

ARAŞTIRMA YAZISI

Parsiyel hepatektomi uygulanmış sıçanlarda enteral glutaminin karaciğer rejenerasyonu, karaciğer fonksiyonları ve bakteriyel translokasyona etkisi

The effect of enteral glutamine on hepatic regeneration, hepatic functions and bacterial translocation in rats following partial hepatectomy

Hikmet Aktaş*, A.Sadık Kılıçturgay*, Ersin Öztürk*, Özgen Işık*, İbrahim Şehitoğlu**

Amaç: Majör karaciğer rezeksiyonu sonrasında glutamin ile enteral nütrisyondan karaciğer rejenerasyonu, fonksiyonları ve bakteriyel translokasyona etkilerini araştırmak.

Gereç ve Yöntem: Otuz adet dişi Wistar Albino sıçan 3 gruba ayrıldı: 1. Shem Grubu (n=10); laparotomi sonrası karaciğer ortaya konup karın kapatıldı ve takiben sıçanlara 7 gün süre ile standart yem ve su verildi. 2. Kontrol Grubu (n=10); %70 hepatektomi uygulanan sıçanlara 7 gün süre ile standart yem ve su verildi. 3. Deney Grubu (n=10); %70 hepatektomi uygulanan sıçanlara 7 gün süre ile standart yem ve suya ek olarak 0,5 gr/kg/gün glutamin orogastrik sonda ile verildi. Sıçanlar yedinci gün sakrifiye edildi. Karaciğer rejenerasyonunu ve enterosit proliferasyonunu değerlendirmek için karaciğer ve ince bağırsaktan doku örnekleri alındı ve Ki-67 immün boyama ile değerlendirildi. Sistemik kan örneklerinde AST/ALT çalışıldı. Bakteriyel translokasyonu değerlendirmek için portal venden kan, mezenterik lenf nodülü, karaciğer, dalak ve akciğerden doku örnekleri alındı. Gruplar arası üçlü değerlendirmeler için Kruskal-Wallis, ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U test kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

Bulgular: Karaciğer Ki-67 proliferasyon indeksi (Pİ) gruplar arasında anlamlı farklılık gösteriyordu. Deney grubunda kontrole göre ($p < 0,001$), kontrol grubunda sheme ($p < 0,05$) göre yüksekti. İnce bağırsak Ki-67 Pİ deney grubunda diğerlerine göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0,01$). AST/ALT değerleri ve bakteriyel translokasyon açısından üç grup arasında fark yoktu.

Sonuç: Glutamin ile enteral nütrisyondan majör karaciğer rezeksiyonu sonrasında karaciğer rejenerasyonunu olumlu yönde etkilediği gözlemlenmiştir. Ancak, bakteriyel translokasyona herhangi bir etkisi saptanamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer rejenerasyonu, glutamin, bakteriyel translokasyon, hepatik rejenerasyon, hepatektomi, karaciğer rezeksiyonu

*Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, Bursa, Türkiye
**Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Bursa, Türkiye

Dr. Ersin Öztürk
E-posta: drozturk@uludag.edu.tr

Makale Geliş Tarihi: 17.08.2010
Makale Kabul Tarihi: 07.09.2010

GİRİŞ

Karaciğer, fiziksel ve kimyasal hasarlanmaya karşı rejenerasyon yeteneği olan bir organdır. Parsiyel hepatektomi sonrası sıçanlarda remnant karaciğer kütlesi 48 saatte ikiye katlanır ve 7-10. günde ise karaciğer, optimal fonksiyonel hacme ve kitleye ulaşır (1,2). Rejenerasyonu etkileyecek olumsuz faktörler olmadığında karaciğer %75-80 rezeksiyonu rahatlıkla tolere edebilir (45). Ancak karaciğerin rejenerasyon yeteneği birçok faktörden etkilenir (3,4). Nütrisyonel durum ve portal

dolaşım yoluyla karaciğere ulaşan mikroorganizmaların varlığı rejenerasyonu olumsuz yönde etkileyen faktörlerden bazılarıdır (5-8).

Klinik ve deneysel çalışmalarda, majör karaciğer rezeksiyonundan sonra, enterik bakterilerin mezenterik lenf nodüllerine, sistemik dolaşıma ve diğer organlara transloke olabildiği bildirilmiştir (5). Sıçanlarda %50'lik karaciğer rezeksiyonu sonrası bakteriler yerel mezenterik lenf nodüllerine yayılırken, %70'lik ve %90'lık karaciğer rezeksiyonlarında ise ek olarak sistemik kan dolaşımına

Tablo 1. Çalışma bulgularının özeti.

	Shem grubu	Kontrol grubu	Deney grubu	p
İslak ağırlık (gr)	-	5,9 (5,8-6,2)	6,4 (6,1-7,1)	<0,01*
KC Ki-67 Pİ (%)	0,6 (0,4-1,4)	1,5 (0,4-3)	10,2 (3-16,8)	0,001#
İB Ki-67 Pİ (%)	35,9 (22,4-50,8)	38,1 (26,6-44,6)	60 (36,4-64,4)	0,001#
AST (IU/ml)	169 (134-195)	182,5 (133-410)	156 (102-344)	>0,05
ALT (IU/ml)	82 (58-112)	99,5 (44-159)	78,5 (58-102)	>0,05
Kültürde üreme	6	6	5	>0,05
KC: Karaciğer. *Mann-Whitney U test.	Pİ: Proliferasyon indeksi. #: Kruskal Wallis test	İB: İnce barsak		

ve akciğer, dalak, karaciğer, böbrek gibi uzak organlara transloke olurlar (5,9,10). Bakteriyel translokasyon, bağırsağın bariyer görevinin ortadan kalkması sonucu bağırsak içindeki canlı veya ölü bakteriler ile bunların toksik ürünlerinin karaciğer, dalak, mezenterik lenf nodülleri (MLN) ve sistemik dolaşıma yayılması olarak tanımlanmaktadır (11).

