

**163941**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİÇANLARDA ENTERAL GLUTAMİN  
UYGULAMASININ İNTESTİNAL İSKEMİ -  
REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**N. Arda DEMİRKAN**

**FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Mehmet MELLİ**

Bu tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından 2004/08/09/185  
nolu proje numarası ile desteklenmiştir.

**2005 – ANKARA**

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARMAKOLOJİ Doktora Programı**

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki juri tarafından

**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** **22**.02.2005

**Prof.Dr.İ.Hakkı AYHAN**  
Ankara Üniversitesi  
Jüri Başkanı

**Prof.Dr.Mehmet MELLİ**  
Ankara Üniversitesi

**Prof.Dr.H.Ongun ONARAN**  
Ankara Üniversitesi

**Prof.Dr.Oğuz GUÇ**  
Hacettepe Üniversitesi

**Doç.Dr.Ayhan KUZU**  
Ankara Üniversitesi

## **İÇİNDEKİLER**

İçindekiler	ii
Önsöz	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	iv
Şekiller	v
Çizelgeler	vi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1-8</b>
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>9-16</b>
<b>3. BULGULAR</b>	<b>17-22</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>23-26</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>27</b>
<b>ÖZET</b>	<b>28</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>29</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>30-33</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>34-37</b>

## **ÖNSÖZ**

**"Sıçanlarda enteral glutamin uygulamasının intestinal iskemi - reperfüzyon hasarı üzerine etkileri"** isimli farmakoloji doktora tezimin hazırlanmasında ve farmakoloji eğitimim sırasında yardımlarını esirgemeyen bütün "Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı" öğretim üyelerine, başta tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Mehmet MELLİ' ye ve "Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı" öğretim üyesi Sn. Doç. Dr. Ayhan KUZU' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Arda DEMİRKAN**

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

ATP :	Adenozin Trifosfat
DTPA	Dietilen Triamin Pentaasetik Asit
EDTA :	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
Gln :	Glutamin
HE	Hematoksilen Eozin
IL-1	Interlökin 1
I/R :	İskemi-Reperfüzyon
LAL	Limulus Amebocyte Lysate
LPS :	Lipopolisakkarit
$^{51}\text{Cr}$ :	Krom 51
$\mu\text{Ci}$ :	Mikrocurie
$\mu\text{l}$ :	Mikrolitre
pNA	Paranitroanilide
TZP	Trombositten Zengin Plazma
PCA	Perklorik Asit
TNF	Tümör Nekroz Faktörü

## **ŞEKİLLER**

**Şekil 3.1.** Enteral Glutamin Uygulamasının, İskemi-reperfüzyonun oluşturduğu İntestinal Permeabilite Değişiklikleri Üzerine Etkileri.

**Şekil 3.2.** İntestinal I/R un ve I/R öncesinde yapılan Enteral Glutamin Uygulamasının, Plazma Endotoksin Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi.

**Şekil 3.3.** Enteral Glutamin Uygulamasının, İskemi-reperfüzyonun Oluşturduğu İntestinal Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Etkilerinin, Chiu intestinal iskemi skorlama sistemi ile değerlendirilmesi.

**Şekil 3.4.** İskemi-reperfüzyonun Oluşturduğu İntestinal Histopatolojik Değişikliklerin Chiu İntestinal İskemi Skorlama Sistemi ile Değerlendirilmesi (fotoğraflar).

## **ÇİZELGELER**

**Çizelge 2.1.** Deney gruplarının oluşturulması.

**Çizelge 2.2.** İntestinal permeabilitenin hesaplanması.

**Çizelge 2.3.** Chiu sınıflaması.



# 1. GİRİŞ

## 1.1. İskemi/ Reperfüzyon Hasarı

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pihti veya mekanik etkenlerle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına *iskemi* denir. İskemik zedelenme, hücre zedelenmesinin en sık görülen tiplerinden biridir. İskemik dokularda yeterli maddelerin tükenmesi veya normalde kan akımı ile temizlenen metabolitlerin birikimiyle glikolizin engellenmesinden sonra anaerobik enerji üretimi de durur.

Hipoksinin ilk etkisi hücrenin aerobik solunumu, yani mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon üzerinedir. Adenozin trifosfat (ATP) azalmasının hücre içindeki bir çok sistemler üzerinde yaygın etkisi olur. Hipoksi düzelmeye ise, mitokondriyal fonksiyonun daha da kötüleşmesi ve membran permeabilitesinin artması daha fazla morfolojik bozulmaya neden olur. İskemi devam ederse “irreverzibl” zedelenme gelişir.

Doku kanlanmasıının ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanmasına ise *reperfüzyon* denir. Eğer hücreler “reverzibl” olarak zedelenirse, kan akımının düzelmesi hücreyi iyileştirebilir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, iskemik fakat yaşayabilen dokularda kan akımının düzelmesi, aksine zedelenmeyi hızlandırarak şiddetlendirir. Sonuç olarak, dokular iskemik olayın sonunda irreversible zedelenmiş hücrelere ek olarak hücre kaybını sürdürür. İskemi / reperfüzyon (I/R) hasarı olarak adlandırılan bu zedelenme klinik olarak önemli bir olaydır.

I/R hasarında rol alan olaylar dizisi son derece karışık olmakla birlikte henüz yeterince aydınlatılmış değil (Bulkley, 1993). İskeminin süresi, etkilenen doku ve canlı türü iskemik hasarın mekanizmalarını değişik

biçimlerde etkilemektedirler. İskeminin ve reperfüzyonun rolleri ise ayrı ayrı önem taşımakta olup sıkılıkla tartışılmaktadır (Parks and Granger, 1986).

Kan akımının yeniden sağlanması ile etkilenen hücreler henüz kendi iyonik çevreleri tam olarak düzelmemiş iken yüksek konsantrasyondaki kalsiyumla karşı karşıya kalır. Artan hücre içi kalsiyum; ATP az aracılığı ile ATP azalmasına, fosfolipaz aracılığı ile fosfolipid azalmasına, proteazlar aracılığı ile membran ve hücre iskelet proteinlerinin parçalanmasına, endonükleaz aracılığı ile nükleer kromatin hasarına yol açar (Richard et al., 2003).

I/R hasarında, serbest oksijen radikalleri, histamin, eikosanoidler ve nötrofil aktivasyonunun rolü olabileceği düşünülmektedir (Harward et al., 1994; Nilsson et al., 1994; Weixiong et al., 1994). Nötrofillerin doku (Otamiri, 1989) ve sistemik düzeylerinin de intestinal iskemi reperfüzyon hasarında etkili olduğu bilinmektedir. Nötrofillerin rolü oldukça karışıktır (Petrone et al., 1980). Hem serbest radikaller ve eikosanoidler tarafından aktive edilmekte (Anderson et al., 1991; Miller et al., 1988) hem de onların salıverilmesini artırmaktadırlar.

Önceden iskemik kalmış dokulara oksijen sunulduğunda reaktif oksijen türevlerinin ortaya çıkması, reperfüzyon döneminde serbest oksijen radikallerinin oluştuğunu düşündürtmektedir (Mc Cord, 1985). Reaktif oksijen türevleri normal fizyolojik durumlarda da oluşmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin yol açtığı epitelyal hasardan büyük ölçüde lipid membranlarının peroksidasyonu sorumludur (Tien et al., 1981). Lipid peroksidasyonu bir kez başladıktan sonra bir antioksidan tarafından engellenene kadar kendiliğinden devam eder.

Memeli dokuları koruyucu antioksidan mekanizmaları sahiptirler ancak serbest radikallerin aşırı oluşumu bu koruyucu mekanizmaların kapasitelerini aşarak dokularda hasara neden olabilir. Glutatyon peroksidaz

da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan koruyucu enzimlerden birisidir. (Schoenberg et al., 1984, Schoenberg et al., 1985).

## 1.2. İntestinal I/R Hasarı ve Mukozal Permeabilite Değişiklikleri

İntestinal mukoza, I/R hasarına karşı oldukça duyarlıdır (Granger, 1988). Bazal oksijen tüketiminin yüksek olması hipoksik streslere karşı dayanıklılığını azaltmaktadır. İntestinal iskemi ilerleyen dönemde intestinal dokuda nekroza neden olmaktadır. İskemi sonrasında intestinal dokunun tekrar kanlanması ise doku hasarını hızlandırdığı bilinmektedir (Schoenberg and Beger, 1993). I/R nun ince barsak dokusunda hem mukozal hem de vasküler hasara yol açtığı bilinmektedir (Parks et al., 1982).

İntestinal iskemi, cerrahının önemli problemlerinden birisi olmaya devam etmektedir. Reperfüzyon ise, iskeminin kendi başına oluşturduğu hasardan daha ciddi fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere yol açabilmektedir. İntestinal iskemi ve takip eden reperfüzyon bir çok klinik tabloda karşımıza çıkmaktadır (Grant et al., 1990; Beuk et al., 2000). Ince barsak çeşitli nedenlerle ve farklı sürelerde iskemiye maruz kalabilmektedir. İntestinal I/R doku kan akımını ve mukozal permeabiliteyi olumsuz yönde etkilemekte, tüm intestinal katlarda çeşitli şekillerde hasara neden olmaktadır (Langer et al., 1995; Beuk et al., 2000; Vatistas et al., 2003). Bu değişiklikler, özellikle kritik hastalarda multisistem organ yetmezliklerinin de önemli nedenlerinden olan bakteriyel translokasyon ile sonuçlanabilmektedir. I/R hasarı özellikle aort, kalp cerrahisi ve septik şokta klinik tabloyu son derece olumsuz yönde etkilemektedir (Stechmiller et al., 1997). Cerrahi girişimlerin başarısı ve postoperatif klinik seyir önemli biçimde etkilenmektedir.

İntestinal permeabilite kavramının klinik önemi giderek daha da iyi anlaşılmaktadır. Daha duyarlı ve güvenilir in vivo ölçüm yöntemlerin arayışı da hızlanmıştır (Bjarnason et al., 1995). In vivo teknikler 1974 den bu yana,

özellikle intestinal permeabilite değişikliklerinin oral yolla verilen bazı test maddelerinin idrar yolu ile atılımını da etkilemesi prensibi üzerine kurulmaya devam etmektedir (Menzies 1974; Bjarnason et al., 1995). Oral yolla verilen bir maddenin idrar yolu ile atılan miktarının idrara yüzde kaç oranında geçebildiğinin hesaplanması intestinal permeabilitenin ölçülmesine olanak sağlamaktadır. İdeal permeabilite göstergesi olabilecek bir madde toksik olmamalıdır. Emilimden önce, emilim sırasında dokuda ya da emilim sonrasında çeşitli metabolik olaylara karışmamalı ve çabuk metabolize olmamalıdır. Normal şartlarda sağlam intestinal bariyeri geçememeli, idrarda bulunmamalı ancak intravenöz enjeksiyon sonrasında tamamen idrara geçebilmelidir (Chadwich et al., 1977a; Chadwich et al., 1977b). Bu özelliklere sahip bir maddenin oral yolla verildikten sonra idrara yüzde kaç oranında atıldığınının hesaplanması ile intestinal permeabilitenin ölçülebilmesini doğru bir biçimde sağlamaktadır.

