



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI

OKMEYDANI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON KLİNİĞİ

KLİNİK ŞEFİ : DOÇ. DR. AYSEL ALTAN

**DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE
ENTERAL VE/VEYA PARENTERAL GLUTAMİNİN
İNTESTİNAL MUKOZA İLE KAN GLUTAMİN,
TNF- α , IL-10 DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dr. Sevgi KESİCİ

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2010



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
OKMEYDANI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON KLİNİĞİ
KLİNİK ŞEFİ : DOÇ. DR. AYSEL ALTAN

DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE
ENTERAL VE/VEYA PARENTERAL GLUTAMİNİN
İNTESTİNAL MUKOZA İLE KAN GLUTAMİN,
TNF- α , IL-10 DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Sevgi KESİCİ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. Ü.AYGEN TÜRKMEN

İSTANBUL-2010

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
KISALTMA LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
1.GİRİŞ	1
1.1.SEPSİS	3
1.1.1.Sepsis Tanımlamaları	4
1.1.2.Sepsiste Etiyoloji	7
1.1.3.Sepsisin Fiziopatolojisi	9
1.1.3.1.Sitokinler	12
1.1.3.1.1..TNF- α	17
1.1.3.1.2..IL-10.....	20
1.1.4.Sepsiste Tanı	21
1.1.5.Sepsisin Yönetimi.....	23
1.1.6.Bakteriyel Translokasyon	23
1.1.7.Kritik Hastalarda Beslenme	25
1.2.GLUTAMİN.....	26
1.2.1.Sepsis ve Glutamin	28
1.2.2.Glutamin Metabolizması.....	28
1.2.3.Glutamin Dengesini Etkileyen Durumlar.....	33

1.2.4.Çalışmalarda Glutaminin Etkileri	37
1.2.5.Glutamin Kullanımını Sınırlandıran Durumlar.....	41
1.3.DENEYSEL ENFEKSİYON MODELLERİ	42
2.GEREÇ YÖNTEM.....	46
2.1.Çalışma Grupları.....	47
2.2.Çalışma Planı.....	48
2.3.Örnekleri Değerlendirme Yöntemleri	50
2.3.1.Mikrobiyolojik Yöntemler	50
2.3.2.Histopatolojik Yöntem	51
2.3.3.Biyokimyasal Yöntem.....	51
2.4.Verilerin İstatiksel Analizi	55
3.BULGULAR.....	59
3.1.Tüm Deneklerin Ağırlıkları ve Ön Çalışma Verileri.....	59
3.2.Kan ve Doku Örneklerinde Üreme	61
3.3.Villöz Atrofi	64
3.4.Plazma Glutamin Konsantrasyonları	66
3.5.Serum TNF- α Konsantrasyonları	69
3.6.Serum IL-10 Konsantrasyonları	72
3.7.Serum TNF- α ile IL-10 Korelasyonu	75
4.TARTIŞMA	76
5.SONUÇ.....	94
6.KAYNAKLAR	95
7.TEŞEKKÜR	119
8.ÖZGEÇMİŞ.....	121

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Enfeksiyon, Bakteriemi, SIRS, Sepsis, Ağır Sepsis, Septik Şok ve MODS'a İlişkin Tanımlamalar

Tablo 2. İnflamatuvar özelliklerine göre bazı sitokinlerin sınıflandırılması

Tablo 3. Glutamin (Gln) ile L Alanil-L Glutamin (L Ala-L Gln) yapının kimyasal ve fiziksel karşılaştırılması

Tablo 4. Deneklerin Gruplara Göre Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Tablo 5. Grup I'in Ateş ve Lökosit Değerleri

Tablo 6. Grup II'nin Ateş ve Lökosit Değerleri

Tablo 7. Deneklerin Gruplara Göre Bakteriemi Oranlarının Karşılaştırılması

Tablo 8. Deneklerin Gruplara Göre Üreme Oranlarının Karşılaştırılması

Tablo 9. Deneklerin Gruplara Göre Villöz Atrofi Oranlarının Karşılaştırılması

Tablo 10. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Plazma Glutamin Değerlerinin Dağılımı

Tablo 11. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum TNF- α Değerlerinin Dağılımı

Tablo 12. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum IL-10 Düzeylerinin Dağılımı

Tablo 13. TNF- α ile İL-10 Ölçümlerinin İlişkisi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. LPS'in Yapısal Organizasyonu

Şekil 2. Bakteriyel Lipopolisakkaridin Etki Mekanizması

Şekil 3. Sepsis ve İnflamatuar Mediatörlerin Salınımı

Şekil-4. Sitokin Kaskadının Tetiklenmesiyle Proinflamatuvar ve Antiinflamatuvar Sitokinlerin Salınması.

Şekil 5. TNF α 'nın Etkileri

Şekil 6. T Hücreleri ve Sitokinlerin Etkileri

Şekil 7. Glutaminin (Gln) Kimyasal Formülü

Şekil 8. Glutaminin (Gln) Sentezi ve Parçalanması

Şekil 9. Glutamin (Gln) Metabolizmasının Şematik Görünümü

Şekil 10. Glutamin (Gln) Metabolizması

Şekil 11. Glutaminin (Gln) Organlar Arası Döngüsü

Şekil 12. Stres Esnasında Glutamin Metabolizması

Şekil 13. A: Normal Barsak Mukozası,

B: Glutamin Eksikliğinde Barsak Mukoza Atrofisi

Şekil 14. Ağırlıkların Kaydedilmesi

Şekil 15. İntraperitoneal Bakteri Enjeksiyonu Yapılması

Şekil 16. Oragastrik Tüp Yerleştirilmesi

Şekil 17. Kuyruktan Damar Yolu Açılması

Şekil 18. Doku Örnekleri İçin Laparotomi ve Sternotomi Uygulanması

Şekil 19. Serumun Biyokimyasal Analizler İçin Eppendorf Tüplerine

Aktarılması

Şekil 20. Deneklerin Gruplara Göre Bakteriyemi Oranlarının Dağılımı

Şekil 21. Deneklerin Gruplara Göre Üreme Oranlarının Dağılımı

Şekil 22. Deneklerin Gruplara Göre Villöz Atrofi Oranlarının Dağılımı

Şekil 23. İleum Mukozasında Normal Villus Yapılarının Mikroskopik Görüntüsü

Şekil 24. İleum Mukozasında Villöz Atrofi ve Nekrozun Mikroskopik Görüntüsü

Şekil 25. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Plazma Glutamin Değerlerinin Dağılımı.

Şekil 26. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum TNF- α Değerlerinin Dağılımı.

Şekil 27. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum IL-10 Değerlerinin Dağılımı.

KISALTMALAR

Gln: Glutamin

Ala-Gln: L Alanil-L Glutamin

TNF: Tümör Nekroz Faktör

IL: İnterlökin

Gİ: Gastrointestinal

İB: İnce Barsak

E. coli: Escherichia coli

CFU: Colony Forming Units

LPS: Lipopolisakkarit

NO: Nitrik oksit

SIRS: Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu

MODS: Multipl Organ Disfonksiyonu Sendromu

IFN: İnterferon

CRP: C-Reaktif Protein

sIg A: Sekretuar İmmunglobülin A

Th1: T helper-1

PMNL: Polimorf Nüveli Lökosit

Ala: Alanin

CLP: Çekum Bağlama ve Delme

MLN: Mezenter Lenf Nodu

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ÖZET

Bu deneysel çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) laboratuvarında Haziran-Eylül 2009 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Amaç: Bu deneysel çalışmada; intraperitoneal E. coli (Escherichia coli, 1104512 suşu, 1mL 5×10^7 CFU/mL) enjeksiyonu ile sepsis oluşturduğumuz sıçanlarda, enteral ve/veya parenteral yolla glutamin kullanımının intestinal mukozaya, kan ve dokularda bakteriyel üremeye, kan glutamin, TNF- α ve IL-10 düzeylerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, ağırlıkları 210-250 g, 10 haftalık, Wistar-Albino, 48 adet dişi sıçan kullanıldı. Uygun laboratuvar koşullarında bakılan sıçanlar, deney süresince standart beslendiler. Girişimsel işlemler, ketamin 50 mg kg^{-1} im ve xylazine 5 mg kg^{-1} im uygulanarak yapıldı. Çalışma bitiminde tüm sıçanlar sakrifiye edildi. 4 çalışma grubu oluşturuldu:

Grup C (Kontrol grubu, N=12): Sepsis + izotonik salin iv/enteral

Grup E (Enteral glutamin grubu, N=12): Sepsis + 0.5 g kg^{-1} gün^{-1} glutamin enteral + 2 mL/gün izotonik salin iv

Grup P (Parenteral L Alanil-L Glutamin grubu, N=12): Sepsis + 0.4 g kg^{-1} gün^{-1} L Alanil-L Glutamin (=0,27 g kg^{-1} gün^{-1} Gln) iv + 1 mL/gün izotonik salin enteral

Grup EP (Kombine grup, N=12): Sepsis + 0.3 g kg^{-1} gün^{-1} Ala-Gln (=0,2 g kg^{-1} gün^{-1} Gln) iv + 0.3 g kg^{-1} gün^{-1} Gln enteral

Sıçanların beslenmelerine, ip E. coli enjeksiyonundan 4 sa sonra başlandı. Deneklerin başlangıç kanlarında (bazal değer) ve beslenmeye başladıktan itibaren 24. sa ile 96. saatte kan glutamin, TNF- α ve IL-10 düzeylerine bakıldı. Sıçanlardan, bakteri üremesini değerlendirmek üzere mezenter lenf nodu, karaciğer, akciğerden, kan ve villus atrofisini değerlendirmek için de ince barsaktan doku örnekleri alındı.

Bulgular: Bakteriyemi ve dokularda üreme (*E. coli*, 1104512) oranları; Grup EP'de C'ye göre düşük bulundu (bakteriyemi, EP-C, $p=0,007$; dokularda üreme, EP-C, $p=0,025$). İleumda villöz atrofi oranları Grup EP, P ve E'de; Grup C'ye göre düşük bulundu (sırasıyla; $p=0,001$, $p=0,019$, $p=0,003$). Kan glutamin, TNF- α ve IL-10 bazal değerlerinin; gruplar arası karşılaştırılmalarında, anlamlı fark bulunmadı. Plazma glutamin değerlerinin, gruplar arası karşılaştırılmalarında; 24. saatte Grup EP ve P'de diğer gruplardan düşük, 96. saatte ise yüksek (Grup EP' de en yüksek olmak üzere) bulundu ($p<0,05$). 96. sa plazma glutamin değerlerinin, grupların kendi içinde, bazal değerleri ile karşılaştırılmalarında; Grup EP ve P'de anlamlı artışlar (Grup EP' de en yüksek olmak üzere), Grup C ve E'de ise anlamlı düşüşler bulundu ($p<0,01$). Serum TNF- α ve IL-10 değerlerinin, gruplar arası, 24.sa ve 96.saatlerde karşılaştırılmalarında, Grup EP ve P'de diğer gruplardan düşük bulundu ($p<0,05$). 96. sa serum TNF- α ve IL-10 değerlerinin, grupların kendi içinde, Grup C ve E'de; bazal değerleri ile karşılaştırılmalarında, diğer gruplardakilere göre daha belirgin artışlar (Grup C en belirgin olmak üzere) bulundu ($p<0,01$). Ayrıca; TNF- α ile IL-10 değerleri arasında 24. saatte ($r=0,746$; $p<0,01$) ve 96. saatte ($r=0,591$; $p<0,01$) pozitif yönlü anlamlı korelasyon bulundu. Enteral ve parenteral glutaminin eş zamanlı uygulama maliyeti, enteral uygulamaya göre fazla ancak parenteral uygulamaya yakın bulundu.

Sonuç: Bu deneysel çalışmada, sepsiste Gln'in en etkili uygulama yönteminin; intestinal mukozaya trofik etkisi, doku ve kan kültürlerinde üremeyi azaltması, immün modülatör etkisi ve tüm bu etkilerle birlikte maliyetinin de parenteral uygulamaya yakın olmasından dolayı, enteral ve parenteral yolla kombine kullanımı olduğunu gösterdik.

Anahtar Kelimeler: Glutamin, sepsis, enteral ve parenteral, sitokinler, villus atrofi.

ABSTRACT
EFFECTS OF ENTERAL AND/OR PARENTERAL GLUTAMINE ON
INTESTINAL MUCOSA AND ON LEVELS OF BLOOD GLUTAMINE,
TNF- α , IL-10 IN THE EXPERIMENTAL SEPSIS MODEL

This experimental study was conducted in Istanbul University, Institute of Experimental Medicine Research (DETAE) laboratories between June-September 2009.

Objective: In this experimental study, we aimed to investigate the effects of enteral and/or parenteral administration of glutamine on intestinal mucosa, bacterial growth in blood and tissues, levels of blood glutamine, TNF- α and IL-10, on rats on which we formed sepsis with intraperitoneal E. coli (Escherichia coli, 1104512 strain, 1mL 5×10^7 CFU/mL) injection.

Material and Method: 10 weeks old, 48 Wistar-Albino female rats with weights 210-250 g were used in the study. They were fed standard during the experiment under appropriate laboratory conditions. Ketamine HCl 50 mg kg⁻¹ im and xylazine HCl 5 mg kg⁻¹ im were administered during interventional operations. All the rats were sacrificed at the end of the study. Four study groups were formed:

Group C (Control Group, N=12) Sepsis + isotonic saline iv/enteral

Group E (Enteral glutamine group, N=12): Sepsis + 0.5 g kg⁻¹ day⁻¹ glutamine enteral + 2 mL/day isotonic saline iv

Group P (Parenteral L Alanil-L Glutamine group, N=12): Sepsis + 0.4 g kg day⁻¹ L Alanil-L Glutamine (=0,27 g kg⁻¹ day⁻¹ Gln) iv + 1 mL/day isotonic saline enteral

Group EP (Combined group, N=12): Sepsis + 0.3 g kg⁻¹ day⁻¹ Ala-Gln (=0,2 g kg⁻¹ day⁻¹ Gln) iv + 0.3 g kg⁻¹ day⁻¹ Gln enteral

We began to feed rats 4 hours after ip. E. coli was injected. Blood glutamine, TNF- α and IL-10 levels were examined at the beginning (basal

value) and at 24 hours and 96 hours after the experiment has started. Samples of tissue from mesenteric lymph node (MLN), liver and lung and samples of blood were collected to evaluate the bacterial growth and samples of tissue were collected from small intestine to evaluate villus atrophy.

Findings: Rates of bacterial growth in tissue and blood (*E. coli*, 1104512) of Group EP were found lower than Group C (bacteremia, EP-C, $p=0,007$; reproduction in tissue, EP-C, $p=0,025$). Rates of villus atrophy in ileum of Group EP, P and E were lower than Group C (respectively; $p=0,001$, $p=0,019$, $p=0,003$). No significant difference in basal values of blood glutamine, TNF- α and IL-10 were found between groups. In the comparison of plasma glutamine values, made between groups, the values were found lower in groups EP and P at 24 hours, and higher at 96 hours (the highest in Group EP) ($p<0,05$). When plasma glutamine values at 96 hours were compared with their basal values, significant increases were detected in Groups EP and P (the highest increase is in Group EP) and significant decreases were detected in Groups C and E ($p<0,01$). Serum TNF- α and IL-10 values were found lower for Groups EP and P when compared between groups at 24 and 96 hours ($p<0,05$). When Serum TNF- α and IL-10 values at 96 hours were compared with their basal values more distinctive increases were detected in Groups C and E than the other groups ($p<0,01$). Besides significant positive correlation was determined between TNF- α and IL-10 values at 24 hours ($r=0,746$; $p<0,01$) and 96 hours ($r=0,591$; $p<0,01$). Simultaneous administration cost of enteral and parenteral glutamine was higher than enteral administration however it was found close to parenteral administration.

Conclusion: In this experimental study we showed that the combined administration of enteral and parenteral is the most effective method of administration of Gln in sepsis for its trophic effect on intestinal mucosa,

cause of reduction in reproduction in tissue and blood cultures, immunomodulatory effect and cost close to parenteral administration.

Key Words: Glutamine, sepsis, enteral and parenteral, cytokines, villus atrophy.



1. GİRİŞ

Sepsis, mikroorganizma ve toksinlerine karşı organizmanın geliştirdiği sistemik yanıt olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde medikal uygulamadaki gelişmelere rağmen tüm dünyada önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir (1-3). Sepsiste destek tedavisinin etkin ve dinamik bir şekilde yapılması klinik seyri önemli derecede etkilemektedir (4). Sepsiste altta yatan nedenler arasında bakteriyel enfeksiyonlar bulunur; en fazla Gram negatif bakteriler ve bunların endotoksinleri tarafından oluşturulduğu kabul edilmektedir (5, 6).

Sepsiste immün cevabın düzenlenmesinde hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi sağlayan sitokinlerin önemli görevleri vardır (7). Proinflamatuvar sitokinler immün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. TNF- α (Tümör Nekroz Faktör-alfa) insan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokindir (8). Sepsiste immün yanıtı dengelemek için IL-10 (İnterlökin-10) gibi antiinflamatuvar sitokinlerin serum düzeyleri proinflamatuvar mediatörlerle birarada arttığı gösterilmiştir (9).

Glutamin (Gln); insan vücudunda önemli miktarda bulunan, serbest, non esansiyel, nötral aminoasittir (10,11). Bugüne kadar elde edilen veriler, glutaminin insan immün sistem hücreleri için önemini kuvvetle desteklemektedir (12). Gln, kritik hastalarda kullanılan sayısız biyolojik özellikleri ile nutrisyonel müdahalede eşsiz bir adaydır (13). İmmünonütrientlerden biri olan Gln, barsak hücreleri ve lenfosit gibi hızlı çoğalan hücrelerin önemli bir metabolik substratıdır (14). Sepsis gibi katabolik olayları takiben hücre içi Gln depoları %50'den fazla, plazma seviyesi ise %25'den fazla azalır ve uzun süre düşük kalır (11,15).

Gastrointestinal (Gİ) bütünlüğün devamında önemli rolü olan Gln'in barsak hücrelerinde hücre bölünmesi ve proliferasyonu üzerine etkili olduğu bilinmektedir (11,16-18). Plazma Gln konsantrasyonunun azalması intestinal

mukoza'nın yapısını bozar (20). Gln, barsak duvarının bütünlüğünün korunmasına yardımcı olarak, septisemi ve multipl organ yetmezliğine yol açabilecek bakteriyel translokasyonu önler (21).

Gln'n, ince barsak (İB) atrofisini ve bakteriyel translokasyonu azalttığı Gİ sistemde lenfoid atrofiyi önlediği ve Gİ immün fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir. Gln'in enterositler üzerinde trofik etkisi vardır, böylece villöz atrofiyi önler (22-24).

Deneyisel bağırsak hasarı, atrofi ve katabolik stres modellerinde Gln ile zenginleştirilmiş parenteral ve enteral nütrisyon desteği, immün sistem hücrelerinin sayılarını ve/veya fonksiyonlarını arttırmakta, Gİ sistemde mukozal büyüme ve onarımı hızlandırmakta, sepsisi azaltmakta ve nitrojen dengesini düzenlemektedir (12).

Sepsis hastalarında Gln desteği ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda da sadece parenteral veya enteral kullanımının etkileri araştırılmıştır. Bilgilerimiz dahilinde; literatürde şu ana dek enteral ve parenteral kombine yolla Gln desteğinin etkilerini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Klinikte enteral ve parenteral Gln'in sistemik ve Gİ sisteme trofik etkilerinin farklı olması nedeniyle, eş zamanlı kullanımını ile etkilerinden daha fazla faydalanmayı amaçlayarak aynı zamanda maliyeti arttırmamak için de Gln dozlarını düşürerek etkinlik ve maliyet açısından maksimum fayda sağlamak mümkün olur mu sorusuna yanıt aramak ve bu konuda yapılabilecek klinik araştırmalara ışık tutmak amacıyla bu çalışmayı planladık.

Biz bu çalışmada; ip *Escherichia coli* (E. coli) enjeksiyonu vererek intraabdominal sepsis oluşturduğumuz sıçanlarda, enteral ve/veya parenteral Gln kullanımının intestinal mukozaya, kan ve dokuda bakteri üremesine, kan Gln, TNF- α ile IL-10 düzeylerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

1.1. SEPSİS

Sepsis, mikroorganizma ve toksinlerine karşı organizmanın geliştirdiği sistemik yanıt olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde medikal uygulamalardaki gelişmelere rağmen tüm dünyada önemli bir sorun olmayı sürdürmektedir (1-3). Yoğun bakım ünitelerinde tedavi gören hastaların en yaygın hospitalizasyon sebebi septik şoktur (25). Bunun da yoğun bakım ünitelerinde en sık ölüm nedeni olduğu ve tüm ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada bulunduğu bildirilmektedir (26).

Sepsiste altta yatan nedenler arasında bakteriyel enfeksiyonlar bulunur. Genel olarak en fazla Gram negatif bakteriler ve bunların endotoksinleri tarafından oluşturulduğu kabul edilmektedir (5,6). Endotoksin, sepsisteki olaylar dizisini başlatan anahtar moleküldür. Lipopolisakkarid (LPS) deney hayvanlarına verildiğinde letal etkiler izlenmiştir (27). Yabancı mikroorganizmaların ve onların endotoksin gibi ürünlerinin, konakçı organizmanın hücresel savunma mekanizmalarını tetikleyerek TNF- α , IL-1 (İnterlökin-1), IL-6 (İnterlökin-1), gibi “erken yanıt sitokinleri” ile birlikte, çok sayıda inflamatuvar mediatörü aktive ettikleri saptanmıştır (28). Bunlar arasında pek çok karmaşık ilişkiler ortaya çıkmakta, nötrofiller aşırı ve kontrolsüz biçimde aktifleşmekte, kompleman sistemi, trombosit agregasyonu, araşidonik asit metabolizması uyarılmakta ve sonuç olarak hedef durumdaki mikrovasküler endotel hasarı meydana gelmektedir (28) Gelişen endotel hasarı ve doku perfüzyonunda azalma neticesinde çeşitli organ fonksiyonlarında bozulma meydana gelmektedir. Fonksiyonu bozulan her organ ya da sistem, diğer organ ya da sistemlere yük oluşturmaktadır. Sonuçta organizma, multipl organ disfonksiyonu ile kaybedilmektedir. TNF, IL gibi sitokinlerin ve nötrofillerin sepsis ve multipl organ disfonksiyonu sendromu (MODS:Multiple Organ Dysfunction Syndrome) fizyopatolojisindeki rollerinin belirlenmiş olması, sistemik inflamatuvar yanıtın (SIRS=Systemic Inflammatory Response Syndrome) modüle edilmesine yönelik yaklaşımların popülerite kazanmasına yol açmıştır (5). Sepsis süresince proinflamatuvar

sitokinlerin aşırı salınımı kötü gidişten sorumlu en önemli faktördür (29). Erken tanı ve ilk birkaç saatteki tedavi sepsis ve septik şokta sonucu etkilemektedir. Destek tedavisi etkin ve dinamik bir şekilde yapılmalıdır (4).

Son yapılan çalışmalar, yoğun bakım hastalarında özel enteral nutrisyonların klinik tedavide yararlı adjuvan olduğunu göstermiştir. Yeterli nitelik ve nicelikteki besinler hücrel metabolizmayı destekler, yara iyileşmesini hızlandırır, organ fonksiyonlarını, immün sistemi ve gastrointestinal bariyeri güçlendirir. Gİ bariyer, fonksiyonel ya da fiziksel olarak tahrip olduğunda bazı bakteriler potansiyel patojen, belki de sepsis kaynağı olabilirler. Bu durum özellikle immün yetmezliği olan, intestinal permeabilitesi artmış ve normal Gİ mikroflorası bozulmuş olan hastalarda meydana gelir (30-32).

Sepsisin erken tanımlanması ile kanıta dayalı protokollerle belirlenmiş tedavilerin sunulmasının, sepsisteki mortalite ve morbiditenin azalmasını sağladığı düşünülmektedir. (33-35)

1.1.1. Sepsis Tanımlamaları

Sepsise eşlik eden klinik tabloyu ilk kez, M.Ö. 400 yılında tanımlayan Hipokrat, “akut bir hastalıkta ekstremitelerin soğuması kötü bir belirtidir” ifadesini kullanmıştır (36). Bu tanımlamadan yaklaşık 24 asır sonra günümüzde, sepsis fizyopatolojisindeki gelişmelere karşın, terminolojideki karmaşanın sürdüğü gözlenmektedir. 1991 yılında Society of Critical Care Medicine ve American Collage of Chest Physicians’in konsensus toplantısında enfeksiyon, bakteriyemi, SIRS, sepsis, septik şok ve MODS’a ilişkin evrensel tanımlamalar geliştirilmiştir (Tablo 1) (37-39).

Tablo-1: Enfeksiyon, Bakteriemi, SIRS, Sepsis, Ağır Sepsis, Septik Şok ve MODS'a İlişkin Tanımlamalar (38).

ENFEKSİYON	Mikroorganizma varlığına veya normalde steril olan konakçı dokunun bu organizmalarla invazyonuna karşı gelişen inflamatuvar yanıtla karakterli mikrobiyal fenomen
BAKTERİYEMİ	Kanda canlı bakteri varlığı
SIRS	Sistemik inflamatuvar yanıtıdır. Aşağıdakilerden iki veya daha fazlası ile karakterize olur: <ul style="list-style-type: none">➤ Rektal vücut ısısı >38 °C veya <36 °C➤ Kalp atım hızı >90 atım/dk➤ Solunum hızı >20 sol/dk veya PaCO₂<32mmHg➤ Lökosit sayısı >12000 hücre/mm³ veya <4000 hücre/mm³ yada %10 immatür (band) formda
SEPSİS	Dökümanite edilmiş enfeksiyonla birlikte olan SIRS
AĞIR SEPSİS	Organ disfonksiyonu, hipoperfüzyon veya hipotansiyonun eşlik ettiği sepsis. Hipoperfüzyon veya mental durumda akut bir değişikliği içerebilir, ama bunlarla sınırlı değildir.
SEPTİK ŞOK	Bilinen başka bir neden söz konusu olmaksızın sepsiste yeterli sıvı resüsitasyonuna karşın hipotansiyon (SAB<90mmHg veya SAB'da başlangıç değerine kıyasla 40 mmHg'lik bir düşüş) ile birlikte organ disfonksiyonu ve perfüzyon bozukluklarının (laktik asidoz, oligüri veya mental durumda akut bir değişiklik) varlığı
MODS	Organ disfonksiyonlarının, homeostazisi sürdüremediği fizyolojik düzensizlik durumu

SAB: Sistolik Arter Basıncı, SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome=Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu, MODS: Multiple Organ Dysfunction Syndrome= Multipl Organ Disfonksiyonu Sendromu

Vücutun kendini savunabilmesi;

- İnvazyon ve doku hasarına karşı eksternal bariyerleri
- Yabancı patojenler ve doku artıklarına karşı non spesifik sistemleri
- Ajan patojenlere karşı antijen-spesifik yanıtları içeren 3 temel mekanizma ile sağlanmaktadır (40).

Yabancı patojenler veya doku artıklarına karşı organizmada nonspesifik bir defans mekanizması oluşturan inflamasyon; mekanik, kimyasal ve mikrobiyal stimuluslarla ortaya çıkan doku hasarlanmasına karşı hızla artan, hümorale ve sellüler bir yanıtıdır (41). Söz konusu uyarılara karşı başlangıçta ortaya çıkan ve koruyucu bir fizyolojik yanıt olan lokal inflamasyon, bu lokal kontrolün kaybı veya aşırı bir aktivite oluşması sonucunda, klinikte SIRS olarak tanımlanan artmış bir sistemik yanıtı açmaktadır. SIRS; enfeksiyon (virüs, bakteri, protozoa, fungus) sonrasında gelişebildiği gibi; travma, otoimmün reaksiyonlar, siroz ve pankreatit benzeri nonenfeksiyöz etmenlerden de kaynaklanabilir (36, 38).

Bone (38), SIRS gelişiminde 3 evre tanımlamıştır:

I. Evre'de hasar bölgesinde, stimulusa yanıt olarak, başlıca etkileri inflamatuvar yanıtı uyarmak, yara onarımını artırmak ve retikuloendotelial hücre gereksinimi sağlamak olan sitokinler üretilir.

II. Evre'de lokal yanıtı artırmak amacıyla, sitokinlerin küçük bir miktarı dolaşıma girer. Makrofajlar ve trombositlerin hasarlı bölgeye göçü sağlanırken, büyüme faktörlerinin üretimi stimüle edilir ve bir akut faz yanıtı başlayabilir. Bu evrede, sitokin yanıtının patolojik veya anormal olduğu düşünülmeyebilir. Aksine vücudun ana savunma hattının bir bölümü olarak kabul edilmelidir. Bu sitokin yanıtı, normal koşullarda diğer sitokinleri, reseptör antagonistlerini ve antikörleri içeren karmaşık bir mediyatör ağı ile regüle edilmektedir. Bu mediyatörler, sitokin üretimini azaltarak ve daha önce

serbestleşen sitokinlere karşıt bir etki oluşturarak, başlamış olan inflamatuvar yanıtı kontrol altında tutarlar. Bu yolla; enfeksiyonun kontrol altına alınması, yara iyileşmesi ve homeostazisin restore edilmesi sağlanabilir. Homeostazisin yeniden sağlanmasının başarısız olduğu durumlarda masif bir sistemik reaksiyon oluşmasıyla III. Evre (SIRS) gelişir.