Stres durumunda esansiyel duruma geçen bir aminoasit olan glutaminin, bakteriyel translokasyon ve karaciğer rejenerasyonu üzerine etkileri ile ilgili daha önce farklı çalışmalar yayımlanmıştır (5,16,17). Ancak, enteral glutamin uygulamasının bakteriyel translokasyon ve karaciğer rejenerasyonuna etkisini, bu iki durumun etkileşimlerini göz önünde bulundurarak irdeleyen fazla çalışma bildirilmemiştir. Bu nedenle, bu çalışmada deneysel majör karaciğer rezeksiyonu sonrası enteral olarak uygulanan glutaminin karaciğer rejenerasyonu, fonksiyonları ve bakteriyel translokasyon üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Modeli

Çalışma için Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 21.04.2009 tarih, 05/4 karar numaralı izni alınmıştır. Çalışmanın finansman desteği Ulu-

dağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından sağlanmıştır (Proje No: 2009/4).

Deneyimizde aynı yaş ve yaklaşık ağırlıkta (250-300 g) 30 adet dişi Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Çalışmadan 2 saat önce standart diyet kesilerek sıçanların sadece su almalarına izin verildi. Günlük değişen rejeneratif cevabın etkisine engel olmak için cerrahi işlemler günün ilk yarısında yapıldı.

Denekler her grupta 10 sıçan olacak şekilde shem, kontrol ve deney grubu olmak üzere toplam 3 gruba randomize edildi.

- Sham Grubu (n=10): Shem grubundaki sıçanlara laparotomi sonrası karaciğer ve ince bağırsak mezenteri ortaya kopup karın kapatıldı.
- Kontrol Grubu (n=10): Bu gruptaki sıçanlara laparotomi sonrası parsiyel hepatektomi uygulanıp karın kapatıldı.
- Deney Grubu (n=10): Deney grubundaki sıçanlara da laparotomi sonrası parsiyel hepatektomi uygulanıp karın kapatıldı.

Cerrahi Teknik

Anestezi 40 mg/kg Ketamin HCl (Ketalor) ve 50 mg/kg Ronpun ile sağlandı.

Povidin iyod ile saha temizliğini takiben sıçanlara 2,5 cm uzunluğundaki orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Higgins ve Anderson (1) tarafından tanımlanan parsiyel hepatektomi modeline göre karaciğer sol anterior ve median loblarının pedikülleri, koroner, sol lateral ve gastrohepatik ligamentler serbestleştirildikten sonra 4/0 ipek ile bağlanıp kesilerek %70 hepatektomi yapıldı (Şekil 1, 2). Hepatektomi sonrası geride kalan karaciğer dokusu kanama ve konjesyon açısından kontrol edildi. Karın içine 10 mm'lik %0,9'luk serum fizyolojik solüsyonu verilerek karın orta hattı 4/0 ipek kullanılarak iki sıra sürekli dikişlerle kapatıldı (Şekil 1).

Cerrahi işlemden 6 saat sonra sıçanlara oral gıda başlandı. Sham grubundaki ve kontrol grubundaki sıçanlar standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Deney grubundaki sıçanlara ise standart laboratuvar yemi ve çeşme suyuna ek olarak 7 gün boyunca, 0,5 gr/kg/gün glutamin (Research Glutamin®, Nestle, Osthofen, Almanya) orogastrik sonda ile sabahları bir kez verildi.

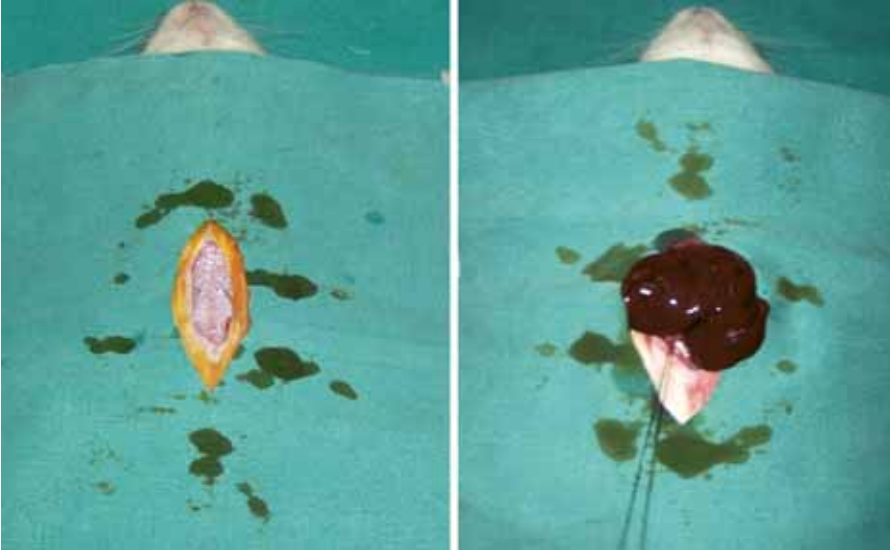
Her üç gruptaki sıçanlar cerrahi işlemden sonra 7. gün 40 mg/kg ketamin HCl ile anestezi sonrası sakrifiye edildi. Biyokimyasal analiz için sıçanlardan intrakardiyak 3 ml kan numunesi alındı. Mikrobiyolojik değerlendirme için ek olarak sıçanların portal veninden 2 ml kan alındı. Ayrıca sıçanların karaciğer, dalak, akciğer ve mezenterik lenf nodüllerinden doku örnekleri alındı. Shem grubunda karaciğer, kontrol ve deney grubunda ise remnant karaciğer eksize edildi (Şekil 2).

