resim 3:** *Glutaminli grupta mukozal atrofi, villus boyu ve kript derinliğinde artış (H-E X 10)*

uykuya meyil, beslenmeye isteksizlik görüldü ve postoperatif 1.gün kaybedildi. İkinci guruptan bir denekte tüylerinde dökülme, kusma ve beslenme yetersizliği görüldü ve 4. gün kaybedildi. Ölüm sebepleri batin içi kanama ve intestinal tıkanma olarak saptandı. Bu ikisi dışında tüm denekler hareketli ve beslenmeye istekliydi.

Postoperatif 7. gün sakrifiye edilen deneklerin rezeke edilen barsak segmentinin makroskopik degerlendirmesinde 1. ve 3. grupta normal görünümlü mukozaya karşı 2.gurupta (Glutaminsiz grup) belirgin atrofik mukoza olduğu görüldü.

İkinci grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kript derinliğinde belirgin bir azalma ( $p = 0,0001$ ), yine mukoza villus boylarında ve prizmatik epitel hücrelerinin yüksekliğinde net bir kısalma ( $p = 0,0001$ ) olduğu görüldü (Resim 2). Üçüncü grupta (Glutaminli) kript derinliğindeki artışın hem kontrol grubundan hem 2. gruptan iyi olduğu gözlemlendi ( $p = 0,001$ ) (Resim 3).

3. gurupta (Glutaminli) kript derinliği ve villus boylarında görülen artış istatistiksel bakımdan anlamlı iken goblet hücrelerindeki artış 2. ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

Tablo 1 ve 2 de grupların villus yüksekliği ve

kript derinliğine göre karşılaştırması görülmektedir.

## TARTIŞMA

Ratlarda yapılan çalışmalara göre geniş ince barsak rezeksiyonlarından sonra endojen EBF geride kalan ince barsağın adaptasyonunda önemli rol oynamaktadır (11,14,15,16). Yine ratlarda barsak rezeksiyonundan sonra dışardan (lüminal veya sistemik) eklenen EBF'nin adaptasyonu artırdığı gösterilmiştir (12,17,18). EBF aynı zamanda hGF ile kullanıldığında rezeksiyon yapılan ratlarda proksimal ve distal barsakta glukoz, glutamin, lösin ve argininin emilimini artırmıştır (11,19).

Deneyssel olarak yapılan sialoadenektomi serum EBF seviyelerinde düşüğe ve bu nedenle barsak rezeksiyonundan (%50) sonra barsak adaptasyonunda yetersizliğe yol açmaktadır (12).

Çalışmamızda eksojen EBF'nin de eklendiği ayrıca bir dördüncü grup teşkil edilerek bunun barsak adaptasyonunda oluşturacağı sonuçlar daha net bir şekilde gösterilmek istendi. Ancak hem EBF'nin ve hem de serum düzeyi tayininde kullanılacak kitlerin yüksek maliyeti bundan vazgeçmemize yol açtı. EBF'nin barsak adaptasyonu üzerindeki deneyssel sonuçları bildirilmiş olduğu için bu

**TABLO 1: GRUPLARIN VILLUS BOYUNA GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI**

Gruplar	Denek sayısı	Maksimum boy ( $\mu$ )	Minimum boy ( $\mu$ )	Ortalama $\pm$ SS boy ( $\mu$ )
Kontrol grubu	14	569	498	535.43 $\pm$ 24.54
Glutaminsiz grup	14	563	285.48	386.42 $\pm$ 69.5
Glutaminli grup	15	860	602	704.85 $\pm$ 84.35

**TABLO 2: GRUPLARIN KRİPT DERİNLİĞİNE GÖRE KARŞILAŞTIRILMASI**

Gruplar	Denek sayısı	Maksimum boy (μ)	Minimum boy (μ)	Ortalama ±SS boy (μ)
Kontrol grubu	14	205	160	180.43±14.98
Glutaminsiz grup	14	145	82.4	107.71±16.4
Glutaminli grup	15	263	150	189.42±34.88

önemli bir eksiklik yaratmadı. Öte yandan Sham sialoadenektomili (Kontrol) grubu her ne kadar EBF düzeyi bilinmese de endojen EBF'li kabul edildi.