III. Evre'de sitokinlerin hakim olan etkileri koruyucu olmaktan çok yıkıcı olmaya başlar. İnflamatuvar mediyatör seli, çok sayıda hümmoral kaskadı tetikleyerek mikrosirkulatuar bütünlüğün kaybı ile retiküloendotelial sistemde inatçı bir aktivasyona yol açar.

1.1.2. Sepsiste Etiyoloji

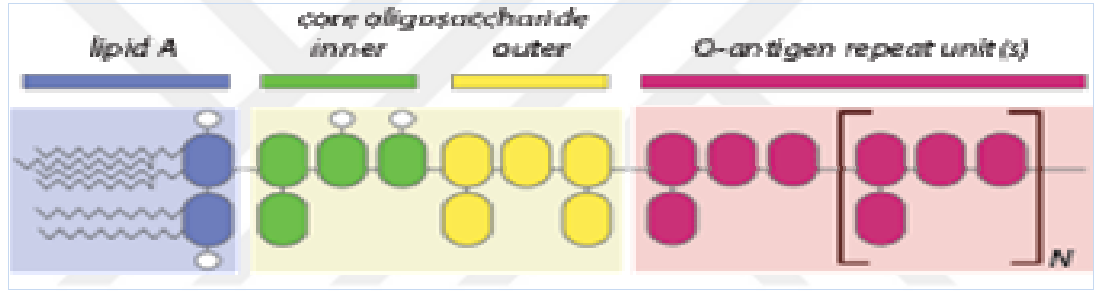
Gram negatif bakteriler insanda alt Gİ sistem florasında bulunmaktadır. Konak ve patojen arasındaki bariyer oldukça iyidir ve predispozan bir durum bulunmadıkça enfeksiyon beklenmez. Bariyerde hasar oluşursa (medikal veya cerrahi uygulamalar ile) Gram negatif bakteriler daha önce kolonizasyonu olmayan dokulara yayılır, özellikle de büyümekte olan hücrelere invazyon gösterirler. Çoğu Gram negatif enfeksiyonlar, üriner, genital, alt solunum yolları, peritoneal kavite, yumuşak doku ve cerrahi yaralanmalardan orjin almaktadır (26, 42)

Her Gram negatif enfeksiyonun görüldüğü bölgede bakteriyemi ortaya çıkmaz. Ancak Gram negatif enfeksiyonlarda bakteriyemi bulunması halinde mortalite % 10 oranında artmakta, immun suprese hastalarda ise bu oran % 30'a çıkmaktadır (43).

Çoğunlukla Gram negatif bakteriler olmak üzere pek çok mikroorganizma, makrofaj ve monositi uyararak sepsis kaskatının başlamasına neden olur. Başta makrofaj olmak üzere pek çok hücreden sitokin salınımı başlar ve süreç organ yetmezliğinden ölüme kadar gidebilir (36).

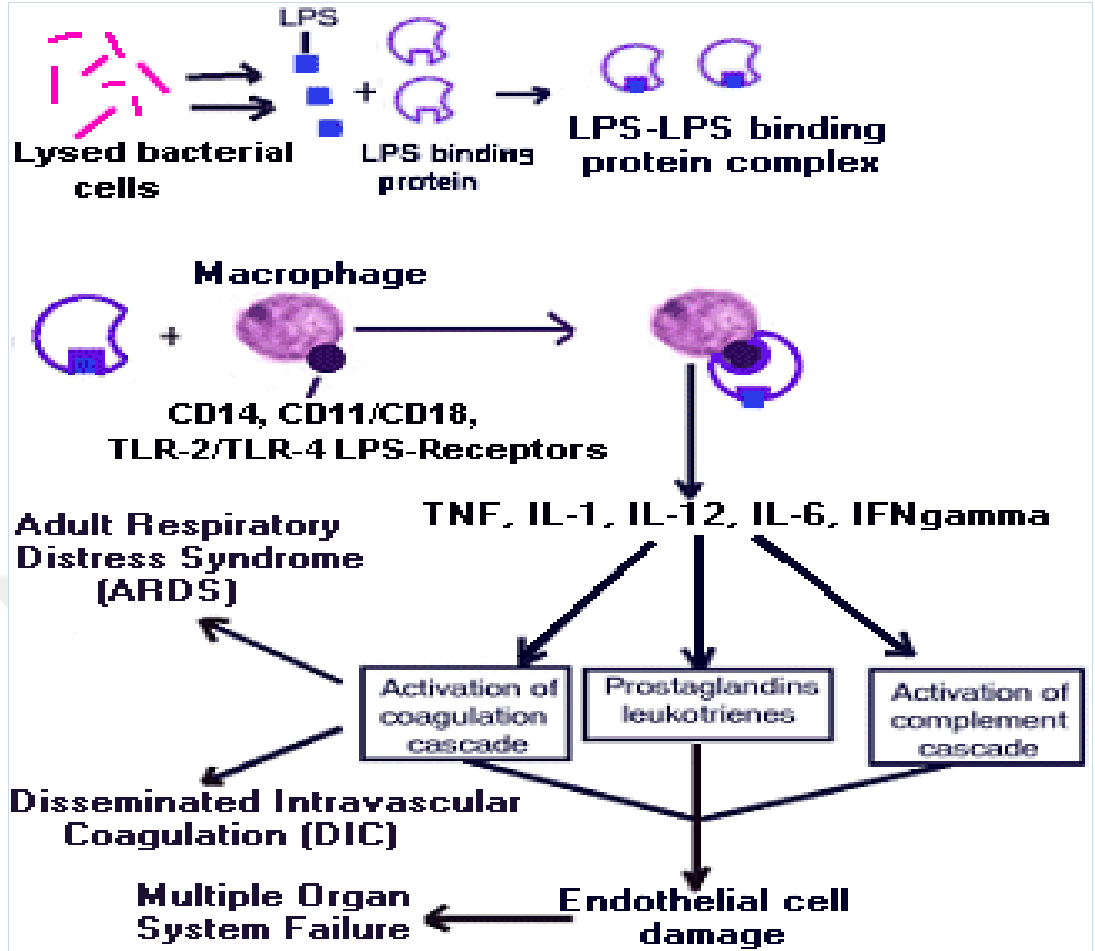
Endotoksin

Gram negatif bakterilerin hücre duvarı iki tabakadan oluşmuştur. Dıştaki tabakada proteinlere ilave olarak LPS yapı içeren bir bölüm vardır. Bu bölüm, bakteriyemide toksisitenin asıl sorumlusudur ve polisakkarit O antijeni, core antijeni ve lipid A olmak üzere üç bölümden oluşur (Şekil 1). Bir polisakkarid yan zincir olan O antijeni, core polisakkaridi aracılığıyla bir fosfolipid olan lipid A'ya bağlanır. O antijeni Gram negatif bakteri suşlarına göre değişir ve belirgin serotipik farklılaşmadan sorumludur. Lipid A bölgesi toksisitenin ana sorumlusu olarak görülmektedir. Pek çok klinik ve deneysel çalışmada, LPS enjeksiyonunun sitokin kaskadını başlatan ana sorumlu olduğu ve sepsis sendromuna yol açtığı gösterilmiştir (26, 44).



Şekil 1: LPS'in Yapısal Organizasyonu (45)

LPS, rahatlıkla sistemik dolaşıma geçebilir ve makrofaj, monosit gibi hücreleri uyararak sepsis kaskadını başlatacak sitokinlerin salınımına yol açabilir. LPS'in lipid A bölümü, lökositlerin membranlarına; CD14, CD11, CD18 ve "asetillenmiş düşük doz lipoprotein" gibi reseptörler aracılığıyla yapışır (46,47). Yapılan birçok çalışmada, LPS'in patolojik düzeyde sitokin salınımına yol açtığı gösterilmiştir. Erken evrede, LPS uyarımı ile oluşan üç sitokin salınımı önemlidir. Bu sitokinler sepsisin "santral" mediatörleri olarak bilinen, TNF- α , IL-1 β ve IL-6'dır. Bu moleküller, diğer sitokinlerin salınımını başlatarak sepsisin ilerlemesine neden oldukları gibi araşidonik asit metabolizmasının ve kompleman sisteminin aktivasyonuna, integrin ve nitrik oksit (NO) üretiminde artışa da neden olurlar (48), (Şekil 2).



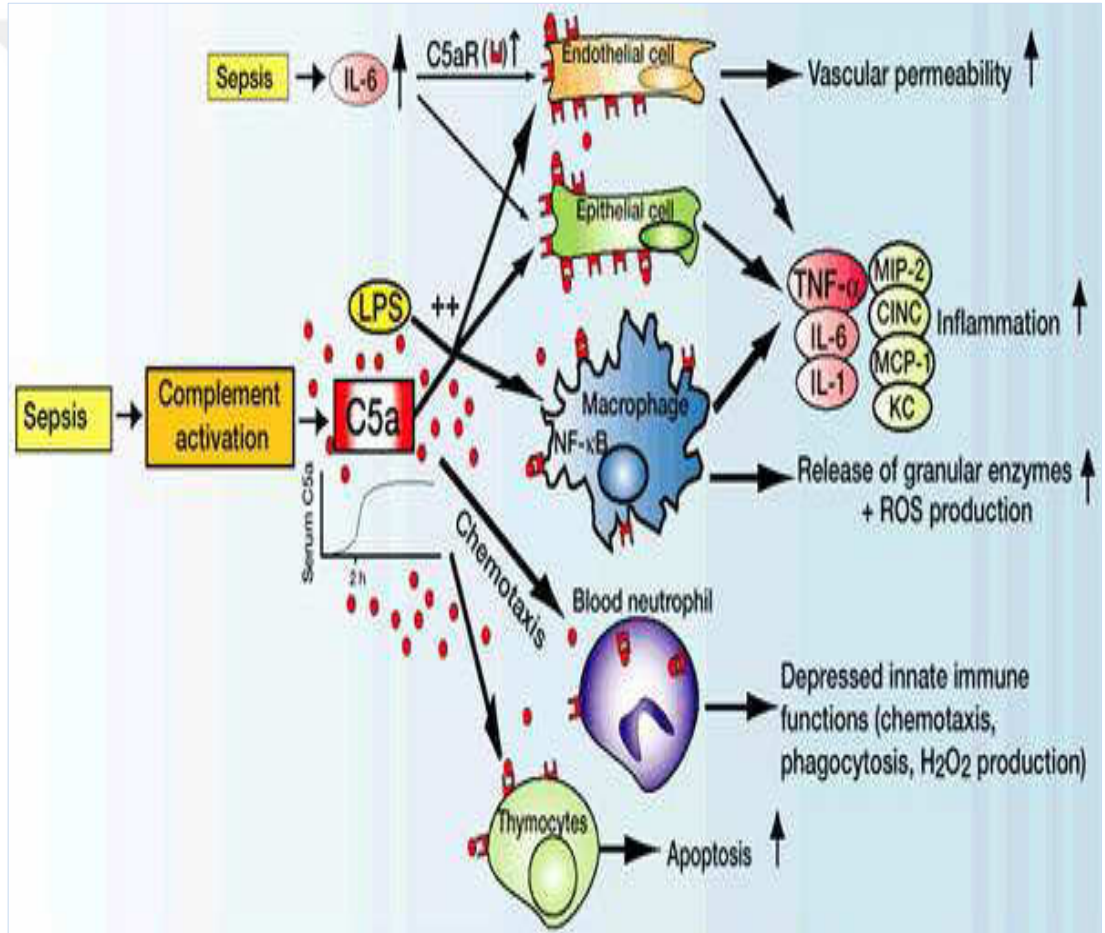
Şekil 2: Bakteriye Lipopolisakkaridin Etki Mekanizması (48)

LPS: Lipopolisakkarid, IL: İnterlökin, TNF: Tümör nekroz faktör, IFN: İnterferon, TLR: Toll-like reseptör

1.1.3. Sepsisin Fizyopatolojisi

Deneyisel endotoksemilerde plazmada sitokin seviyesindeki artmaya paralel olarak klinik bulgu; ateş, taşikardi ve hipotansiyon ortaya çıkar. Klinik bulgular sitokinlerin varlığı ile ilgili olup LPS infüzyonundan 90-120 dk sonra görülür (49). Ekzojen Gram negatif bakteri endotoksini verilen deney hayvanlarında, sırasıyla, TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 seviyelerinde artış saptanmıştır (50).

Endotoksinin yanı sıra enterotoksin, toksin-1, Gram pozitif veya mantar hücre duvarı ürünleri, viral ve fungal antijenler septik basamaklarda başlatıcı olarak görev alırlar (51). Sepsisin oluşması için nonenfeksiyöz uyarıcılar da benzer fizyolojik cevaba sebep olabilir. Sirkülasyonda endotoksinler; TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 ve trombosit aktive edici faktörün (PAF) mononükleer fagositler ve diğer bazı hücrelerden üretimine sebep olur. Bu mediatörler aracılığıyla koagülasyon ve kompleman sisteminin de aktive olduğu değişik çalışmalarda da belirtilmiştir (5), (Şekil 3).



Şekil 3: Sepsis ve inflamatuvar Mediatörlerin Salınımı (52)

LPS: Lipopolisakkarit, IL: İnterlökin, C5a: Kompleman 5a, NF- κ B: Nükleer Faktör kappa B, ROS: Reaktif oksijen bileşikleri, MIP: Makrofaj inflamatuvar protein, MCP: Makrofaj kemotaktik protein

TNF α , IL-1 ve PAF salınımından sonra araşidonik asit metabolize olur. Lökotrienler, tromboksan A2 (TxA2), prostoglandinler (PG) özellikle PGE2 ve PGI2 oluşur. IL-1 ve IL-6, T hücrelerini uyararak IL-2, IL-4 ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) üretimini aktive eder. Bu ajanların direkt etkisi daima vasküler endotel üzerindedir. Endotoksin, TNF- α , PAF, lökotrienler (LT) ve TxA2 endotel permeabilitesini artırırlar. Endotel hücreleri bunun yanı sıra endotel-kaynaklı gevşetici faktör (EDRF, Endothelium-Derived Relaxing Factor) ve endotelin-1 salınımına neden olur. EDRF düz kas gevşemesine ve trombosit agregasyonunun inhibisyonuna neden olur. Endotelin-1 ise potent bir vazokonstrüktördür (5).

Kompleman sisteminden özellikle C3a ve C5a vasküler anormalliklere, ve nötrofil aktivasyonuna sebep olur. Nötrofile bağlı hasar sonucu serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler salınır. Mikroemboli formasyonu ve endotele yapışmada artış izlenir. Trombositlerin septik basamaklarda etkisi tam olarak açık değildir. Endotel hasarları iki yolla olur. Bunlar vazokonstrüksiyon ve nötrofil stimülasyonudur (52).

Septik basamaklarda etkili olan diğer ajanlar adezyon molekülleri, kininler, miyokardial depresan faktör, β -endorfin ve ısı şok proteinleridir (HSP=Heat Shock Proteins). Adezyon molekülleri ve trombin endotel hasarını artırır. Buna karşılık, IL-4, IL-8 ve HSP'nin bu hasara karşı koruyucu etkileri mevcuttur (5).

İntraabdominal Sepsiste Fizyopatoloji

Aerobik, anaerobik ve fakültatif Gram negatif organizmalar intraabdominal sepsisin yaygın patojenleridir. Fakültatif ve aerobik Gram negatif organizmalar (*Escherichia coli* vb.); endotoksin ve endotoksinle ilişkili proteinler bırakırlar. Endotoksin, periton tarafından sistemik dolaşıma hızlıca emilir ve sistematik etkileri oluşur (53-55).

İntraabdominal kaviteye bakterinin geçmesiyle inflamatuvar cevap ve ardından biyokimyasal değişiklikler başlar. Peritoniti takiben bakterilerin kan akımına geçmesi sonucunda gram negatif bakterilerde LPS'den, Gram pozitif bakterilerde ise lipoteikoik asid-peptidoglikan kompleksinden (pepG-LTA) oluşan bakteri duvarı bileşenleri, lökositler ve parankimal hücrelerle etkileşerek inflamatuvar olayı başlatır. LPS'in en kritik bölümü olan Lipid-A fraksiyonu ile Gram pozitif bakterilerdeki pepG-LTA kompleksinin LTA parçası, lenfatikler tarafından hızlıca uzaklaştırılır ve sistemik dolaşıma geçerek sistemik savunma mekanizmaları ile karşı karşıya kalırlar (53-55).

1.1.3.1. Sitokinler

20. yüzyılın başlarında inflamasyonun komplike etkileşimleri hakkında ilk bildirimler ve görüşler ortaya atılmıştır. Sitokinlerin aktiviteleri ilk kez 1926'da Zinsser ve Tamiya tarafından tanımlanmış ve bunların lökositlerden salgılanan çözünebilir ürünler oldukları ve damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmiştir. 1930 yılında Rich ve Lewis makrofaj ve lökosit göçünün uygun antijenle stimule edilmiş lenfoid hücre kültürlerinde inhibe edildiğini göstermişlerdir. 1966 yılında David, uygun şekilde sensitive ve stimule edilmiş lenfositlerden salgılanan bir faktörün makrofaj göçündeki bu inhibisyonun sorumlu olduğunu göstermiştir. 1979 da 2. Uluslar Arası Çalışma Grubu birçok sitokinin sadece tek bir hücreden değil, birden fazla hücreden salgılandıklarını ve immün sistemin değişik hücreleri arasında kompleks etkileşim içinde bulduklarını vurgulamıştır. Bu nedenle lökositlerden salınan birçok sitokin IL olarak adlandırılmaya başlanmıştır. Son 20 yılda yapılan çalışmalarda sitokinlerin immün sistem hücreleri dışında fibroblastlar, dendritik hücreler, parietal hücreler, osteoblastlar, düz kas hücreleri, hepatositler, çizgili kas ve sinir hücresi fonksiyonlarında da önemli düzenleyici görevler üstlendiği ortaya konulmuştur.

Günümüzde 200'ün üzerinde insan sitokini tanımlanmıştır. Sitokinlerle ilgili çalışmalarda karşılaşılan bir problem, moleküllerin nadiren tek başlarına

salınmaları ve nadiren tek başlarına etki göstermeleridir (56). Sitokinler, nonspesifik immün sistemde temel haberleşmeyi sağlayan protein veya glikoprotein yapısında moleküllerdir.

Hücrenin büyümesinde, değişiminde, dokunun tamiri ve yeniden yapılanması ile immün cevabın düzenlenmesinde hücreler arasındaki kimyasal haberleşmeyi sağlarlar (7). Bir sitokin başka bir sitokin yapımı ve yanıtı üzerinde etkisi olabilir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Belli bir sitokin, çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır, fakat aynı biyolojik etkiyi gösterebilir (56). Monosit, makrofaj, granüllü lökosit, endotel hücresi, dendritik hücre, keratinosit, T ve B lenfosit, mast hücresi, tümör hücresi ve diğer pek çok hücre, sitokin sentezleme ve salgılama yeteneğine sahiptir (57, 58).

Sitokinler başlıca 4 ana gruba ayrılmaktadır:

1. Doğal immünite mediatörleri olan sitokinler;
 - a. Tip 1 İnterferonlar (IFN)
 - b. TNF- α
 - c. IL-1
 - d. IL-6
 - e. Kemokinler
2. Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen sitokinler;
 - a. IL-2
 - b. IL-4
 - c. Transforming Growth Faktör (TGF)
3. İnflamasyonda düzenleyici rol oynayan sitokinler;
 - a. IL-10
 - b. IFN- γ
 - c. Lenfotoksin
 - d. IL-12

4. Hematopoezi uyaran sitokinler;
 - a. Stem Cell Faktör (SCF)
 - b. IL-3
 - c. M-CSF
 - d. G-CSF
 - e. IL-7
 - f. IL-9
 - g. IL-11 (59)

Sitokinler, immün ve inflamatuvar cevabın etkin mekanizmalarının çoğuna katılırlar. IL-2 ve IFN- γ gibi yardımcı T lenfosit Th1 grubundan salınan sitokinler hücrel immunitede, IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 gibi Th2 tip sitokinler ise hümorale immün cevaplarda etkilidirler (60).

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Bağlanma ile başlayan sinyal transdüksiyonu ve ikincil haberci iletimi, gen aktivasyonuna, mitotik bölünmeye, büyüme ve farklılaşmaya, migrasyon veya apoptozise neden olur (61). Reseptör moleküller membrana bağlı oldukları gibi serbest (soluble) halde de bulunabilirler. Sitokin reseptörlerinin en önemli fonksiyonlarından biri ekstrasellüler bir sinyali spesifik bir sitokin varlığında intraselüler bir sinyale dönüştürmektir. Reseptör moleküllerin ekspresyonu da sitokinlerin kontrolü altında bulunur.

Sitokin moleküllerinin etkisini ortadan kaldırabilen veya azaltabilen 6 grup molekül vardır (62);

1. Reseptör Antagonistleri: Bu moleküller reseptör moleküllerine bağlanarak sitokin etkisini bloke ederler.
2. Solubl Sitokin Reseptörleri: Solubl reseptörler genellikle sitokinleri serumda bağlayarak hücreye olan etkisini ortadan kaldırır.
3. Sitokin Otoantikorları: Sitokinleri spesifik olarak nötralize ederler.

4. İnhibitor Sitokinler: IL-10 ve IL-4'un tip1 sitokinler için, IL-2 ve IFN- γ 'nın tip 2 sitokinler için baskılayıcı etki gösterdikleri bilinmektedir.

5. Sitokin Reseptörünün Yokluğu: Bunun en tipik örneği IFN- γ reseptörlerinin mutasyon sonucu silinmesiyle IFN- γ 'nın makrofajları aktive etmesinin önlenmesidir.

6. İnhibitör Proteinler: Bazı insan proteinleri de sitokine bağlanmak suretiyle onların biyolojik etkilerini azaltabilirler.

Doğal immünette sitokinler; mononükleer fagositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilirler. Kazanılmış immünette ise, T hücreleri tarafından üretilirler. Doğal immün cevaptaki TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi önemli sitokinler, tek başlarına immün cevabın düzenlenmesinde rol oynamazlar, fakat yardımcı T hücre cevabına neden olarak edinsel immüntenin gelişmesine ve yayılmasına neden olurlar.

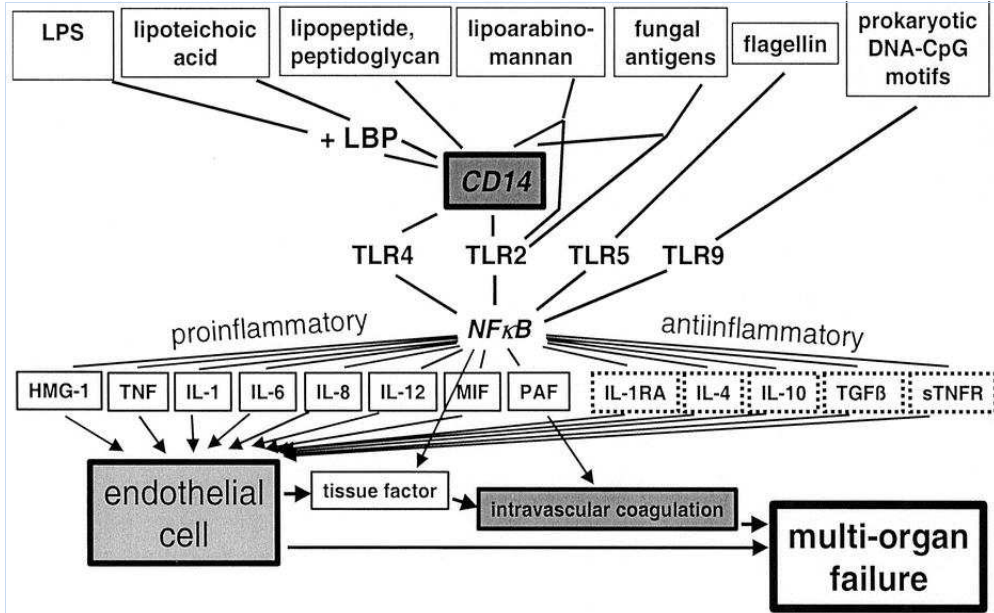
İnsan immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler, TNF- α ve IL-1 iken sekonder veya bunlara yardımcı sitokinler ise, IL-6 ve IL-8'dir. Bunun karşıtı olarak antiinflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınırlar ve inflamatuvar cevabın kontrolünü düzenlerler (8, 57, 63) (Tablo-2, Şekil-4).

Sitokinlerin etkileri reseptör sayısı ve afinitesi, ikincil haberci, gen kopyalaması, sitokin üretimi, salınması ve metabolizması ile düzenlenir (57).

Tablo-2: İnflamatuar Özelliklerine Göre Bazı Sitokinlerin Sınıflandırılması (47)

Proinflamatuvar	Anti-inflamatuar	Çift etki
<i>TNF-α</i>	<i>IL-10</i>	IL-6
TNF- β	IL-4	TGF- β
IL-1	IL-11	
IL-2	IL-13	
IL-8		
IL-12		
IL-15		
IL-17		
IL-18		
INF- γ		

TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, TGF- β : Transforming Growth faktör- β , INF- γ : İnterferon- γ



Şekil-4: Sitokin Kaskadının Tetiklenmesiyle Proinflamatuvar ve Antiinflamatuvar Sitokinlerin Salınması (63)

LPS: Lipopolisakkarit, TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, LBP: Lipopolisakkarit bağlayıcı protein, TLR: Toll-like reseptör, NF- κ B: Nükleer Faktör kappa B, TGF: Transforming Growth faktör, MIF: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, PAF: Trombosit aktive edici faktör, HMG-1: High mobility group-1

1.1.3.1.1. TNF- α

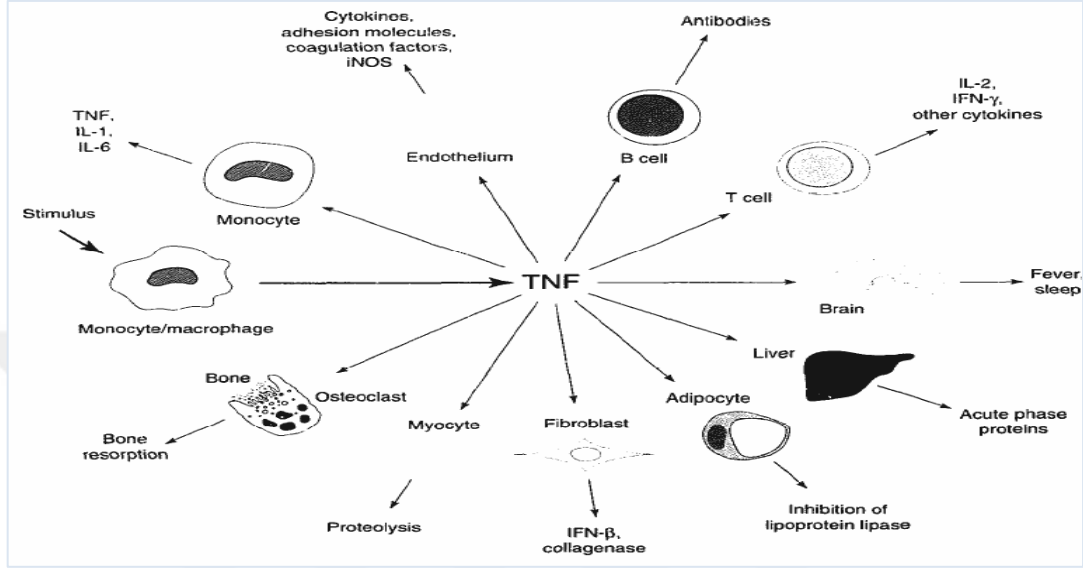
TNF- α Gram negatif bakterilere konak cevabının temel mediyatörü olup birçok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıkların patogeneğinde önemli role sahiptir. TNF- α 'nın major kaynağı aktive olmuş monosit ve makrofajlardır. TNF- α , 233 aminoasit ve 26 kDA ağırlığında proproteinden sentezlenir. Proprotein, spesifik metalloproteaz (TNF- α Converting Enzyme-TACE) tarafından 17 kDA, 157 aminoasitten oluşan monomerik formuna bölünür (64).

TNF, yüksek konsantrasyonlu LPS'ye bağılı doku yaralanmasında, damar içi pıhtılaşmada ve septik şokta temel mediyatördür. TNF'nin temel hücrel kaynağı LPS'nin uyardığı mononükleer fagositlerdir. Ayrıca bu protein, antijen ile uyarılmış T hücreleri, aktive edilen doğal öldürücü hücreler ve aktive edilmiş mast hücreleri tarafından salgılanır. Aktive olan hücrelerin TNF sentez ve salgılaması çok sayıda ardışık olayı içerir (65, 66).