Morfolojik Değerlendirme

Kontrol ve deney grubunda makroskopik olarak remnant karaciğer dokusundaki kitle artışı ortaya koymak amacıyla

Tablo 2. Doku kültürleri ve üreyen bakteriler.

Grup	Mezenter	Portal ven	Karaciğer	Akciğer	Dalak
Shem	• Enterococcus Fecalis • Escherichia Coli • Streptococcus sanguis	• Enterobacter Cloacae • Enterococcus Fecalis	• Enterococcus Faecium • Enterobacter Cloacae (2) • Lactococcus lactis ssp.	• Escherichia Coli (2) • Enterobacter Cloacae (3)	• Enterobacter Cloacae(2) • Escherichia Coli
Kontrol	• Escherichia Coli • Enterococcus fecalis • Enterobacter Cloacae • Stafilococcus lugdunensis • Enterobacter aerogenes	• Escherichia Coli • Enterobacter Cloacae (2) • Stafilococcus lugdunensis • Enterobacter aerogenes(2)	• Escherichia Coli • Enterobacter Cloacae (2) • Stafilococcus lugdunensis • Enterobacter aerogenes(2)	• Escherichia Coli • Enterococcus fecalis • Enterobacter Cloacae • Stafilococcus lugdunensis • Enterobacter aerogenes	• Escherichia Coli • Enterobacter Cloacae • Stafilococcus lugdunensis • Enterobacter aerogenes
Deney	• Enterobacter Cloacae (2)	• Enterobacter Cloacae (2) • Escherichia Coli • Enterococcus Fecalis	• Enterobacter Cloacae (2) • Escherichia Coli • Enterococcus Fecalis	• Enterobacter Cloacae (3) • Escherichia Coli • Enterococcus Fecalis	• Enterobacter Cloacae • Enterococcus Fecalis



Şekil 1. Median laparotomi ve %70 hepatektomi görünümü.

la eksize edilen karaciğer dokusunun ıslak ağırlıkları ölçülerek kayıt edildi.

İmmünohistokimyasal (İHK) Boyama Yöntemi

İmmünohistokimyasal değerlendirme Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji laboratuvarında yapıldı. Alınan doku örnekleri histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlanmış formalinde tespit edildi. İHK boyama yöntemi olarak streptoavidin-biotin boyama tekniği kullanıldı. Çalışmaya alınan olguda Ki-67 ekspresyonunu belirlemek amacı ile parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığında hazırlanan kesitler 'Poly-L-Lysine' li lamlara alındı. Ki-67 (SP6

(Neomarkers, USA) kullanıma hazır tavşan monoklonal antikoru ile immünohistokimyasal boyama prosedürü uygulandı. Ki-67 boyanma paterni değerlendirilirken Wintzer ve ark.(17)'nin yöntemi esas alındı. Değerlendirmeye alınan lamalar üzerinde 400 büyük büyütme alanında 500 hücre sayıldı. Tüm preparatlar aynı patolog tarafından değerlendirildi. Karaciğer ve bağırsak dokusunda Ki-67 boyanması gösteren hücrelerin sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı.

Biyokimyasal Değerlendirme

Biyokimyasal değerlendirme Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bi-

yokimya laboratuvarlarında yapıldı. Tüm sıçanlardan, intrakardiyak olarak alınan kan örneklerinde aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) düzeyleri ölçüldü.

Mikrobiyolojik Değerlendirme

Portal venden alınan 2 ml kan örneği pediatrik bactec hemokültür şişelerine konuldu. Bakteriyel translokasyonu değerlendirmek amacıyla mezenterik lenf nodülleri, karaciğer, dalak ve akciğerden kültür için doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri önceden steril edilmiş 5 cm büyüklüğünde poşetlere ayrı ayrı kondu. Örnekler steril poşet içerisinde ezilerek olabildiğince ince parçalandı ve 1 cc steril serum fizyolojik ile sulandırılarak homojenize edildi. Homojenize edilerek elde edilen süspansiyondan 1/100'lük steril öze yardımı ile kanlı agar ve Mac Conkey agar besiyerlerine yaygın ekim yapıldı. Tüm besiyerleri 35-37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Üreme olan kültürlerdeki bakterilerin gram özellikleri ve identifikasyonları yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 13.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında gruplar arasındaki farklılığın incelenmesinde Kruskal Wallis testi, farklılığı oluşturan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