Etilen glikol polimerleri, oligosakkaritler (laktuloz, melibioz, raffinoz, stakiyoz, dekstranlar vb.) ve monosakkaritler (L-rhamnoz, manitol, şeker alkolü) bu amaçla sıkılıkla kullanılmaktadır. İntestinal permeabilite ölçümleri, radyoaktif olarak işaretlenmiş test maddeleri kullanıldığından ise daha duyarlı hale getirilebilmektedir. Ancak radyoaktif maddelerin belirli yarı ömrülere sahip olmaları ve radyoaktif kontaminasyonlara neden olabilmeleri ise uygulamada çeşitli zorluklara neden olabilmektedir. Bu amaçla sıkılıkla  $^{51}\text{Cr}$ -Etilen Diamin Tetraasetik Asit (EDTA) ve  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - Dietilen Triamin Pentaasetik Asit (DTPA) dan yararlanılmaktadır.  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA 359, kDa ağırlığında küçük bir moleküldür ve zarar görmüş mukozal bariyerden sağlam mukozaya göre daha kolaylıkla geçebilmektedir.  $^{51}\text{Cr}$  EDTA, sağlam intestinal mukozal bariyeri aşamayacağı için, mukozal bariyer bütünlüğü bozulduğunda enteral yolla uygulanan ve büyük moleküllü EDTA ile bağlı  $^{51}\text{Cr}$  kana daha yüksek düzeyde geçmektedir. Bu sayede idrarda artan radyoaktivite intestinal permeabilite artışının da bir ölçütü olarak kabul edilebilmektedir (Bjarnason, 1995).

İntestinal iskemik olaylar mukozal yapıyı olumsuz yönde etkileyerek, mukozal bariyerden bakteri ve endotoksin geçişini de artırmaktadırılar (Tomlinson and Blikslager, 2004; Wu et al., 2004). Ayrıca artan intestinal permeabilite ve bakteriyel tranlokasyon ile birlikte plazma endotoksin düzeyinin de yükseldiği görülmüştür (Wu et al., 2004). Çeşitli çalışmalarda intestinal permeabilite değişiklikleri değerlendirilirken, hiç şüphesiz asıl amaçlanan, bütünlüğü bozulan mukozal bariyerden patolojinin gerçek sorumluları olan bakteri, endotoksin ve benzeri ajanların ne derecede sistemik dolaşma katkılarının öngörülmeye çalışılmasıdır. Ancak literatürde plazma endotoksin düzeyinin ölçümlü intestinal mukozal permeabilite değişiklikleri için bir ölçüm yöntemi olarak tanımlanmamamıştır.

#### 1.4. Endotoksin

Bakteriyel endotoksin, *Escherischia Coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Haemophilus* gibi Gram (-) bakterilerin hücre duvarının dış kısmının yapısal komponenti olan bir lipopolisakkarittir (LPS). LPS uzun zincirli bir yağ asidi ile (lipid A) buna bağlı bir şeker zincirinden oluşur. Endotoksin yaklaşık olarak 10 kDa ağırlığındadır.

Farklı biyolojik aktiviteleri olan endotoksinler, ateşin oluşmasında, septik şokta, yaygın damar içi pihtlaşmadı, akut respiratuvar distres sendromunda ve immun sistem hücrelerindeki birçok olayda rol alırlar. Endotoksinler, interlökin 1 (IL-1), tümör nekroz faktörü (TNF) gibi konak sitokinlerinin uyarılmasına aracılık ederler. Endotoksinlerin tetiklediği biyolojik olaylar, histamin saliverilmesinin artması ile vazodilatasyona, nötrofil aktivasyonuna ve pihtlaşma mekanizmalarının harekete geçmesine de neden olurlar. Bu yüzden Gram (-) bakterilerin toksik etkilerinden büyük ölçüde endotoksinler sorumlu tutulmaktadır. (Barber et al., 1999; Richard et al., 2003).

Endotoksin ölçümü için sıkılıkla LAL (Limulus Amebocyte Lysate) testinden yararlanılmaktadır. Limulus amebocyte lysate, *Limulus polyphemus* (at-nalı yengeci) kan hücrelerinden elde edilmektedir. Mekanizması tam olarak anlaşılmış olmamakla birlikte endotoksinin ve lipopolisakkartlerin *Limulus polyphemus* kanında pihtlaşmaya yol açtığı gözlenmiştir (Levin et al., 1970; Bang 1956). Pihtlaşmanın enzimatik reaksiyonlar sonucunda gerçekleştiğinin bilinmesi daha duyarlı endotoksin ölçümleri için kromojenik substratlardan yararlanılmasının da sağlanmıştır (Iwanaga et al., 1978). 1977 de endotoksin ile aktive olan LAL aracılığı ile bazı kromojenik peptidlerin de açığa çıktıkları anlaşılmıştır. Bu peptidlerden biri olan paranitroanilide (pNA) 405 nm dalga boyunda ışığı absorbe eden sarı renk oluşumuna neden olmaktadır (Nakamura et al., 1977). Zaman içerisinde bu pihtlaşma olayına neden olan; endotoksin duyarlı faktör C, faktör B, prokloting enzim ve koagulogen gibi bazı pihtlaşma faktörleri de tanımlanmışlardır (Ohki et al., 1980).

## 1.5. İntestinal İ/R Hasarı ve Glutamin

Glutamin (Gln) esansiyel olmayan bir amino asittir. Glutamin metabolizması enterositler için önemli bir enerji kaynağıdır. Glutaminden fakir beslenmede enterositlerde apopitoz artmaktadır. Genel vücut travmaları ve intestinal iskemik olaylarda, intestinal mukoza ve enterositler üzerinde koruyucu etkileri vardır (Harward et al., 1994; Kong et al., 1998; Blikslager et al., 1999; Li et al., 1999; Kudsk, 2003) Deney hayvanlarında glutaminden zengin parenteral solüsyonlar ile beslenmenin intestinal İ/R sonrasında hayatı kalım süresini de uzattığı ve İ/R hasarının olumsuz etkilerini azalttığı da bilinmektedir (Nilsson et al., 1994; Weixiong et al., 1994; Ikeda et al., 2002; Wu et al., 2004). Oluşturulan çeşitli deney modellerinde glutaminin Crohn hastalığı, akut pankreatit gibi tablolarda intestinal permeabilite ve bakteriyel translokasyon üzerine olan etkileri araştırılmış ve olumlu sonuçları görülmüştür (Foitzik et al., 1999). Glutaminin intestinal iskemik olaylarda

koruyucu etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte serbest oksijen radikalleri üzerinden olabileceği düşünülmektedir.

Hücrelerde serbest radikalleri inaktive eden bir çok enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler gelişmiştir. Glutatyon da tekrar kullanılabilirliği ve bir çok doku türünde bulunması nedeni ile önemli bir nonenzimatik antioksidandır. I/R olaylarında glutamin uygulamalarının intestinal dokudaki glutatyon düzeyini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Harward et al., 1994). Vücutta glutatyon biyosentezi de glutamin seviyesinden etkilenmektedir. Endojen lipidlerin peroksidasyonu indirgenmiş glutatyonun glutatyon disulfide dönüşümüne yol açar (Adams et al., 1983). Glutatyonun serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hücre hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir. Hücre içinde oksitlenmiş glutatyonun indirgenmiş glutatyon'a oranı hücrenin oksidatif durumunun bir yansımasıdır ve hücrenin serbest radikalleri katabolize etme yeteneğinin önemli bir göstergesidir (Richard et al., 2003).

## 1.6. Çalışmanın Amacı

İntestinal I/R hasarı olmadan önce glutaminden zengin diyet ile beslenmenin intestinal mukozal bariyer üzerinde olumlu etkileri olabileceği düşünülerek, bu çalışmada sıçanlarda enteral glutaminin uygulamasının koruyucu etkinliği araştırılmak istenmiştir. Glutaminin intestinal I/R olaylarında iskemi öncesinde uygulanmasının, intestinal permeabilite üzerine olan etkilerini değerlendiren çalışmalarla literatürde rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda I/R hasarı öncesinde glutaminden zengin diyet ile beslenmenin intestinal permeabilite, plazma endotoksin düzeyi ve intestinal doku üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir. İntestinal I/R hasarı sonucunda ortaya çıkan patolojinin asıl sorumlularından biri de endotoksinlerin intestinal permeabilitenin artması sonucunda intestinal lümenden sistemik kan

dolaşımına geçmeleridir. Bu nedenle çalışmamızda  $^{51}\text{Cr}$  EDTA ile ölçülen intestinal permeabilite değişikliklerinin yanı sıra plazma endotoksin düzeylerinin de değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## **2. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **2.1. Deney Gruplarının Oluşturulması**

Çalışmada ağırlıkları 200-300 g arasında değişen Wistar dişi sincanlar kullanıldı. Deneyler her biri 40 hayvan içeren iki ayrı seri halinde gerçekleştirildi. İlk seride glutaminin intestinal İ/R olaylarında iskemi öncesinde uygulanmasının, intestinal permeabilite üzerine olan etkileri oral yolla verilen  $^{51}\text{Cr}$  EDTA'nın idrar klirensi ile değerlendirilirken (Langer et al., 1995), ikinci seride aynı şartlarda plazma endotoksin düzeyi ve histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir.