TNF, sepsis patogeneğinde ilk suçlanan sitokindir. TNF- α ve TNF- β birbiri ile yakın ilişkili olan benzer biyolojik aktiviteleri paylaşan proteinlerdir. TNF- α , monosit ve makrofajlar tarafından üretilir. TNF- β ise, aktive edilmiş T lenfositleri tarafından üretilir (66).

TNF- α 'nın biyolojik aktivite göstermesi için TNF-RI (p55) ve TNF RII (p75) olmak üzere iki adet reseptörü vardır. Bu iki reseptör, birçok hücre üzerinde beraber bulunur. TNF reseptörleri çözülebilir yapıda olup TNF'yi bağlama yeteneğindedir. Böylece TNF'nin akut etkilerini sınırlayabilmektedir (67, 68). Deneysel çalışmalar göstermiştir ki TNF- α 'nın biyolojik etkin bir sinyal oluşturabilmesi için en önemli reseptörü TNF-RI'dır (64,69). TNF-RII reseptörlerinin de önemli görevleri vardır. Apoptoz, lenfosit çoğalması ve deri nekrozu gibi olaylarda hücrel sinyal iletiminde önemli rol oynar. Bazı çalışmalarda, TNF-RI; septik şoktan ölen hastalarda, hayatta kalan hastalara oranla daha yüksek seviyelerde bulunmuştur (70).

TNF- α 'nın vücuttaki biyolojik etkileri çok çeşitlidir (Şekil 5). Düşük konsantrasyonlarda TNF- α , lökosit ve endotel hücrelerinin parakrin ve otokrin düzenlenmelerine lokal olarak etki eder.



Şekil 5. TNF α 'nın Etkileri (71)

TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, IFN: İnterferon, iNOS: İndüklenebilir NOS

Düşük konsantrasyonlarda TNF- α 'nın biyolojik etkileri şu şekilde özetlenebilir:

- TNF- α , vasküler endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörü oluşturmasına yol açarak endotel yüzeyine lökosit adezyonuna neden olur. TNF- α , nötrofilleri uyarmada güçlü bir araçtır. Aynı zamanda eozinofil ve mononükleer fagositleri de aktive eder.
- TNF- α , mononükleer fagositlerden ve diğer hücrelerden sitokin üretimini uyarır.
- TNF- α , virüslere karşı koruyucu etki gösterir. Sınıf I major histokompatibilite (MHC) antijenlerinin çoğalmasına ve virüsten etkilenen hücrelerin immün yanıtla parçalanmasına neden olur (72).

Eğer yetersiz TNF- α salınımı olursa, yetersiz infeksiyon yanıtı oluşur. TNF- α üretimi için gerekli uyarı güçlü ise, fazla miktarda sitokin üretir. Gram negatif bakteriyel sepsislerde aşırı TNF- α dolaşım kollapsı ve yaygın damar içi pıhtılaşmaya neden olmaktadır. TNF- α 'nın nötralizan antikoru endotoksik ya da septik şokta mortaliteyi önler.

TNF- α 'nın yüksek konsantrasyonlarında ölümcül etkileri şunlardır:

- TNF- α , miyokardiyal kontraksiyonu engelleyerek doku kanlanmasını bozar. Bu etkinin mekanizması, argininden NO ve sitrullin dönüşümünü sağlayan kardiyak miyozitlerdeki NO sentetaz enziminin aktivitesinin arttırılmasıdır.
- TNF- α , vasküler düz kas hücrelerinin tonusunu azaltarak, kan basıncı ve doku oksijenasyonunu azaltır. TNF- α ; ya direkt etkisiyle ya da prostasiklin ve NO yapımına neden olarak vazodilatatör etki oluşturur.
- TNF- α , damar içinde trombüs oluşumuna neden olarak doku kanlanmasını azaltır. Bu etkiyi; pıhtılaşma sistemi ve nötrofilleri, mononükleer fagositik hücreleri ve endotel hücrelerini aktive ederek yapar.
- TNF- α ciddi metabolik bozukluğa neden olur. Kan glukoz konsantrasyonunu yaşama bağdaşmayacak şekilde düşürür. Bunu, kas hücrelerinde aşırı glukoz tüketimine ve karaciğer tarafından glukoz üretiminde yetmezliğe neden olarak yapar (72).

TNF- α , sepsisin patogeneğinde birincil sitokindir. Bu proteine kaşektin adını vermişlerdir (73). TNF- α 'nın plazma ve serum düzeyleri sepsisli hastalarda yüksektir. TNF- α düzeyiyle yaşam oranı arasında ters bir ilişki vardır. Sağlıklı bireylere endotoksin enjeksiyonundan sonra 60–90 dk içinde TNF- α düzeylerinde artış saptanır (74).

Endotoksin enjekte edilen çeşitli deney hayvanlarında, anti TNF- α antikorlarının mortaliteyi azaltması ve TNF- α 'ya karşı pasif immünizasyonun diğer inflamatuvar sitokinlerin sekresyonu engellemesi, bu mediatörlerin TNF- α aktivitesi sonucunda salgılandıklarını göstermektedir (52).

1.1.3.1.2. IL-10

IL-10, 19 kDa molekül ağırlığında, sitokin sentez inhibitör faktör (CSIF) olarak da bilinen antiinflamatuvar bir sitokindir (52). Kromozom 1 üzerinde tek genden kodlanır. Primer olarak T lenfositler, monositler, makrofajlar, B lenfositler ve nötrofiller tarafından sentezlenen ve supressif bir sitokin olan IL-10, konakçının Gram negatif sepsiste organ yetmezliği ve ölümden korunmasında kritik bir rol oynar. İmmünoregülatuar sitokinler arasındaki dengede çok önemli bir göreve sahip olan IL-10, koruyucu aktivitesini TNF- α , IL-1 β , IL-8, IF- γ , IL-6 ve PG metabolitleri gibi inflamasyon mediatörlerini inhibe ederek gösterip negatif feedback için mükemmel bir örnek sunar. Bununla birlikte, bazı T lenfositleri, mast hücreleri ve B hücrelerini stimüle eder ve Ig G sekresyonunu sağlar. IL-10, birçok sistemik hastalıkta ve inflamatuvar durumlarda dolaşımda ölçülebilir. Enfeksiyöz, otoimmün ve malign hastalıkları disregüle ettiği düşünülen önemli bir sitokindir (76).

IL-10, ilk kez fare Th2 lenfositlerinden köken alan sitokin olarak tanımlanmış ve Th1 hücrelerinde sitokin yapımını inhibe etmesi nedeniyle "sitokin yapımını inhibe eden faktör" olarak isimlendirilmiştir (77), (Şekil 6).



Şekil 6. T Hücreleri ve Sitokinlerin Etkileri (77)

TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, IFN: İnterferon, Th2: Thelper2

Yapılan çalışmalar, Th2 ve CD8 T lenfositlerinin, monosit/makrofajların, aktive olmuş B lenfositleri ve Epstein Barr Virusu tarafından transforme edilen B lenfositlerinin IL-10 üretim kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir (78,79).

IL-10'un, hematopoetik hücre dizileri üzerine multibl biyolojik etkileri vardır. İnsanlarda B lenfositleri için büyüme ve differansiye edici faktör olarak, fare modellerinde ise T lenfositleri için büyüme faktörü olarak etki gösterir. IL-10'un özellikleri arasında immunosupressif etkileri de belirlenmiştir. Th1 hücrelerinden IL-2 ve IFN- γ yapımını, antijen spesifik T hücre aktivasyonunu bloke eder, ayrıca monosit ve makrofajlardan sitokin yapımını inhibe edebilir (78). Travmaya maruz kalan hastalarda doku zedelenmesi, iskemi ve hemorajiye karşı akut fizyolojik bir yanıt olarak, genellikle ilk saatlerden itibaren inflamatuvar olaylar ortaya çıkar. Sitokinler ve diğer endojen mediatörlerin sentezini ve karmaşık bir etkileşimini içeren olaylar zinciri doğal iyileşme sürecini sağlamaya yöneliktir. İnflamatuvar yanıtın aşırı olması organizma aleyhine olup, SIRS ve MODS ile sonuçlanabilir.

1.1.4. Sepsiste Tanı

Kan kültürü, sepsis hastasına yaklaşımda en temel uygulamadır. Sepsis tanısı, SIRS'ın klinik ve laboratuvar bulguları ile kanda mikroorganizma bulunması veya kanda mikroorganizma bulunmаса bile, radyolojik, sonografik veya cerrahi olarak bir infeksiyon kaynağının saptanması veya böyle bir infeksiyon kaynağından şüphe edilmesiyle konulur. Yoğun bakımlarda açık bir infeksiyon yokken sepsis bulguları ve belirtileri olan hastalarda sepsis tanısı konulması kolay değildir. Risk altında olan hastaların bilinmesi ve bunların yakından takibi erken tanı ve iyi sonuç alma fırsatı sağlayabilir. Özetle sepsis tanısı ve ideal yaklaşım planlanmasında net olarak ortaya çıkan gerçek etkili ve hızlı bir işbirliğidir. Fakat günümüzde asıl sorun sepsisin düşünölebilmesinde, akla getirilmesinde yatmaktadır (80).

Sepsite Biyobelirteçler:

Sepsis, enfeksiyona inflamatuvar bir reaksiyon olarak ortaya çıktığından ateş ve lökositoz gibi klinik bulguların yanında önceleri inflamatuvar yanıtın saptanmasında CRP düzeylerinin ölçülmesi gibi bazı laboratuvar testleri de kullanılmıştır. Ancak bu parametreler güvenilir olmadığı gibi sepsise spesifik de değildir. Sepsise bağlı SIRS'ı enfeksiyon dışı nedenlere bağlı olan SIRS'dan ayırmada kullanılabilecek parametrelerin arayışı devam etmektedir. Son yıllarda enfeksiyona bağlı SIRS'ın potansiyel belirteci olarak dikkatler çeşitli sitokinler, akut faz proteinleri, prohormonlar, hücre reseptörleri, insan lökosit antijeni (HLA-DR), miyeloid hücrelerde eksprese olan tetikleyici reseptör-1 (Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells: TREM-1) ve prokalsitonin (PCT) üzerinde yoğunlaştırılmıştır (81, 82). Bunların çoğunun tanısal performanslarının kötü olması, ölçüm güçlükleri veya her ikisi nedeniyle sepsisin 'iyi' biyobelirteçleri olmadıkları kabul edilmektedir. Ayrıca bu biyobelirteçlerin çoğu PCT hariç hala deneysel evredir ve klinik kullanımları henüz sonuçlanmamıştır.

Son yıllarda sistemik inflamasyona eşlik eden bakteriyel, parazitik ve fungal enfeksiyonlarda kalsitoninin bir propeptidi olan PCT'nin kan düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır. PCT, normal koşullarda tiroid bezinin C hücrelerinde yapılan bir propeptiddir ve sağlıklı bireylerde kandaki düzeyi saptanamayacak kadar düşük (<0.1 ng/mL) iken ağır jeneralize enfeksiyonlarda 100 ng/mL 'nin üstüne çıktığı saptanmıştır. Serum PCT düzeylerinin sepsiste tanısal bir belirteç olduğunu ve ayrıca sepsisin, ağır sepsis ve septik şoktan ayırt edilmesine yaradığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (83, 84). Ancak yeni bazı metaanalizlerde, PCT'nin sepsis tanısında 'sihirli değnek' rolü oynamadığı gösterilmektedir (81, 85). Bu yüzden PCT'nin tanısal bir parametre olup olmadığı halen aktif olarak araştırılmaktadır.

Son yayınlarda, miyeloid hücrelerde eksprese olan TREM-1'in enfeksiyon belirtici olabileceğini gösteren kanıtlara rastlanmaktadır. İmmünglobülin süperfamilyasının bir üyesi olan, TREM-1 ve miyeloid DAP12-ilişkili lektin (miyeloid DAP12-associating lectin: MDL-1), monosit aktivasyonu ve inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan kısa süre önce keşfedilen 2 reseptördür (86,87). TREM-1 proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salınımına ve adhezyon moleküllerinin yüzey ekspresyonuna neden olur (88).

Sepsisin diğer klinik ve laboratuvar bulguları, işlev bozukluğu gelişen organlar ile ilişkilidir ve bu nedenle de aynı zamanda sepsiste organ tutulumlarını yansıtan bulgulardır.

1.1.5. Sepsisin yönetimi

Sepsisin, protokoller uyarınca yapılan taramaların yardımıyla erken tanımlanmasının, kanıta dayalı protokollerle belirlenmiş tedavilere olanak tanıyarak, sepsisteki mortalite ve morbiditenin azalmasını sağladığı düşünülmektedir. Resusitasyon, enfeksiyon yönetimi ve yoğun bakım birimi destek hizmeti açısından en iyi klinik uygulamalara ilişkin kanıtlar, Surviving Sepsis Campaign (SSC) (Sepsiste Sağkalım Kampanyası) aracılığıyla oluşturulmuş ve ağır sepsis ve septik şokun yönetimi için kanıta dayalı kılavuzlar olarak yayınlanmıştır (33).

1.1.6. Bakteriyel Translokasyon

Bakteriyel translokasyon; ilk olarak Berg ve Garlington (89-92) tarafından, canlı mikroorganizmaların yanısıra cansız mikroorganizmalar ve endotoksinlerin barsak epitel mukozasını aşarak lamina propria ve oradan da mezenter lenf düğümü, karaciğer, dalak gibi organlara ve diğer dokulara geçişi olarak tanımlanmıştır. Bu geçiş normal şartlarda gerçekleşmemektedir. İmmun sistem yetersizliği, barsak mukozanın, yapı ve fonksiyonundaki

değişiklikler, bakteriyel translokasyon mekanizmasından sorumlu olan başlıca faktörlerdir (93). Sepsis, yanık, şok, cerrahi travma, açlık, mekanik intestinal obstrüksiyon, safra yolu tıkanıklığı gibi durumlarda barsak bariyer fonksiyonunun ve mukozal bütünlüğünün bozulması, bakterilerin absorpsiyonunu arttırarak barsak dışına çıkmasına, başka organlara bakteriyel translokasyonuna neden olmaktadır (94, 95). Ayrıca, çalışmalar bakteri translokasyonun İB yolu ile olduğunu göstermiştir (96).

Bakterilerin, intakt barsak lümenini geçmesine neden olan tüm olaylar aynı zamanda bir sepsis nedenidir. Öte yandan sepsisin ilerlemesi sırasında bakteriyel translokasyon devam etmektedir. Kısaca sepsisin kendisi bir bakteriyel translokasyon nedenidir (97).

E.coli, K.pneumonia ve diğer enterobakterler, P.aeroginoza, enterokok, laktobasiller, stafilokok cinsi bakteriler en sık translokasyona uğrayan bakterilerdir. Translokasyona uğrayan bakteriler, intrasellüler patojenlerdir ve fagositoza direnç gösterirler. Lökositlerin içinde çoğalabilirler ve lökositlerin dışında da canlı kalabilirler. Anaerob bakteriler nadiren translokasyona neden olurlar. Bu durum, anaerobların mukozada kolonize olarak epitelyuma bağlanmaması ya da epitele bağlansalar bile fagositoza daha dirençli olmaları ile açıklanmaktadır (96).

Barsak bariyeri: Patojen mikroorganizmalara ve toksik ürünlere karşı önemli bir savunma görevi yapar. Barsağın hücresel bariyerini kolumnar epitel hücrelerinin oluşturduğu tabaka ve bunların arasına serpiştirilmiş goblet hücreleri, lenfositler ve M hücreleri gibi özel hücreler oluşturur. Normal epitel hücrelerinin yapı ve fonksiyonunun ve sıkı junctionların korunması bakterilerin transepitelyal ve transsellüler göçünü önler (98).

Barsağın immünolojik bariyeri: Peyzer plakları, lenf folikülleri, lamina propria lenfositleri, mezenterik lenfoid hücreler ve IgA'dan oluşur. (99,100). İntestinal lümeneye IgA sekresyonu, bakteriyel invazyona karşı ilk defans

çizgisini oluşturur. IgA, bakterilerin barsak duvarına yapışmasını ve fagositozu önlemektedir, bu da lokal immünitinin translokasyonu engellemesini sağlar (98, 100). Antijenik uyarı sonrasında, oluşan T ve B lenfositleri peyer plaklarından ayrılarak, mezenter lenf düğümlerine oradan da lenfatikler yoluyla vücudun çeşitli bölgelerine giderler (98, 99).

1.1.7. Kritik Hastalarda Beslenme

Güncel öneriler; gastrointestinal traktusun fonksiyonel olduğu durumlarda enteral nütrisyonla mümkün olan en kısa sürede başlanmasıdır.

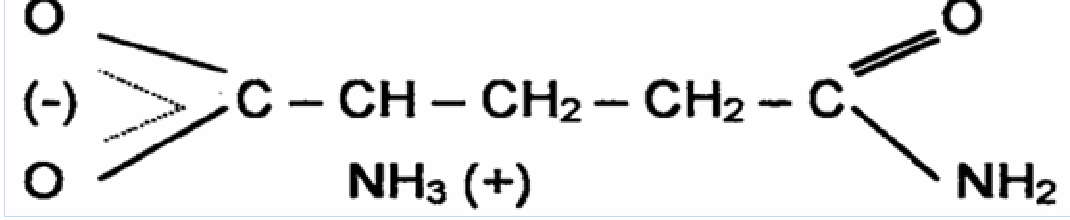
Klinik nütrisyon kılavuzlarında, hastanın yoğun bakıma kabulünden sonraki ilk 24-48 sa içinde erken nütrisyon desteğine başlanması önerilmektedir. Erken enteral nütrisyon yoğun bakımda ilk basamak tedavi olmalıdır, ancak gerekli kalori hedefine ulaşılamazsa, kombine enteral parenteral nütrisyon desteğine başlanmalıdır (101, 102).

- Enteral beslenen kritik hastalarda yapılan birçok çalışmada; organ yetmezliğinin daha az, yara iyileşmesinin, gastrointestinal sistem mukoza bütünlüğünün, visseral protein sentezinin, immünitinin daha iyi ve yoğun bakımda kalış süresinin daha kısa olduğu gösterilmiştir (105-107).

Enteral nütrisyon, enerji alımı hedeflerine ulaşmadan başarısızlığa uğrayabilir ve komplikasyon riski önemli derecede yüksek olabilir. Önceki inanışların aksine yoğun bakımda yapılan yeni çalışmaların metaanalizleri, parenteral nütrisyonun artan mortaliteyle bir ilgisinin olmadığını, hatta sağkalım oranlarında artış ile ilişkili bile olabileceğini de göstermiştir (108).

1.2. GLUTAMİN

Gln, 146.15 g/mol ağırlığında, nötral, iki nitrojen azot atomu içeren, nonesansiyel 5 karbonlu glikojenik bir aminoasittir (109) , (Şekil 7)



Şekil 7: Glutaminin (Gln) Kimyasal Formülü (109)

Gln, 0.5-0.8 mmol/L plazma konsantrasyonu ve 15-20 mmol/L kas hücre içi konsantrasyonu ile vücutta en çok bulunan non-esansiyel bir aminoasittir (110,111).

Gln'in, katabolik durumlarda esansiyel hale geçtiği gösterilmiştir. Sepsis, travma, yanık, malnütrisyon, 7 günden uzun süren oral beslenememe ve ameliyat yaralarının iyileşmesi gibi ağır stres durumlarında, Gln ihtiyacı, sentez kapasitesini aşar. Bu da Gln'in 'duruma bağlı esansiyel aminoasit' tanımını almasına neden olur. Bu şartlar altında Gln ilavesi gerekebilir (109,112-117).

Erişkin bir insanda (≈70 kg), çoğu intrasellüler olmak üzere, yaklaşık 80 g serbest Gln bulunmaktadır. Normal bir diyetle 5-10 g/gün Gln alınmakta, emilen Gln'in çoğu visseral dokularda katabolize edilmekte ve periferel dolaşıma geçmemektedir. İnsanlarda bu Gln döngüsü, Gln sentezinin önemini gösterir. Gln döngüsü insanlarda 180-500 µmol kg⁻¹ sa⁻¹ iken, sıçanlarda 1300-3800 µmol kg⁻¹ sa⁻¹ tir (112, 117). Ayrıca, sıçanlardaki plazma Gln konsantrasyonu yaklaşık 0,75 mmol/L dir (117).

Gln, nitrojeni alma ve verme kapasitesi ile dokular arasında nitrojen transferi için önemli bir araçtır. Bazı durumlarda kanda taşınan aminoasit azotunun % 80'inden fazlasını kapsar. Gln bir tampon olarak hareket eder. Gln; glukozamin, guanozin trifosfat ve nikotin adenin dinükleotid sentezi için nitrojen temin eder. Renal amonyak sentezi için önemli bir kaynak olup hem sindirim kanalında hem de böbreklerde asit baz dengesinde önemli bir role sahiptir (110, 111, 116, 118, 119).

Gln'in vücutta kullanıldığı yerleri şöyle sıralayabiliriz (110, 111, 116, 118):

- Protein sentezi
- Nitrojen, karbon transferi
- Amonyak tamponu
- Nükleotit biyosentezi
- Üre sentezi (karaciğer)
- Glukoz/glikojen biyosentezi
- Metabolik yakıt
- Aminoasit havuzu
- Glutasyon biyosentezi
- Amonyogenezis(böbrek)

Gln, vücutta en büyük mobil nitrojen deposunu oluşturmakla birlikte, hücre içinde depolanmamaktadır. Hücre hacminin osmotik regülasyonunda önemli rol oynar. Proteinlerin fosforilasyonuna neden olur, bu da Gln'in protein sentez düzenleyicisi olduğunu göstermektedir (110, 111, 118, 119).

Gln karbohidrat metabolizmasında glukoneogenezisin öncüsü ve karbon iskeletinin organlar arası transport aracıdır. Önemli bir intrasellüler antioksidan ve hepatik detoksifiye edici madde olan glutatyon sentezinde de Gln kullanılır (110, 111, 116,119).

Gln, hızlı çoğalan ve metabolik olarak aktif dokuların fonksiyonları ile yapısını korumada gereklidir. Birçok canlıda enterositler enerji kaynağı olarak Gln'i kullanmaktadır. Aynı zamanda Gln, fibroblast, lenfosit, makrofaj ve kanser hücreleri gibi hızlı çoğalan hücreler içinde de bir enerji kaynağıdır (110, 111, 116, 118 119).

1.2.1. Sepsis ve Glutamin:

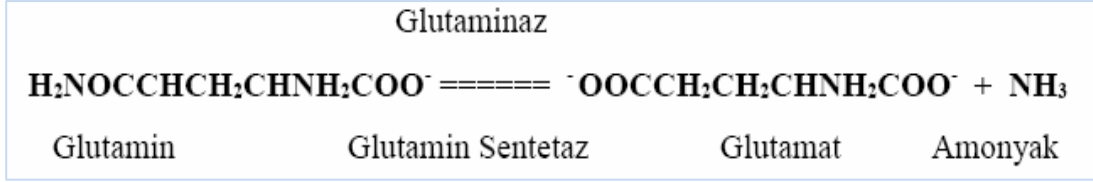
Sepsiste glutamin eksikliği çok ciddidir ve bu eksiklik travmaya bağlı hiperkatabolizmadakinden daha uzun sürer (120). Plazmadaki düşüşü kompanse etmek için erken dönemde Gln, iskelet kasına ilave olarak akciğerlerden salınır. Geç dönemde böbrekler devreye girer. Böbrekten amonyum salgısı azalır. Bu değişiklik böbrek yetmezliğine ve böbreğin asit-baz dengeleme fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Endotoksemi durumunda intestinal glutamin tutulumu düşer ve karaciğerde tutulumu 10 kat artar ve muhtemelen karaciğerde glukoneogenezis, ürogenesis, protein, nükleotid ve glutatyon sentezinde kullanılır (121).

Sepsisin başlamasındaki önemli etkenler arasında sayılan bakteriyel translokasyonu önlemek veya azaltmak için barsak bariyer fonksiyonunu artırıcı ürünler denenmektedir. Bu amaçla araştırılan ürünlerin başında da glutamin gelmektedir (122).

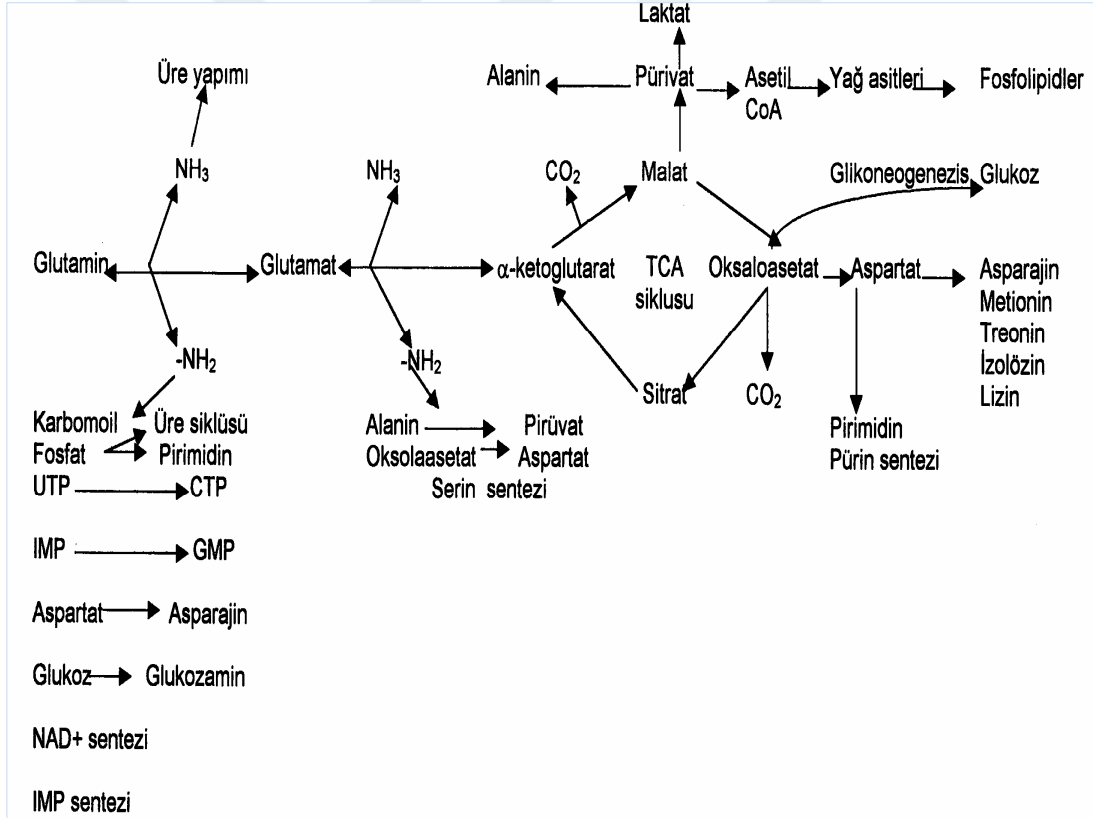
1.2.2. Glutamin Metabolizması

Gln, sitoplazmada bulunan Gln sentetaz enzimi ile glutamat ve amonyaktan sentezlenir ve glutaminaz enzimi ile mitokondride L-glutamik asit ve amonyağa parçalanır. Glutamat, glutamat dehidrogenaz enzimi ile alfa

ketoglutarata ve amonyağa dönüşür (Şekil 8). Glutamat ayrıca alanin ve diğer maddelere de dönüşmektedir (22, 110, 123), (Şekil 9).



Şekil 8: Glutaminin (Gln) Sentezi ve Parçalanması (110)



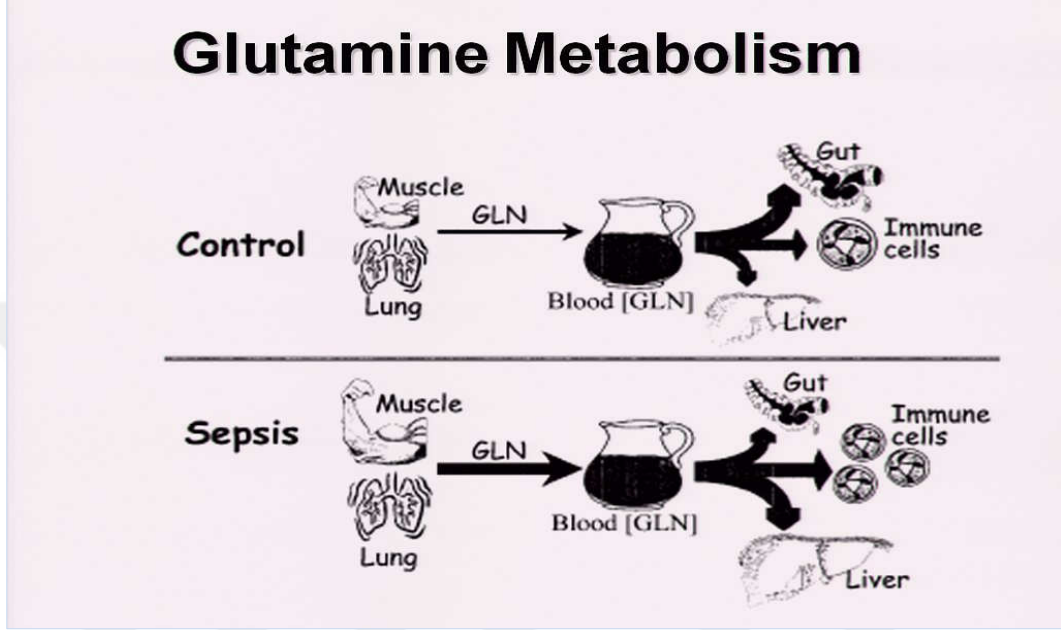
Şekil 9. Glutamin (Gln) Metabolizmasının Şematik Görünümü (111)

Bazı organ ve dokular, hem Gln sentetaz hem de glutaminaz aktivitesine sahip olarak Gln sentez ve tüketimini yapabilirler. Bununla birlikte enzimlerden birinin aktivitesi baskın olmakta ve dokuyu net Gln üreticisi veya tüketicisi yapabilmektedir. Net Gln üreticileri; kas dokusu, beyin, kalp, akciğerler, deri ve yağ dokusudur. Net Gln tüketicileri ise gastrointestinal sistem, dalak, pankreas, böbrek ve bağışıklık sistemidir (111, 116).