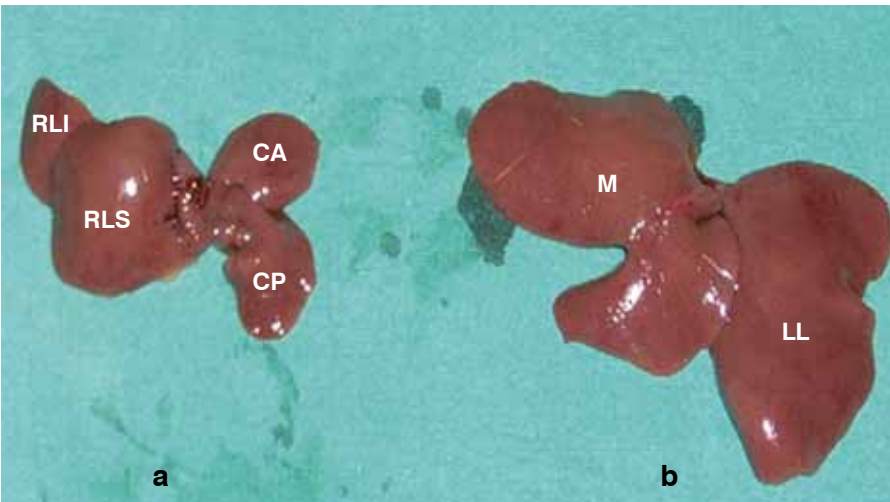
Deneye 30 sıçanla başlandı, sham grubunda ölüm olmazken, kontrol grubunda 2 ve deney grubunda 2 adet olmak üzere toplam 4 adet ölüm, ilk 24 saat içinde hemorajiye bağlı olarak gelişti. Toplam denek sayısını 10'a tamamlamak için her iki gruba da 2 yeni sıçan eklendi ve çalışma 30 sıçanla tamamlandı.

Morfolojik Analiz

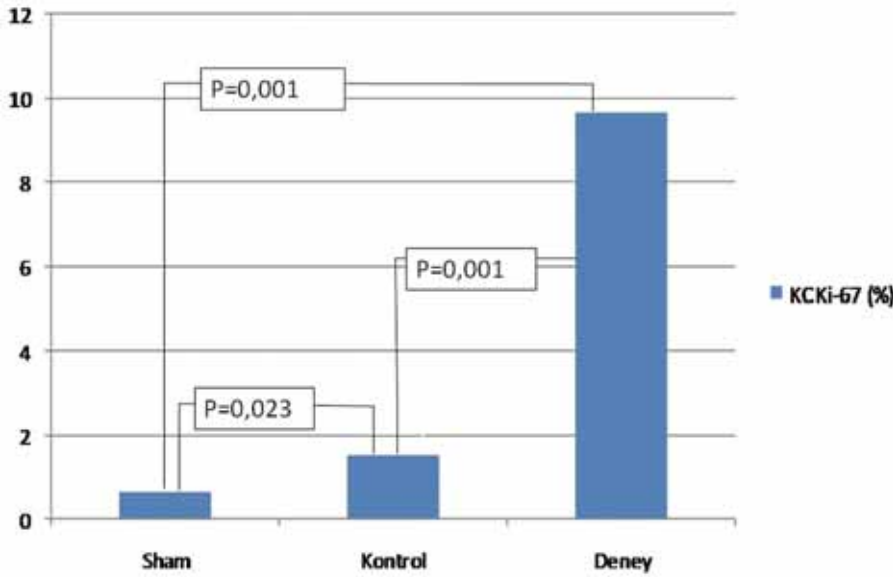
Kontrol grubunda ıslak remnant karaciğer ağırlığı ortanca 5,9 (5,8-6,2) g iken deney grubunda ortanca ıslak ağırlık 6,4 (6,1-7,1) gramdı (p<0,01) (Tablo 1).

İmmünohistokimyasal Analiz

Karaciğer Ki-67 Pİ sham grubuna göre kontrol (p=0,023) ve deney (p<0,001) grubunda belirgin olarak yüksekti. Deney grubu Ki-67 Pİ kontrol grubu değerine göre anlamlı olarak yüksekti (p<0,001) (Tablo 1, Şekil 3).



Şekil 2. Remnant karaciğer ve eksize edilen sol, anterior ve median loblar.



Şekil 3. Sham-Kontrol-Deney gruplarının karaciğer Ki-67 profilasyon indeksi.

İnce bağırsak Ki-67 Pİ açısından sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ($p>0,05$), deney grubunda ince bağırsak Ki-67 Pİ kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0,001$) (Tablo 1, Şekil 4).

Biyokimyasal Analiz

İstatistiksel olarak 3 grup arasında AST ve ALT düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu (Tablo 1, Şekil 5).

Mikrobiyolojik Analiz

Her 3 grup için alınan tüm doku ve kan örneklerinde istatistiksel olarak üreme açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Ancak akciğer doku kültürü dışında tüm

doku ve kan örneklerinde kontrol grubundaki deneklerde daha fazla sayıda üremeye rastlanmıştır (Tablo 1).

Kan ve doku kültürlerinde en sık Enterobacter Cloacae, Escherichia Coli ve Enterococcus Fecalis üremiştir (Tablo 2).