Çalışmamızda sialoadenektomi yapılarak geride kalan distal ince barsak üzerinde EBF'nin trofik etkisini ortadan kaldırmış oldu. Çünkü deneklerin tükrükleri sialoadenektomi nedeniyle EBF'den yoksun kalmaktadır. Bunun yerini tutacağını düşündüğümüz L-GLT'in deneysel çalışmalarda mukozal atrofiyi önlediği gösterilmiştir (20,21) Enteral yolla verilen glutaminin ratlarda barsak rezeksiyonu sonrasında düzenleyici peptidlerin (EBF, insülin-like growth faktör, transforming growth faktör-alfa vb.) portal plazma değerlerini artırarak adaptasyonda etkili olduğu görülmüştür (22). L-GLT trofik etkisini belirgin olarak postoperatif 5. ve 7. günlerde göstermektedir. Çalışmamızda bu nedenle ratlar 7. günde sakrifiye edilmiştir.

L-GLT'in ince barsaklar üzerindeki olumlu etkisi bilindiği halde sialoadenektomili ratlarda nasıl bir etki oluşturacağı çalışmamızın odak noktasını teşkil etti. Sialoadenektomi ve barsak rezeksiyonlu ratlarda barsak adaptasyonu üzerinde çeşitli faktörlerin etkisi incelenmesine karşın L-GLT'in EBF yokluğunda barsaklar üzerinde nasıl bir etki yapacağı literatür bilgileri arasında yer almamaktadır. Çalışmamızda gavajla verdiğimiz L-GLT'in mukozal atrofiyi önlediği enterosit proliferasyonunu artırdığı gözlenmiştir. L-GLT'li guruptaki sonuçların glutaminsiz guruptan hatta kontrol gurubundan (EBF'li kabul edildi) daha iyi olması L-GLT'in barsaklar üzerindeki olumlu etkisinin kanıtıydı.

Literatürde çalışmamıza bir yönüyle benzerlik arzeden ve L-GLT'in ileum mukozası için önemli bir yakıt, EBF'nin ise kuvvetli bir mitojen hormon olduğu belirtilen çalışmada (23) EBF (subkütan) ve L-GLT (TPN solüsyonunda) tek tek ve birlikte uygulanmıştır. Bu çalışmada ince barsak ve kolon mukozasının her iki ajanla proliferasyonu birlikte kullanıldığında birbirinin etkisini artırdığı ortaya konmuştur. Ancak çalışma sialoadenektomi yapılmadığı ve ekzojen EBF ile TPN uygulanması ne-

deniyle çalışmamızdan ayrılmaktadır.

Çalışmada kullandığımız standart TPN solüsyonunun gavajla verilmesi sayesinde bir yandan denekler kontrollü olarak izokalorik ve izonitrojenik beslenirken öte yandan sıvı L-GLT'in bekletilerek etkisiz hale gelmesinin önüne geçilmiştir. Ayrıca 2. ve 3. guruplar sialoadenektomili olduğundan katı gıdalar verilmesi halinde gıdaların ıslatılarak yumuşatılması ve kaygan hale getirilmesi söz konusu olmayacağından beslenme problemi yaratacağı. Bu nedenle de oral TPN solüsyonu endikasyonu doğmuştur.

Çalışmamızda goblet hücresi yönünden guruplar arasında fark görülmemesi verilen oral solüsyonla açıklanabilir. Bu solüsyonlar lifli gıda taşımadığı için barsakta mukus sekrete eden goblet hücreleri üzerinde yeterli uyarıcı etki oluşturmadığı kanısındayız.

Sonuç olarak sialoadenektomili ve %50 ince barsak rezeksiyonlu ratlarda barsak adaptasyonunda zayıflama olmaktadır. Gavajla verilen L-GLT, EBF gibi mukozal atrofiyi önlemektedir. Kısa barsak sendromunda, prematür bebeklerde veya kullanmama atrofisi gelişen hastalarda L-GLT'den zengin beslenme kript derinliğinde ve villüs yüksekliğinde artışa yol açarak adaptasyonu hızlandırmaktadır.

#### KAYNAKLAR

1. Dowling RH, Hosomi M, Stace NH, Lirussi F, Miazza B, Levan H, Murphy GM: Hormones and polyamines in intestinal and pancreatic adaptation. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1985; 112: 84-95.
2. Pegg AE, McCann PP: Polyamine metabolism and function. *Am J Physiol* 1982; 243: 212-221. Review.
3. Williamson RC, Buchholtz TW, Malt RA: Humoral stimulation of cell proliferation in small bowel after transection and resection in rats. *Gastroenterology* 1978; 75: 249-254.
4. Sumikawa M, Nishimura O, Koga S: The effects of diet on the residual small intestine following massive resection *Jpn J Surg* 1988; 18: 308-315
5. Erwin CR, Helmrath MA, Shin CE, Falcone RA,