Karaciğer, Gln'i hem sentezleyen hem de tüketen bir organdır. Periportal bölge glutaminaz içerir ve üre sentezinde rol oynar. Hepatik venöz çıkış bölgesindeki hücrelerde ise Gln sentetaz bulunmaktadır. Bu fonksiyonel organizasyon özellikle asit baz dengesi için önemlidir. Üre sentezi bikarbonat harcar, buna karşın Gln sentezi bikarbonat korunmasını sağlar ve böbreğe daha fazla Gln vererek amonyak atılımını düzenler. Bu nedenle asidoz sonrasında Gln sentezi artar, üre sentezi azalır ve asit yükü için renal tamponlama kapasitesini arttırmak amacıyla Gln temin edilmiş olur. Düşük proteinli diyet verildiğinde ise karaciğer daha fazla Gln sentezine yönelir. Gln, hepatik glukojen sentezini ve lipogenezi artırır, buna karşın lipoliz ve keton cismi üretimini azaltır. Sonuç olarak karaciğerin üretici ya da tüketicisi olmasında kan amonyak konsantrasyonu, pH ve metabolik stres derecesi rol oynar. Stresin olmadığı normal fizyolojik durumlarda karaciğerde Gln yapım ve yıkımı denge halindedir (116,124).

Böbrek, tokluk durumunda net bir Gln alıcısıdır. Asidoz sırasında böbreğin Gln alımı ve glutaminaz enzim aktivitesi artar. Bu durum renal amonyak ve bikarbonat üretimini artırır. Amonyak idrarla atılır, bikarbonat ise kana verilir ve alkali depoları arttırılmaya çalışılır (110, 116). İskelet kasında hücre içi serbest aminoasit havuzunun % 60' ı Gln'dir. İnsanda, iskelet kasının hücre içi sıvısı 20 mmol/L konsantrasyonunda Gln içerir ve bu miktar kan konsantrasyonunun 30 katıdır. Metabolik stres durumunda bu havuz başlıca Gln kaynağıdır. Dinlenme döneminde, iskelet kasından serbest dolaşıma geçen aminoasit kaynaklı nitrojenin % 60'dan fazlası alanin (Ala) ve Gln dir. Bu miktar kas içi proteininde bulunan Ala ve Gln'den çok daha

fazladır ve diğer aminoasitlerden sentezlendiğini gösterir. Stresin olmadığı normal fizyolojik durumlarda kas dokusu, diğer organlar için gerekli miktarda Gln'i endojen olarak üretir (110, 116), (Şekil 10).



Şekil 10: Glutamin (Gln) Metabolizması (125).

Normal ve septik durumlarda organlar arası glutamin akışı. Normalde, kas ve akciğerler tarafından serbestlenen glutamini alan başlıca organ ince bağırsaktır. Sepsiste ise; glutamini alan ana organ karaciğerdir. Yine sepsiste iskelet kası da glutamini gönderen başlıca organdır.

İskelet kasının yanında akciğerler de ikinci büyük Gln üreticisidir. Akciğerler Gln sentezi için gerekli glutamat ve amonyağı dolaşımdan alırlar. Endotel ve tip 2 alveolar hücreler ise Gln tüketicisidir (116,126).

Gİ sistem, vücutta en fazla Gln kullanan organlardan biridir. Gln, hem barsak lümeninden hem de kan dolaşımından elde edilebilir. Gln, barsağa konsantrasyon bağımlı olarak alınır. Enteral Gln alımı sonrası, insanlarda ileum ve jejunumdan amonyak atılımı olmaktadır. Bu durum barsakta amonyak üretiminin çoğunun barsak bakterileri kaynaklı olmayıp Gln metabolizmasından kaynaklandığını gösterir (116, 127).

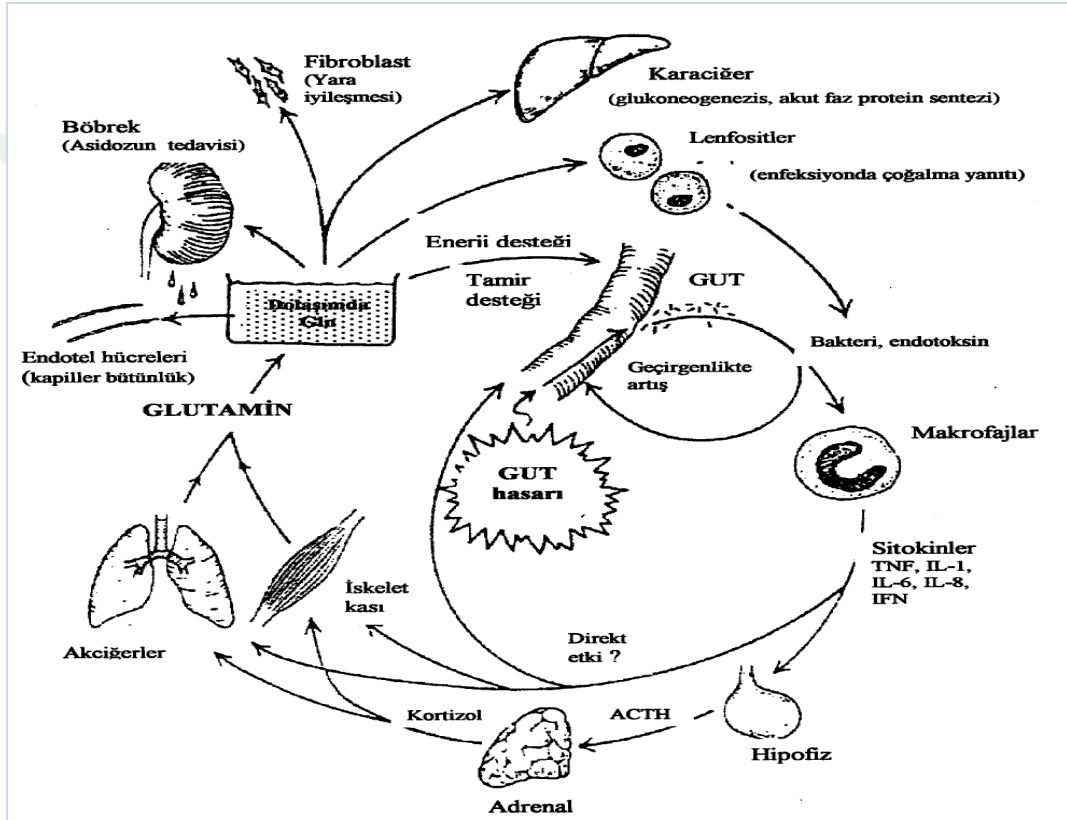
Enterositler, düşük Gln sentetaz enzim aktivitesine sahip olup daha fazla miktarda glutaminaz enzimi içerdiklerinden hazır Gln kaynağına bağımlıdır (21, 128-133). Normal şartlarda Gİ sistem çeşitli maddeler salgılayarak barsak mukozasını iyi bir şekilde korur. Epitel hücrelerini korumak için mukus, endotoksin geçişini azaltmak için safra tuzları ve mukozal hücrelere bakteri yapışmasını engellemek için slg A salgılar. Gln, sindirim kanalı mukoza bariyer fonksiyonunda hayati rol oynamaktadır (21, 119, 128-131). Gln, intestinal mukoza üzerinde trofik ve permeabilityi azaltıcı etkisi ile, barsak metabolizması ve fonksiyonunun devamı için mutlaka gereklidir (109). Oral Gln desteğinin barsak bazal membranını koruduğu ve cerrahi sonrası komplikasyonları azalttığı savunulmaktadır (11, 112, 134-136).

Kritik hastalık döneminde sindirim kanalının aminoasit regülasyonunda kritik bir öneme sahip olduğunu bilinmektedir (110, 118, 119, 137, 138). Yaralanma ve cerrahi stresi takiben, sindirim kanalı, fırçamsı kenarları boyunca Gln alımını arttırarak barsak metabolizması ve fonksiyonlarını korur (139). Enterositler tarafından Gln'in hızlı bir şekilde kullanımı sonucu glukoz bırakılır ve bu glukoz stres boyunca diğer glukoz bağımlı dokular (beyin, eritrositler) tarafından kullanılabilir. Ayrıca Gln metabolizmasının parçalanma ürünleri glukoneogenezis ve hepatik ürogenesis için öncüllere dönüşebilir. Enterositte, 1 mol Gln trikarboksilik asit siklusu ile tam olarak okside olunca 37 mol ATP üretimi sağlanırken glukoz sadece pürivata çevrilir ve 2 mol ATP üretimi sağlanır (140). Kolonositler, Gln'i kullanır fakat başlıca enerji kaynağı olarak kısa zincirli yağ asitlerini tercih ederler.

Lenf nodu, dalak, timüs, peyer plağı, kemik iliği ve periferik kan lenfositlerinde yüksek düzeyde glutaminaz aktivitesi tespit edilmiştir (141,142). İmmün sistem hücreleri, Gln'i, enerji temininde, nükleotid sentezinde ve hücre çoğalması için kullanırlar (110, 141-145). Lenfositlerin mitojenik stimülasyonu, hem glutaminaz aktivitesini hem de Gln kullanıma oranını arttırır. Araştırmalar, immün sistem fonksiyonları için Gln'in gerekli olduğunu göstermiştir (110, 129, 141, 146-150).

Lenfositlerin Gln kullanımının başlıca ürünleri, glutamat, aspartat, laktat ve amonyaktır. Ayrıca alanin (Ala) ve pürivat da üretilir. Gln'in yaklaşık % 25'i tamamen okside olur (141, 146, 147, 151).

Sepsis vakalarında glukoz metabolizması bozulmasına rağmen barsakta aerobik Gln ve glutamat oksidasyonu devam eder (152). Gln'in organlar arası döngüsü şekil 11'da görülmektedir



Şekil 11. Glutaminin (Gln) Organlar Arası Döngüsü (109, 119)
TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, IFN: İnterferon.

1.2.3. Glutamin Dengesini Etkileyen durumlar:

Gln, birçok durumda sentez edilmektedir, ancak vücut ihtiyacı; travma, sepsis ve yanık gibi stres durumlarında sentez kapasitesini aşar. Kritik hastalarda kan ve doku Gln düzeyleri düşer ve bu düşüş hastanın anabolik döneme geçişine kadar sürer. Bu gibi durumlarda hücre içi konsantrasyonu % 50' den fazla düşerken plazma konsantrasyonu normalin % 30' una kadar

azalır. Septik hastalarda iskelet kası hücre içi Gln düzeyi % 75 azalır (120, 121, 153-155).

Plazma Gln düzeylerinin düşük olduğu durumlarda;

- T-Lenfositleri baskılanır
- Nötrofillerin bakterisidal fonksiyonları bozular
- Makrofajların fagositik aktiviteleri ve IL-1 yapımı azalır (156).

Açlık durumunda kas Gln düzeyi 3. günden sonra azalırken, elektif cerrahi vakalarında 12 saatte, sepsis ve travma vakalarında birkaç saatte azalır (154).

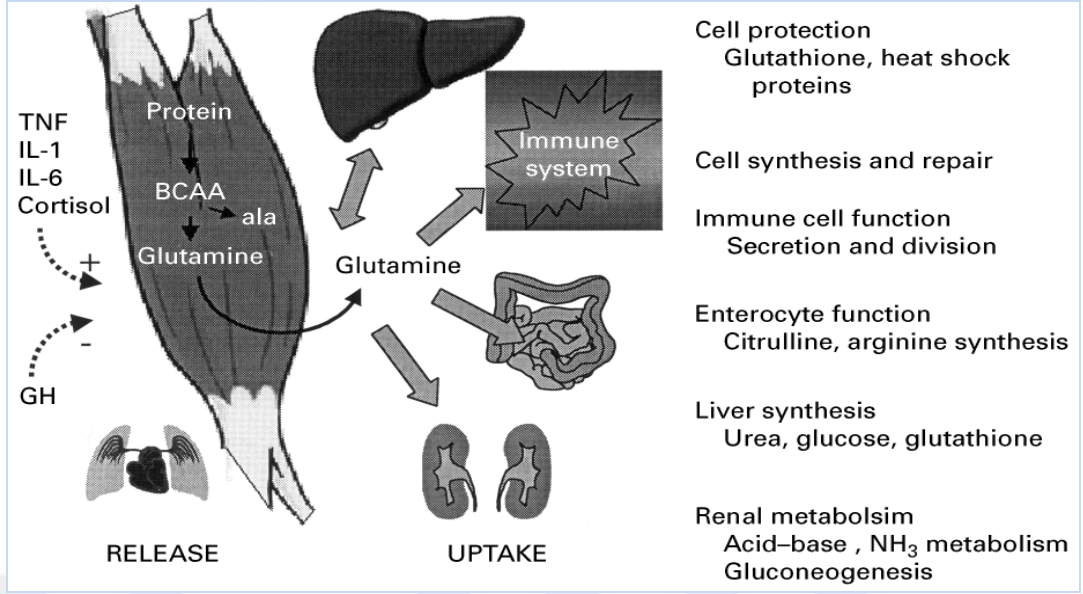
Major cerrahi girişim ile plazma Gln düzeylerinin 7 gün düşük kaldığı, herni onarımı gibi minör cerrahi girişim durumlarında ise plazma Gln düzeylerinin değişmediği saptanmıştır (157). Katabolik stres durumunda kas Gln'in azalmasının sebebi, Gln kullanımının artışı, Gln temininin olmaması, kas hücre membranı boyunca glutamin konsantrasyon farkının, sabit tutulamaması sonucudur (119).

İskelet kasından Gln mobilizasyonunu takiben İB'da Gln tüketimi ve oksidasyonu oluşur (119). Cerrahi streste barsağın Gln kullanımı % 75 artarken diğer organlarda da Gln kullanımı artmaktadır. Bu olay glukokortikoidlere ve kan pH'sına bağlıdır. Renal Gln kullanımı da asidoz sırasında 10 kat artar ve amonyak üretimi desteklenir (119, 143, 158).

Stres sırasında lenfosit ve makrofajların, Gln kullanımını arttırarak diğer biyokimyasal olayları düzenlediği gösterilmiştir (119). T lenfositler optimal büyüme ve fonksiyon için Gln'e ihtiyaç duyarlar ve kritik hastalarda Gln eksikliği T hücre süpresyonuna neden olur (114, 148, 159). IL-1, TNF- α , IF- γ düzeyleri major cerrahide değişmezken, IL-6 düzeylerinin Gln'e paralel azalma gösterdiği tespit edilmiştir (157).

Yaralanma ve enfeksiyonda ilk metabolik cevap, kas dokusunda protein katabolizmasının ve Gln üretimin artmasıdır. Protein yıkımının artması, özellikle Gln ve Ala gibi aminoasitlerin visseral organlara akımını arttırır. Kas dokusunda protein yıkımı sayesinde immün hücrelere, enterositlere ve yara iyileşmesinde rol alan hücrelere Gln sağlanmaktadır. Bu dönemde artmış glukoneogenezde ve akut faz proteinlerinin üretiminde bu aminoasit kullanılır (160).

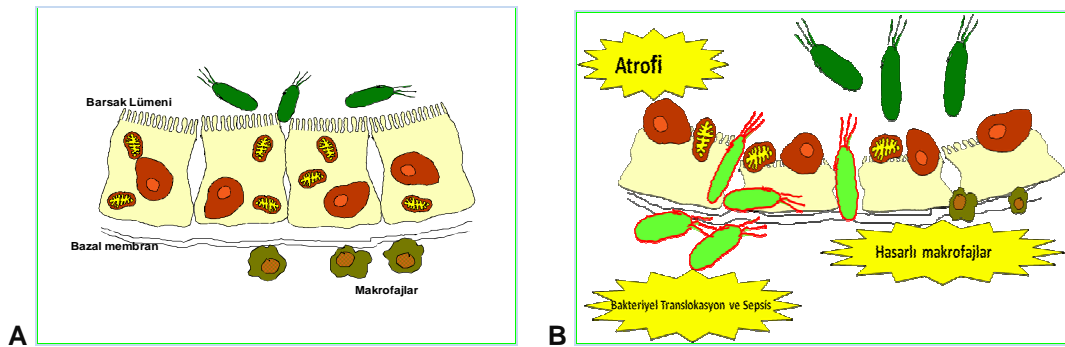
Herhangi bir dokunun yaralanması kandan Gln'in dokulara geçmesine yol açar. Cerrahi, enfeksiyon, travma, yanık, sepsis veya diğer ciddi hastalıkları içeren akut stres durumlarında glukokortikoid açığa çıkması protein yıkımını arttırır. Bunun için önemli miktarda protein hızlı şekilde yıkılır. Protein kaybının çoğu iskelet kasında olur. Hücre içi Gln konsantrasyonunun azalması sonucu negatif nitrojen dengesi ortaya çıkar ve iskelet kas protein sentezinde azalma olur. Artan kas proteolizi sonucu idrarla nitrojen kaybı artar. Kas kitle azalması ile birlikte negatif nitrojen dengesi gözlenir. Sonuçta ciddi hastalarda kas Gln düzeyi de tükenir ve plazma Gln düzeyini destekleyemez. Plazma Gln düzeyi azaldıkça yara iyileşmesi gecikir, barsak geçirgenliği artar, bakteriyel translokasyon, sepsis ve multipl organ yetmezliği önemli ölçüde artar (119, 160), (Şekil 12).



Şekil 12:Stres Esnasında Glutamin Metabolizması (161)

TNF: Tümör nekroz faktör, IL: İnterlökin, GH: Growth hormon, BCAA: Dallı zincirli amino asitler, ala: Alanin

Gln'den fakir beslenme ile barsaklarda belirgin villöz atrofi oluşur, gastrointestinal kanalın patojenlere geçirgenliği artar, bakteri ve toksinlerin translokasyonu olur (Şekil 13). Bakteri translokasyonu da sitokin bombardımanını başlatır. Böylece MODS oluşur (128, 129, 139).



Şekil 13: A: Normal Barsak Mukozası, **B:** Glutamin Eksikliğinde Barsak Mukoza (Villus) Atrofisi ve Bakterilerin Geçışı (162)

Ciddi travma vakalarında en önemli morbidite ve mortalite sebebi enfeksiyon olduğu için, travma sonrası immün fonksiyon ve barsağın mukozal bariyer fonksiyonunun sağlanması çok önemlidir. Çünkü bu enfeksiyonların, barsak geçirgenliğinin artması ve bakteriyal translokasyonun bir sonucu olarak geliştiği düşünülmektedir (109, 110, 119, 141).

Plazma Gln düzeyi, yoğun egzersiz yapan atletlerde de düşmektedir. Sık, yoğun ve ağır egzersiz yapıldığı durumlarda kas Gln düzeyi normale yükselecek zaman bulamaz. Egzersizler arasında iskelet kasındaki Gln depolarının yerine koyulmaması, egzersiz sırasında plazma Gln düzeyinin daha da azalmasına neden olur. Bu durum, immün hücreler ve fibroblastlar için uzun dönem Gln yararlanabilirliğini azaltır. Bu atletlerde, enfeksiyon ve allerji yüksek oranda görülür, lenf nodlarında büyüme ve yara iyileşmesinde gecikme tespit edilir. Aynı zamanda bu atletlerde immün fonksiyon parametreleri azalmıştır. Düşük yoğunluktaki egzersiz ise, iskelet kasındaki Gln düzeyini etkilemez ve immün sistem üzerine zararlı bir etkiye sahip değildir (163).

1.2.4. Çalışmalarda Glutaminin Etkileri

İnvitro Çalışmalarda ve Hayvan Çalışmalarında Glutaminin Etkileri:

Cerrahi, yanık ve travma sonrası nötrofillerin bakteri öldürme kapasitesi azalır. Yanık vakalarında; Gln desteğinin, nötrofillerin bakteri öldürme kapasitesini invitro olarak arttırdığı bildirilmiştir (164). Periferik kan lenfositleri kullanılarak yapılan invitro çalışmalarda, hücre yüzey aktivasyon belirleyicilerinin ortaya çıkması ve lenfosit çoğalması direkt olarak besiyerlerinin Gln konsantrasyonu ile ilgilidir (141).

Birçok çalışma mekanizması net olmasa da Gln'li diyetin nötrofillerin bakteri öldürme fonksiyonunu arttırdığını, Gln düzeyinde azalmanın ise immünsüpresif etki yaptığını göstermektedir (149,165)

Deneysel çalışmalarda da, Gln'in, Gİ sistem için önemli bir besin maddesi olduğu gösterilmiştir. Gln desteği verilen sıçanlarda yapılan çalışmalarda, Gln'nin, enterositlere bakteri tutunmasını azalttığı, slgA konsantrasyonunu stabilize ettiği ve böylece bakteri translokasyon insidansını azaltabileceği bildirilmiştir (21, 129, 130, 148, 150, 166, 167).

Oral glutamin uygulamasının, intravenöz uygulamadan daha etkili olduğunu gösteren hayvan çalışmaları da bildirilmiştir (168). Oral glutamin alan hayvanlarda parenteral beslenme alan gruba göre dalakta pozitif kültür insidansında azalma, yaşam süresinde önemli bir iyileşme ve bakteriyel translokasyonda azalma gözlenmiştir. (168, 169). Oral Gln ile beslenen sıçanlarda, ince barsak villüs yüksekliği, villüs sayısı ve kriptalardaki mitoz sayısında artış olduğu gösterilmiştir (119).

Klinik Çalışmalarda Glutaminin Etkileri

Hastalarda parenteral Gln desteğinin kas Gln düzeyine etkisine ait çalışmaları yapılmıştır (154, 170, 171). Hastalara Gln içeren total parenteral beslenme ($0.285 \text{ g Gln kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$) veya standart parenteral beslenme sıvıları 3 gün boyunca verildiğinde iskelet kası Gln düzeyi Gln grubunda % 25 düşerken kontrol grubunda %40 düşmüştür. L Ala - L Gln ve Gln prekürsörleri (ornitin α -ketoglutarat veya α -ketoglutarat) içeren parenteral beslenme sıvıları kullanarak da benzer sonuçlar elde edilmiştir (154, 170, 171).

Cerrahi hastalarda ekzojen Gln ihtiyacı 12 g/gün, ciddi travma ve enfeksiyon hastalıklarında 25 gr/gün olarak bildirilmiştir. Gln katkılı parenteral beslenmenin ameliyat sonrası nitrojen dengesini düzelttiği, periferik lenfosit sayısını ve nötrofillerde lökotrien üretimini arttırdığı, ameliyat sonrası hastanede kalış süresini kısalttığı gözlenmiştir (172).

Gln desteği alan hastalarda total nitrojen dengesi ve iskelet kas konsantrasyonunun daha iyi korunduğu tespit edilmiştir (173).

Bazı klinik çalışmalarda; parenteral Gln desteğinin, enteral beslenmenin kesildiği sağlıklı hastalar ile kritik hastalarda, barsak bütünlüğünü korunduğu gösterilmiştir, ancak barsak geçirgenliğini azaltmasının klinik önemi net olarak tespit edilememiştir. Aynı zamanda bakteri ve endotoksinler mukoza yapısını değerlendirmede kullanılan makromoleküllerden (laktüloz, mannitol, D-ksiloz gibi) birkaç kez daha büyüktür. Ek olarak insanlarda yapılan çalışmalarda bakterilerin geçişinde; villüs epitelyum tight junctionlarının (enterositler arası sıkı bağlantı) zedelenmesinden ziyade hücre büyüklüğündeki azalma (hipoplazi) gösterilmiştir (21, 131, 137, 174).

Gln katkılı parenteral beslenenlerde, lökositlerdeki sistein-lökotrien (endojen, konakçı yanıtını düzenleyen potent lipid mediatörü) konsantrasyonunun normale döndüğü bulunmuştur (175).

Kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalara Gln katkılı parenteral beslenme verildiğinde sadece parenteral beslenme alana göre nitrojen dengesinde belirgin düzelmeye, yatış süresinde kısalma, enfeksiyon sıklığında azalma saptanmıştır (176, 177).

Gln katkılı parenteral beslenme alan transplant hastalarında hücre dışı ve toplam vücut sıvısında artış en az olmuştur. Bu durum Gln'in membran potansiyelini etkileyerek hücre içi hidrasyon durumunu düzenlediğini düşündürmüştür (hücre içi sıvının artması anabolik proliferatif bir sinyal iken, hücre büzülmesi katabolik- antiproliferatif bir sinyaldir) (177).

Kritik hastalarda kullanılan oral Gln kaynağı toz halindeki serbest Gln formülasyonları veya proteine bağlı glutamin kapsayan enteral ürünlerle sınırlıdır (110,178).

Enteral Gln desteğinin travma hastalarında total parenteral beslenme sıvılarından daha iyi bir koruma sağladığı öne sürülmüştür (179-181).

Gln, doğal proteinlerin aminoasit içeriklerinin % 4-8'ini oluşturur. Bu nedenle diyetle alınan Gln miktarı 10 g/gün' den azdır (111). Bazı besin maddeleri Gln açısından zengindir. Buğdayın aminoasit miktarının % 35'i Gln'den oluşmaktadır. Fasulye ve soya fasulyesi zengin bir Gln kaynağı olup aminoasit içeriğinin sırasıyla % 24.2 ve % 9.6'sı Gln'den oluşmaktadır. Peynir ve süt tozu da glutamik asitten zengindir (110). Bununla birlikte diare döneminde hastanın ağızdan alımının azalması ve uygun besin maddelerinin alınamaması sonucu diyetle Gln alımı azalır.

Bir besin maddesinin desteği önerilmeden önce güvenilirliği ispatlanmalıdır. Daha önceki yayınlarda glutamin metabolizması ile toksik konsantrasyonlarda amonyak ve glutamik asit üretildiği düşünülürken, son yıllarda glutamin desteği sonucunda toksik son ürünlerde artış olmamış ve intoksikasyon gözlenmemiştir (110, 182, 183).

Gln'nin normal erişkinlerde 0.1 ve 0.3 g kg⁻¹ gün⁻¹ dozunda güvenle verilebileceğini göstermişlerdir. Sağlıklı erişkin gönüllülerde parenteral glutaminin 0.0125 ve 0.025 g kg⁻¹ sa⁻¹ hızında 4 sa infüzyon şeklinde ve 0.285 ve 0.570 g kg⁻¹ gün⁻¹ dozunda 5 gün verildiğinde yan etki görülmediği bildirilmiştir. Aynı zamanda kemik iliği nakil vakalarında 4 haftaya kadar 0.570 g kg⁻¹ gün⁻¹ dozunda verildiği zaman parenteral Gln'in çok iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Optimum Gln dozu tam olarak saptanmamışken, birçok araştırmacı erişkinlerde 20-40 g/gün dozunun immün fonksiyonu arttırmada, glutatyon sentezini düzenlemede ve barsak yapısını ve fonksiyonunu korumada yeterli olduğunu öne sürmüştür (111, 184). Enteral Gln'in yanık ve travma hastalarında önerilen dozu; erişkinlerde 30 g/gün iken çocuklarda 0.3-0.5 g kg⁻¹ gün⁻¹ dür (185). Parenteral L Ala-L Gln'in (L Alanil-L Glutamin) ise önerilen dozu 0.3-0.4 g kg⁻¹ gün⁻¹ dür (186).

ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition) parenteral beslenme rehberinde; yoğun bakım hastalarında parenteral nutrisyon endikasyonu olduğunda, aminoasit solusyonunun 0.2-0.4 g kg⁻¹ gün⁻¹ glutamin içermesi (örn, 0.3-0.6 g kg⁻¹ gün⁻¹ Ala-Gln, dipeptid) A düzeyi

kanıt ile önerilmektedir (Grade A), (187). Enteral yoldan Gln'in de 2009 ASPEN/SCCM (American Society for Parenteral and Enteral Nutrition/Society of Critical Care Medicine) rehberinde, yanık, travma ve karma yoğun bakım hastalarında standart enteral formüle glutamin eklenmesi B düzeyi kanıt ile önerilmekte iken ESPEN enteral beslenme rehberinde ise travma ve yanık hastalarında kullanımı A düzeyi kanıt ile önerilmektedir (35).