Çalışma serilerinde deneyler başlamadan bir hafta önce rastlantısal olarak her birinde 10 hayvan bulunan 4 grup oluşturuldu. Deney hayvanları  $21 \pm 3^\circ\text{C}$  da, nem oranı % 60 olan ve 12 saatlik gece-gündüz ışık döngüsüne sahip bir laboratuvara yerleştirildiler. Bir hafta süre ile laboratuvar koşullarına ve birbirlerine alışmaları sağlandı. Bir hafta süre ile herhangi bir kısıtlama yapılmaksızın tüm hayvanlara normal yem ve su verilerek kafeslerinin günlük bakımları sağlandı. Çalışma başlamadan kafeslerin önceden belirlenen deney gruplarından hangisini oluşturacağına yine rastlantısal olarak karar verildi. İntestinal İ/R'da glutamin kullanımının, intestinal permeabilite, plazma endotoksin düzeyi ve histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkileri değerlendirileceği için; I. ve II. grplarda intestinal İ/R oluşturulmadan glutaminin etkileri değerlendirildi. III. ve IV. grplarda ise intestinal İ/R oluşturularak, glutamin uygulaması varlığında ve yokluğunda etkileri değerlendirildi. I. grup kontrol grubu olarak kabul edildi (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1. Deney gruplarının oluşturulması.**

Grup	<sup>51</sup> Cr EDTA ile intestinal permeabilite ölçümü		Plazma endotoksin düzeyi ölçümü ve Histopatolojik değerlendirme	
	Glutamin	İskemi-reperfüzyon	Glutamin	İskemi-reperfüzyon
I (Kontrol)	(-)	(-)	(-)	(-)
II	+	(-)	+	(-)
III	(-)	+	(-)	+
IV	+	+	+	+

Enteral glutamin uygulaması yapılan grplarda sıçanlar deney öncesinde normal gıdalarına ek olarak 4 gün boyunca orogastric lavaj ile tek doz halinde enteral glutamin, (Adamin-G®, Nutricia, Tefaf-Portanje, Hollanda) ile (1 g / kg / gün) beslendiler (Jensen et al., 1994; Farges et al., 1999; Demling, 2000). I/R oluşturmak amacı ile yapılan laparatomilerde intramusküler ketamin (80 mg / kg) ve xylasin (10 mg / kg) anestezisinden yararlanıldı. Laparomi öncesinde hayvanlar supin pozisyonda tespit edilerek karın cildi üzerindeki tüylerin temizliği yapıldı. Karın cildi Poviodeks® iotlu antiseptik solüsyon (Kim-Pa, Hadımköy, İstanbul), temizlendi ve steril şartları sağlamak amacıyla karın steril delikli örtüler ile örtüldü. Orta hat üzerinden yapılan insizyonlar ile karın içeresine girildi. İntestinal I/R uygulaması için; hayvanların superior mezenterik arter ve dalları klemplenerek intestinal iskemi oluşturuldu. Çalışmada 75-80 gram klempleme basıncına sahip mikrovasküler klempler kullanıldı (Vascu-Statt II original No:1001-532-3; Scanlan International, USA). Bütün klempler deney öncesinde sterilizasyon için en az 30 dk süre ile gluteraldehit solüsyonu içerisinde bekletildiler. Karın cildi steril şartlarda tek tek naylon sütürler ile kapatıldı. 60 dk sonra yine steril şartlarda laparomi yapılarak klempler kaldırıldı ve reperfüzyon sağlandı (Harward et al., 1994). Mezenterik vasküler yapılarda arteriyel pulsasyon gözlenerek arteriyel kan akımının geri döndüğünden emin olundu. I/R oluşturulmayan kontrol grplarında ise yine

aynı şartlar altında laparatomı yapıldı ve karın içeresine 60 dk süre ile bir vasküler klemp yerleştirilerek sham operasyonlar gerçekleştirildi.

## 2.2. İntestinal Permeabilitenin $^{51}\text{Cr}$ EDTA Yöntemi ile Değerlendirilmesi

İntestinal permeabilitenin değerlendirilebilmesi için oral yolla verilen  $^{51}\text{Cr}$  EDTA'nın 6 saat süresince üriner atılımı ölçüldü (Dirosa et al., 1971; Roscher et al., 1988).

İlk seri çalışmalarında I/R grplarda; 1 saatlik reperfüzyon tamamlandıktan sonra, iskemi oluşturulmayan grplara ise laparatomiyi izleyerek; tüm sıçanlara Orogastrik sonda yardımı ile 5  $\mu\text{Ci}$   $^{51}\text{Cr}$  EDTA (Amersham International plc., UK) enjeksiyonu yapıldı.  $^{51}\text{Cr}$  EDTA dozu yarılanma tablosuna göre hergün tekrar hesaplandı. Böylece çalışma süresince tüm hayvanlara 0,5 ml distile su içerisinde aynı düzeyde radyoaktiviteye sahip çözeltinin verilmesi sağlanmış oldu. Orogastrik enjeksiyon sonrasında hayvanlar tek tek metabolik kafeslere yerleştirildiler. Deneye 9 adet metabolik kafes kullanıldı. Metabolik kafesler daha önceden benzer amaçla kullanılan örnekleri de incelendikten sonra tekrar tasarılanarak yapıldı. Kafesler, içerisinde yerleştirilen hayvanın rahatlıkla dolaşıp, yem yiyecek su içebileceği biçimde uygun ısı ve ışığı da sağlıyordu. Kafeslere ait parçalar kolaylıkla sökülecek temizlenebilecek biçimde tasarlandı. Radyoaktif kontaminasyonları engellemek için bir kafes aynı gün içerisinde tekrar kullanılmadı ve her deney gündünden sonra dikkatli bir biçimde yıkanarak temizlenerek kurutuldu. Deney hayvanının içtiği su, idrar ve dışkısının birbirine karışmaksızın ayrı ayrı biriktirilmesi sağlandı. Deneylere ait atıklar ve yıkama suları "radyoaktivite atık bidonlarında" saklandılar.

6 saat süre ile metabolik kafeslerde bekletilen deney hayvanlarına sıvı kısıtlaması yapılmadı. Her bir hayvanın oral yolla verilen radyoaktif  $^{51}\text{Cr}$  EDTA'yı yüzde kaç oranında idrarla attığının belirlenebilmesi için, idrar

örnekleri toplama kabında biriktirildi. Her bir hayvanın toplam idrar volumü mikropipetler yardımı ile ölçüldü ve 500  $\mu$ l idrar radyoaktivite ölçümü için daha önceden hazırlanıp, numaralandırılmış deney tüplerine alındı. Kontrol değerini oluşturmak için ise, sıçanlara orogastrik yolla verilen ve 5  $\mu$ Ci  $^{51}\text{Cr}$  EDTA içeren 0.5 ml radyoaktif solüsyon ayrı bir tüpe alındı.

Deney gününün sonunda idrar örneklerin içерdiği radyoaktivite gama sayacında ölçüldü. Değerlendirmeler Ankara Üniversitesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı Laboratuvarında DPC Gambyt CR (95-3/1160-1992) cihazı ile gerçekleştirildi. Ölçümler idrar toplama kaplarında biriken 6 saatlik idrardan ayrılan 500  $\mu$ l lik idrar örneklerinde gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları her bir hayvanın 6 saatlik toplam idrar volümüne göre değerlendirilerek bu süre içerisinde idrarla atılan toplam radyoaktivite miktarı hesaplandı. Daha sonra elde edilen değerin kontrol değerinin (hayvana orogastrik yolla verilen radyoaktif madde miktarı) yüzde kaç olduğu hesaplandı. İdrar klirensinin kan düzeyi ile doğrudan ilişkili olması nedeni ile sonuçlar intestinal lümenden kana geçen radyoaktivite miktarını yansıtmaktadır.

6 saatte idrarla atılan  $^{51}\text{Cr}$  EDTA miktarının oral verilene % olarak oranı her bir deney hayvanı için tek tek hesaplandı (Çizelge 2.2). Elde edilen sonuçlar intestinal permeabilite değişikliğini % olarak göstermiş oldu.

**Çizelge 2.2. İntestinal permeabilitenin hesaplanması:** 6 saatte idrarla atılan radyoaktif  $^{51}\text{Cr}$  EDTA miktarının oral verilene % olarak oranı her bir deney hayvanı için tek tek hesaplanarak intestinal permeabilite değişiklikleri değerlendirildi.

$\frac{6 \text{ sa. toplam idrar vol.} \times \text{Ölçulen radyoaktivite}}{500}$	=	6 Saatte İdrarla Atılan Toplam Radyoaktivite
$\frac{6 \text{ saatte idrarla atılan toplam radyoaktivite} \times 100}{\text{Kontrol ölçüm değeri}}$	=	6 SAATTE İDRARLA ATILAN $^{51}\text{CR EDTA}$ MIKTARININ ORAL VERİLEN % OLARAK ORANI

### **2.3. Plazma Endotoksin Düzeyinin Ölçülmesi**

Plazma endotoksin düzeyinin ölçülebilmesi için, kolorimertrik "Limulus Amebocyte Lysate" (LAL) testinden yararlanıldı. Çalışmamızda plazma endotoksin düzeyinin değerlendirilebilmesi için bu yolla ölçüm yapılmasını sağlayan "pyrochrome" test kiti (Pyroquant Diagnostik GmbH, Cape Cod. Inc. USA) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan cerrahi malzemeler ve pipet uçlarının steril veapirojen hale getirilmesi etilen oksit gazı ile ya da otoklavda ( $121^{\circ}\text{C}$  de 15 dk) sağlandı. Soltüsyonlar ise steril distile su ile hazırlanıktan sonra mikrofiltrasyonu takiben yine otoklavda sterilize edildiler ( $121^{\circ}\text{C}$  de 15 dk). Bütün malzeme ve solüsyonların apyrojen hale geldikleri alınan örnekler LAL testi uygulanarak doğrulandı.

İkinci seri çalışmalarında, I/R periodları tamamlanan deney hayvanlarında yine steril şartlarda yapılan laparatomı kesisi torakotomi olarak genişletildi. Heparin ile yıkanmış enjektörler yardımcı ile kardiyak yolla yaklaşık 3 - 4 ml kan örneği alındı ve zaman kaybetmeden steril tüplere aktarıldı. Kan örneklerinin 150 g de 10 dk. santrifüjü ile trombositten zengin plazma (TZP) elde edilerek, 50  $\mu\text{l}$  lik TZP örnekleri örnekleri ayrılarak yine steril şartlarda –  $80^{\circ}\text{C}$  de saklandılar.

Ölçümler yapılmadan önce TZP örnekleri oda sıcaklığında çözüldüler. 50  $\mu\text{l}$  PZP üzerine 50  $\mu\text{l}$  0,18 M NaOH eklenerek  $37^{\circ}\text{C}$  de 5 dk inkübe edildi. Bir sonraki aşamada 50  $\mu\text{l}$  0,32 M perklorik asit (PCA) eklenen örnekler ikinci kez  $37^{\circ}\text{C}$  de 10 dk inkübe edildi. Bu aşamada oluşan oluşan çökeltinin üzerine 100  $\mu\text{l}$  0,18 M NaOH eklendiğinden sonra, örnek tüpleri yaklaşık 5 sn Vortex karıştırıcıda çalkalandı. Son aşamada çökeltinin dağıılması ile berrak bir solüsyon elde edilerek 25  $\mu\text{l}$  si ölçüm yapılacak olan steril apyrojen plate (Pyroplate: Pyroquant Diagnostik GmbH, Cape Cod. Inc. USA) içerisine aktarıldı. Plate içerisinde bu gözlere 25  $\mu\text{l}$  0,2 M Tris HCl tampon çözeltisi

eklendi (pH 8.0). Yapılan ön çalışmalar ile bu aşamada pH'in 6-8 arasında olması sağlandı (Inada et.al., 1991).