TARTIŞMA

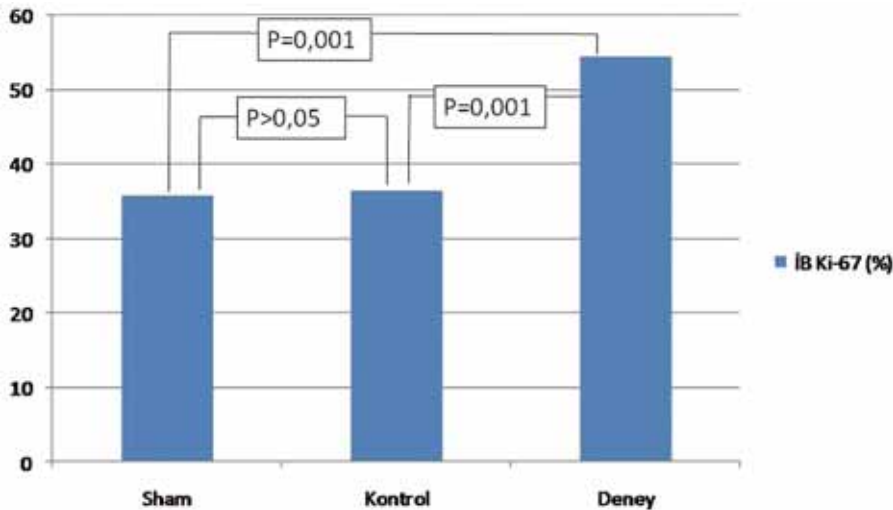
Karaciğer rezeksiyonu sonrası glutamin ile enteral nütrisyonun karaciğer rejenerasyonu, karaciğer fonksiyonları ve bakteriyel translokasyon üzerine etkisini incelediğimiz çalışmamızda, enteral glutaminin karaciğer rejenerasyonunu olumlu yönde etkilediğini ve ince barsak prolife-

rasyonunu arttırdığını saptadık. Ancak, enteral glutaminin karaciğer fonksiyonları üzerine etkisini yorumlamak için yeterli veriye ulaşamadık. Glutaminin ince barsak proliferasyonunu artırıcı etkisine rağmen bakteriyel translokasyon üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisini gözlemlemedik. Fakat glutamin verilen grupta akciğer dışındaki doku ve ayrıca portal venden kan örneklerinde daha az sayıda üremeye rastlanması bize glutaminin bakteriyel translokasyon üzerine olumlu etkisi olabileceğini, ancak deney yönteminin bunu yansıtmada yetersiz kalmış olabileceğini düşündürmüştür.

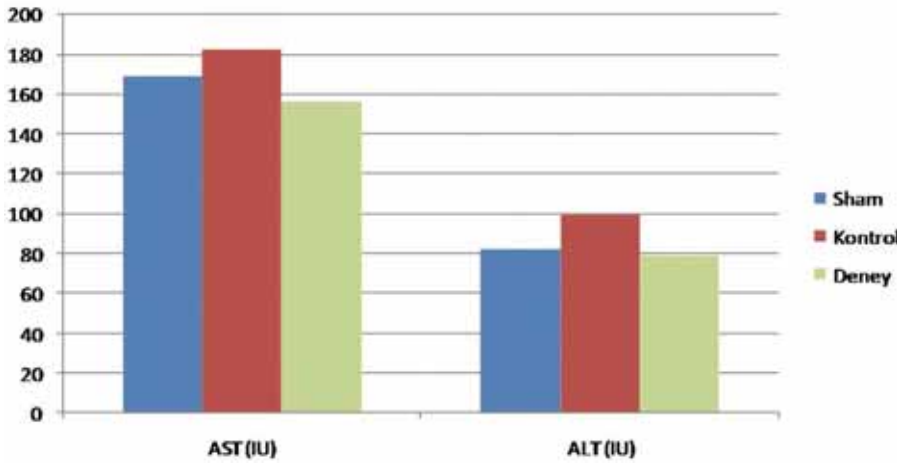
DeneySEL çalışmalarda glutaminin karaciğer hücre proliferasyonu için gerekli enerji kaynağını oluşturduğu, karaciğer rejenerasyonunu tetikleyen ve güçlendiren çeşitli faktörleri kapsayan intestinal protein sentezini arttırdığı ve intestinal hücrelerin sayılarının korunmasını ve protein sentezinin artımını sağlayarak bakteriyel translokasyonu ve endotoksin üretimini azalttığı gösterilmiştir (12-14, 18,19).

Sagakuchi ve ark. (20) sıçanlarda yaptıkları çalışmada %70 hepatektomi yapılan grupta Ki-67 yüzdelilerinin 48 saatte pik yaptığı ve 7. günde %10'un altına indiğini göstermişlerdir. Hâlbuki bizim çalışmamızda 7. günde glutamin verilen grupta karaciğer Ki-67 Pİ diğer gruplara göre belirgin olarak yüksekti ($p<0,001$). Ito ve ark.(15)'nin köpeklerde hepatektomi sonrası glutaminin karaciğer rejenerasyonuna etkisini araştırdığı çalışmada intravenöz glikoz + glutamin infüzyonu verilmiş olan hepatektomili grupta S fazında olan hepatosit sayısı, sadece glikoz infüzyonu alan ve glikoz + standart aminoasit infüzyonu alan diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek saptamışlardır. Glutamin desteği alan grupta glutaminin enterositlerde emiliminin arttığı, buna bağlı olarak metaboliti olan alaninin portal venöz kandaki konsantrasyonunun arttığı ve alaninin remnant karaciğerde yeni glikoz üretiminde kullanıldığını belirtmişlerdir. Glutamin infüzyonu alan hepatektomili grupta S fazındaki hepatosit sayısının diğer gruplara göre yüksek çıkması, glutaminin remnant karaciğerde rejenerasyonu anlamlı derecede artırdığı şeklinde yorumlanmıştır.