Yine ESPEN yoğun bakım enteral beslenme rehberinde uzman komite, 24 saatten kısa süre içerisinde kritik hastaların enteral beslenmeye başlanmasını C düzeyi kanıt ile önermektedir (35).

1.2.5. Glutamin Kullanımını Sınırlandıran Durumlar

Gln desteğinin insanlarda bazı hasta gruplarında (prematüre, kemik iliği taransplant hastaları, ağır cerrahi hastalar ve sepsis gibi) güvenilirliği gösterilmesine rağmen, her bilim dalı glutamin verilmesinin riskli olduğu durumları saptamalıdır.

Karaciğer ve böbrek yetmezliği olan hastalarda glutamin desteği önerilmemektedir (110, 176). Karaciğer yetmezliği vakalarında üre sentezi ve amonyak atılımı bozuk olduğu için, Gln metabolizma ürünleri toksik miktarda birikebilir.

Hiperamonyemi ve ensefalopati varken Gln verilmesi ensefalopatiyi arttırabilir. Böbrek hastalarında da amonyak ve glutamik asitin renal atılımı azalabilir (110).

Gln, barsak ve immün sistem gibi hızlı çoğalan hücrelerin ana metabolik yakıtı olmasının yanında çok hızlı büyüyen tümör hücrelerinin de ana metabolik yakıtıdır. Bu hücreler de enterositler gibi glutaminaz aktivitesine sahiptir. Tümör büyümesi, iskelet kas Gln ve glutatyon içeriğini azaltır, enterositler için daha az yakıt bırakır ve katabolik, kaşektik bir durum yaratır. Sonuç olarak tümörler Gln kapanı gibi çalışarak sistemik Gln kaybını

arttırır (188, 189). Gln'in teorik olarak tümör dokusu büyümesini artırabilme potansiyeli, rutin klinik uygulamada Gln kullanımını kısıtlamaktadır.

Dipeptid Yapı: Gln tek başına oldukça kararsız bir yapıdadır ve suda çabuk denatüre olur. Ala ile birleşen Gln ve oluşan dipeptid (L Ala-L Gln) yapı, sulu çözeltilerde stabil olarak kalır (Tablo 3), (21). Ayrıca, enteral yoldan verilen dipeptid yapının enterosit düzeyinde aminoasit transferini artırdığı savunulmuştur (190).

Tablo 3: Glutamin (Gln) ile L Alanil-L Glutamin (L Ala-L Gln) Yapının Kimyasal ve Fiziksel Karşılaştırılması (21).

	Çözünürlük (g/L H ₂ O 20°C'de)	Stabilite	Gln oranı (g/20 g peptid)
Gln	36,0	hayır	
L Ala-L Gln	568,0	evet	13.46

1.3. DENEYSEL ENFEKSİYON MODELLERİ

Laboratuvar hayvanlarında sepsis oluşturmak amacıyla kullanılacak modelleri ilk defa Wichterman ve arkadaşları sınıflandırmışlardır (191). Bunlar:

- Canlı mikroorganizmaların intravenöz infüzyonu (E. Coli)
- Peritoneal kaviteye fekal materyal veya canlı mikroorganizmanın uygulanması
- Ekstremitelere, yumuşak dokulara enfekte materyal implantasyonu ile abse oluşturulması

- Cerrahi girişim ile gastrointestinal traktustaki normal bariyerlerin hasarlanması şeklindedir.

Sepsisin ideal hayvan modeli basit ve tekrar edilebilir olmalıdır. Kullanılan hayvanlar sitokine destekli klinik bulgu vermeli ve bakteriyolojik sonuçlar elde edilebilmelidir. Hastalık lokalize bir enfeksiyondan başlayıp artmalı, sistemik sepsis ve multipl organ disfonksiyonuna ilerlemelidir (72).

Deneysel amaçlı sepsis modelleri 4 şekilde uygulanmaktadır:

a) Çekum Bağlama ve Delme Modeli (Cecal Ligation and Puncture=CLP)

Bu yöntemle polimikrobiyal bir sepsis oluşturulmaktadır. Anestezi altındaki hayvanlarda barsak geçişini bozmaksızın çekumun standart bir iplik ile bağlanması ve daha sonra bağlanan kısmın standart ölçüdeki bir enjektör iğnesi ile bir veya iki kez delinmesi esasına dayanır. Operasyon sonrasında karın boşluğu kapatılarak hayvanlara ağırlıklarına göre cilt altına sıvı (resusitasyon) verilebilir (192,193). Sıvı replasmanı özellikle bu modelde hemodinamiye ve sağkalıma etkilidir. Aynı zamanda modeli klinik duruma yaklaştırmak açısından da önemlidir. Bu modelin kolay ve ucuz olması, polimikrobiyal olması ve kliniktekinе benzer bir sepsis oluşturması gibi avantajları mevcuttur. Dezavantajları ise, farklı seviyelerde çekum bağlanması, delme sayısı, iğne çapı, barsak geçişinin durması, hayvanların aç veya tok olması, resüsitasyon için sıvı verilip verilmemesi gibi farklı uygulamaların sonucu da değiştirebilmesidir.

b) Damar veya Periton İçine Canlı Bakteri Uygulanması

Literatürde özellikle intravenöz E.coli ile oluşturulmuş modeller mevcuttur. Daha az sıklıkla P.aeruginosa ve Gram (+) sepsis oluşturmak için S.aureus kullanılmaktadır. Ayrıca E. coli ve B.fragilis kombinasyonu aerobik ve anaerobik enfeksiyon tablosu oluşturmak için kullanılmaktadır. Bakteriler tek seferde veya infüzyon ile verilebilir. Tercih edilen uygulama şekillerinden biri de “jelatin kapsüller” içinde hazırlanan mikroorganizma veya fekal

kültürün (inokulum) orta hat insizyonu ile karın içine yerleştirilmesidir (intraperitoneal kontrollü inokülasyon). Agar plakları da kendi başına veya feçes ve bakteriyile beraber aynı görevi yapar. İnokülasyon modellerinde kontrol hayvanlarına steril jelatin kapsüller yerleştirilebilir. İntravenöz 10^8 - 10^9 - 10^{10} bakteri kg^{-1} uygulaması ile sıçanlarda yaklaşık 2 sa içerisinde septik şokun hiperdinamik fazı oluşmaktadır (194).

Bu grup deneysel metodlara en önemli eleştiri insan septik şok tablosunda bu kadar kısa süre içinde yüksek miktarda bakteri ile karşılaşılmasıdır. Bazı araştırmacılar ise bakteri miktarını azaltarak bakteri ile feçes-agar vb. maddeler vererek deneysel modeller kullanmışlardır (195). İv ve ip (intraperitoneal) canlı bakteri uygulaması sırasında laboratuvar çalışanları ve araştırmacılar için kontaminasyon riski olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

c) Lipopolisakkarit (LPS) Verilerek Oluşturulan Sepsis Modelleri

LPS, Gram (-) bakterilerin hücre duvarından elde edilen, deneysel hayvan septik şok modellerinde kullanılan, glikolipid yapıdaki maddeler grubudur. LPS, genelde liyofilize toz halinde ticari olarak temin edilir. Liyofilizasyon işlemi fenol ekstraksiyonu, triklorasetikasid ekstraksiyonu, fenol-kloroform-eter ekstraksiyonu, jel filtrasyon gibi farklı kimyasal işlemler uygulanarak üretici firma tarafından yapılır. E. coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa gibi birçok Gram (-) bakteriden elde edilmesine rağmen, deneysel septik şok çalışmalarında, E. coli'den elde edilen LPS'ler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu grupta O26:B6, O55:B5, O111:B4 gibi farklı serotiplere sahip farklı suşlardan elde edilmiş LPS türleri mevcuttur. LPS ile septik şokta metabolik, immünolojik, fizyolojik, toksikolojik ve farmakolojik çalışmalar yapılmaktadır. Literatürde LPS ve endotoksin aslında aynı anlamda kullanılsa da aralarında fark vardır. Endotoksin LPS'e ek olarak az miktarda hücre duvarı proteinleri, lipidler,

lipoproteinler ve polisakkarit içerir. LPS ise saflaştırılmış glikolipid yapıya sahiptir. LPS toksisitesi çoğunlukla içerdiği Lipid A yapıdan kaynaklanır.

d) Zymosan ile oluşturulan MODS ve SIRS

Zymosan, *Saccharomyces Cerevisiae* mantarının hücre duvarından elde edilir. Yapı olarak %73 polisakkarit, %15 protein, %7 lipid ve çeşitli inorganik yapılar içerir. Deney hayvanlarına verilmesini takiben birçok inflamatuvar mediatörün açığa çıkışına ve uzamış inflamasyon yanıtına neden olur. LPS verilerek veya CLP ile oluşturulan modellerin aksine zymosan daha uzun dönemli, üç fazlı inflamasyon tablosu ortaya çıkarır. Kronik çalışmalar için uygun bir modeldir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra (Tarih:30/04/2009, karar no: 39) İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden (DETAE) temin edilen sıçanlar üzerinde, İstanbul Üniversitesi DETAE laboratuvarında 15 Haziran - 25 Eylül 2009 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada ön çalışma ile birlikte ağırlıkları 210-250 g arasında değişen (Tablo 4), 10 haftalık, Wistar-Albino türü, toplam 63 adet dişi sıçan kullanıldı (Şekil 14). Normal oda ısısı ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) ve nemine (%40–60) sahip, 12 sa aydınlık + 12 sa karanlık ortamda, metal kafeslerde tutulan tüm gruptaki sıçanlar, deney süresince standart sıçan yemi (15-20 g/gün) ve su (25-30 mL/gün) ile beslendi. Sıçanların tümünde rektal ateş ölçümü, kan ve doku örneklerinin alınması gibi girişimsel işlemler; ketamin hidroklorür (Ketalar[®] flakon, 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş. İstanbul) 50 mg kg^{-1} im ve xylazine hidroklorür (Rompun[®] flakon, 23,32 mg/ml, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti., İstanbul) 5 mg kg^{-1} im uygulanarak ve sıçanların spontan solunumu korunarak yapıldı. Tüm sıçanlara beslenmelerine ek olarak gerekli sıvı resüsitasyonu izotonik salin solüsyonu (5-10 mL/gün sc) ile yapıldı. Çalışma sırasında, her sıçan kendi grubu içinde numaralandırıldı. Bu çalışmada sepsis oluşturmak için intraperitoneal (ip) canlı bakteri modeli tercih edildi (196), (Şekil 15). 7 ve 8 adet sıçan içeren 2 ön çalışma grubundan sonra her grupta 12 adet sıçan bulunan 4 ana çalışma grubu oluşturuldu. Sıçanlar gruplara rastgele dağıtıldı. Tüm gruplar ayrı ayrı ancak kendi içinde eş zamanlı çalışıldı. Çalışma bitiminde tüm sıçanlar, 60 mg kg^{-1} ketamin hidroklorür im uygulamasını takiben kalpten kan alınarak sakrifiye edildi.

2.1. Çalışma Grupları

Ön Çalışma Grupları

Grup I (N=8): Sepsis modeli oluşturmada kullanılacak E. coli suşunu ve miktarını belirlemek için 1. ön çalışma grubu.

Grup II (N=7): Sepsis modeli oluşturulduğunu kanıtlamak için 2. ön çalışma grubu.

Ana Çalışma Grupları

Grup C (Kontrol grubu, N=12): Sepsis oluşturulup, standart beslenmeye ek olarak 2 mL/gün iv ve 1 mL/gün oragastrik ile izotonik salin solüsyonu verilen kontrol grubu.

Grup E (Enteral Gln grubu, N=12): Sepsis oluşturulup, standart beslenmeye ek olarak 6 Ch oragastrik beslenme kateteri (Bıçakçılar®, İstanbul, Türkiye) ile $0.5 \text{ g kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ Gln (Resourch glutamine®, toz, 20x5 g, Nestle) 1 mL'ye dilüe edilerek ve 2 mL/gün iv izotonik salin solüsyonu verilen enteral Gln grubu (Şekil 16).

Grup P (Parenteral Ala-Gln grubu, N=12): Sepsis oluşturulup, standart beslenmeye ek olarak kuyruk veninden 26G branül (BD Neoflon®, Helsingborg, Sweden) ile $0.4 \text{ g kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ Ala-Gln ($=0,27 \text{ g kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ Gln), (Dipeptiven®, %20'lik L Ala-L Gln, 20 g [13,46 g L Gln] /100 mL iv solüsyon, Fresenius Kabi) iv 2 ml'ye dilüe edilerek 60 dk'da (0.03-0.04 ml/dk) ve 1 mL/gün oragastrik ile izotonik salin solüsyonu verilen parenteral Ala-Gln grubu (Şekil 17).

Grup EP (Kombine grup, N=12): Sepsis oluşturulup, standart beslenmeye ek olarak $0.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ Ala-Gln ($=0,2 \text{ g kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ Gln) iv solüsyonu 2 mL'ye ve $0.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ Gln 1 mL'ye dilüe edilerek oragastrik ile verilen kombine grubu.

2.2. Çalışma Planı

Ön Çalışma

Grup I, sepsis oluşturmak için kullanılacak E. coli suşunu ve miktarını tespit etmek amacı ile yapıldı. 2 adet sıçana triptik soy buyyonda 37 °C'lik etüvde üreyen bakteri, (1 nolu, 2 nolu) ip 1 mL (10^9 CFU/mL E. coli) enjekte edilerek sepsis oluşturulmaya çalışıldı. 4 sa sonra sıçanların rektal ısılarına bakıldı ve lökosit sayımı yapıldı. Günlük yapılan değerlendirmelerde genel durumlarının iyi, rektal ısı ve lökosit değerlerinin normal sınırlarda olduğu gözlemlendi. 96. saatte bu sıçanların lökosit sayımı ve mikrobiyolojik incelemeleri için kan örnekleri alındı. Ayrıca akciğer, karaciğer ve mezenter lenf nodundan (MLN) mikrobiyolojik, ileumdan ise histopatolojik inceleme için doku örnekleri alındı. Bu 2 sıçanda lökositöz, ileumdan alınan örneklerde villöz atrofi, kan ve doku kültürlerinde de üreme tespit edilmedi. Bu suş ile sepsis oluşturulamadığından tanımlaması yapılmadı.

Bunun üzerine Grup I'e dahil olan 3 ve 4 nolu sıçana başka bir E. coli suşu ip 1 mL (10^9 CFU/mL) enjekte edildi. 4 sa sonra bakılan rektal ısılarının ve lökosit değerlerinin yüksek olduğu tespit edildi. Takibinde 3 nolu sıçan 6 sa, 4 nolu sıçan ise 8 sa sonra eksitus oldu. Bu nedenle kullanılan bakterinin API 20E testi ile tanımlaması yapılarak E. coli 1104512 suşu olduğu tespit edildi.

Çalışmamız için sıçanların 4 gün beslenmesi planlandığından eksitus olan bu iki sıçana verilen E. coli suşu dilue edilerek 1×10^8 CFU/mL E. coli Grup I'e dahil edilen diğer 2 adet sıçana (5 nolu, 6nolu) ip olarak 1 mL enjekte edildi, 4 sa ve 24 sa sonra bakılan rektal ısı ve lökosit değerlerinin yüksek olduğu izlendi. Ancak, 5 nolu sıçan 36 sa, 6 nolu sıçan ise 32 sa sonra eksitus oldu.

Bunun üzerine tekrar dilüe edilerek, 5×10^7 CFU/mL E. coli 7 ve 8 nolu sıçanlara ip olarak 1 mL enjekte edildi, 4 sa sonra ve günlük ölçülen rektal ısı

ve lökosit değerlerinin yüksek olduğu tespit edilen Grup I'in bu son 2 sıçanından da, 96.saatte aynı şekilde kan ve doku örnekleri alındı. Lökositöz tespit edilmesi, kan ve doku kültürlerinde üremenin olması ve histopatolojik inceleme sonucunda ileumda villöz atrofi tespit edilmesi üzerine çalışmamızda bu konsantrasyondaki E. coli 1104512 suşunun sepsis oluşturmak için kullanılmasına karar verildi (Tablo 5).

Grup II ise 7 sıçan üzerinde sepsis varlığını ortaya koymak ve sepsis oluşturulduktan sonra Gln desteği verildiğini göstermek için oluşturuldu. Bu gruptaki sıçanların bazal ateş ve lökosit değerleri ölçülerek normal tespit edildi. İp 1 mL 5×10^7 CFU/mL E. coli (1104512) enjeksiyonundan 4 sa sonra; rektal ısı ölçümleri, lökosit sayımı (Tablo 6), kan ve doku kültürleriyle de sepsis oluşturulduğunu kanıtladık.

Ana Çalışma

Ana çalışmadaki tüm sıçanların başlangıç kanları alındıktan sonra ip 1mL 5×10^7 CFU/mL E. coli (1104512) enjekte edildi. Sıçanların beslenmelerine ve Gln desteğine, ip E. coli verilmesinden 4 sa sonra başlandı. Deneyin başlangıcında alınan kanlar bazal değer olarak kaydedildi. Başlangıç kanlarında (bazal değer) ve beslenmeye başladıktan itibaren 24. sa ile 96. sa alınan kanlarında plazma Gln, serum TNF- α ve IL-10 konsantrasyonlarına bakıldı.

96. sa kan örnekleri alındıktan sonra sıçanlara, batın ve toraks ön duvarı cerrahi saha dezenfeksiyonu sağlanarak steril koşullarda sternotomi yapıldı. İntrakardiyak ponksiyon ile yaklaşık 5 ± 1 mL kan alındı ve kan kültür tüpüne konuldu. Takiben sağ akciğer alt lobundan yaklaşık 1 g'lık doku örneği alınarak kültür kabına konuldu. Laparotomi yapılarak yaklaşık 2 g'lık karaciğer dokusu ve MLN alınarak farklı kültür kaplarına konuldu. Tüm hayvanlardan bakteri üremesini belirlemek üzere MLN, KC, AC, kan ve villus atrofisini belirlemek için de İB doku örnekleri alındı (Şekil 18).

Deney sırasında Grup E'de 24. saatte kan alma işlemi öncesinde uygulanan anestezi sırasında eksitus olan 1 olgunun 24. saat ve 96. saat kan değerleri ve 96. saatte enteral glutamin verilmesi sırasında solusyonun endotrakeal aspirasyonu sonucu eksitus olan 1 olgunun da 96. saat kan Gln, TNF- α , IL-10 değerleri, intention-to-treat regresyon metodu kullanılarak analize dahil edildi. Grup E'nin 2, Grup P'nin 1 ve Grup EP'nin de 1 sıçanı ilk gün kan alma işlemi öncesi uygulanan anestezi indüksiyonu sonrasında eksitus oldukları için çalışmaya dahil edilmediler.

2.3. Örnekleri Değerlendirme Yöntemleri

2.3.1. Mikrobiyolojik Yöntemler

Bakteriyel translokasyon olup olmadığını araştırmak için alınan doku kültür örnekleri genel üretici besiyerine alınarak, 37°C'lik etüvde 24 - 48 saat tutuldu. İlk 24 ve 48 saatte üremenin olduğu bu sıvı besiyerlerinden endo ve çikolatamsı agara pasajlar alındı. 48 saat sonunda üreme olmayan sıvı besiyerleri "bakteri üremedi" olarak değerlendirildi. Endo besiyerlerinde üreyen ve tek tek düşen bakteri kolonilerinden örnek alınarak API 20E testi ile değerlendirildi ve üreyen bakterinin E. coli 1104512 olduğu belirlendi. İntraabdominal sepsis oluşturmak için verilen E. coli 1104512 suşu dışında E. coli suşu, B. fragilis, enterobakter, enterokok, pseudomonas ve staphlococcus üremesi olup olmadığı incelendi. Kan kültürü için alınan kan BACTEC hemokültür tüplerine ekilerek 37 °C etüvde 48, 72, 96 ve 120 saat tutuldu. Bu süre sonunda hemokültür şişelerinden steril enjektör ile alınan örnekler endo ve çikolatamsı agar besiyerine azaltma yöntemi ile ekildi. Bu besiyerleri 37 °C' lik etüvde 24 – 48 sa tutuldu. Üreme olmayan besiyerleri negatif olarak değerlendirildi. Üreme olan besiyerlerinde tek tek düşen farklı kolonilerden örnek alınarak gram boyama yapıldı. Gram (+) ve Gram (–) özelliklerine göre bakterilerin API 20E testi ile E. coli 1104512 suşu olduğu belirlendi.

2.3.2. Histopatolojik Yöntem

Histopatolojik inceleme için terminal ileum düzeyinden yaklaşık 3-4 cm'lik doku örneği alındı. Alınan doku örnekleri % 10 formolde fikse edildikten sonra Hemotoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskobu kullanılarak villöz atrofi yönünden değerlendirildi.

2.3.3. Biyokimyasal Yöntemler

Beyaz Küre Sayımı

Ön çalışmamızda Grup II'deki sıçanların total beyaz küre sayılarını belirlemek için Etilendiamintetraasetik asitli (EDTA) tüpe 1 mL kan alınıp kan sayım cihazında (Abacus, Diatron, Wien, Austria) ölçülmüştür.

Numune bilgileri cihaz kayıt menüsünden girildikten sonra en az 5 dk boyunca mikserde döndürülen kan örneği cihaz probu tarafından cihaza aktarılır. Bu esnada örnekten otomatik olarak prob ile 20 µL pipetler ve 60 sn'de "impedans" yöntemi ile kan hücrelerinin histogramını ve *lökosit histogramını* oluşturarak sonuç raporlanır.

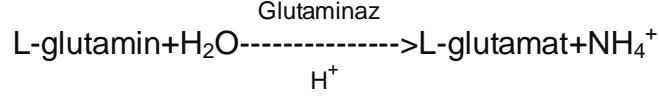
Plazma Glutamin Tayini

Sıçanların kuyruk veninden plazma Gln düzeylerinin ölçümleri için (deneyin başlangıcında, 24.sa ve 96.saatte) heparinli tüpe birer mL kan alındı. Örnekler 3000 rpm'de 10 dk santrifüj (Elektro-mag M4812P, İstanbul, Türkiye) edildi ve plazmaları ayrıştırıldıktan sonra eppendorf tüplerine aktarılıp, Gln düzeylerine bakılana kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

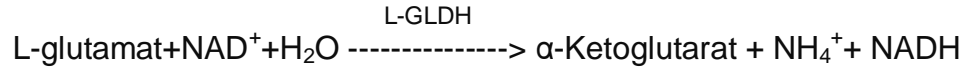
Plazma Gln düzeyi, Gln kiti (Glutamine/Glutamate Determination Kit, GLN-1 SİGMA, USA) kullanılarak spektrofotometrik yöntem (HUMAN Humalyzer 2000, Germany) ile 340 nm dalga boyunda absorbansıyla belirlendi (197). Sonuçların değerlendirilmesinde linear regresyon ile hazırlanan standart eğri kullanıldı.

Glutamine ölçümü iki adımlı bir reaksiyondur:

- Reaksiyon (A): Gln deaminasyonu



- Reaksiyon (B): Glutamat ve indirgenmiş NAD⁺ dehidrojenasyonu



Standart eğrinin hazırlanışı için 11 adet tüpe 0,2 mL asetat tampon ile glutaminaz 0,1 mL konuldu. Üzerine ise kitin prospektüsündeki tabloya uygun olarak, glutamin standartı ve deiyonize su eklendi. Yine prospektüsüne göre test örnekleri hazırlandı ve 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik yöntemle absorbans okuma yapıldı. Her iki absorbansların farkı alındı. Absorbansları standart eğri grafiğinden µmol ile karşılaştırılıp Gln olarak hesaplandı.

Serum TNF- α ve IL-10 Tayini

Sıçanlardan serum TNF-α ve IL-10 düzeylerinin ölçümleri için (deneyin başlangıcında, 24.sa ve 96.saatte) düz tüpe 0,6 mL kan örnekleri alındı. Örnekler 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve serumları ayrıştırıldıktan sonra eppendorf tüplerine (Şekil 19) aktarılıp, sitokin düzeylerine bakılana kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

Serum TNF-α ve IL-10 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile ELx 800 mikro ELISA okuyucu ve ELx 50 mikro ELISA yıkayıcı cihazlarında (Bio-Tek, Instruments Inc, USA) çalışıldı. Serum TNF-α düzeyi Rat TNF-α ELISA kiti (Rat IL-10, Invitrogen, ELISA Kit, Catalog KRC0101, CA) ve IL-10 düzeyi Rat IL-10 ELISA kiti ile (Rat IL-10, Invitrogen, ELISA Kit, Catalog KRC0101, CA) 450nm dalga boyunda absorbans alınarak ölçüldü.

TNF- α ve IL-10 için, seyreltme işlemleri ve standart değer ile optik absorbans karşılaştırmaları kitlerin prospektüsünde belirtildiği gibi yapıldı.

TNF- α Prosedürü:

Bir mikro ELISA reaksiyon plakasında 96 test kuyucuğu bulunmaktadır. Sırasıyla:

- İlk 8 kuyucuğa 100 μ L standart sulandırıcı tampon eklendi.
- 1. kuyucuktan itibaren hazırlanmış olan 8. standart tüpünden sırasıyla 100 μ L pipetleme yapıldı.
- 9. ve 10. kuyucuklara sırasıyla negatif ve pozitif kontrol serumu 100 μ L pipetlendi.
- 11. kuyucuktan itibaren örnek serumlar 100 μ L pipetlendi.
- Oda sıcaklığında 2 sa boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 4 kez yıkama cihazında yıkama yapıldı.
- 100 μ l biotin konjugat pipetlendi.
- Oda sıcaklığında 1 sa boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 4 kez yıkama cihazında yıkama yapıldı.
- 100 μ l streptavidin-HRP solüsyon pipetlendi.
- Oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 4 kez yıkama cihazında yıkama yapıldı.
- 100 μ L kromojen solüsyon pipetlendi ve renk maviye dönmeye başladı.
- Oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 100 μ L stop çözeltisi pipetlendi ve 20-25 dk sonra 450 nm'de optik okuma yapıldı.

Sonuçların değerlendirilmesi: Standart eğri ile plakadaki ilk sekiz kuyucuğun absorbans eğrisi oranlanarak hazırlanan grafik ile TNF- α değerleri hesaplandı.

IL - 10 Prosedürü:

Bir mikroelisa reaksiyon plakasında 96 test kuyucuğu bulunmaktadır.

Sırasıyla:

- İlk 8 kuyucuğa 100 µL standart sulandırıcı tampon eklendi.
- 1. kuyucuktan itibaren yukarıda hazırlanmış olan 8 standart tüpünden sırasıyla 100 µL pipetleme yapıldı.
- 9. ve 10. kuyucuktan itibaren bütün kuyucuklara 50 µL standart sulandırıcı tampon pipetlendi.
- 9. ve 10. kuyucuklara sırasıyla negatif ve pozitif kontrol serumu 50 µL pipetlendi.
- 11. kuyucuktan itibaren örnek serumlar 50 µL pipetlendi.
- 50 µL biotin konjugat pipetlendi.
- Oda sıcaklığında 2 sa boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 4 kez yıkama cihazında yıkama yapıldı.
- 100 µL streptavidin-HRP solüsyon pipetlendi.
- Oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 4 kez yıkama cihazında yıkama yapıldı.
- 100 µL kromojen solüsyon pipetlendi ve renk maviye dönmeye başladı.
- Oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edildi (karanlık ortam).
- 100 µl stop çözeltisi pipetlendi ve 20–25 dk sonra 450 nm'de optik okuma yapıldı.

Sonuçların değerlendirilmesi: Standart eğri ile plakadaki ilk sekiz kuyucuk absorbans eğrisi oranlanarak hazırlanan grafik ile IL-10 değerleri hesaplandı.

Histopatolojik, mikrobiyolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler örneklerin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen kendi alanında uzman patoloji, mikrobiyoloji ve biyokimya araştırmacıları tarafından yapıldı. Histopatolojik örnekler İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvar'ı ve S.B. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvar'ında, kültür örnekleri İ.Ü.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvar'ında, biyokimyasal örnekler ise İstanbul Bio-lab Klinik Laboratuvar'ında değerlendirildi.

2.4. Verilerin İstatistiksel Analizi:

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (frekans, yüzde, ortalama, standart sapma) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise “Pearson Ki-Kare” testi kullanıldı. Normal dağılımın incelenmesi için “Kolmogorov - Smirnov” dağılım testi kullanıldı. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda, normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında “Kruskal Wallis” testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde “Mann Whitney U” testi kullanıldı. İki niceliksel verinin karşılaştırılmasında “Spearman Korelasyon Analizi” kullanıldı. Parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise “Friedman” testi, ve farklılığa neden olan grubun tespitinde “Wilcoxon” işaret testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Grup E'de eksitus olan 2 denekten birinin 24. ve 96. sa; diğerinin ise 96. sa kan Gln, Tnf- α , IL-10 değerleri, intention-to-treat regresyon metodu kullanılarak analize dahil edildi. N sıçan sayısını, n ise örnek sayısını göstermektedir.