Kullanılan plate üzerindeki diğer kuyucuklara standart kontrol endotoksinden (2 EU) (Pyroquant Diagnostik GmbH, Cape Cod. Inc. USA) 1,28 – 0,04 EU/ mL arasında 6 farklı dilüsyonda hazırlanan 50 µl lik standart endotoksin dilüsyonları, kontrol amaçlı olarak da 50 µl 0,18 M NaOH, 50 µl 0,32 M PCA, 50 µl 0,2 M Tris HCl ve 50 µl steril distile su (Eczacıbaşı, steril-apirojen enjeksiyonluk su, 20 ml) yerleştirildi. Son olarak plate üzerindeki bütün kuyucuklara pyrochrome test solüsyonu eklendi. 30 sn plate çalkalayıcıda karıştırılan plate 37° C de inkübasyona da olanak sağlayan plate okuyucu içerisinde yerleştirildi. Okumalar 18. dk. dan sonra 2 şer dk. ara ile 30. dk. ya kadar gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları 4 parametreli lojistik denklemin nonlinear regresyonu ile değerlendirildi. Plazma endotoksin düzeyleri EU/ml olarak hesaplandı.

#### **2.4. Histopatolojik Değerlendirmeler**

Histopatolojik değerlendirmeler için radyoaktif kontaminasyonu olmayan ikinci seri hayvanların doku örneklerinden yararlanması tercih edildi. Kan örneklerinin alınmasını takiben, çekumun 10 cm. proksimalinden yaklaşık 10 cm boyutunda intestinal doku örnekleri alındı. İntestinal doku parçalarının içi % 0.9 luk NaCl solüsyonu ile yıkandıktan sonra önceden hazırlanan, numaralandırılmış şişelerde formaldehit solüsyonu içerisinde korumaya alındı.

Bütün serilere ait intestinal doku örneklerindeki Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda hematoksilen eozin (HE) boyası ile boyanarak, 10 ve 20 büyütme altında ışık mikroskopunda değerlendirildi. Skorlama iki patolog tarafından kör olarak gerçekleştirildi. İ/R hasarı

skorlanırken, Chiu Skorlama sisteminden yararlanıldı (Chiu et al., 1970) (Çizelge 2.3).

## 2.5. İstatistiksel Yöntemler

Sonuçların istatistiksel olarak yorumlanması Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nın yardımları ile gerçekleştirildi.

Intestinal permeabilitenin değerlendirilebilmesi için tek yönlü varyans analizi ve post hoc test (Bonferroni) testlerinden yararlanıldı. Data, ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi.

Plazma endotoksin düzeyleri, Kruskal-Wallis varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi. Data ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi.

Histopatolojik incelemenin sonuçları Kruskal-Wallis varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testi (Multiple Comparison Test; Conover WJ, Practical Nonparametric Statistics 2<sup>nd</sup> Ed., 1980. John Wiley & Sons. 229-239) ile değerlendirildi. Data, ortanca olarak verildi.

Sonuçlar değerlendirilirken en düşük anlamlılık derecesi olarak  $P < 0.05$  olarak kabul edildi.

**Çizelge 2.3. Chiu sınıflaması**

- Evre 0 : Normal mukoza.**
- Evre 1:** Genellikle kapiller konjesyon ile birlikte villusların apeksinde subepitelial Guenhangen boşluklarının oluşması.
- Evre 2 :** Subepitelial aralığın genişlemesi ve epitelin lamina propria dan hafif derecede ayrılması .
- Evre 3 :** Villusların üst kısımlarında yaygın epitelial ayrılma.
- Evre 4 :** Lamina propria ve villuslarda dökülme, kapiller dilatasyonu, lamina propria da artmış sellülerite.
- Evre 5 :** Lamina propria sindirimde ve bütünlüğünde bozulma, kanama ve ülserasyon.

### **3. BULGULAR**

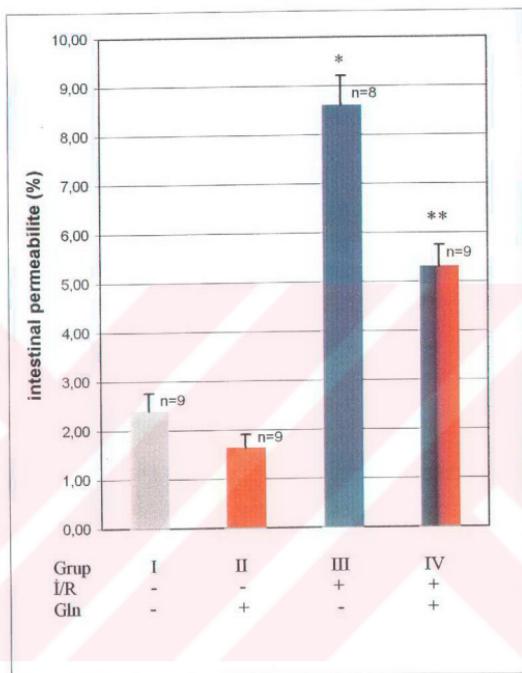
#### **3.1. İntestinal I/R un ve İntestinal I/R öncesinde Enteral Glutamin Uygulamasının İntestinal Permeabilite Üzerine Etkileri**

İlk seri çalışmalarında, I. grup (kontrol grubu) ve III. grup karşılaştırılarak I/R un intestinal permeabilite üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. İntestinal I/R oluşturulan III. grup ile I. grup arasında intestinal permeabilite açısından anlamlı fark olduğu (% 8.6 ± 0.61 - % 2.4 ± 0.36,  $P < 0.001$ ) görülmüştür. İntestinal I/R u takiben intestinal permeabilite anlamlı şekilde artmaktadır. IV. ve III grupler karşılaştırıldığında ise enteral glutamin uygulamasının artmış intestinal permeabiliteyi anlamlı şekilde azalttığı gözlandı (% 5.3 ± 0.45 - % 8.6 ± 0.61,  $P < 0.001$ ). Kontrol grubu ve sadece enteral glutamin uygulaması yapılan II. grup arasında ise intestinal permeabilite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (% 2.4 ± 0.36 - % 1.6 ± 0.28,  $P = \text{n.s.}$ ) (Şekil 3.1).

#### **3.2. İntestinal I/R un ve İntestinal I/R öncesinde enteral glutamin Uygulamasının Plazma Endotoksin Düzeyleri Üzerine Etkileri**

İkinci seri çalışmalarında, I. grup (kontrol grubu) ve III. grup karşılaştırılarak I/R un plazma endotoksin düzeyleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. I. grup ve intestinal I/R oluşturulan III. grup ile arasında plazma endotoksin düzeyleri açısından anlamlı fark olduğu ( $0.76 \pm 0.04$  EU/ml -  $1.61 \pm 0.19$  EU/ml,  $P < 0.001$ ) görülmüştür. İntestinal I/R u takiben plazma endotoksin düzeyi anlamlı şekilde artmaktadır. III. ve IV. grupler karşılaştırıldığında ise enteral glutamin uygulamasının artan plazma endotoksin düzeyini azalttığı ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı boyuta ulaşmadığı gözlandı ( $1.61 \pm 0.19$  EU/ml -  $1.45 \pm 0.13$  EU/ml,  $P = 0.48$ ). I. grup (kontrol grubu) ve enteral

glutamin uygulaması yapılan II. grup arasında ise plazma endotoksin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $0.76 \pm 0.04$  EU/ml -  $0.80 \pm 0.05$  EU/ml,  $P = 0.59$ ) (Şekil 3.2).

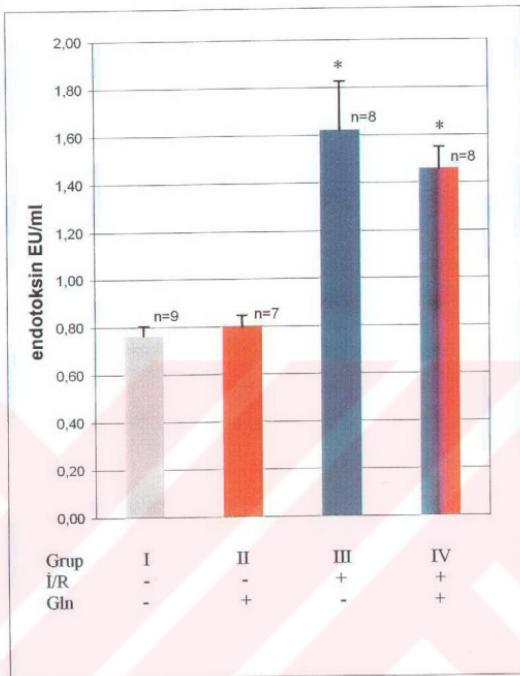


**Şekil 3.1. Enteral Glutamin Uygulamasının, İskemi-reperfüzyonun oluşturduğu İntestinal Permeabilite Değişiklikleri Üzerine Etkileri:** Kontrol (I) grubu, I/R grubu (III) ile karşılaşıldığında, 60 dk lık iskemi ve 60 dk lık reperfüzyon periodu nedeni ile oluşan I/R hasarının intestinal mukozal permeabilite üzerine olan etkileri görülmektedir. Kontrol (I) grubu ve Gln grubu (II) grup karşılaşıldığında ise, I/R uygulanmaksızın glutaminden zengin diyet ile beslenenmenin intestinal mukozal permeabilite üzerine olan etkileri gözlenmektedir. Grup III ve IV karşılaşıldığında I/R öncesinde 4 gün süre ile glutaminden zengin diyet ile (1g/kg/gün) beslenmenin intestinal permeabilite üzerine olan etkileri görülmektedir.

\* grup I, II ve IV den farklıdır ( $P < 0.001$ ).

\*\* grup I, II ve III den farklıdır ( $P < 0.001$ ).

Data: Ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir.