Yoshida ve ark. (18) çalışmalarında %70 hepatektomi sonrası, glutamin ile desteklenmiş parenteral nütrisyon uyguladıkları deneklerde, standart parenteral nütrisyon uygulanan deneklere göre ka-



Şekil 4. Sham-Kontrol-Deney gruplarının ince bağırsak (İB) Ki-67 profilasyon indeksi.



Şekil 5. Sham-Kontrol-Deney gruplarının AST ve ALT değerleri (IU).

raciğer ıslak ağırlığı ile hesaplanan karaciğer rejenerasyon oranlarının anlamlı olarak daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Yine Passos de Jesus Mazza ve ark. (21) yaptıkları çalışmada, makroskopik olarak bakıldığında glutamin alan grupta hepatik büyüme oranı almayan gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum glutamin alan hayvanlarda remnant karaciğer ağırlığının ameliyat öncesi karaciğer ağırlığına daha yakın olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bizim çalışmamızda da glutamin ile desteklenen deney grubundaki sıçanların 7. gün sonunda elde edilen remnant karaciğer dokusu ıslak ağırlıklarının kontrol grubundaki sıçanlara göre anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Makroskopik olarak karaciğer kitlesindeki artışın glutamin verilen sıçanlarda anlamlı olarak fazla olması ve yine glutamin grubunda Ki-67 Pİ'nin diğer iki gruba göre yüksek olması glutaminin rejenerasyonu arttırdığının göstergesidir.

Glutaminin karaciğer fonksiyonları üzerine etkisini araştırmak için deneklerin sistemik AST ve ALT seviyeleri ölçülmüştür. Serum transaminazlarının hepatosit hasarını göstermede duyarlılığının çok yüksek olduğu, etiyolojik faktörden bağımsız olarak karaciğer hasarının sürdüğü müddetçe seviyelerinin yüksek kaldığı bilinmektedir (22). Özellikle ALT artışı karaciğerde hücre yıkımını gösteren en güvenilir parametrelerden birisidir. Ancak biz çalışmamızda gruplar arasında AST ve ALT düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptamadık. Fakat metodolojimizde göz ardı ettiğimiz nokta

karaciğer hasarının rezeksiyonu takiben 72. saatte düzeldiği gerçeğiydi (23). Biz ölçümlemimizi 7. gün yaptığımız için glutaminin karaciğer rezeksiyonu sonrası karaciğer fonksiyonları üzerine etkisi konusunda yeterli veri elde edilememiştir.

Gastrointestinal sistemin en önemli fonksiyonlarından biri de intestinal bariyer fonksiyonu olarak adlandırılan lümen içerisindeki antijenler ve mikroorganizmalara karşı bir bariyer oluşturabilme yeteneğidir. Bu bariyerin bozulması bakteriyel translokasyon olarak bilinen ve canlı bakteri ile ürünlerinin mezenterik lenf nodülleri ve uzak organlara geçişi ile karakterize tablo ile sonuçlanır (9-11). Grant ve ark. (19) çalışmalarında glutaminin enterositler için en önemli enerji kaynağı olduğunu, mukozal bütünlüğü koruyarak endotoksemi ve translokasyon oranlarını azalttığını bildirmişlerdir.

Wang ve ark. (9) parsiyel hepatektomi sonrası mezenterik lenf nodüllerinde cerrahi takiben 2 saat sonra bakteri tespit edildiğini bildirmişlerdir. İntestinal fonksiyonların bozulması, portal hemodinamde değişiklikler, salınan ürünler, intestinal yüzeye bakteriyel adezyon ve kan akımı değişiklikleri gibi bir dizi faktörlerin bu süreci hızlandırdığını belirtmişlerdir. Hem Ypsilantis ve ark. (24), hem de Woodcock ve ark. (25) yaptıkları deneysel çalışmalarda, azalmış safra üretim ve sekresyonunun bağırsaklardaki bakteri popülasyonunu artırıcı yönde etki göstermesini parsiyel hepatektomi sonrası bakteriyel translokasyonu kolaylaştıran bir unsur olarak ifade etmişler-

dir. Bu çalışmalarda safra üretimindeki azalma hepatektomi sonrası kalan karaciğer parenkiminde ciddi inflamasyon ve orta derecede hepatoselüler dejenerasyona bağlanmıştır. Yine Zülfiaroğlu ve ark. (26) deneysel tıkanma sarılığı oluşturarak farklı immünonütriyon ürünleri ile zenginleştirilmiş (arjinin+omega3 yağ asitleri+RNA deriveleri, glutamin) enteral diyet verilen gruplarda bakteriyel translokasyonun standart ürünler ile beslenen gruplara göre anlamlı olarak az olduğunu göstermişlerdir.

Glutaminin enterositler ve immün hücreler için primer enerji kaynağı olmasının yanında, epitel hücre proliferasyonunu arttıran intestinal atrofiyi önlediği, sekretuar IgA seviyesini ve müsin üretiminin artışı ile intestinal mukozal yüzeye bakteri adezyonunu azalttığı pek çok çalışmada belirtilmiştir. Bunun sonucu olarak bakteriyel translokasyonu azalttığı gösterilmiştir (20, 26-28).