Şekil 14. Ağırlıkların Kaydedilmesi.



Şekil 15. İntraperitoneal Bakteri Enjeksiyonu Yapılması



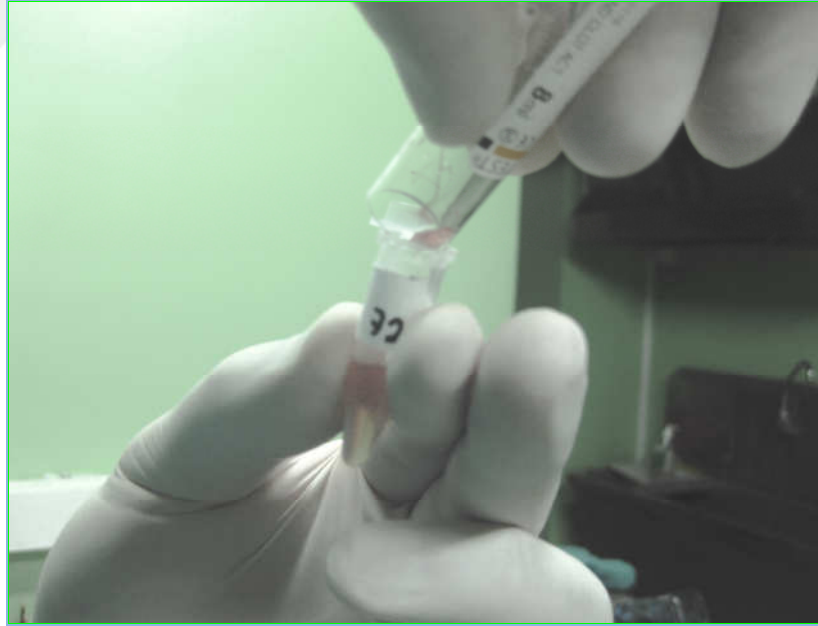
Şekil 16. Oragastrik Tüp Yerleştirilmesi



Şekil 17. Kuyruktan Damar Yolu Açılması



Şekil 18. Doku Örnekleri İçin Laparotomi ve Sternotomi Uygulanması



Şekil 19. Serumun Biyokimyasal Analizler İçin Eppendorf Tüplerine Aktarılması

3. BULGULAR

3.1. Tüm Deneklerin Ağırlıkları ve Ön Çalışma Verileri:

Ön çalışma grupları olan Grup I-II, ana çalışma grupları olan Grup C, E, P, EP'inin ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4). Grup I'de 7. ve 8. sıçanlarda, Grup II'de ise sıçanların tümünde; kan ve doku kültürlerinde üreme (100%) saptandı. Yine Grup II'de bazal ateş ($^{\circ}\text{C}$) ve lökosit ($/\text{mm}^3$) değerlerinin ortalamaları sırasıyla; $36,8\pm 0,35$, $8,08\pm 1,05$ tespit edildi. Grup I ve II'nin ateş ve lökosit değerleri ise, Tablo 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Tablo 4: Deneklerin Gruplara Göre Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Grup	Ağırlık (g)		
	Ort±	SD	p
C(N=12)	236,3	14,0	
E(N=10)	227,9	13,1	
P(N=11)	227,3	10,1	
EP(N=11)	226,0	12,6	
Grup I (N=8)	237,3	9,5	
Grup II (N=7)	235,7	11,3	0,102*

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.

*Grup I-II: Ön çalışma grupları, N: Sıçan sayısı, *p>0,05: Gruplar arası karşılaştırma.*

Tablo 5. Grup I'in Ateş ve Lökosit Değerleri

Grup I	Zaman	Ateş(°C)	Lökosit (/mm ³)	
Sıçan No.				
1	4. sa	36,9	8,600	
	24. sa	37,0		
	48. sa	36,7		
	72. sa	37,0		
	96. sa	36,6	7,150	
Ort±SD		36,84±0,18	7,08±1,03	
2	4. sa	37,1	7,400	
	24. sa	37,2		
	48. sa	36,7		
	72. sa	37,1		
	96. sa	36,5	6,490	
Ort±SD		36,92±0,30	6,95±0,64	
3	4. sa	39,8	16,740	6. sa eksitus
4	4. sa	39,5	15,970	8. sa eksitus
5	4. sa	38,9	14,800	
		39,3		36. sa eksitus
6		39,3	15,340	
		39,1		32. sa eksitus
7	4. sa	38,8	15,100	
	24. sa	39,0		
	48. sa	39,0		
	72. sa	38,7		
	96. sa	38,9	14,700	
Ort±SD		38,88±0,13	14,90±0,28	
8	4. sa	38,8	14,900	
	24. sa	38,8		
	48. sa	39,2		
	72. sa	39,4		
	96. sa	38,9	13,950	
Ort±SD		39,02±0,27	14,43±0,67	

Grup I: Ön çalışma grubu.

Tablo 6. Grup II'nin Ateş ve Lökosit Değerleri (4. sa)

Grup II	Ateş	Lökosit
Sıçan No.	(°C)	(/mm³)
1	38,9	13,900
2	39,4	16,700
3	39,6	15,600
4	38,9	14,100
5	38,6	13,800
6	39,0	17,000
7	39,1	15,350
Ort±SD	39,07±0,34	15,21±1,32

Grup II: Ön çalışma grubu.

3.2. Kan ve Doku Kültürlerinde Üreme:

Mikrobiyolojik incelemede, ip E. coli verilen sıçanların karaciğer, akciğer, MLN ve kan örneklerinde sadece çalışmada kullandığımız E. coli 1104512 suşu üremiştir. Çalışmada hiçbir grupta verilen E. coli kökeni dışında enterik bakteri ürememiştir.

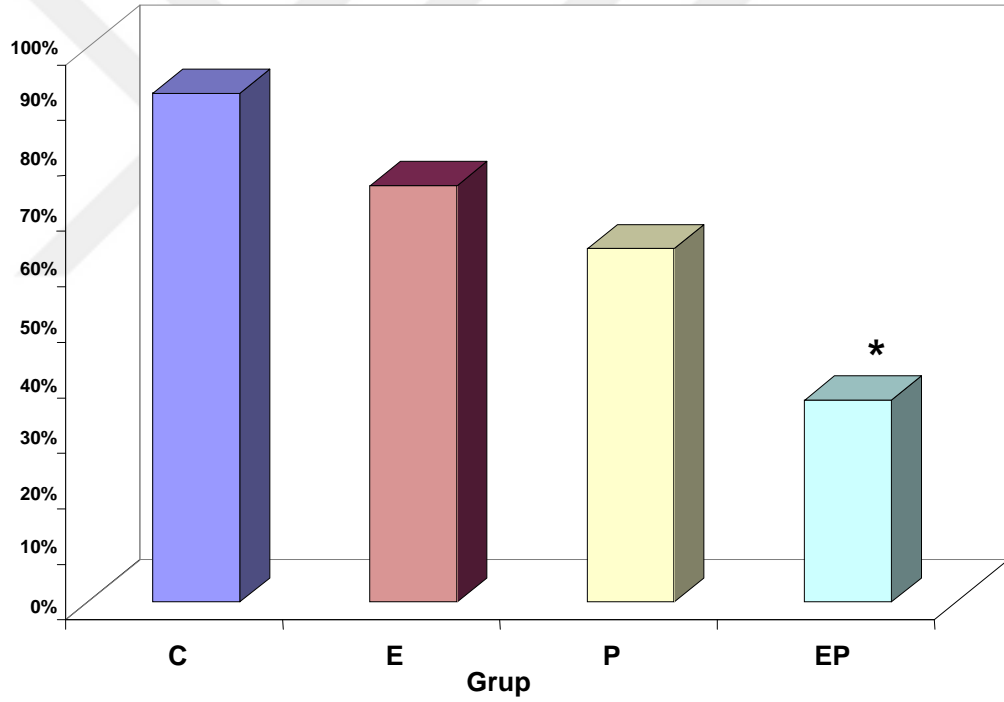
Bakteriyemi oranı Grup EP'de Grup C'ye göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,007$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 7, Şekil 20).

Tablo 7: Deneklerin Gruplara Göre Bakteriyemi Oranlarının Karşılaştırılması

Grup	Bakteriyemi (+)	Bakteriyemi (-)	p
C (n=12)	11	1	
E (n=8)	6	2	
P (n=11)	7	4	
EP (n=11)	4*	7	0,007*

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.

* $p < 0,01$: Grup C ile EP karşılaştırılması.



Şekil 20. Deneklerin Gruplara Göre Bakteriyemi Oranlarının Dağılımı

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.

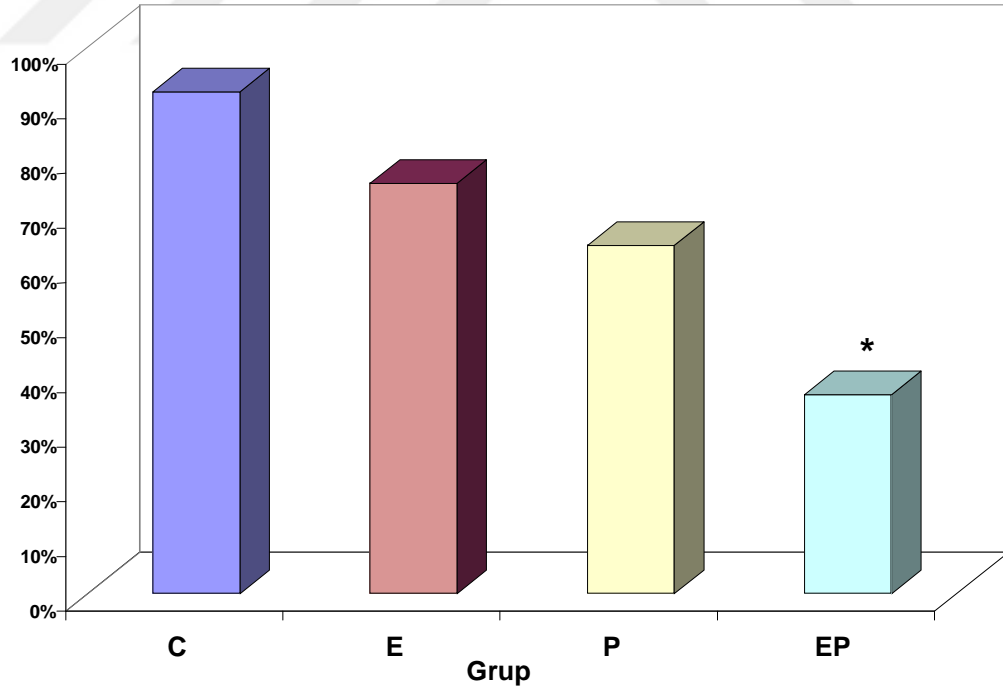
* $p < 0,01$: Grup EP ile C karşılaştırılması

Sıçanların doku ve kan kültürlerinden herhangi birinde üreme olması “üreme (+)” olarak, hiçbir kültür örneğinde üreme olmaması ise “üreme (-)” olarak kabul edildi. Grup EP’de, üreme oranı Grup C’ye göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,025$). Diğer gruplar istatistiksel olarak eşit düzeyde bulundu (Tablo 8, Şekil 21).

Tablo 8. Deneklerin Gruplara Göre Üreme Oranlarının Karşılaştırılması

Grup	Üreme (+)	Üreme (-)	p
C (n=12)	12	0	
E (n=8)	8	0	
P (n=11)	10	1	
EP (n=11)	7*	4	0.025*

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
* $p<0,05$: Grup EP ile C karşılaştırılması.



Şekil 21. Deneklerin Gruplara Göre Üreme Oranlarının Dağılımı

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
* $p<0,05$: Grup EP ile C karşılaştırılması.

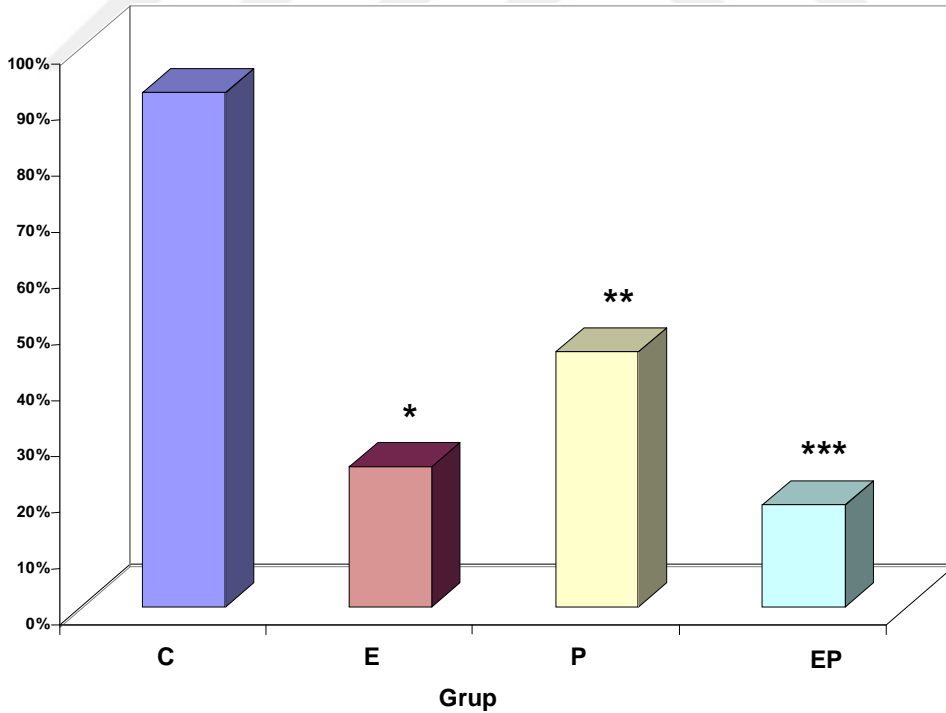
3.3. Villöz Atrofi:

İleumda villöz atrofi oranı Grup E'de (p=0,003), Grup P'de (p=0,019) ve Grup EP'de (p=0,001) Grup C'ye göre anlamlı olarak düşük bulundu. Diğer gruplar istatistiksel olarak eşit düzeyde bulundu (Tablo 9, Şekil 22-24).

Tablo 9. Deneklerin Gruplara Göre Villöz Atrofi Oranlarının Karşılaştırılması

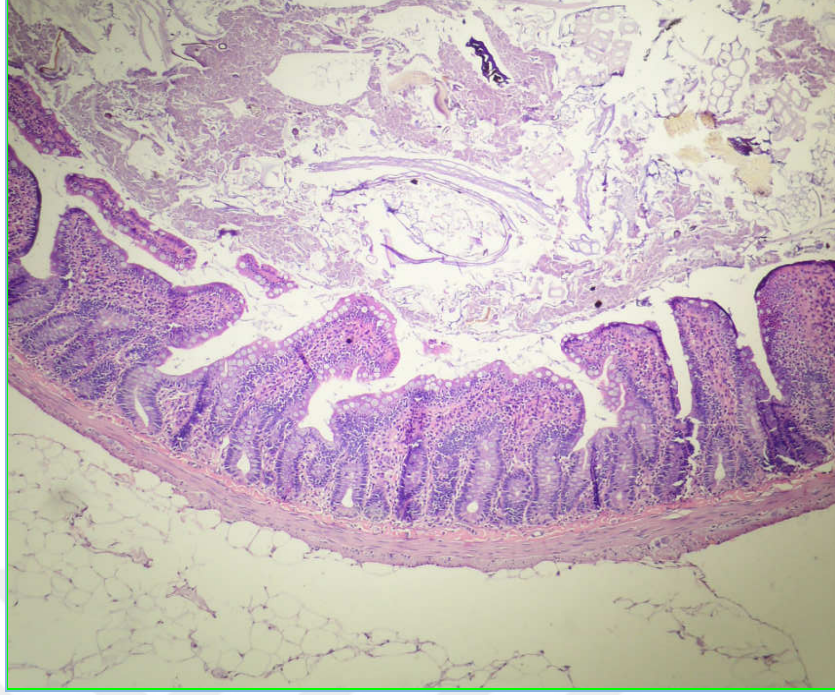
Grup	Atrofi (+)	Atrofi (-)	p
C (n=12)	11	1	
E (n=8)	2*	6	0,003
P (n=11)	5**	6	0,019
EP (n=11)	2***	9	0,001

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
*p<0,01: Grup E ile C karşılaştırılması, **p<0,05: Grup P ile C karşılaştırılması, ***p<0,01: Grup EP ile C karşılaştırılması

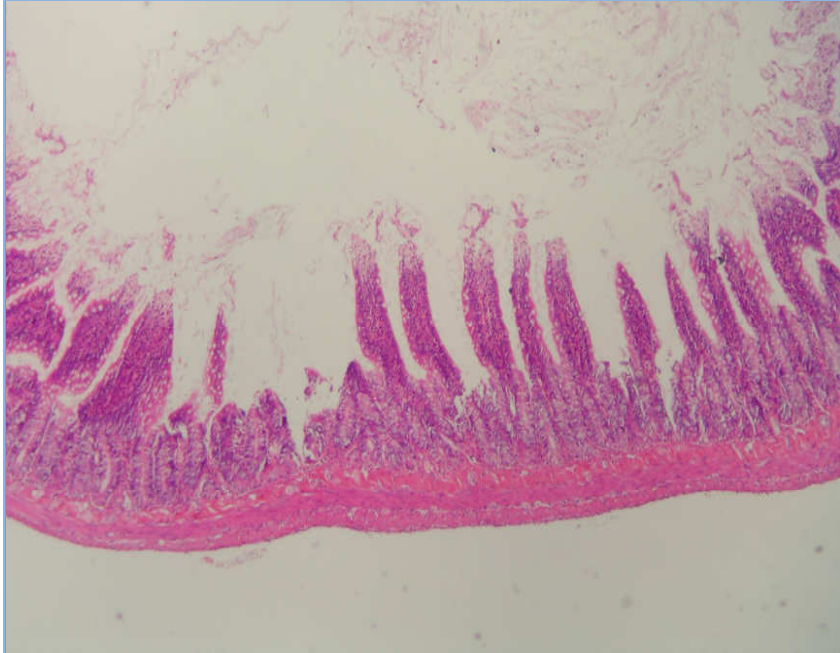


Şekil 22. Deneklerin Gruplara Göre Villöz Atrofi Oranlarının Dağılımı

C:Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
*p<0,01: Grup E ile C karşılaştırılması, **p<0,05: Grup P ile C karşılaştırılması, ***p<0,01: Grup EP ile C karşılaştırılması.



Şekil 23. İleum Mukozasında Normal Villus Yapılarının Mikroskopik Görüntüsü (H&E)



Şekil 24. İleum Mukozasında Villöz Atrofi ve Nekrozun Mikroskopik Görüntüsü (H&E)

3.4. Plazma Glutamin Konsantrasyonları:

Grup C, Grup E, Grup P ve Grup EP'nin bazal Gln değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0,05$). Deneklerin gruplara ve zamana göre Gln değerlerinin dağılımı Tablo 10 ve Şekil 25'te gösterilmiştir.

24. saatte:

- Grup C'nin Gln değerleri; Grup E'den ($p<0,001$), Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup E'nin Gln değerleri, Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup EP ile Grup P'nin Gln değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

96. saatte:

- Grup C'nin Gln değerleri; Grup E'den ($p<0,001$), Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak düşük bulundu.
- Grup E'nin Gln değerleri, Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak düşük bulundu.
- Grup EP'nin Gln değerleri, Grup P'den anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,011$).

Grup C'de: 24. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 0,15; $p<0,01$). 96. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen düşüş; bazal değerlere göre (ort. 0,23; $p<0,01$) ve 24. saatteki değerlere göre (ort. 0,38; $p<0,01$) anlamlı bulundu.

Grup E'de: 24. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 0,09; $p<0,01$). 96. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen düşüş; bazal değerlere göre (ort. 0,11; $p<0,01$) ve 24. saatteki değerlere göre (ort. 0,20; $p<0,01$) anlamlı bulundu.

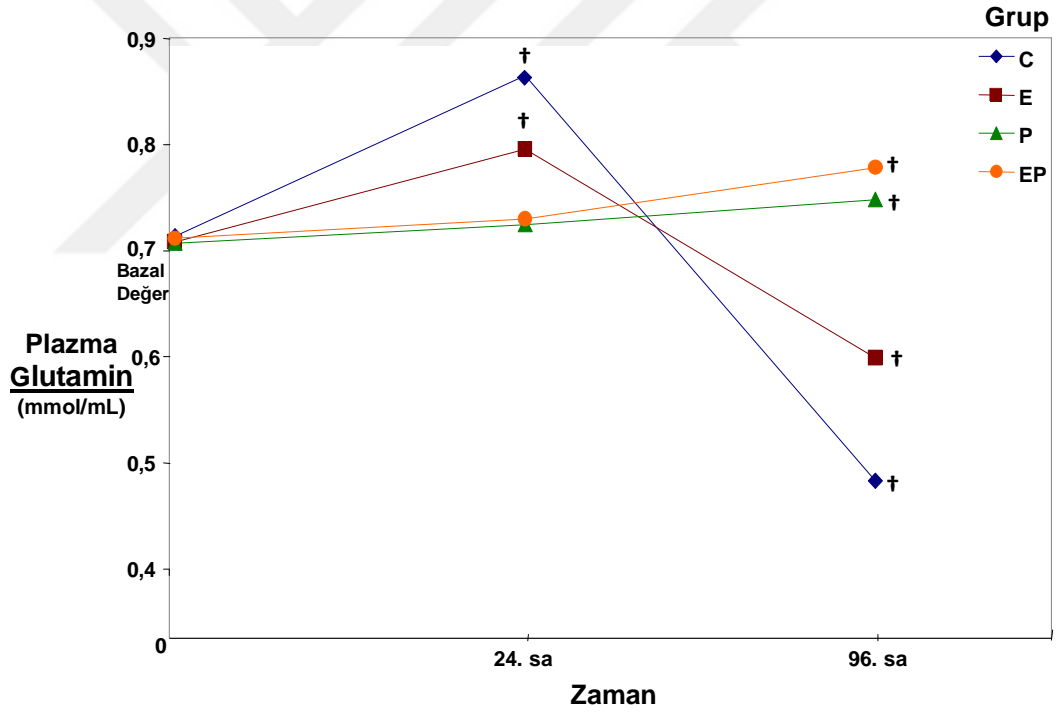
Grup P'de: 24. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 0,02; $p<0,01$). 96. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen artış; bazal değerlere göre (ort. 0,04; $p<0,01$) ve 24. saatteki değerlere göre (ort. 0,02; $p<0,01$) anlamlı bulundu.

Grup EP'de: 24. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 0,02; $p<0,01$). 96. saatteki Gln değerlerinde meydana gelen artış (ort. 0,07; $p<0,01$) bazal değerlere göre ve 24. saatteki değerlere göre (ort. 0,05; $p<0,01$) anlamlı bulundu.

Tablo 10. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Plazma Glutamin Değerlerinin Dağılımı (mmol/L)

Grup	Glutamin (Bazal Değer)		Glutamin (24. sa)		Glutamin (96. sa)	
	N	Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD
C	12	0,714 0,029	0,865* 0,037	0,483* 0,046		
E	10	0,708 0,021	0,796* 0,019	0,599* 0,010		
P	11	0,707 0,022	0,725* 0,029	0,748* 0,051		
EP	11	0,712 0,016	0,730* 0,011	0,779* 0,018		

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
* $p < 0,01$: Grupların kendi içinde farklı zaman dilimlerindeki ort. Gln değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 25. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Plazma Glutamin Değerlerinin Dağılımı.

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
† $p < 0,05$: Ort. Gln değerlerinin gruplar arasında karşılaştırmaları.

3.5. Serum TNF- α Konsantrasyonları:

Grup C, Grup E, Grup P ve Grup EP'nin bazal TNF- α değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0,05$). Deneklerin gruplara ve zamana göre TNF α düzeylerinin dağılımını Tablo 11 ve Şekil 26'da gösterilmiştir.

24. saatte:

- Grup C'nin TNF- α değerleri; Grup E'den ($p=0,015$), Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup E'nin TNF- α değerleri, Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup EP'nin TNF- α değerleri, Grup P'den anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$).

96. saatte:

- Grup C'nin TNF- α değerleri; Grup E'den ($p=0,002$), Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup E'nin TNF- α değerleri, Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup EP'nin TNF- α değerleri, Grup P'den anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0,001$).

Grup C'de: 24. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 9,61; $p<0,01$). 96. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 7,20; $p<0,01$). 96. saatte TNF- α değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 2,41; $p<0,01$).

Grup E'de: 24. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 8,33; $p<0,01$). 96. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 5,73; $p<0,01$). 96. saatte TNF- α değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 2,59; $p<0,01$).

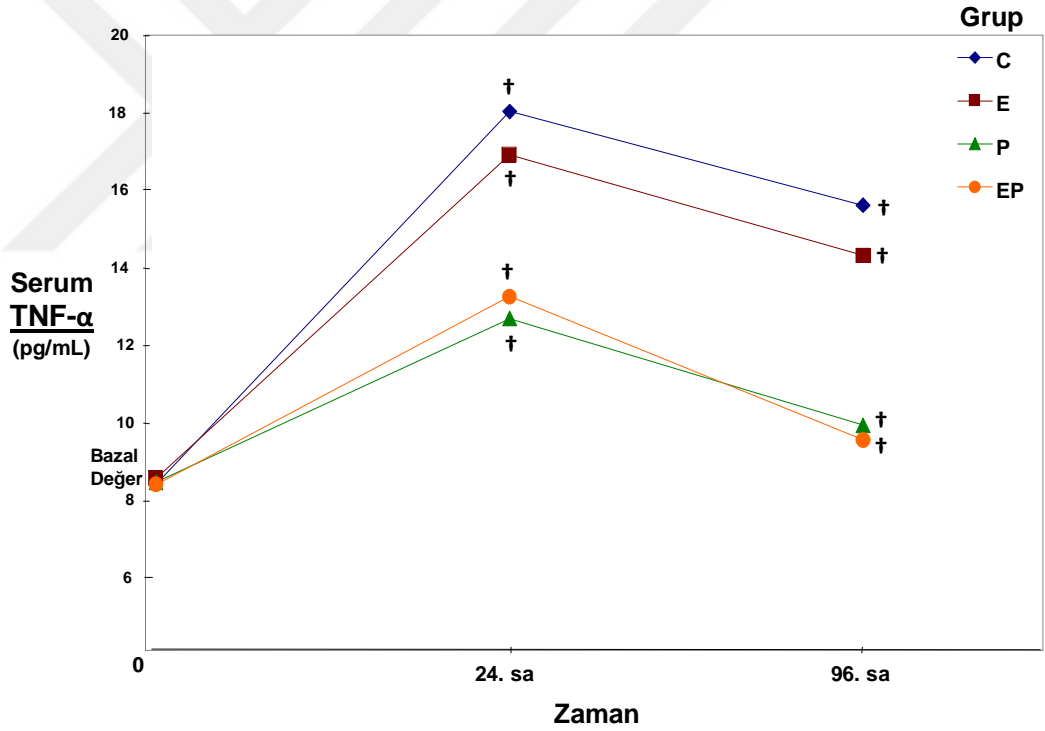
Grup P'de: 24. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 4,22; $p<0,01$). 96. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 1,47; $p<0,01$). 96. saatte TNF- α değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 2,75; $p<0,01$).

Grup EP'de: 24. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 4,85; $p<0,01$). 96. saatteki TNF- α değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 1,14; $p<0,01$). 96. saatte TNF- α değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 2,75; $p<0,01$).

Tablo 11. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum TNF- α Değerlerinin Dağılımı (pg/mL)

Grup	TNF- α (Bazal Değer)		TNF- α (24. sa)		TNF- α (96. sa)	
	N	Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD
C	12	8,43 0,35	18,04* 1,04	15,63* 0,71		
E	10	8,59 0,56	16,92* 0,97	14,32* 1,63		
P	11	8,48 0,18	12,70* 0,77	9,95* 0,39		
EP	11	8,42 0,17	13,27* 0,66	9,57* 0,37		

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
**p<0,01: Grupların kendi içinde farklı zaman dilimlerinde ort. TNF- α değerlerinin karşılaştırılması.*



Şekil 26: Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum TNF- α Değerlerinin Dağılımı.

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
†p<0,01: Ort. TNF- α değerlerinin gruplar arasında karşılaştırılmaları.

3.6. Serum IL-10 Konsantrasyonları:

Grup C, Grup E, Grup P ve Grup EP'nin bazal IL-10 değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p>0,05$). Deneklerin gruplara ve zamana göre IL-10 düzeylerinin dağılımı Tablo 12 ve Şekil 27'de gösterilmiştir.