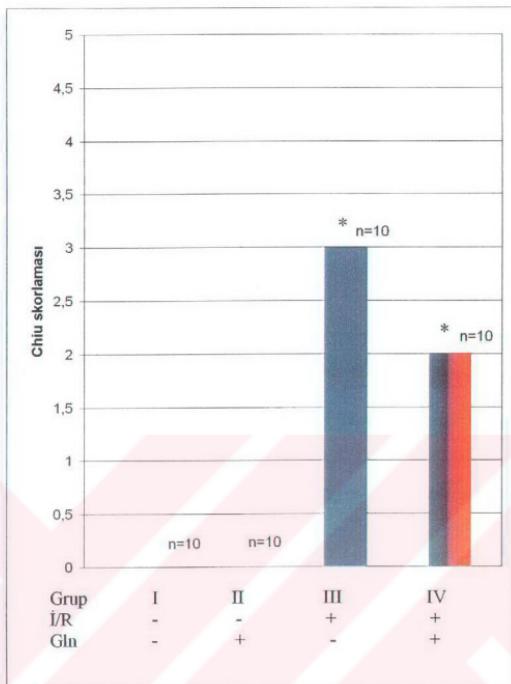
**Şekil 3.2. İntestinal I/R un ve I/R öncesinde yapılan Enteral Glutamin Uygulamasının, Plazma Endotoksin Düzeyleri Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi:** Kontrol (I) grubu, I/R grubu (III) ile karşılaştırıldığında, 60 dk lık iskemi ve 60 dk lık reperfüzyon periodu sonrasında plazma endotoksin düzeyleri görülmektedir. Kontrol (I) grubu ve Gln grubu (II) grup karşılaştırıldığında ise, I/R uygulanmaksızın glutaminden zengin diyet ile beslenenmenin plazma endotoksin düzeyleri üzerine olan etkileri gözlenmektedir. Grup III ve IV karşılaştırıldığında I/R öncesinde 4 gün süre ile glutaminden zengin diyet ile (1g/kg/gün) beslenmenin plazma endotoksin düzeyleri üzerine olan etkileri görülmektedir.

\* grup I ve II den farklıdır ( $P < 0.001$ ).

Data: Ortalama ± SH olarak verilmiştir.

### **3.3. İntestinal I/R un ve İntestinal I/R Öncesinde Enteral Glutamin Uygulamasının İntestinal Histopatoloji Üzerine Etkileri**

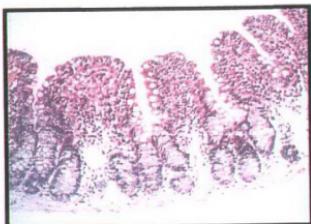
İkinci seri çalışmalarında, I. grup (kontrol grubu) ve III. grup karşılaştırılarak I/R un intestinal histopatoloji üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. I. grup (kontrol grubu) ile intestinal I/R oluşturulan III. grup Chiu skorlama sistemine göre skorlandılarında iki grup arasında histopatolojik değişiklikler açısından anlamlı fark olduğu görülmüştür ( $0 - 3, P < 0,001$ ). İntestinal I/R u takiben intestinal doku anlamlı şekilde değişikliğe uğramaktadır. III. ve IV. gruplar karşılaştırıldığında ise enteral glutamin uygulamasının histopatolojik değişiklikleri olumlu yönde etkilediği ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı boyuta ulaşmadığı görüldü ( $3 - 2, P = 0,389$ ). I. grup (kontrol grubu) ve enteral glutamin uygulaması yapılan II. grup arasında ise histopatolojik değişiklikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ( $0 - 0, P = 0,682$ ) (Şekil 3.3), (Şekil 3.4).



**Şekil 3.3. Enteral Glutamin Uygulamasının, İskemi-reperfüzyonun Oluşturduğu İntestinal Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Etkilerinin, Chiu intestinal iskemi skorlama sistemi ile değerlendirilmesi:** Kontrol (I) grubu, I/R grubu (III) ile karşılaşıldığında, 60 dk lık iskemi ve 60 dk lık reperfüzyon periodu nedeni ile olulan I/R hasarının Chiu intestinal iskemi skorları üzerine olan etkileri görülmektedir. Kontrol (I) grubu ve Gln grubu (II) grup karşılaşıldığında ise, I/R uygulanmaksızın glutaminden zengin diyet ile beslenenmenin Chiu intestinal iskemi skorları üzerine olan etkileri gözlenmektedir. Grup III ve IV karşılaşıldığında I/R öncesinde 4 gün süre ile glutaminden zengin diyet ile (1g/kg/gün) beslenmenin intestinal permeabilite üzerine olan etkileri görülmektedir.

\* grup I ve II den farklıdır ( $P < 0.001$ ).

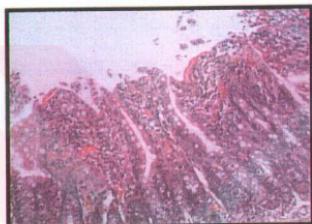
Data: Ortanca olarak verilmiştir.



**Evre 0 :** Normal mukoza. HE X 10



**Evre 1:** Genellikle kapiller konjesyon ile birlikte villusların apeksinde subepitelial Guenhagen boşluklarının oluşması. HE X 20



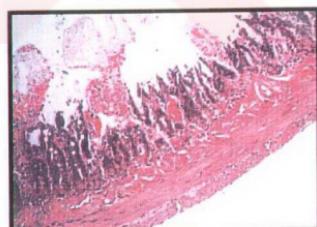
**Evre 2:** Subepitelial aralığın genişlemesi ve epitelin lamina propria'dan hafif derecede ayrılması.



**Evre 3 :** Villusların üst kısımlarında yaygın epitelial ayrılma. HE X 20



**Evre 4 :** Lamina propria ve villuslarda dökülme, kapiller dilatasyonu, lamina propria'da artmış sellülarite. HE X 10



**Evre 5 :** Lamina propria'da sindirim ve bütünlüğünde bozulma. HE x10

**Şekil 3.4. İskemi-reperfüzyonun Oluşturduğu İntestinal Histopatolojik Değişikliklerin Chiu İntestinal İskemi Skorlama Sistemi ile Değerlendirilmesi (Chiu et al., 1970).**

#### 4. TARTIŞMA

Hücre zedelenmesinin en önemli nedenlerinden biri de iskemik ve hipoksik zedelenmedir. Hipoksinin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Mitokondriyumdaki oksidatif fosforilasyon engellenir, ATP oluşumu yavaşlar ve durur. Hipoksi devam ederse geri dönüşsüz bir hal alır. Geri dönüşsüz hücre zedelenmesinde mitokondriyum fonksiyonlarının geri dönmemesi ve membran fonksiyonlarındaki bozulmalar esas belirleyicilerdir. Membran fonksiyonlarının bozulması hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda da önemli artışa neden olur. Hipoksik kalan hücrelerde reperfüzyon sağlanırsa kalsiyum mitokondri tarafından tutulur, hücresel enzimleri inhibe eder, proteinleri denatüre eder ve nekrotik değişikliklerin oluşmasına neden olur. Reperfüzyon sırasında toksik serbest oksijen radikalleri de artmaktadır. Serbest radikaller özellikle membran molekülleri ve nükleik asitler için anahtar moleküllere girerek hücre içi reaksiyonlarını etkilerler. Net etkileri oluşumları ve harabiyetleri arasındaki dengeye bağlıdır (Nilsson et al., 1997; Weixiong et al., 1997; Richard et al., 2003).

Çeşitli nedenlerle oluşan I/R sonucunda intestinal doku zarar görmekte, mukozal permeabilite artmaktadır. Çalışmamızda daha önce literatürde de tarif edilen biçimde sığanlarda 60 dk lik süreyle intestinal iskemi ve 60 dk lik süreyle reperfüzyon uygulanmıştır (Harward et al., 1994). İntestinal mukozal bariyerin değerlendirilmesi için intestinal permeabilite  $^{51}\text{Cr}$  EDTA yardımı ile ölçülmüştür. Oral yolla verilen  $^{51}\text{Cr}$  EDTA'nın renal klirensinin I/R sonrasında anlamlı olarak artması mukozal bariyerin zarar gördüğünün bir göstergesi olarak kabul edilmekte olup, çalışmamızın sonuçları literatürdeki bilgilerle paralellik göstermektedir (Langer et al., 1995; Villa et al., 2002; Wu et al., 2004).

I/R hasarı nedeni ile ortaya çıkan intestinal permeabilite artışı, kritik hastalarda önemi giderek daha da iyi anlaşılmasına başlanan septik

komplikasyonlar ve multisistem organ yetmezliklerinin önemli nedenlerinden olan bakteriyel translokasyon ile sonuçlanmaktadır (Stechmiller et al., 1997). İntestinal I/R özellikle büyük damar cerrahilerinde önemli bir problem oluşturmaktadır. Translokasyon nedeni ile sistemik dokulardan en çok izole edilen bakteri ise intestinal kaynaklı *Escherichia coli* dir. İntestinal permeabilite artışı nedeni ile ortaya çıkan septik tablonun önde gelen nedenlerinden birisi de translokasyona uğrayan bakterilerden kaynaklanan endotoksinlerdir. Endotoksin, Gram (-) bakterilerin hücre duvarının yapısında yer alan, yaklaşık olarak 10 kDa ağırlığında bir lipopolisakkarittir. Ateş oluşmasında, septik şokta, yaygın damar içi pihtlaşmadı, akut respiratuvar distress sendromunda ve immun sistem hücrelerindeki birçok olayda rolleri olduğu bilinen endotoksinler, Gram (-) bakterilerin toksik etkilerinden büyük ölçüde sorumlu tutulmaktadır (Barber et al., 1999; Richard et al., 2003). İlk seri çalışmamızda intestinal I/R sonrasında gözlenen intestinal permeabilite artışı ikinci seri çalışmamızda gözlenen plazma endotoksin düzeyindeki artış ve histopatolojik değişiklikler ile büyük benzerlik sergilemektedir. Deney sonuçları incelendiğinde intestinal I/R sonrasında ortaya çıkan intestinal permeabilite artışının plazmada endotoksin düzeyinin yükselmesine yol açabileceği görüşü desteklenmektedir (Wu et al., 2004).

Glutamin nonesansiyel bir amino asit olup, metabolizması sırasında gerçekleşen reaksiyonlar enterositler için önemli bir enerji kaynağıdır (Plauth et al., 1999). Genel vücut travmaları ve intestinal iskemik olaylarda, intestinal mukoza ve enterositler üzerinde koruyucu etkileri vardır (Harward et al., 1994; Kong et al., 1998; Blikslager et al., 1999; Li et al., 1999; Kudsk, 2003). Glutamin I/R sonrasında gözlenen çeşitli intestinal morfolojik ve fonksiyonel hasarları azaltmaktadır (Tazuke et al., 2003). Glutaminin intestinal iskemik olaylarda koruyucu etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte serbest oksijen radikalleri üzerinden olduğu düşünülmektedir. Glutatyonun serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hücre hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir. Vücutta glutatyon biyosentezi ise glutamin seviyesinden etkilenmektedir. I/R olaylarında glutamin uygulamalarının

intestinal dokudaki glutatyon düzeyini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Harward et al., 1994). Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada ise I/R olayları öncesinde enteral glutamin uygulamasının etkilerinin değerlendirilmesi amaçlamıştır. Bu nedenle intestinal permeabilite, plazma endotoksin düzeyleri ve histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir.