Bizim çalışmamızda, glutamin verilen grupta ince bağırsak Ki-67 Pİ diğer iki gruba göre belirgin olarak yüksekti ($p < 0,001$). Bu da glutaminin enterosit proliferasyonunu artırıcı etkinliğini bir kez daha ortaya koymaktadır. Ancak bu proliferatif etkiyi gözlemlememize rağmen, çalışmamızda her üç grup arasında kültürde üreme açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmaması ($p > 0,05$), bakteriyel translokasyon üzerinde birden çok mekanizmanın etkisi olabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgular glutaminin bakteriyel translokasyona herhangi bir etkisinin olmadığını öne süren çalışmalar ile paralellik göstermektedir (28-32). Bununla birlikte, çalışmamızda hem kan hem de tüm doku örneklerindeki üreme olan kültür sayılarının deney ve sham gruplarında birbirine yakın olması, buna karşın kontrol grubunda daha fazla üreme saptanmış olması, glutaminin bakteriyel translokasyona etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Yukarıda bahsettiğimiz gibi istatistiksel olarak anlamlılık olmaması translokasyonun multifaktöryel olabilme ihtimalinden kaynaklanabileceği gibi, denek sayısının azlığından da kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak, enteral glutamin uygulaması majör karaciğer rezeksiyonu sonrası karaciğer rejenerasyonunu olumlu yönde etkilemekte ve ince bağırsaklarda hücre proliferasyonunun devam etmesine yardımcı olmaktadır.

SUMMARY

The effect of enteral glutamine on hepatic regeneration, hepatic functions and bacterial translocation in rats following partial hepatectomy

Purpose: The effects of enteral glutamine on bacterial translocation and hepatic regeneration have been investigated in this study.

Materials and Methods: Thirty female Wistar-Albino rats were divided into three groups: 1. Sham Group (n=10); laparotomy followed by liver exploration, was performed and then abdomen was closed. For the following 7 days, the rats were fed with standard food and water. 2. Control group (n=10); following 70% hepatectomy, the rats were fed with standard food and water for 7 days. 3. Trial group (n=10) following 70% hepatectomy, the rats were fed with standard food and water for 7 days and in addition with 0.5gr/kg/day glutamine via orogastric catheter. On the 7th day, the rats were sacrificed. Hepatic regeneration and enterocyte proliferation were evaluated by tissue Ki-67 immune-histochemistry. To evaluate the macroscopic hepatic growth rate, the wet weight of remnant liver tissue was measured. Serum AST\ALT were measured. Bacte-

rial translocation was evaluated by blood samples taken from portal vein and, tissue samples from mesenteric lymph nodes, liver, spleen and lungs. Group values were compared using Kruskal-Wallis (for comparison of three groups) or Mann-Whitney U tests (for comparison of two groups). $P < 0,05$ was accepted as significant.

Results: Liver Ki-67 proliferation index (PI) showed significant difference between groups ($p=0,001$). It was higher in the trial group when compared with the control group ($p < 0,01$). It was also higher in the control group when compared with the sham group ($p < 0,05$). Small intestine Ki-67 PI was significantly higher in the trial group than other groups ($p < 0,01$). The weight of remnant liver tissue was significantly higher in the trial group than in the control group ($p < 0,01$). AST\ALT levels and bacterial translocation rates were comparable between groups.

Conclusion: Positive effects of enteral glutamine supplementation on hepatic regeneration was observed. However, no effect was noted on liver functions or bacterial translocation.

Key Words: Liver regeneration, glutamine, bacterial translocation, hepatic regeneration, hepatectomy

KATKIDA BULUNANLAR

Çalışmanın düşünülmüş ve planlanması:
A.Sadık Kılıçturgay, Hikmet Aktaş

Verilerin elde edilmesi:

Hikmet Aktaş, Özgen Işık, İbrahim Şehitoğlu

Verilerin analizi ve yorumlanması:

Ersin Öztürk, A.Sadık Kılıçturgay,
Hikmet Aktaş, İbrahim Şehitoğlu

Yazının kaleme alınması:

Hikmet Aktaş, Ersin Öztürk, A.Sadık Kılıçturgay

İstatistiksel değerlendirme:

Ersin Öztürk

KAYNAKLAR

- Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following surgical removal. Arch Pathol 1931;12:186-206.
- Grisham JW. A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver; autoradiography with thymidine-H3. Cancer Res 1962;22:842-849.
- Van den Broek MA, Olde Damink SW, Dejong CH et al. Liver failure after partial hepatic resection: definition, pathophysiology, risk factors and treatment. Liver Int 2008;28:767-780.
- Kooby DA, Fong Y, Suriawinata A et al. Impact of steatosis on perioperative outcome following hepatic resection. J Gastrointest Surg 2003;7:1034-1044.
- Wang XD, Andersson R, Soltesz V, Bengmark S. Bacterial translocation after major hepatectomy in patients and rats. Arch Surg 1992;127:1101-1106.
- Seehofer D, Stockmann M, Schirmeier A et al. Intraabdominal bacterial infections significantly alter regeneration and function of the liver in a rat model of major hepatectomy Langenbecks Arch Surg 2007; 392:273-284.
- Shigetani H, Nagino M, Kamiya J et al. Bacteremia after hepatectomy: an analysis of a single-center, 10-year experience with 407 patients. Langenbecks Arch Surg 2002;387:117-124.
- Doyle M, Wilson RB, Hartroft WS. The effect of starvation on liver regeneration in rats after partial hepatectomy. Exp Mol Pathol 1968;9:400-404.
- Wang XD, Parsson H, Andersson R et al. Bacterial translocation, intestinal ultrastructure and cell membrane permeability early after major liver resection in the rat. Br J Surg 1994;81:579-584
- Wang XD, Soltesz V, Andersson R, Bengmark S. Bacterial translocation in acute liver failure induced 90 per cent hepatectomy in the rat. Br J Surg 1993;80:66-67
- Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF et al: The process of microbial translocation. Ann Surg 1990; 212: 496-510.
- Berber İ, Gürleyik E, Gürleyik G, Gürler N, Bilgiç L. Obstrüktif iktelerde oluşan bakteriyel translokasyon üzerine glutamin ve sodyum deoksikolat'ın etkileri. Ulusal Cerrahi Dergisi 1996;12: 409-414.
- Katmer T, Erbil Y, Önder H ve ark. Total parenteral beslenmede bakteriyel translokasyon ve glutamin kullanımı. Ulusal Cerrahi Dergisi 1994;10:193-199 .
- Vatansav C, Aksoy F, Kartal A ve ark. Sialoadenektomi ve geniş ince barsak rezeksiyonu uygulanan ratlarda l-glutaminin (l-glt) barsak adaptasyonu üzerine etkisi. Ulusal Cerrahi Dergisi 2001;17:220-225.
- Ito A, Higashiguchi T. Effects of glutamine administration on liver regeneration following hepatectomy. Nutrition 1999;15:23-28.
- Kuru B, Dinc S, Altinok G, Aksoz T et al. Effect of different enteral nutrients on bacterial translocation in experimental obstructive jaundice. Eur Surg Res 2004;36:45-52.
- Wintzer HO, Zipfel I, Monting JS et al. Ki-67 immunostaining in human breast tumors and its relationship to prognosis. Cancer 1991;67:421-428.
- Yoshida S, Yunoki T, Aoyagi K et al. Effect of glutamine supplement and hepatectomy on DNA and protein synthesis in the remnant liver. J Surg Res, 1995;59:475-481.
- Grant JP, Snyder PJ. Use of L-glutamine in total parenteral nutrition. J Surg Res 1988;44:506-513.
- Sakaguchi K, Takeuchi E, Suzuki M et al. DNA polymerases and Ki-67 nuclear antigen are induced in correlation with the resected mass of rat liver up to 90%. Langenbecks Arch Surg 2000;385:135-142.
- Passos de Jesus Mazza R, Bertavello PL, Matos de Miranda Torrinhas R et al. Effect of glutamine dipeptide on hepatic regeneration in partially hepatectomized malnourished rats. Nutrition 2003;19:930-935.
- El-Ashmawy IM, el-Nahas AF, Salama OM. Protective effect of volatile oil, lcoholicand aqueous extracts of Origanum majorana on lead acetate toxicity in mice. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2005;97:238-243.
- Aoki T, Murakami M, Niiya T et al. Capacity of hepatic regeneration following a second partial hepatectomy in rats. Hepatology Res 2001;21:228-241.

24. Ypsilantis P, Pitiakoudis M, Souftas VD et al. Liver regeneration following radiofrequency ablation. *J Surg Res* 2008;150:60-65.
25. Woodcock NP, Robertson J, Morgan DR et al. Bacterial translocation and immunohistochemical measurement of gut immune function. *J Clin Pathol* 2001;54:619-623
26. Zulfikaroglu B, Zulfikaroglu E, Ozmen MM et al. The effect of immunonutrition on bacterial translocation, and intestinal villus atrophy in experimental obstructive jaundice. *Clin Nutr* 2003;22:277-281.
27. Azuma H, Mishima S, Oda J et al. Enteral Supplementation Enriched With Glutamine, Fiber, and Oligosaccharide Prevents Gut Translocation in a Bacterial Overgrowth. *Model J Trauma* 2009;66:110-114.
28. Katayama M, Xu D, Specian RD, Deitch EA. Role of bacterial adherence and the mucus barrier on bacterial translocation. Effects of protein malnutrition and endotoxin in rats. *Ann Surg* 1997; 225:317-326.
29. Conejero R, Bonet A, Grau T et al. Effect of a glutamine-enriched enteral diet on intestinal permeability and infectious morbidity at 28 days in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome: a randomized, single-blind, prospective, multicenter study. *Nutrition* 2002;18:716-721.
30. Velasco N, Hernandez G, Wainstein C et al. Influence of polymeric enteral nutrition supplemented with different doses of glutamine on gut permeability in critically ill patients. *Nutrition* 2001;17:907-911.
31. Barber AE, Jones WG, Minei JP et al. Harry M. Vars award. Glutamine or fiber supplementation of a defined formula diet: impact on bacterial translocation, tissue composition, and response to endotoxin. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990;14:335-343.
32. Bark T, Svenberg T, Theodorsson E et al. Glutamine supplementation does not prevent small bowel mucosal atrophy after total parenteral nutrition in the rat. *Clin Nutr* 1994;13:79-84.
33. Kapan M, Ipek T, Sad A et al. Effects of cyclosporin and somatostatin on liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *European Surg Research* 1996;28:262-269.