24. saatte:

- Grup C'nin IL-10 değerleri; Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup C ile Grup E'nin IL-10 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).
- Grup E'nin IL-10 değerleri, Grup P'den ($p<0,001$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup P ile Grup EP'nin IL-10 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

96.saatte:

- Grup C'nin IL-10 değerleri; Grup P'den ($p<0,01$) ve Grup EP'den ($p<0,01$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup C ile Grup E'nin IL-10 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).
- Grup E'nin IL-10 değerleri, Grup P'den ($p<0,005$) ve Grup EP'den ($p<0,001$) anlamlı olarak yüksek bulundu.
- Grup EP'nin IL-10 değerleri, Grup P'den ($p<0,05$) anlamlı olarak düşük bulundu.

Grup C'de: 24. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 5,50; $p<0,01$). 96. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 1,67; $p<0,01$). 96. saatte IL-10 değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 3,83; $p<0,01$).

Grup E'de: 24. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 4,32; $p<0,01$). 96. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değere göre anlamlı bulundu (ort. 1,15; $p<0,01$). 96. saatte IL-10 değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 3,17; $p<0,01$).

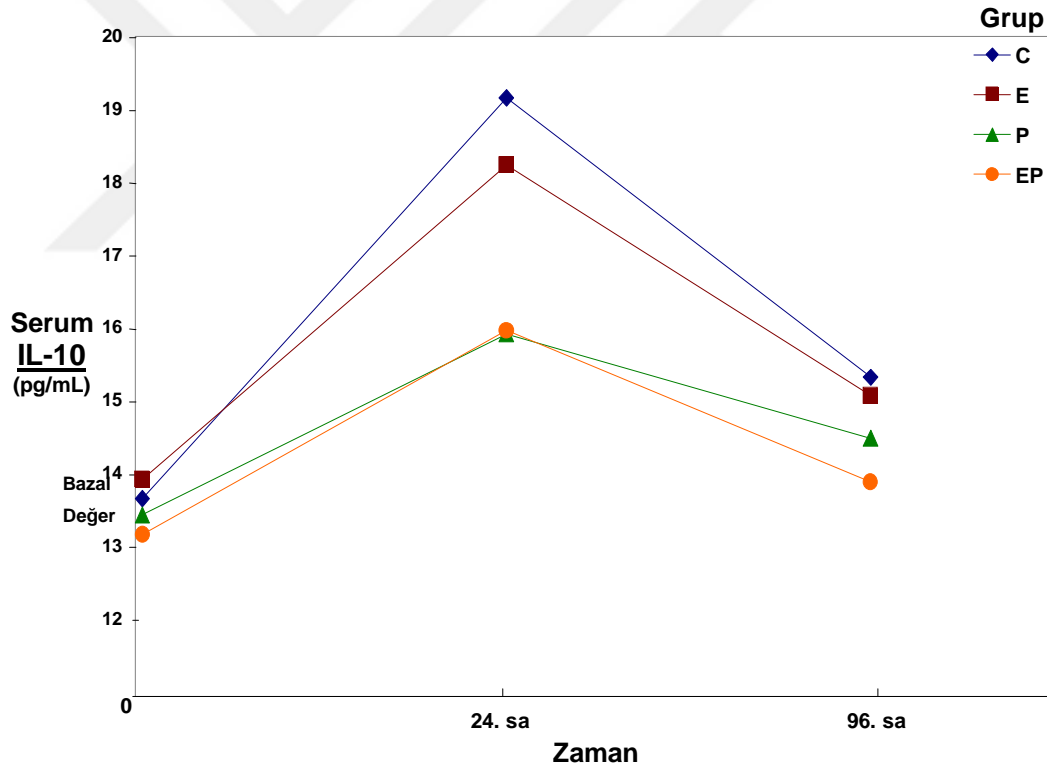
Grup P'de: 24. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 2,48; $p<0,01$). 96. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değere göre anlamlı bulundu (ort. 1,04; $p<0,01$). 96. saatte IL-10 değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 1,44; $p<0,01$).

Grup EP'de: 24. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değerlere göre anlamlı bulundu (ort. 2,80; $p<0,01$). 96. saatteki IL-10 değerlerinde meydana gelen artış, bazal değere göre anlamlı bulundu (ort. 0,72; $p<0,01$). 96. saatte IL-10 değerlerinde 24. saate göre ise anlamlı düşüş saptandı (ort. 2,08; $p<0,01$).

Tablo 12. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum IL-10 Düzeylerinin Dağılımı (pg/mL)

Grup	n	IL-10 (Bazal Değer)		IL-10 (24. sa)		IL-10 (96. sa)	
		Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD	Ort± SD		
C	12	13,67	0,85	19,17*	1,17	15,34*	0,94
E	10	13,94	0,55	18,25*	0,95	15,08*	0,45
P	11	13,45	0,63	15,93*	0,81	14,49*	0,40
EP	11	13,18	0,58	15,98*	0,43	13,90*	0,59

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup
* $p<0,01$: Grupların kendi içinde farklı zaman dilimlerinde Ort. IL-10 değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 27. Deneklerin Gruplara ve Zamana Göre Serum IL-10 Değerlerinin Dağılımı.

C: Kontrol grubu, E: Enteral Gln grubu, P: Parenteral Ala-Gln grubu, EP: Kombine grup.
24. saatte; Grup C ve Grup E'nin IL-10 değerleri, Grup P ve Grup EP'den yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Ancak, (Grup C ile Grup E) ve (Grup P ile Grup EP) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.
96. saatte; Grup C ve Grup E karşılaştırmaları dışında diğer gruplar arasında fark vardır ($p<0,05$).

3.7. TNF- α ile IL-10 Korelasyonu

TNF- α ile İL-10 değerleri arasında 24. saatte ($r=0,746$; $p<0,01$) ve 96. saatte ($r=0,591$; $p<0,01$) pozitif yönlü anlamlı korelasyon bulunmuştur. 24. ve 96. saatte TNF- α ile İL-10 değerlerinin birlikte artış gösterdiği saptanmıştır (Tablo 13).

Tablo 13. TNF- α ile İL-10 Ölçümlerinin İlişkisi

Ölçüm	Ölçüm	n	r
TNF (24. sa)	İL-10 (24. sa)	44	0,746*
TNF (96. sa)	İL-10 (96. sa)	44	0,591*

* $p<0,01$

4. TARTIŞMA

Sepsis, yıllar boyunca tıp dünyasının tedavisi güç ve mortalitesi yüksek sorunlarından biri olmuştur (22, 39, 54). Sepsisdeki hastalarda kan ve doku Gln düzeyleri düşer ve bu düşüş hastanın anabolik döneme geçişine kadar sürer. Gln, plazmada en yüksek miktarda bulunan bir non-esansiyel aminoasit olup, özellikle sepsis gibi katabolik durumlarda esansiyel hale gelmektedir (114, 115, 153, 198). Sepsiste hızlanan metabolizma; protein katabolizmasına, özellikle Gln'in yıkımına ve depolardan tüketilmesine neden olur (22, 39, 54, 199). Aynı zamanda barsakta Gln Emilimi azalırken karaciğer ve immün sistemde fazla miktarda kullanılır (16-18, 200, 201). Bu hastalarda endojen Gln üretimi, tüketiminden az olduğu için diyetle Gln verilmesi gerekmektedir (120, 154, 161). Düşük Gln düzeyleri; immün sistem disfonksiyonu, intestinal bütünlüğün bozulması ve mortalite oranının artması ile ilişkilidir (114, 202-204). Bu konu birçok klinik ve deneysel çalışma ile desteklenmiştir. (186, 205-210).

Sepsiste nutrisyon desteği olarak kullanılan Gln'in olumlu etkilerini sunmak için yapılmış deneysel ve klinik çalışmalarda asıl tartışma noktaları, Gln'in yararlı etkilerinin olup olmadığından ziyade farklı veriliş yolları arasındaki etki, doz ve maliyet farkı konusundadır. Bu amaçla Gln'in enteral veya parenteral kullanımı ile ilgili yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak bilgilerimiz dahilinde literatürde enteral ve parenteral Gln'nin kullanımı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Biz de bu çalışmamızı öncelikle, genel olarak bakıldığında sepsiste yararlı olduğu kanıtlanan, ancak yapılan çalışmalarla biyoyararlanımının düşük olduğu gösterilen, enteral Gln ile parenteral Gln'nin eş zamanlı kullanılması; aditif etki oluşturur mu ve bu kombinasyon alternatif bir yol olarak kullanılabilir mi sorularına yanıt bulmak amacıyla gerçekleştirdik. Ayrıca sepsiste enteral+parenteral kombine verilen Gln dozunun daha düşük olması ile maliyetten sağlanan kazancı göstermek ise ikinci amacımızdı.

Çalışmamızda Gln'in etkilerini yansıtmak amacıyla kan Gln, TNF- α , IL-10 konsantrasyonları ile intestinal mukoza histopatolojik incelemesi, kan ve doku kültürleri değerlendirilmiştir.

Literatürde abdominal kaynaklı enfeksiyonların en sık görülen etkeni E. coli olarak gösterilmektedir (211). Çalışmamızda, aynı bakterinin patojen suşunun ip enjeksiyonu ile intraabdominal kaynaklı sepsis modeli oluşturulmuştur. Kullanılan mikrobun virulansı deneysel modelinin en önemli özelliğini oluşturur ve bu model, canlı etkenler kullanıldığından dolayı, klinik sepsisi çok iyi taklit eder (196, 212). Bu nedenle bizim çalışmamızda da bu model tercih edilmiştir.

Feuerstein ve arkadaşları (213), sıçanda LPS vererek oluşturdukları Gram (-) sepsisinde, lökosit sayısının zamana bağlı olarak iki katı kadar arttığını, bazı hayvanlarda ise 4000 /mm³'ün altına düşerek lökopeni geliştiğini göstermişlerdir. Friedland ve arkadaşları (214) da sıçanlarda yaptıkları deneysel E. coli menenjit modelinde, lökosit sayılarının 2. saatten sonra arttığını ve bu artışın TNF- α ile birlikte olduğunu saptamışlardır. Bizim de ana çalışmamızdaki modellerde, sepsis oluşturulduğunu kanıtlamak için oluşturduğumuz ön çalışma gruplarımızdan Grup II'deki sıçanlarda, yüksek ateş ve lökositöz saptanmış olup, kan ve doku kültürlerinde üreme (% 100) tespit edilmiştir.

Gln, enterositler ve lenfositler için hem yakıt kaynağıdır, hem de trofik bir etkiye sahiptir. Gln'den zenginleştirilmiş beslenmenin ince barsak villöz atrofiyi, GI sistemde lenfoid atrofiyi önlediği, bakteriyel translokasyonu azalttığı ve immün fonksiyonları düzelttiği gösterilmiştir (22, 23, 110, 118, 128, 137, 184). Enterositler, düşük glutamin sentetaz enzim aktivitesine sahip olup daha fazla miktarda glutaminaz enzimi içerdiklerinden, hazır Gln kaynağına bağımlıdır (128-133). Windmueller ve arkadaşlarının (215) yaptığı çalışma Gln'in, enterositlerin majör enerji kaynağı olduğunu gösterirken, Newsholme ve arkadaşları (216) ise kolonositlerde de benzer etkiyi

saptamışlardır. Sepsis durumunda ise, Gln'nin intestinal tutulumu düşer, karaciğerde tutulumu 10 kat artar ve muhtemelen glukoneogenesis, ürogenesis, protein, nükleotid ve glutatyon sentezinde kullanılır (121, 217). Başoğlu ve arkadaşlarının (218) yaptığı deneysel çalışmada, glutaminin barsak mukozası üzerindeki etkileri araştırılmış ve glutamin verilen denek grubunda verilmeyenlere göre barsak mukozasında glutatyon konsantrasyonunun önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada Gln içerikli beslenmenin ince barsakları iskemi ve reperfüzyon hasarından da koruduğu gösterilmiştir.

Fujita ve arkadaşlarının (219) yapmış oldukları çalışmada; % 2'lik Gln desteğinin, endotoksemiye azalttığı, ancak ornitin dekarboksilaz seviyeleri incelenerek, mukozal rejenerasyon üzerine bir katkısı olmadığı gösterilmiştir. Apteker ve arkadaşlarının (220) yaptıkları çalışmada ise, lavman şeklinde Gln uygulanmasının makroskopik ve mikroskopik hasar skorunu ve ayrıca myeloperoksidaz aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir.

Gln'in, intestinal mukoza üzerine trofik etkilerini göstermek amacıyla yapılan çalışmalarda, enteral uygulamanın parenteral uygulamaya göre intestinal villüs nekroz ve atrofisini daha belirgin olarak azalttığı görülmektedir (95, 119, 134, 135, 167, 168). Van der Hulst ve arkadaşlarının (21) yapmış oldukları çalışmada, sağlıklı gönüllülerde standart Gln'siz parenteral beslenme ve Gln içeren parenteral beslenme sıvılarının (0.23 g/kg/gün serbest glutamin) etkilerini incelemiştir. Yaklaşık 2 hafta Gln'siz parenteral beslenme alan hastalarda, total mukoza kalınlığında, duodenum villüs yüksekliğinde önemli bir azalma ve barsak geçirgenliğinde önemli bir artış (üriner laktüloz ve mannitol yolu ile) gözlenmiştir. Gln grubunda intestinal villüs yüksekliği ve barsak geçirgenliğinde değişiklik gözlenmemiştir. Bu sonuçlar parenteral glutamin desteğinin enteral beslenmenin kesildiği sağlıklı vakalarda ve ciddi hastalarda barsak bütünlüğünü koruduğunu göstermiştir.

Literatür ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da Gln desteği verilen tüm gruplarda intestinal villüs atrofi oranları kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır (Grup C'de 12 sıçanda 11 (+), Grup E'de 8 sıçanda 2 (+), Grup P'de 11 sıçanda 5(+), Grup EP'de ise 11 sıçanda 2(+); Grup C ile Grup EP, P, E'nin karşılaştırılması, $p<0,05$). Enteral uygulamada parenteral uygulamaya göre intestinal villüs atrofi oranlarının daha fazla azaldığı görülmüş fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuç, enteral desteğin verilemeyeceği durumlarda intestinal trofik etkilerinden faydalanmak için, parenteral glutamin desteği verilebileceğini ortaya koymaktadır (21). Çalışmamızda, enteral uygulamada parenteral uygulamaya göre atrofi oranının daha az olması, barsakların enteral glutamini daha seçici olarak almasına ve Gln'in, enterositlerin direkt enerji kaynağı olmasına bağlanmıştır. Kombine grupta atrofi oranlarının enteral gruba göre daha az olması ise, parenteral destek ile sağlanan immün modülatör etkinin, bakteriyemi ve organlardaki üremeyi azaltması sonucu sepsis kaynaklı intestinal hasarın azalmasına bağlı olabilir. Ancak kombine Gln uygulanan grupta atrofi oranları enteral uygulanan gruba göre daha az olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Eğer Gln'in, sadece intestinal mukoza üzerine olan trofik etkilerinden faydalanılmak istenirse, maliyeti de göz önüne alınarak enteral uygulanmasının en iyi yol olacağı tartışmalıdır. Ancak daha önce de belirttiğimiz gibi sepsiste immünmodülatör etkinin önemi kaçınılmaz bir gerçektir.

Barsak bariyerinin devamı, çeşitli savunma mekanizmalarının komplike etkileşimini gerektirir (119, 128-130). İntestinal bariyer bozulduğu zaman, bakteriyel translokasyon gerçekleşir (203). Literatürde, Gln desteği ile bakteriyel translokasyon arasındaki ilişkiye dair birçok çalışma bulunmaktadır. Kritik hastalarda Gln'den fakir beslenme ile barsaklarda belirgin villöz atrofi oluşur, gastrointestinal kanalın patojenlere geçirgenliği artar, bakteri ve toksinlerin translokasyonu olur. Bakteri translokasyonu da sitokin bombardımanını başlatır. Böylece multipl organ yetmezliği oluşur (110, 119, 128, 129, 139, 141, 160). Gln katkılı beslenme ise; villus atrofisini,

mezenter lenf nodlarında pozitif kültür sayısını ve bakteriyemi sıklığını azaltmakta, pozitif nitrojen dengesini sağlamakta, immün sistemi desteklemekte ve mortaliteyi düşürmektedir (21, 130, 148, 150, 167, 219).

Çalışmamızda, sıçanların hiçbirinde bakteriyel translokasyon tespit edilmemesinin sebebinin, sıçanların 96 sa süreli takip edilmesine bağlı olduğunu düşünüyoruz. Eğer deneyimizin süresini daha uzun tutsaydık, yapılan araştırmalardan ve mevcut verilerimizden yola çıkarak bakteriyel translokasyonun tespit edilebileceği ve Gln desteği verilen gruplarda bakteriyel translokasyon oranlarının daha az olabileceği inancındayız. Çalışmamızda intestinal mukoza trofik etkileri ile plazma Gln düzeyinin en yüksek saptandığı grup kombine grubumuzdur. Bu nedenle de, kombine grupta bakteriyel translokasyonun en az olacağı kanısındayız.

Bazı kontrollü çalışmalar ve vaka serilerinde, TPN ile beslenen vakalarda, intestinal adaptasyonun gerçekleşmesinde Gln'in faydalı olduğu ve immün fonksiyondaki rolü nedeni ile bakteriyemi ile sepsis insidansında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (220-222). Buna karşın, akkiz enfeksiyon gelişmesinde Gln'in etkisini araştıran Griffiths ve arkadaşlarının (222) çalışmasında, TPN ile birlikte Gln verilmesinin, akkiz enfeksiyon gelişmesini önlemediği, fakat ölüm riskini azalttığı bildirilmiştir.

Houdijk ve arkadaşlarının (223), 72 multipl travmalı hastayı dahil ederek yaptığı çalışmada, standart enteral beslenmeye Gln eklenmesiyle; bakteriyemi, pnömoni ve sepsis, 5. günde Gln grubunda (n=29) kontrol grubuna (n=31) göre belirgin olarak daha az görülmüştür.

Gln'in lökosit-makrofaj fonksiyonunda modülatör etkisi ve buna bağlı olarak da dolaşan bakteri sayısını ve klinik enfeksiyon oranını azalttığı ortaya konmuştur (224). Ogle ve arkadaşlarının (164) yaptığı çalışmada; cerrahi, yanık ve travma sonrası, nötrofillerin bakteri öldürme kapasitesinin azaldığı ve yanık vakalarında Gln desteğinin, nötrofillerin bakteri öldürme kapasitesini

invitro olarak arttırdığı bildirilmiştir. Furakawa ve arkadaşlarının (149) yaptığı başka bir çalışmada invitro olarak cerrahi vakalarından, postoperatif 1. gününde alınan nötrofillerin ortamına konan Gln miktarı 0.5 mmol/L'den 1 mmol/L'ye çıkartıldığında, E. coli miktarının % 26 azaldığını saptamışlardır. Aynı çalışmada, Gln desteğinin arttırılması ile özellikle plazma Gln düzeyi düşük olan vakaların nötrofillerinin E.Coli öldürme aktiviteleri artmıştır.

Yapılan çalışmalar göstermektedir ki Gln içeren diyetle; hayvanlarda kilo kaybı, mezenterik lenf nodlarında pozitif bakteri kültür sayısı, bakteriyemi ve endotoksemi azalmakta, pozitif nitrojen dengesi oluşmakta ve mortalite düşmektedir (21, 148, 167). Foitzik ve ark. (225) deneysel pankreatit oluşturdukları bir çalışmada, parenteral beslenme ile Gln verilmesinin (0.5 g/kg/gün) pankreas enfeksiyon oranını % 86'dan % 33'e düşürdüğünü saptamışlardır. Ziegler ve ark. (176) allogenic kemik iliği transplant vakalarında, 45 katabolik hastada Gln destekli parenteral beslenmenin klinik ve metabolik etkilerini randomize, çift kör kontrollü bir çalışmada incelemişlerdir. Gln grubu 0.57 g kg⁻¹ gün⁻¹ L-Gln almıştır. Gln içeren parenteral beslenme grubunda, standart parenteral beslenme grubuna göre klinik enfeksiyon (3/24, 9/ 21 hasta p =0.041), pozitif boğaz kültürü (13/24, 18/21 hasta: p=0.028) ve pozitif dışkı kültürü (10/24, 16/21 p=0.034) oranları ile transplant sonrası hastanede kalma süresinde (29±1, 36±2 gün p=0.017) azalma bildirmişlerdir.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında kan ve doku kültürlerinde üremeyi azaltıcı etkinin parenteral Gln uygulamalarında daha belirgin olduğu belirtilmekle beraber, bu etki açısından enteral ve parenteral uygulama ile kombine kullanımı karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. Ancak parenteral Gln uygulamasının kan glutamin düzeyini dakikalar içinde yükselttiği göz önüne alınırsa, Gln'in endotoksemiye yanıtında parenteral destekte bu etkinin daha fazla olması olasıdır (226, 117). Bizim çalışmamızda, Gln desteği ile kan ve doku kültürlerinde üreme oranlarında azalma tespit edilmiş ve bu sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmuştur. Kombine grupta kontrol grubuna

göre kan ve doku kültürü üreme sonuçları anlamlı derecede düşüktür (Grup EP-C karşılaştırılması) ancak diğer gruplarda kontrol grubuna göre bu oranların daha fazla düşmesine rağmen, gruplar arası yapılan istatistiksel karşılaştırmada anlamlı fark tespit edilmemiştir. Her ne kadar barsak yüzey alanını, enteral yolla verilen Gln daha iyi korusa da, bakteriyemi oranı enteral grupta daha fazla çıkmıştır. Bu sonucun sistemik etkinin enteral uygulamada daha az olmasından kaynaklandığını düşünüyoruz. Kombine uygulanan grupta ise daha belirgin bir azalma tespit edilmiş ve bu azalma kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlardan hareketle, Gln'in immün modülatör etkisinin en fazla enteral ve parenteral olarak kombine yolla Gln verilen grupta olduğu ve bu etkisi ile kan ve doku kültürlerinde üremeyi belirgin olarak azalttığını belirtebiliriz. Kombine Gln uygulanmasında immün modülatör etkinin parenteral uygulamaya göre daha fazla olmasının, enteral Gln desteğinin sitokin bombardımanını önlemesine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Gln desteğinin, özellikle de kombine Gln verilmesinin, immün modülatör etki ile dolaşan bakteri sayısını azaltması sonucu, sepsisin spesifik tedavisinde kullanılan antibakteriyel tedavi maliyetlerini de azaltabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bu düşüncemizin, bu yöndeki çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

Sepsis, Gln'in hem tüketiminde, hem de üretiminde belirgin artışlara neden olduğu halde, doku gereksinimleri vücudun Gln üretme becerisini geride bırakır ve zamanla doku ve plazma seviyeleri düşer (114, 115, 153, 154, 227). Düşük plazma seviyesi, kritik hastalarda kötü sonuçlarla bağlantılıdır (204). Gln desteğinin, plazma ve doku Gln seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (13, 228).

Sepsiste, ilk metabolik cevap olarak; iskelet kasının Gln depolarını tüketinceye kadar Gln'i plazmaya saldı ve akciğerden de Gln salınımının arttığı tespit edilmiştir (160, 229, 230). Austgen ve arkadaşları da (231)

barsaklardan Gln alımının azaldığını, karaciğerden ise arttığını göstermişlerdir. Yine sepsiste, bağışıklık sisteminin büyük bir Gln tüketicisi haline geldiği Newsholme ve arkadaşları (224) tarafından da belirtilmiştir.

Peng ve arkadaşlarının (232) yaptıkları çalışmada, yanık sonrası plazma Gln seviyeleri düşen hastalara enteral Gln verilmesinden 14 gün sonra sağlıklı kontrol grubuyla (Grup C) karşılaştırıldıklarında Gln'in aynı seviyelere çıktığını ama plasebo grubunda (n=23) (Grup B) bu gelişmenin gözlenmediği gösterilmiştir. Aynı çalışmada, yanık sonrası hücresel immünitinin ağır bir şekilde baskılandığı ama Gln verilmesinden 14 gün sonra bunun düzeldiği gösterilmiştir (LTR [Lenfosit değişim oranı, cpm x 10]: 2.28'den 3.26'ya, NPI (nötrofil fagositoz indexi, % 23'den 32'ye, CD4+/CD8+ : 1.33'den 1.56'ya, IL-2 (mg/L): 4.65'den 6.79'a. p < 0.01). Yine aynı çalışmada Gln grubunun hastane yatış sürelerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (Grup B: ~ 55.68 gün, Grup Gln: ~ 46.59 gün. p < 0.05).

Literatürde invivo olarak, Gln ve LPS'nin beraber enjeksiyonu sonucu vücut enerji miktarında artma, termoregülasyon ve klinik durumlarda iyileşme kanıtlanmıştır (233). Sepsiste, Gln plazma konsantrasyonlarının zaman içindeki değişimlerine dair net bir bilgi bulunmamaktadır. Robin ve arkadaşlarının (117) yaptıkları çalışmada, endotokseminin erken döneminde (2. sa) plazma Gln konsantrasyonları azalırken, 6. saatte Gln verilmeyen grupta bazal seviyelere yaklaştığı, Gln verilen grupta ise bazal seviyeleri aştığı tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada, 6 saatlik kan Gln düzeyleri çalışıldığı için sonraki zaman dilimlerindeki düzeyleri hakkında bir veri ortaya konulamamıştır.

Bizim çalışmamızda ise, plazma Gln düzeylerine 24. ve 96. saatte bakıldığı için ilk 24 saate kadar olan seyri için verilerimiz bulunmamaktadır. Kontrol grubunda, 24. saatte plazma Gln düzeylerinin bazal değerlere göre arttığı tespit edilmiştir. 24. saatteki bu artışın, sepsis sonucu, iskelet kaslarından Gln deşarjına bağlı olduğunu düşünmekteyiz (160). Yine bu

grupta 96. saatte ise plazma Gln düzeylerinin belirgin olarak azaldığı ve bazal değerlerin çok altına düştüğü görülmektedir. 96. saatte ölçülen glutamin düzeylerinin 24. saatteki değerlere göre daha düşük olması ise, sepsiste artan Gln ihtiyacının organizma tarafından karşılanamadığını göstermiştir. Enteral olarak uygulanan glutaminin büyük bölümü muhtemelen splanknik alanda metabolize olmuştur. Enteral uygulamaya daha düşük bir plazma glutamin cevabı, bunu açıklayabilir (234-236). Literatürdeki çalışmalar, enteral olarak verilen glutaminin splanknik alanda kullanılan miktarının %50–70'i kadar olduğunu göstermektedir (237).

24. ve 96. saat plazma Gln düzeylerindeki artış ve azalmalar, hem bazal değerlere göre hem de kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 96. saatte bazal değere göre enteral ve parenteral grubunda Gln değerlerindeki bu azalma sepsiste artan Gln ihtiyacının yetersiz karşılanmasından kaynaklanmaktadır (154). Kontrol grubundan elde ettiğimiz sonuç, sepsiste artan ihtiyacın karşılanabilmesi için Gln desteğine gereksinim olduğudur. Asıl sorun; bu desteğin hangi yolla yapıldığında daha etkili olduğunun saptanmasıdır. Bu sorunun açıklığa kavuşturulması için çalışmamızda enteral, parenteral ve eş zamanlı olarak enteral+parenteral Gln desteği verilmiştir.

Tüm gruplarda elde edilen bazal Gln değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (Plazma Gln, bazal değer, mmol/L; Grup C:0.714, Grup E:0.708, Grup P:0.707, Grup EP:0.712). 24. sa Gln düzeyleri incelendiğinde, enteral grupta en fazla olmak üzere bazal değerlere göre Gln düzeylerinin belirgin olarak artış gösterdiği, ancak bu artışların kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edildi (24. sa plazma Gln, mmol/L; Grup C:0.865, Grup E:0.796, Grup P:0.725, Grup EP:0.730). 24. saatte enteral grupta Gln düzeyleri parenteral ve kombine gruba göre anlamlı düzeyde yüksek, kontrol grubuna göre ise anlamlı düzeyde düşük bulundu. Bu sonuçlar; enteral verilen Gln'in plazma Gln konsantrasyonuna olan etkisi daha geç dönemlerde ortaya çıkacağı için kas dokusundan olan Gln deşarjını

tam olarak engelleyemediği şekilde yorumlanabilir. 24. saatte parenteral ve kombine grupta, plazma Gln düzeyleri kontrol ve enteral gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulundu. Bu sonuç, parenteral yolla verilen Gln'in plazma seviyesinin hızlı yükselmesine ve kas dokusundan Gln deşarjını engellenmesine bağlandı. Kombine uygulanan grup ile parenteral uygulanan gruplar arasında 24. saat plazma glutamin düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmedi.