Kontrol grubu (I) ve glutamin grubu (II) karşılaştırıldığında, enteral glutamin uygulamasının normal hayvanlarda intestinal mukozal permeabilite üzerine olan etkileri gözlenebilmektedir. Normal diyette ek olarak 4 gün süre ile enteral glutamin (1 g / kg / gün) ile beslenmenin uygulanan doz ve sürede hayvanlar üzerinde herhangi bir yan etkisi olmadığı ve intestinal mukozal bariyer bütünlüğünü olumsuz yönde etkilemediği görülmektedir (Wu et al., 2004). Plazma endotoksin düzeyleri ve histopatolojik değişiklikler açısından da anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Literatürde de bu dozda ve süredeki uygulamalarda olumsuz etkilerin ortaya çıktığından bahsedilmemektedir.

Çalışmamız asıl olarak I/R hasarı olmadan önce gerçekleştirilen enteral glutamin uygulamalarının, I/R hasarı nedeni ile ortaya çıkan intestinal permeabilite artışı, plazma endotoksin düzeyi artışı ve histopatolojik değişiklikler üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. I/R grubu (III) ve I/R + glutamin grubu (IV) karşılaştırıldığında, I/R etkisi ile ortaya çıkan intestinal permeabilite artışının enteral glutamin uygulaması ile anlamlı şekilde önüne geçtiği gözlenmektedir. Ancak enteral glutamin uygulaması plazma endotoksin düzeyinde ve histopatolojik değişikliklerde benzer anlamlı azalmalara yol açmamıştır. Septik tablonun asıl sorumlularından olan endotoksinlerin plazma düzeylerinin ölçülmesinin ise klinik etkiler açısından daha gerçekçi bilgiler verebileceği ileri sürülebilir. Endotoksin düzeylerinin intestinal permeabilite değişiklikleri ile uyumlu olmaması, endotoksinlerin intestinal lumen dışında başka bir yerden de dolaşma geçiyor olabileceklerini düşündürmektedir.  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA 359 kDa ağırlığında bir moleküldür ve zarar görmüş mukozal bariyerden sağlam mukozaya göre daha kolaylıkla geçebilmektedir. Endotoksinler ise yaklaşık

olarak 10 kDa ağırlığındadır. Bu nedenle daha az hasar görmüş olan mukozal bariyer  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA nin geçişine olanak tanımazken endotoksinler bu bariyeri kolaylıkla aşıyor olabilirler.

Elde edilen sonuçlar enteral glutamin uygulamalarının I/R hasarı nedeni ile oluşan intestinal mukozal permeabilite artışına karşı koruyucu etkileri olabileceği düşündürse de aynı olumlu etki, plazma endotoksin düzeylerine ve histopatolojik değişikliklere yansımamıştır. Ancak histopatolojik değişiklikler ve plazma endotoksin düzeylerindeki değişiklikler uyum içerisindeidir. Bu nedenle olumlu ya da olumsuz bir etkiden bahsederken plazma endotoksin düzeylerinin göz önüne alınmasının daha gerçekçi bir yaklaşım olabileceği fikri güçlenmektedir.

Klinikte İ/R hasarı özellikle aort, kalp cerrahisi ve septik şokta intestinal mukozal bariyer bütünlüğünü bozarak bakteriyel translokasyona yol açmaktadır, ve klinik tabloyu son derece olumsuz yönde etkilemektedir (Stechmiller, 1997). Çalışmamız sonucunda glutaminden zengin diyet uygulamalarının benzer hasta gruplarında intestinal permeabilite açısından koruyucu etkilerinin olabileceği dair bulgular elde edilmişse de, plazma endotoksin düzeyleri ve histopatolojik değişiklikler göz önüne alındığında, bu etkinin klinik tabloya nasıl yansıyacağı halen tartışılmaya açıktır. Bu nedenle iskemi reperfüzyon hasarının olumsuz etkilerinin, intestinal permeabiliteyi ölçen çeşitli yöntemlerle değerlendirilmesi yerine patolojiye bizzat katkısı olan plazma endotoksin düzeyinin ölçüлerek değerlendirilmesi daha akılç bir yaklaşım gibi gözükmektedir. Takip eden çalışmalarında, değişik doz ve sürelerde enteral glutamin uygulamalarının yanısıra farklı sürelerde I/R uygulamaları ile elde edilebilecek sonuçların konuya daha fazla ışık tutacağı düşünülmektedir.

## **5. SONUÇ VE ÖNERİLER**

Çeşitli deney modellerinde glutaminin Crohn hastalığı, akut pankreatit gibi tablolarda intestinal permeabilite ve bakteriyel translokasyon üzerine olan etkileri araştırılarak olumlu sonuçları görülmüştür. Bu çalışmadan elde ettiğimiz bilgiler klinik olarak önemli problemlere neden olan intestinal I/R olaylarından önce glutaminden zengin diyet ile beslenmenin intestinal permeabilite üzerinde koruyucu etkileri olabileceğini göstermektedir. Ancak aynı etkilere histopatolojik değişiklikler ve plazma endotoksin düzeyleri açısından rastlanılmamış olması klinik tablonun nasıl değişimini sorusunu cevapsız bırakmaktadır. Yeni çalışmalar planlanarak, değişik doz ve sürelerde enteral glutamin uygulamalarının yanısıra farklı sürelerde I/R uygulamaları ile elde edilebilecek sonuçların konuya daha fazla ışık tutacağı düşünülmektedir.

## ÖZET

### Sıçanlarda Enteral Glutamin Uygulamasının İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkileri

İntestinal iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı, multisistem organ yetmezliklerinin de önemli nedenlerinden olan bakteriyel translokasyon ile sonuçlanmaktadır. Bu çalışmada intestinal I/R hasarında enteral glutamin (Gln) uygulamasının koruyucu etkinliği araştırılmak istenmiştir. Deneye dişi Wistar sıçanlar kullanıldı. Çalışmalar her biri 40 hayvan içeren iki seri halinde gerçekleştirildi. Her iki seride de I. grup ( $n=10$ ) "kontrol" grubunu oluştururken, II. "Gln" grubunda ( $n=10$ ) sıçanlar deney öncesinde 4 gün boyunca orogastrik lavaj ile bölünmüş iki doz halinde enteral glutamin ile (1g/kg/gün) beslendiler. III. "I/R" grubunda hayvanların ( $n=10$ ) superior mezenterik arter ve dalları 60 dakikalık süre ile klempleneerek intestinal iskemi ve ardından yine 60 dakikalık süre ile reperfüzyon oluşturuldu. IV. "Gln + I/R" grubunda ise ( $n=10$ ) III. gruptaki biçimde I/R oluşturuldu ve deney öncesinde II. gruptaki ile aynı süre ve dozda enteral glutamin uygulaması yapıldı. İlk seride İntestinal mukozal permeabilitenin değerlendirilmesi için sıçanlara enteral yolla verilen  $^{51}\text{Cr}$  EDTA'nın 6 saat süresince üriner atılımı ölçüldü. Ikinci seride ise deney protokolü aynı şekilde gerçekleştirildikten sonra plazma endotoksin düzeyleri ve histopatolojik değişiklikler değerlendirildi. Kontrol grubu ve intestinal I/R oluşturulan III. grup ile arasında intestinal permeabilite ( $2.4 \pm 0.36$  -  $8.6 \pm 0.61$ ,  $p < 0.001$ ), plazma endotoksin düzeyleri ( $0.76 \pm 0.04$  EU/ml -  $1.61 \pm 0.19$  EU/ml,  $p < 0.001$ ) ve histopatolojik değişiklikler (0 - 3,  $p < 0.001$ ) açısından anlamlı fark olduğu görüldü. Enteral glutamin uygulamasının ise I/R nedeni ile artmış olan intestinal permeabiliteyi anlamlı şekilde azalttığı ( $8.6 \pm 0.61$  -  $5.3 \pm 0.45$ ,  $p < 0.001$ ), ancak aynı olumlu etkinin plazma endotoksin düzeylerine ( $1.61 \pm 0.19$  EU/ml -  $1.45 \pm 0.13$  EU/ml,  $p = 0.48$ ) ve histopatolojik değişikliklere (3 - 2,  $p = 0.389$ ) ve yansımıdiği görüldü. Kontrol grubu ve enteral glutamin uygulaması yapılan II. grup arasında intestinal permeabilite ( $2.4 \pm 0.36$  -  $1.6 \pm 2.8$ ,  $p = \text{n.s.}$ ), plazma endotoksin düzeyleri ( $0.76 \pm 0.04$  EU/ml -  $0.80 \pm 0.05$  EU/ml,  $p = 0.59$ ) ve histopatolojik değişiklikler (0 - 0,  $p = 0.682$ ) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. I/R öncesi enteral glutamin uygulamasının intestinal I/R hasarına karşı intestinal permeabilite üzerinde koruyucu etkileri olduğu görülmüştür. Ancak bu olumlu etki plazma endotoksin düzeylerine ve histopatolojik değişikliklere yansımamıştır.

**Anahtar Sözcükler:** İntestinal iskemi-reperfüzyon, glutamin, intestinal permeabilite, endotoksin

## SUMMARY

### Effects of Enteral Glutamine on Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats

Intestinal ischemia-reperfusion (I/R) injury may result in bacterial translocation in a variety of clinical conditions in surgery. This study was undertaken to assess whether oral glutamine (Gln) administration before the intestinal I/R prevents intestinal permeability in rats. The study was performed as two series having 40 female Wistar rats (200-300g) in each. Each series of animals divided into 4 groups. 1<sup>st</sup> group was untreated (received normal diet). Animals in the 2<sup>nd</sup> group were only pretreated with oral glutamine (1g/kg/d for 4 days). 3<sup>rd</sup> group of rats received normal diet and underwent intestinal I/R, while the 4<sup>th</sup> group of rats was pretreated with oral glutamine in the same way and underwent intestinal I/R. An intestinal I/R model was studied by 60 minutes of superior mesenteric arterial occlusion followed by 60 minutes of reperfusion. Intestinal mucosal permeability to <sup>51</sup>Cr EDTA was measured by collecting urine samples for a six hours period in the first series of animals. In the second series histopathological changes and plasma endotoxin levels were evaluated. Ischemia and reperfusion produced significant increases in intestinal permeability (% 2.4 ± 0.36 vs % 8.6 ± 0.61, p< 0.001), plasma endotoxin levels (0.76 ± 0.04 EU/ml vs 1.61 ± 0.19 EU/ml, p< 0.001) and worsened histopathological changes (0 vs. 3, p< 0.001) over baseline values in the untreated rats. After intestinal I/R, intestinal permeability was significantly lower in glutamine treated rats compared to those received normal diet (% 8.6 ± 0.61 vs % 5.3 ± 0.45, p<0.001) but these changes were nonsignificant in plasma endotoxin levels (1.61 ± 0.19 EU/ml vs 1.45 ± 0.13 EU/ml, p= 0.48) and histopathological findings (3 vs. 2, p= 0.389). Only glutamine treatment itself did not change the intestinal permeability (% 2.4 ± 0.36 vs % 1.6 ± 2.8, p= n.s.), plasma endotoxin levels (0.76 ± 0.04 EU/ml vs. 0.80 ± 0.05 EU/ml, p= 0.59), and histopathological changes (0 vs 0, p= 0.682) significantly compared to baseline values. Although pretreatment of oral glutamine seems to be protective for intestinal mucosal integrity against I/R injury, the same effect could not be observed on histopathological changes and plasma endotoxin level alterations.