- Stern LE, Warner BW: Intestinal overexpression of EGF in transgenic mice enhances adaptation after small bowel resection. *Am J Physiol* 1999; 277: 533-540.
6. Baksheev L, Fuller PJ: Humoral factors in intestinal adaptation. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11:401-405.
  7. Souba WW, Herskowitz K, Austgen TR, Chen MK, Salloum RM: Glutamine nutrition: theoretical considerations and therapeutic impact. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990; 14: 237-243. Review.
  8. Daughaday WH, Health E: Physiological and possible clinical significance of epidermal and nerve growth factors. *Clin Endocrinol Metab* 1984;13:207-226. Review.
  9. Waitzberg DL, Cukier C, Mucerino DR, Logulo AF, Torrinhas RS, de Castro I: Small bowel adaptation with growth hormone and glutamine after massive resection of rat's small bowel. *Nutr Hosp* 1999;14: 81-90.
  10. Schwartz MZ, Kato Y, Yu D, Lukish JR: Growth-factor enhancement of compromised gut function following massive small-bowel resection. *Pediatr Surg Int* 2000;16:174-175.
  11. Iannoli P, Miller JH, Ryan CK, Gu LH, Ziegler TR, Sax HC: Epidermal growth factor and human growth hormone accelerate adaptation after massive enterectomy in an additive, nutrient-dependent, and site-specific fashion. *Surgery* 1997; 122: 721-728.
  12. Helmrath MA, Shin CE, Fox JW, Erwin CR, Warner BW: Adaptation after small bowel resection is attenuated by sialoadenectomy: the role for endogenous epidermal growth factor. *Surgery* 1998; 124: 848-854.
  13. Kartal A, Dilsiz A, Kaymakçı A, Yol S, Duman S, Aktan M: Ratlarda defonksiyone inçe barsak segmenti üzerinde rekombinant human growth hormonu, çinkosülfat ve L-Glutamin'in trofik etkileri. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 1997; 13: 301-307.
  14. O'Loughlin E, Winter M, Shun A, Hardin JA, Gall DG: Structural and functional adaptation following jejunal resection in rabbits: effect of epidermal growth factor. *Gastroenterology* 1994; 107: 87-93.
  15. Read LC, Ford WD, Filsell OH, McNeil J, Ballord FJ: Is orally-derived epidermal growth factor beneficial following premature birth or intestinal resection? *Endocrinol Exp* 1986; 20: 199-207.
  16. Shin CE, Falcone RA, Duane KR, Erwin CR, Warner BW: The distribution of endogenous epidermal growth factor after small bowel resection suggests increased tissue utilization during adaptation. *J Pediatr Surg* 1999; 34 :22-26.
  17. Goodlad RA, Savage AP, Lenton W, Ghatei MA, Gregory H, Bloom SR, Wright NA: Does resection enhance the response of the intestine to urogastrone-epidermal growth factor in the rat? *Clin Sci* 1988; 75: 121-126.
  18. Chaet MS, Arya G, Ziegler MM, Warner BW: Epidermal growth factor enhances intestinal adaptation after massive small bowel resection. *J Pediatr Surg* 1994; 29: 1035-1039.
  19. Hardin JA, Chung B, O'loughlin EV, Gall DG: The effect of epidermal growth factor on brush border surface area and function in the distal remnant following resection in the rabbit. *Cut* 1999; 44: 26-32.
  20. Souba WW, Klimberg VS, Plumley DA, Salloum RM, Flynn TC, Bland KI, Copeland EM: The role of glutamin in maintaining a healthy gut and supporting the metabolic response to injury and infection. *J Surg Res* 1990, 48: 383-391.
  21. van der Hulst RR, van Kreel BK, von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, Soeters PB: Glutamine and preservation of gut integrity. *Lancet* 1993, 341: 1363-1365.
  22. Wiren M, Adrian TE, Arnelo U, Permert J, Staab P, Larsson J: Early gastrointestinal regulatory peptide response to intestinal resection in the rat is stimulated by enteral glutamine supplementation. *Dig Surg* 1999;16: 197-203.
  23. Jacobs DO, Evans DA, Mealy K, O'Dwyer ST, Smith RJ, Wilmore DW: Combined effects of glutamine and epidermal growth factor on the rat intestine. *Surgery* 1988; 104: 358-364.

**YAZIŞMA ADRESİ:**

Dr.Faruk AKSOY  
S.Ü.Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD,  
Akyokuş, KONYA