**Key Words:** Intestinal ischemia-reperfusion, glutamine, intestinal permeability, endotoxin

## KAYNAKLAR

- ADAMS, J. D., LAUTERBURG, B. H. , MITCHELL, J. R. (1983). Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: Regulation and response to oxidative stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **227**:749-754.
- ANDERSON, B. O., BROWN, J. M., HARKEN, A.H.(1991). Mechanisms of neutrophil mediated tissue injury. *J. Surg. Res.*, **51**: 171-179.
- BANG, F.B. (1956). A bacterial disease of Limulus polyphemus. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **98**: 325-351.
- BARBER, A., SHIRES, T.G.III, SHIRES, T.G. (1999). *PRINCIPLES OF SURGERY* 7<sup>th</sup> ed. Edt. SCHWARTZ, S. I., Mc Graw Hill, New York, s: 118.
- BAŞOĞLU, M., YILDIRGAN, I., AKÇAY, F., KIZILTUNÇ, A., KAVAK, I., ÖREN, D. (1997). Glutathione and nitric oxide concentrations in glutamine-infused rabbits with intestinal ischaemia/reperfusion. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, **35**: 415-419.
- BEUK, R. J. , HEINEMAN, E., TANGELDER, G. J., QUAEDACKERS, J. S., MARKS, W. H., LIEBERMAN, J.M., OUDE, E. M. G. (2000). Total warm ischemia and reperfusion impairs flow in all rat gut layers but increases leukocyte-vessel wall interactions in the submucosa only. *Ann. Surg.*, **231**: 96-104.
- BLIKSLAGER, A. T., RHOADS, J. M., BRISTOL, D. G., ROBERTS, M. C., ARGENTZIO, R. A. (1999). Glutamine and transforming growth factor-alpha stimulate extracellular regulated kinases and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. *Surgery*, **125**:186-194.
- BULKLEY, G.B. (1993). Free radicals and other reactive oxygen metabolites. Clinical relevance and the therapeutic efficacy of antioxidant therapy. *Surgery*, **113**: 479-483.
- BJARNASON, I., MACPHERSON, A., HOLLANDER, D. (1995). Intestinal permeability: An overview. *Gastroenterology*, **108**: 1566-1581.
- CHADWICK, V.S., PHILLIPS, S.F., HOFMANN, A.F. (1977a). Measurements of intestinal permeability using low molecular weight polyethylene glycols (PEG 400). I. Chemical analysis and biological properties of PEG 400. *Gastroenterology*, **73**: 241-246.
- CHADWICK, V.S., PHILLIPS, S.F., HOFMANN, A.F. (1977b). Measurements of intestinal permeability using low molecular weight polyethylene glycols (PEG 400). II. Application to normal and abnormal permeability states in man and animals. *Gastroenterology*, **73**: 247-251.
- CHIU, C. J., MCARDLE, A. H., BROWN, R., SCOTT, H. J., GURD, F. N. (1970). Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch. Surg.*, **101**: 478-483.

- DEMLING, R. H. (2000). Enteral glutamine administration prevents the decrease in cell energy charge potential produced in ileum after a skin burn in the rat. *J. Burn Care Rehabil.*, **21**: 275-279.
- DIROSA, M., GIROUND, J. P., WILLOUGHBY, D., A. (1971). Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.*, **104**: 15-29.
- FARGES, M. C., BERARD, M. P., RAUL, F., CEZARD, J. P., JOLY, B., DAVOT, P., VASSON, M. P., CYNOBER, L. (1999). Oral administration of a glutamine-enriched diet before or after endotoxin challenge in aged rats has limited effects. *J. Nutr.*, **129**: 1799-1806.
- FOITZIK T., KRUSCHEWSKI, M., KROESEN, A. J., HOTZ, H. G., EIBL, G., BUHR, H. J. (1999). Does glutamine reduce bacterial translocation? A study in two animal models with impaired gut barrier. *Int. J. Colorectal Dis.*, **14**: 143-149.
- GRANGER, D. N. (1988). Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Physiol.*, **255**: 1269-1275.
- GRANT, D., WALL, W., MIMEAULT, R., ZHONG, R., GHENT, C., GARCIA, B. (1990). Successful small bowel/ liver transplantation. *Lancet*, **335**: 181-184
- HARWARD, T. R., COE, D., SOUBA, W. W., KLINGMAN, N., SEEGER, J. M. (1994). Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. *J. Surg. Res.*, **56**: 351-355.
- IKEDA, S., ZARZAUER, B. L., JOHNSON, C. D., FUKATSU, K., KUDSK, K. A. (2002). Total parenteral nutrition supplementation with glutamine improves survival after gut ischemia/reperfusion. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.*, **26**: 169-173.
- INADA, K., ENDO, S., TAKAHASHI, K., SUZUKI, M., NARITA, T., YOSHIDA, T., SUDA, H., KOMURO, T., YOSHIDA, M. (1991). Establishment of a new perchloric acid treatment method to allow determination of the total endotoxin content in human plasma by the limulus test and clinical application. *Microbiol. Immunol.*, **35**: 303-314.
- IWANAGA, S., MORITA, T., HARADA, T., NAKAMURA, S., NIWA, M., TAKADA, K., KIMURA, T., SAKAKIBARA, S. (1978). Chromogenic substrates for horseshoe crab clotting enzyme. Its application for the assay of bacterial endotoxins. *Haemostasis*, **7**: 183-188.
- JENSEN, J. C., SCHAEFER, R., NWOKEDI, E., BEVANS, D. W. 3RD, BAKER, M. L., PAPPAS, A. A., WESTBROOK, K. C., KLIMBERG, V. S. (1994). Prevention of chronic radiation enteropathy by dietary glutamine. *Ann. Surg. Oncol.*, **1**: 157-163.
- KONG, S. E., HEEL, K., MCCAULEY, R., HALL, J. (1998). The role of enterocytes in gut dysfunction. *Pathol. Res. Pract.*, **194**: 741-751.
- KUDSK, K. A. (2003). Effect of route and type of nutrition on intestine-derived inflammatory responses. *Am. J. Surg.*, **185**: 16-21.

- LANGER, J. C., SOHAL, S. S., BLENNERHASSETT, P. (1995). Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia-reperfusion injury: An exploration of possible mechanisms. *J. Pediatr. Surg.*, **30**: 568-572.
- LEVIN, J., TOMASULO, P.A., OSER, R.S.. (1970). Detection of endotoxin in human blood and demonstration of an inhibitor. *J. Lab. Clin. Med.* **75**: 903-911.
- LI, Y. S., LI, J. S., JIANG, J. W., LIU, F. N., LI, N., QIN W. S., ZHU, H. (1999). Glycyl-glutamine-enriched long-term total parenteral nutrition attenuates bacterial translocation following small bowel transplantation in the pig. *J. Surg. Res.*, **82**: 106-111.
- MCCORD, J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.*, **312(3)**:159-163.
- MENZIES, I.S. (1974). Absorbtion of intact saccharide in health and disease. *Biochem. Soc. Trans.* **2**: 1040-1046.
- MILLER, M.J., MCNEILL, H., MULLANE, K.M., CARAVELLA, S.J., CLARK, D.A. (1988). SOD prevents damage and attenuates eicosanoid release in a rabbit model of necrotizing enterocolitis. *Am. J. Physiol.* **255**: G556-565.
- NAKAMURA, S., MORITA, T., IWANAGA, S., NIWA, M., TAKAHASHI, K. (1977). A sensitive substrat for the clotting enzyme in horsecrab hemocytes. *J. Biochem.*, **81**: 186-197.
- NILSSON, U. A., SCHOENBERG, M. H., ANEMAN, A., POCH, B., MAGADUM, S., BEGER, H.G., LUNDGREN, O. (1994). Free radicals and pathogenesis during ischemia and reperfusion of the cat small intestine. *Gastroenterology*, **106**: 629-636.
- OHKI, M., NAKAMURA, T., MORITA, T., IWANAGA S. (1980). A new endotoxin sensitive factor associated with hemolymph coagulation system of horseshoe crab (Limulidae). *FEBS Lett.* **120**: 217.
- OTAMIRI, T. (1989). Oxygen radicals, lipid peroxidation, and neutrophil infiltration after small-intestinal ischemia and reperfusion. *Surgery*. **105**: 593-597.
- PARKS, D. A., BULKLEY, G. B. , GRANGER, D. N., HAMILTON, S. R., MCCORD, J. M. (1982). Ischemic injury in the cat small intestine: role of superoxide radicals. *Gastroenterology*, **82**: 9-15.
- PARKS, D. A., GRANGER, D. N. (1986). Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol.*,**250**: G749- 753.
- PETRONE, W.F., ENGLISH, D.K., WONG, K., MCCORD, J.M. (1980). Free radicals and inflammation: superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**: 1159-1163.
- PLAUTH, M., RAIBLE, A., VIEILLARD-BARON, D., BAUDER-GROSS, D., HARTMANN, F. (1999). Is glutamine essential for the maintenance of intestinal function? A study in the isolated perfused rat small intestine. *Int. J. Colorectal Dis.*, **14**: 86-94.
- RICHARD, N., MITCHELL, M.D., COTRAN, R.S. (2003). TEMEL PATOLOJİ 7. baskı. Edt.: KUMAR, V., COTRAN, R.S., ROBBINS, S.L., Nobel Tip Kitapevi, İstanbul, s: 3-31.

- ROSCHER, R., OETTINGER, W., BEGER, H. G. (1988). Bacterial microflora, endogenous endotoxin, and prostaglandins in small bowel obstruction. *Am. J. Surg.*, **155**: 348-355.
- SCHOENBERG, M. H., BEGER, H. G. (1993). Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit. Care Med.*, **21**: 1376-1386.
- SCHOENBERG, M. H., FREDHOLM, B.B., HAGLUND, U., JUNG, H., SELLIN, D., YOUNES, M., SCHILDBERG, F.W. (1985). Studies on the oxygen radical mechanism involved in the small intestinal reperfusion damage. *Acta Physiol. Scand.*, **124**: 581-589.
- SCHOENBERG, M. H., MUHL, E., SELLIN, D., YOUNES, M., SCHILDBERG, F.W., HAGLUND U. (1984). Posthypotensive generation of superoxide free radicals--possible role in the pathogenesis of the intestinal mucosal damage. *Acta Chir. Scand.*, **150**: 301-309.
- STECHMILLER, J. K., TRELOAR, D., ALLEN, N. (1997). Gut dysfunction in critically ill patients: A review of the literature. *Am. J. Crit. Care.*, **6**: 204-209.
- TAZUKE, Y., WASA, M., SHIMIZU, Y., WANG, H. S., OKADA, A. (2003). Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition prevents intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, **27**: 110-115.
- TIEN, M., SVINGEN, B.A., AUST, S.D. (1981). Superoxide dependent lipid peroxidation. *Fed. Proc.*, **40**: 179-182.
- TOMLINSON, J.E., BLIKSLAGER, A.T. (2004). Effects of ischemia and the cyclooxygenase inhibitor flunixin on in vitro passage of lipopolysaccharide across equine jejunum. *Am. J. Vet. Res.*, **65**: 1377-1383.
- VATISTAS, N. J., NIETO, J. E., VAN HOOGMOED, L., GARDNER, I., SNYDER, J. R. (2003). Use of an isolated intestinal circuit to evaluate the effect of ischemia and reperfusion on mucosal permeability of the equine jejunum. *Vet. Surg.*, **32**: 52-61.
- VILLA, X., KULUZ, J., SCHLEIEN, C.L., THOMPSON, J.F. (2002). Epidermal growth factor reduces ischemia-reperfusion injury in rat small intestine. *Crit. Care Med.*, **30**: 1576-1580.
- WEIXIONG, H., ANEMAN, A., NILSSON, U., LUNDGREN, O. (1994). Quantification of tissue damage in the feline small intestine during ischaemia-reperfusion: the importance of free radicals. *Acta Physiol. Scand.*, **150**: 241-250.
- WU, G., WANG, H., ZHANG, Y., WU, Z., WU, Z. (2004). Glutamine supplemented parenteral nutrition prevents intestinal ischemia- reperfusion injury in rats. *World J. Gastroenterol.*, **10**: 2592-2594.

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı: N.Arda  
Soyadı: Demirkan  
Doğum yeri ve tarihi: Ankara / 1970  
Uyruğu: T.C.  
Medeni Durumu: Evli  
Askerlik Durumu: Yapmış (1. Zırhlı Tugay / Hadımköy)  
İletişim Adresi ve Telefonu: Gülseren Sok.17/ 3 Anıttepe / Ankara  
0 312 229 25 27

### II- Eğitimi

1998 - 2003: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı (Genel cerrahi Uzmanlık Eğitimi)  
1996 - 1998: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı' nda Farmakoloji Doktora Eğitimi (Tez aşamasında devam ediyor)  
1988 - 1996: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
1985 - 1988: TED Ankara Koleji Vakfı Özel Lisesi  
1981 - 1985: TED Ankara Koleji Vakfı Özel Orta Okulu  
1976 - 1981: İlköğretim: Anıttepe İlkokulu Mebusnevleri / Ankara  
Yabancı dili: İngilizce

### III- Ünvanları:

Tıp Doktoru (1996)  
Operatör Doktor (Genel Cerrahi Uzmanı 2003)

### IV- Mesleki Deneyimi:

1998 - 2003: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cer. (Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi)  
2003 - 2004: Ankara Özel Keçiören Hastanesi (Genel Cerrahi Uzmanı)  
2004: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ibn-i Sina Hastanesi Acil Servisi (Genel Cerrahi Uzmanı)

**V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:**

Türk Farmakoloji Derneği

Türk Tabipleri Birliği

**VI- Bilimsel İlgisi Alanları:**

**Ulusal Yayınlar**

1- Demirkan A, Ekici Y, Uçar K, Baskan S.

*Kanita Dayalı Tip*

The Journal of the Faculty of Medicine University of Ankara 2000; 53(4):221-225

2- Demirkan A, Kuzu M. A, Melli M.

*Sığanıkta Enteral Glutamin Uygulamasının İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkileri*

Ankara Cerrahi Dergisi (2003-52 No lu kabul yazısı)

**Uluslararası Yayınlar**

1- Ünal A. E, Ulukent S. C, Bayar S, Demirkan A, Akgül H.

*Primary Hydatid Cyst of the Axillary Region*

Surgery Today 2001; 31(9): 803-805

2- Bayar S, Ünal A. E, Demirkan A, Atasoy Ç, Karayalçın K.

*Fournier's Gangrene Complicating Blunt Thoracic Trauma*

Surgery 2003; 134: 1-2 ( Accepted for publication May 2, 2003)

**Ulusal ve Uluslararası Bildiriler**

1- Demirkan A, Melli M.

*Sığanıkta İndometasinin Kronik Kullanımında, Tek Başına ve Misoprostol ile Kombine Halde İntestinal Permeabiliteye Etkileri*

15. Ulusal Farmakoloji Kongresi 1-5 Kasım 1999 Antalya / Türkiye

2-Demirkan A, Esen S, Kuzu M. A, Melli M.

*Enteral Glutamin Uygulası İntestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarını Engellemektedir*

1. Ulusal Deneysel Cerrahi Kongresi 5-6 Ocak 2002 Ankara / Türkiye

3- Demirkan A, Esen S, Kuzu M. A, Melli M.

*Glutamine Prevents Intestinal Injury Enhanced by Reperfusion Injury*

24<sup>th</sup> Congress of the European Society of Parenteral and Enteral Nutrition

31 Aug - 4 Sep 2002 Glasgow / United Kingdom

4- Demirkan A, Aksoy M, Kuzu M. A, Mellı M, Törüner A.

*The Effects of Indomethacine on Intestinal Permeability and Bacterial Translocation in Intestinal ObstructionSurgical Infection Society-Europe 16<sup>th</sup> Annual Meeting 29-31 May 2003 Cernobbio / Italy*

5- Polat O, Güler İ, Demirkan A, Tuğ T, Yıldız A.

*Ibn-i Sina Travma Skorunun Düzeltilmiş Travma Skoru ve Glasgow Koma Skalası ile Karşılaştırılması.*

Anestezi ve Reanimasyon Uzmanları Derneği Sempozyumu 2004

"Travma ve Anestezi" 2-4 Nisan 2004 Ürgüp.

6- Demirkan A, Güler İ, Polat O, Baskan S.

*Yaşılı Hastalarda Akut Apandisit*

1. Ulusal Yaşılı Sağlığı Kongresi. 7-11 Nisan 2004 Antalya / Türkiye

7- Polat O, Güler İ, Demirkan A, Yıldız A, Baskan S.

*Geriatrik Hastalarda Travma Etyoloji ve Sonuçları*

1. Ulusal Yaşılı Sağlığı Kongresi. 7-11 Nisan 2004 Antalya / Türkiye

8- Demirkan A, Yağmurlu A, Geçim E, Dindar H.

*Erişkin Ve Çocukluk Çağı İnvajinasyonları: İki Farklı Patoloji*

I. Hepato Gasroenteroloji Kongresi 7-10 Ekim 2004 Ankara / Türkiye

9- Demirkan A, Geçim E.

*Ferguson Kapalı Hemoroidektomi Yönteminin 197 Hastada 3 Yıllık Tedavi*

*Sonuçlarının Değerlendirilmesi.*

I. Hepato Gasroenteroloji Kongresi 7-10 Ekim 2004 Ankara / Türkiye

#### **Kitap ve bölüm yazarlığı- çevirisii:**

1- Demirkan A, Kuzu M.A.

Schwartz S.I. Principles of Surgery. 7 th. Ed. Vol. 2. New York, Mc Graw-Hill

Companies. 1999; 1217-1264. Chapter 25. Small Intestine. (Türkçe Çevirişi- 2005)

Yardımcı Çeviri Editörü

#### **VII- Bilimsel Etkinlikleri**

##### **Ödüller:**

En iyi Serbest Bildiri İkincilik Ödülü

1.Uluslararası Cerrahi Kongresi 5-6 Ocak 2002 Ankara / Türkiye

**Projeler:**

- i) Sıçanlarda indometasinin kronik kullanımında, tek başına ve misoprostol ile kombine halde intestinal permeabiliteye etkileri.  
A.Ü. araştırma fonu tarafından desteklenmiştir (97-09-00-15).  
Proje Yürüttücsü: Prof. Dr. Mehmet Melli. Projede 1. araştırmacı olarak görev aldım.
- ii) Sıçanlarda mezenterik iskemi-reperfüzyon modelinde glutaminin intestinal permeabilite ve morfoloji üzerine etkisi.  
UCD-DIF-SANOFİ Araştırma projesi fonu 1999 tarafından desteklenmiştir.  
Proje yöneticisi: Dr. Arda Demirkar
- iii) Sıçanlarda oluşturulan deneysel intestinal iskemi-reperfüzyon modelinde glutamin uygulamasının intestinal permeabilite değişiklikleri üzerindeki etkilerinin kanda lipopolisakkartit (LPS) ölçümlü değerlendirilmesi.  
A.Ü. araştırma fonu tarafından desteklenmiştir (2004/08/09/185).  
Proje Yürüttücsü: Prof. Dr. Mehmet Melli. Projede 1. araştırmacı olarak görev alıyorum.

**Konferans ve Seminerler:**

- a) Metastatik karaciğer tümörlerinde tedavi / Haziran 1999- A.Ü.T.F.
- b) Planlı relaparatomı- peritoneal kavitenin yıkamasının fayda ve zararları / Kasım 2001- A.Ü.T.F.
- c) Cerrahide sütür materyalleri ve sütür teknikleri / Nisan 2002- A.Ü.T.F.
- d) Hemoridlerde tedavi seçenekleri / Ocak 2003- A.Ü.T.F.

**Paneller:**

- a) Yanıklar / Ekim 2000- A.Ü.T.F.
- b) Delile dayalı tip / Aralık 2001- A.Ü.T.F

**VIII- Diğer Bilgiler**

T.E.D Ankara Koleji Mezunları Derneği Üyeliği  
Kalp Hastalarına Yardım Derneği Üyeliği