Çalışmamızda 96. saat plazma Gln düzeyleri incelendiğinde kombine uygulanan gruptaki Gln düzeyleri tüm gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (96. sa plazma Gln, mmol/L; Grup C:0.483, Grup E:0.599, Grup P:0.748, Grup EP:0.779).. Parenteral gruba göre anlamlı düzeyde yüksek bulunması, enteral Gln'in de plazma Gln konsantrasyonuna zamanla katkı sağlamasına bağlandı. Enteral grubundaki plazma Gln konsantrasyonlarındaki düşüşü ise şu şekilde de açıklayabiliriz: Enteral olarak verilen Gln, splanknik alandaki metabolizması ile glutamat ve sitrulinine dönüşür. Gerdien ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (226), glutamat, parenteral uygulama yoluyla değil, enteral uygulama ile artmıştır. Barsak mukozasının paraselüler geçirgenliğini azaltmak için Gln'in glutamata deaminasyonu gerektiğinden, plazma glutamat konsantrasyonundaki bu artış, enteral olarak verilen Gln'in bağırsak bütünlüğüne yararlı etkisine katkıda bulunabilir ancak yeterli kan Gln konsantrasyonlarına ulaşması için yapılan yayınlarda da belirtildiği gibi daha yüksek doz uygulanması gerekmektedir (21, 226, 238).

Tüm gruplardaki Gln düzeylerinin, bazal değer, 24. saat ve 96. saatteki artış ve azalışları grup içlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu. Menghua Luo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (239), parenteral Ala-Gln desteğinin kritik hastalarda enteral desteğe göre plazma Gln konsantrasyonunu daha fazla arttırdığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da parenteral grupta benzer sonuçlar elde edilmesine rağmen, plazma Gln

düzelelerini optimum konsantrasyonda tutabilmek için en etkili yolun enteral ve parenteral Gln'in eş zamanlı verilmesi gerektiği tespit edildi.

Ayrıca, L Gln'in veya dipeptidin, durumu ciddi olan hastalarda güvenli şekilde tolere edilen ve plazma seviyelerini düzenlediği görülen 10–30 g Gln/gün doz aralığında zararlı etkilerini gösteren çalışma yoktur (240).

Çalışmamızda, Gln'in immunolojik parametreler üzerine etkilerini gösterebilmek için sepsis sürecinde aşırı salınımının kötü gidişten sorumlu en önemli faktör olan proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ile antiinflamatuvar etki ile kritik öneme sahip olan IL-10 düzeylerine bakılmıştır (77, 241, 242). Sepsiste, sitokinler son derece karmaşık bir davranış sergilemektedirler. TNF- α , sepsisin patogeneğinde birincil sitokindir ve mikroorganizmalara karşı immün cevapta kritik öneme sahiptir (73). T lenfositler optimal büyüme ve fonksiyon için Gln'e ihtiyaç duyarlar ve kritik hastalarda Gln eksikliği T hücre baskılanmasına neden olur (243). Ayrıca Gln, strese bağımlı ısı şok proteinlerinin (HSP-70, HSP-72) ekspresyonunu ile denatüre ve hasarlı proteinlerin onarılmasını, nükleer faktör κ B (NF- κ B) sinyal iletim aktivitesini baskılayıp nötrofil infiltrasyonunu ve sitokin oluşumunu azaltır (205, 208, 210, 244, 206).

TNF- α 'nin septik şok veya endotoksemide esas rol oynayan mediatör olduğuna ilişkin görüşler, deney hayvanlarında ve insanlarda gerçekleştirilen bir dizi araştırmaların sonuçlarına dayanmaktadır. Sağlıklı bireylerde endotoksin enjeksiyonundan sonra 60–90 dak içinde TNF α düzeylerinde artış saptanır (245). Düşük konsantrasyonlarda yararlı etkilere, yüksek konsantrasyonlarda ise ölümcül etkilere sebep olabilmektedir (72). TNF- α 'nin etkileri endotoksik şokta gelişen doku yıkımı ve metabolik bozuklukları taklit eder. İnsanlarda septik şokta dolaşımdaki TNF- α konsantrasyonu yüksektir ve TNF- α düzeyiyle yaşam oranı arasında ters bir ilişki vardır (245). Casey ve arkadaşları (246) sepsisli hastalarda proinflamatuvar sitokin olan TNF- α

yüksekliğinin klinik gidişin göstergesi olarak kullanılabileceği ve seri ölçümlerin yararlı olabileceğini göstermiştir.

IL-10 ise konakçının, sepsiste organ yetmezliği ve ölümden korunmasında kritik bir rol oynar ve immüno-regülatuar sitokinler arasındaki dengede en önemli antiinflamatuar sitokindir (76, 242). IL-10 antiinflamatuar etkisini TNF- α , IL-1 β , IL-8, IF- γ , IL-6 ve PG metabolitleri gibi inflamasyon mediatörlerini inhibe ederek gösterir (242).

Oliveira ve arkadaşları (247) deneysel abdominal sepsis modelinde parenteral Gln'in akciğer ve distal organ hasarını azaltması ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, bronkoalveolar lavaj ve periton sıvısında IL-10 düzeylerinin arttığını belirtmişlerdir. Ancak bu çalışmada plazma Gln düzeyleri çalışılmadığı için bu artışın Gln desteğine mi bağlı yoksa sepsisin indüklediği bir artış mı olduğunu belirtmek olanaksızdır. Robin ve arkadaşlarının (117) yaptığı çalışmada ise parenteral Gln desteğinin sepsiste endotokseminin tetiklediği ve 2. ve 6. saatte bakılan TNF α ve IL 10 artışını baskıladığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da Gln desteği ile TNF α ve IL 10 artışının azaldığı ortaya konulmuştur. Ancak biz sitokin düzeylerini 24. ve 96. saatte inceledik. Robin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (117), 2. ve 6. saatte ölçülen sitokin düzeyleri bazal değerlere göre çok yüksek ölçülürken, bizim 24. ve 96. saat sitokin düzeylerimiz bazal değerlerin 2 - 3 katı üzerinde bulunmuştur. Sitokinlerin ilk 24 saatlik süredeki seyri konusunda net bilgiler bulunmadığından, bu seyrin ortaya konulabilmesi için daha sık aralıklarla kan düzeylerinin ölçülmesine ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda Gln desteği verilen tüm gruplarda sitokin artışlarının suprese olduğu görülmekle birlikte bu etkinin en fazla kombine grupta olduğu tespit edildi.

TNF- α düzeyleri incelendiğinde; bazal değerlerin tüm gruplarda eşit olduğu ve 24. saatte arttığı 96. saatte azaldığı, fakat bazal düzeyin altına

inmediği tespit edildi. 24. saat TNF α düzeyleri; kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Bu durum Gln desteğinin immün modölatör etkisine bağlandı. Enteral grubun 24. saatteki TNF α düzeyleri parenteral ve kombine gruba göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Bu durum, Robin ve arkadaşlarının (117) yaptığı çalışma ile desteklendiği üzere parenteral verilen Gln'in plazma düzeylerine dakikalar içinde etki ederek, Gln'in endotoksemiye erken dönemdeki yanıtına bağlı olduğu düşöldü. 24. saat parenteral grup TNF α düzeyi kombine gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulundu. Bu sonuç ise parenteral grupta verilen Gln miktarının daha yüksek olması ile açıklandı.

Özetle 24. saat TNF α düzeyleri üzerine olan supresyon etkisi en belirgin olarak parenteral grupta tespit edilmiştir. Bu durum kan Gln konsantrasyonunun erken dönemde yeterli miktarda sağlanması ile Gln'in endotoksemiye olan erken yanıtının en etkili olacağı şeklinde yorumlandı.

96. saat TNF- α düzeyleri de; kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Enteral grubun 96. saat TNF- α düzeyi ise parenteral ve kombine gruba göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (serum TNF- α , 24. ve 96. sa; Grup EP ve P'de < Grup E ve C, $p < 0,05$). Bu sonuç Gerdien ve arkadaşlarının (226) yaptıkları araştırma ile uyumlu olarak enteral grupta kan Gln düzeylerinin yeterli konsantrasyonda tutulamamasına bağlandı. Kombine gruptaki 96. saat TNF α düzeyi ise parenteral gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulundu. Bu durum kan Gln konsantrasyonunun 96. saatte parenteral gruba göre daha yüksek olmasına bağlandı. Özetle 96. saat TNF α düzeyleri üzerine olan supresyon etkisi en belirgin olarak kombine grupta izlenmiştir. Bu durum, sepsiste zamanla kan Gln konsantrasyonu arttıkça TNF α üzerine olan supresyon etkisinin arttığını göstermektedir. Tüm gruplardaki, bazal değer, 24. saat ve 96. saat TNF α düzeylerindeki artış ve düşüşleri grup içi karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sepsiste antiinflamatuvar sitokinlerin serum düzeyleri aynı paralelde proinflamatuvar mediatörlerle birarada artar. Bundan dolayı antiinflamasyon, hiperinflamasyon süreci ile gelişmesini aynı zamanda gösterir. Her ne kadar yüksek düzeydeki antiinflamatuvar mediatörlerin varlığı, bu hastaların mortalitesi ile birarada olsa da hiperinflamasyon ve hipoinflamasyon arasındaki sıklık değişiminin klinik rolü henüz net açıklanmamıştır (248). Bizim çalışmamızda, IL-10 düzeyleri incelendiğinde ise; TNF- α ile benzerlik gösterdiği, aralarında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür (24. sa; $r=0,746$, $p<0,01$ ve 96. sa; $r=0,591$, $p<0,01$). Ayrıca Steinhauser ve arkadaşları (9) tarafından IL-10'un bakteriyel temizliği de sağladığı belirtilmiştir.

Çalışmamızda, enteral ve kombine grupların serum IL-10 düzeyleri 24. ve 96 saatlerde değerlendirildiğinde kontrol grubu ile enteral grupların değerlerinden daha düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Enteral ve kontrol grubunun, 24. ve 96. saat IL-10 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bu sonuç enteral uygulamanın IL-10 üzerine olan immün supresyon etkisinin yetersiz olduğunu göstermektedir.

Ertel ve arkadaşlarının (249) yaptığı deneysel çalışmada, sepsiste, vücudun doku nekrozu ve multipl organ yetmezliğini geciktirmek için kompanzasyon mekanizması ile inflamasyonu azaltmaya çalıştığı ve bunu da IL 6 ve TNF- α kan düzeylerini düşük tutarak sağladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada 24. saat TNF- α düzeylerinin sepsis grubunda bazal değerlerin altına düştüğü görülmektedir. Karaca ve arkadaşlarının (250) yaptıkları deneysel sepsis modelinde de benzer sonuçlar ortaya konulmuştur. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda sitokinlerin azalma eğiliminde olduğu görülmektedir. Ancak 24. saat TNF- α düzeylerinin bazal değerlerin 2 - 3 katı üzerinde olduğu, 96. sa TNF- α düzeylerinin ise azalma göstermekle birlikte bazal değerlerin altına inmediği görülmektedir. Bizim çalışmamızdaki bu farklılık, mikroorganizmanın virulansına ve konakçı yanıtının değişkenliğine bağlı olabilir. Sepsiste sitokin düzeylerinin düşük tutulması ile sağlanan bu kompanzasyon mekanizması, Gln desteği ile özellikle de kombine Gln

desteği ile daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Bir başka ifade ile, Gln desteği sepsiste organizmanın kendini korumak için ortaya koyduğu bu kompanzasyon mekanizmasına önemli ölçüde katkı sağlamaktadır.

Bu çalışmamızda eğer ilk 24 saatlik dönemde kan glutamin ve sitokin düzeyleri daha sık periyotlarda ölçülebilseydi, sepsiste kan Gln konsantrasyonlarının sitokin düzeyleri üzerine olan etkilerini ortaya koyacak daha net bulgular elde edilebilirdi. Bu amaçla yapılacak deneysel çalışmalar ile sepsiste immün yanıtın karmaşık seyrinin daha iyi aydınlatılabileceği kanaatindeyiz.

Şu an yazım aşamasında olan parenteral nutrisyona Gln ve/veya selenyum ilave edilerek 500 kritik hastayı içeren geniş çaplı çok merkezli SIGNET çalışmasından elde edilen sonuçlar ile enteral ve/veya parenteral nutriyona Gln ve/veya antioksidan ilave edilen 1200 kritik hastada yapılan REDOX (REducing Deaths from OXidative Stress) çalışmasının sonuçları ilgiyle beklenmektedir (251, 252).

Katabolizmanın hızlandığı vakalarda Gln destekli parenteral beslenme sıvılarının maliyet etkinlik analizinin de önemi bazı çalışmalarda vurgulanmıştır (180, 253). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki kemik iliği nakli yapılan vakalarda, Gln destekli parenteral beslenme 10687 USD maddi kazanç sağlamıştır. Yoğun bakım hastalarında Gln desteğinin yatış süresini 5-7 gün azalttığı ve hastanede yatış maliyetini %15 (6373 USD /hasta) düşürdüğü bulunmuştur (137, 254). Cerrahi vakalarında ise glutamin destekli parenteral beslenme vaka başına 3000 USD kazanç sağlamıştır (254).

Gln'in hastane yatış sürelerini ve maliyetleri düşürdüğü yapılan araştırmalarla vurgulanmıştır. Zhou ve arkadaşlarının (255) çalışmasında da şiddetli yanık sonrası enteral Gln kullanılmasıyla 30. günde; plazma Gln seviyelerinin desteklendiği, bağırsak geçirgenliğinin düzeldiği, başlangıç plazma endotoksin seviyelerinin düştüğü gözlenmiş ve bu değişiklikler; kilo

kaybında (Kontrol:-17.4 kg, Gln:-12.1 kg) ,hastane yatış süresinde (Kontrol: 73 gün, Gln: 67 gün), maaliyette düşüş (Kontrol:8343 USD, Gln: 7593 USD), yara iyileşmesinde hızlanma (Kontrol: %72, Gln: %86) ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız dozlar ile erişkin hastada (70 kg) şu anki eczane satış ücretleri üzerinden (Resourch glutamine®, toz, 20x5 g, Nestle: 95.95 TL; Dipeptiven®, %20'lik L Ala-L Gln, 20 g [13,46 g L Gln]/100 mL iv solüsyon, Fresenius Kabi: 56.38 TL .[25.02.2010]) 7 günlük maliyet analizi yapıldığında;

- 0,5 g kg⁻¹ gün⁻¹ Gln enteral desteği, 245 g 70 kg⁻¹ 7 gün⁻¹, 7 günlük maliyeti ise: 235.08 TL.
- 0.4 g kg gün⁻¹ Ala-Gln (=0,27 g kg⁻¹ gün⁻¹ Gln) parenteral desteği, 196 g 70 kg⁻¹ 7 gün⁻¹, 7 günlük maliyeti: 552.52 TL.
- Parenteral 0.3 g kg⁻¹ gün⁻¹ Ala-Gln (=0,2 g kg⁻¹ gün⁻¹ Gln) ve enteral 0.3 g kg⁻¹ gün⁻¹ Gln verilen kombine Gln desteği, 147 g 70 kg⁻¹ 7 gün⁻¹ enteral + 147 g 70 kg⁻¹ 7 gün⁻¹ parenteral, 7 günlük maliyeti: 555.44 TL.

Yukarıda görüldüğü gibi düşük dozda eş zamanlı kullanım ile 7 günlük tedavide 1 hastadan parenteral kullanım maliyeti 555.44 TL dir. Parenetral Gln'in enteral Gln'e göre birçok üstünlüğü olmasına rağmen parenteral Gln desteğinden kaçınılmasının en önemli nedenlerinden biri maaliyetin yüksek olmasıdır. Enteral yolla Gln desteği sağlanması maliyeti parenteral uygulama kadar arttırmamaktadır ancak bu yolla plazma Gln düzeylerini optimum düzeylere getirmek güçtür (256). Her ne kadar eş zamanlı uygulama maliyeti, enteral kullanıma göre fazla, parenteral uygulama maliyeti ile hemen hemen eşit olsa da yukarıda belirttiğimiz biyolojik kazançları nedeniyle ilk tercih olmalıdır kanaatindeyiz. Ancak bu konuda daha net veriler için hastanede yatış sürelerini de kapsayan maliyet analizlerinin yapıldığı geniş çaplı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Özetle; yukarıda literatür bilgileriyle birlikte belirtildiği üzere:

➤ Gln'in enteral yolla verilmesini; enteral beslenmenin normal fizyolojiye daha uygun olması, barsakların enteral Gln'i daha seçici olarak almasıyla enteral Gln'nin mukazanın direkt beslenmesine faydalı olması ve daha ucuz olması nedeniyle tercih ettik. Ancak enteral Gln'in:

- ESPEN enteral beslenme klavuzunda cerrahi ve yoğun bakım hastalarında enteral Gln kullanımı için yeterli kanıtın olmaması
- Enfeksiyöz komplikasyonları azaltsa da mortalite açısından yeterli verinin olmaması
- Biyoyararlanımının parenteral Gln'e göre daha az olması
- Her hastada eş değer tolere edilememesi
- Hedeflenen plazma Gln konsantrasyonlarına ulaşılamaması
- Enteral desteğin aspirasyon riskinin olması
- İmmün modülatör etkinin parenteral Gln'e göre daha az olması gibi sınırlandırmalar mevcuttur.

➤ Gln'in parenteral yolla verilmesini ise; sistemik etkilerinin daha belirgin olması, biyoyararlanımının daha fazla olması, daha kısa sürede istenilen plazma konsantrasyonlarına ulaşılabilmesi, immün modülatör etkinin daha iyi olması ve periferik venlerden de uygulanabilmesi nedeniyle tercih ettik. Ancak parenteral Gln'in:

- Barsak mukozasına trofik etkileri enteral Gln'e göre daha az olması
- Maliyetin yüksek olması gibi durumlar kullanımını sınırlandırmaktadır.

Enteral ve parenteral Gln'in metabolizmalarının farklı olması nedeniyle her iki yolla verilmesinin olumlu etkilerinden faydalanmak amacıyla eş

zamanlı kullanımını tercih ettik. Ayrıca maliyeti arttırmamak için de her iki yolla kullanılan Gln dozlarını düşürdük.



5. SONUÇ

Çalışmamızda ip E. coli enjeksiyonu ile deneysel sepsis modeli sağlanmış olup gruplarımıza, enteral ve parenteral kombine olarak farklı uygulama yollarıyla Gln desteği verildi ve deneyimiz, 96. saatte son örnekler alındıktan sonra sonlandırıldı. Verilerimiz intestinal villus atrofi ve kan ve doku üreme oranının kombine grup lehine olduğunu göstermektedir. Plazma Gln konsantrasyonunun en yüksek, serum TNF- α ve IL-10 konsantrasyonlarının da en düşük olduğu grubun yine kombine grup olduğu tespit edilmiştir. Maliyet açısından değerlendirildiğinde de, Gln dozları azaltılmış kombine uygulamanın, parenteral uygulamaya yakın olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak; sayısız biyolojik özellikleri ile sepsiste nutrisyonel destek için eşsiz bir aday olan Gln'den en iyi yararlanımın; plazma Gln konsantrasyonlarını etkin seviyede tutarak, intestinal mukozaya trofik etkisinden, immün modülatör etkisinden, doku ve kan kültürlerinde üremeyi azaltmasından dolayı, enteral ve parenteral yolun eş zamanlı kullanılmasıyla mümkün olduğunu gösterdik. Ayrıca kombine yolla düşük doz kullanılan Gln'nin, tüm bu olumlu etkilerin yanında maliyetinin de parenteral uygulamaya yakın olmasından dolayı klinikte tercih edilmesinde bir sakınca olmadığını düşünüyoruz. Ancak bu hipotezimizin daha ileri çalışmalarla geliştirilmesi gerektiği kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

1. Andrew B, Brian G and Timothy R. Shock Principles of Surgery, Ed. Seymour I. Schwartz, Eight Edition. Mc Graw–Hill, New York 2004; 85-105.
2. Korucu B. Dolasım Soku. Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara, 1996; 97-114.
3. Tekin E. Genel Cerrahi tanı ve tedavi ilkeleri. Ed. Atilla Engin, 1. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 2000; 97-107.
4. Rivers EP, McIntyre L, Morro DC, Rivers KK. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity. CMAJ 2005 Oct; 25:173(9): 1054-65.
5. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. An Intern Med. 1991; 115: 457-69.
6. Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright SD, Sibley CH. Extraordinary signal transduction. Faseb J 1991; 5: 2652-60.
7. Fijen JW, Jones CR, Kobold AC et al. Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemi. Eur J Intern Med 2000; 11: 89-95.
8. Thijs LG, Hack CE. Time course of cytokine levels in sepsis. Intensive Care Med 1995; 21: 56-63.
9. Steinhauser ML, Hogaboam CM, Kunkel SL, Lukacs NW, Strieter RM, Standiford TJ. IL-10 is a major mediator of sepsis-induced impairment in lung antibacterial host defence. J Immunol 1999; 162: 392-399.
10. Diestel CF, Marques RG, Lopes-Paulo F, Paiva D, Horst NL, Caetano CER. Role of L-glutamine and glycine supplementation on irradiated colonic wall. Int J Colorectal Dis 2007; 22: 1523-1529.
11. Şahin M. Cerrahi metabolizma ve beslenme, Akgül H. ed. Çağdaş Cerrahi Tanı ve Tedavi. Türkiye Klinikleri 1995; 158-94.
12. Gündoğdu H., M. Ülker. Yoğun Bakım Ünitesinde Yeni Beslenme Ürünleri. Yoğun Bakım Dergisi (Ankara) 2003; 3(4): 215-224.

13. Novak F, Heyland DK, Avenell A, Drover JW, Su X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit Care Med*. 2002 Sep; 30(9): 2022-9.
14. Levy J. Immunonutrition: The pediatric experience. *Nutrition* 1998; 14: 641-647.
15. Balzola F.A., Baggio-Bertnet D. The metabolic role of glutamine, *Minerva Gastroenterol Dietol (Italy)* Mar 1996; 42(1): p:17-26.
16. Li Y, Bao Y, Jiang T, et al. Effect of the Combination of Fibrin Glue and Growth Hormone on Incomplete Intestinal Anastomoses in a Rat Model of Intra-Abdominal Sepsis. *J. Surg. Res* 2006; 131: 111-117.
17. Zapata-Sirvent RL, Hansbrough JF, Ohara MM, et al. Bacterial translocation in burned mice after administration of various diets including fiber- and glutamine-enriched enteral formulas. *Crit Care Med* 1994; 22: 690-696.
18. Gianotti L, Alexander JW, Gennari R, et al. Oral glutamine decreases bacterial translocation and improves survival in experimental gut-origin sepsis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1995; 19: 69-74.
19. Tannuri U., Carrazza F.R., Iriya K. The effects of glutamine-supplemented diet on the intestinal mucosa of the malnourished growing rat. *Rev Hosp Clin Fac Med sao Paulo* 2000 May-Jun; 55(3): 87-92
20. Jiang Z.M., Jiang H. The clinical efficacy of glutamine dipeptides on postoperative patients: an updated systematic review of randomized controlled trials from Europe and Asia (1997 - 2005). *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2006; 86 (23): 1610-4.
21. Van der Hulst R.R.W.J., van Kreel B.K., von Meyenfeldt M.F. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet* 1993; 341: 1363-5.
22. Çoşkun T (yazar). Glutamin. Aminoasit Metabolizması Bozuklukları. Ankara 2003; 290-294.
23. Soondrum K, Hinds R. Management of Intestinal Failure. *Journal of Pediatrics* 2006; 73: 913-918.

24. Ward N. Nutrition support to patients undergoing gastrointestinal surgery. *Nutrition Journal* 2003; 2: 1-5.
25. Jakobs R, Koliner M, Shelhamer JH, Parrillo JE. Blood histamine concentrations are not elevated in humans with septic shock. *Critical Care Medicine*. 1989; 17: 30–35.
26. Parillo JE. Pathogenetic Mechanisms of Septic Shock. *N Engl J Med*. 1993; 328: 1471–1477.
27. Young LS, Proctor RA, Buetler B et al. University of California-Davis Interdepartmental Conference on Gram Negative Septicemia. *Rev. Infect Dis* 1991; 13: 666–87.
28. Poll T, Deventer SJH. Cytokines and cytokines in the pathogenesis of sepsis. *Inf Dis Clin North Am* 1999; 13: 413–427.
29. Haskill, Peace A, Morris J et al. Identification of Three Related Human GRO Genes Encoding Cytokine Functions. *Pro. Notl. Acad. U. S. A.* 1990; 87: 7732–7736.
30. Botterill I, MacFie J. Bacterial translocation in the critically ill: a review of the evidence. *Care Crit Ill* 2000; 16: 6-11.
31. Marshall JC, Christou NV, Horn R, Meakins JL. The microbiology of multiple organ failure. The proximal gastrointestinal tract as an occult reservoir of pathogens. *Arch Surg* 1988; 123: 309-15.
32. Marshall JC. Gastrointestinal flora and its alterations in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1999; 2: 405-11.
33. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 858- 873.
34. Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P; Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. Canadian Critical Care Clinical Practice Guidelines Committee. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2003 Sep-Oct; 27(5): 355-73.

35. Kreymann KG, Berger MM, Deutz NE, Hiesmayr M, Jolliet P, Kazandjiev G, Nitenberg G, van den Berghe G, Wernerman J; DGEM (German Society for Nutritional Medicine), Ebner C, Hartl W, Heymann C, Spies C; ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition. Clin Nutr 2006 Apr; 25(2): 210-23.
36. Davies MG, Hagen PO. Systemic Inflammatory Response Syndrome. Br J Surg 1997; 84: 920–35.
37. Zahorec R. Definition For Septic Syndrome Should Be Re-evaluated Intensive. Care Medicine 2000; 26: 1870.
38. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American Collage of Chest Physicans. Society of Critical Care Medicine. Chest 1992; 101: 1644–55.
39. Güloy H (yazar). Temel ve Sistemik Cerrahi, Güven Kitabevi İzmir, 2005; 356-364.
40. Baker CC, Huynh MD. Sepsis in the critically ill patient. Curr Probl Surg 1995; 32: 1013–83.
41. Collins FM. Cellular Antimicrobial Immunity. CRC Crit Rev Microbiol. 1978; 7: 27-91.
42. Lazaron V, Barke R.A. Gram (–) bacterial sepsis and the sepsis syndrome. Urol Clin North Am 1999; 26: 687–699.
43. Perl TM, Dvorak L, Hwang T et al. Long–term survival and function after suspected gram negatif sepsis. JAMA 1995; 274: 338–45.
44. Dunn DL. Gram Negative Bacterial Sepsis and Sepsis Syndrome. Surg Clin North. Am. 1994; 74:621–35.
45. University of Guelph, Department of Molecular and cellular Biology (2010), The web site: www.uoguelph.ca/~cwhitfie/lps_core.html
46. Wright SD. Multipl receptors for endotoxins. Cur Opin Immunol. 1991; 3: 83–90.

47. Wright SD, Tobias P, Ulevitch R et al. LPS binding protein opsonizes LPS-bearing particles for recognition by a novel receptor on macrophages. *J Exp Med* 1989; 170: 1231–41.
48. Marsh CB, Wewers MD. The pathogenesis of sepsis. Factors that modulate the response to gram-negative bacterial infection. *Clin Chest Med* 1996; 17: 183–97.
49. Grandel U, Grimminger F. Endothelial responses to bacterial toxins in sepsis. *Crit Rev Immunol* 2003; 23: 267–99.
50. Hoch RC, Rodriguez R, Manning T et al. Effects of accidental trauma on cytokine and endotoxin production. *Crit Care Med* 1993; 21: 639–45.
51. Tracey KJ, Lowry SF, Cerami A. Cachectin/TNF-alpha in septic shock and septic adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Des Dis* 1998; 138: 1377–79.
52. Giroir BP. Mediators of septic shock: New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit. Care Med* 1993; 21: 780–86.
53. Anadol AZ, Bozkurt BŞ, Ersoy E. Cerrahi Enfeksiyonların Patogenezi ve Antibiyotik Uygulaması. İçinde Engin A (yazar) Genel Cerrahi Tanı ve Tedavi İlkeleri. Ankara 2000; 121-129.
54. Richard S, Irwin JM. Manuel of Intensive Care Medicine. Çeviri: Gündüz M. Yoğun Bakım El Kitabı. İstanbul: Nobel Kitabevleri, 2002; 694-696.
55. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, et al. Principles of Surgery. Çeviri: Köksoy C. Cerrahinin İlkeleri. Ankara: Antıp A.Ş., 2004; 118-124/1536-1547
56. Kubly J. Immunology, W.H. Freeman and Company 1992; 245.
57. Alkharfy KM, Kellum JA, Matzke GR. Unintended immunomodulation: part II. Effects of pharmacological agents on cytokine activity. *Shock* 2000; 13: 346–60.
58. Cohen S, Cohen MC. Cytokine function: a study in biologic diversity. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 589–98.

59. Clemens, M.J., Cytokines. Bios Scientific Publishers Ltd. Oxford 1991; 57 -75.
60. Beutler B, Cerami A. The Biology of cachectin/TNF- α primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1998; 7: 625-655.
61. Bidwell J, Keen L, Gallagher G. et al. Cytokine gene polymorphism in human disease. *Genes and Immunity* 1999; 1: 3-19.
62. Balkwill FR, Burke F. The cytokines network. *Immunology Today* 1989; 10(9): 299-304.
63. Opal SM, Glück T. Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med.* 2003; 31(1 suppl): S57-S64.
64. Bazzoni E, and Beutler B. *Neze Engl. I. Med.* 1996; 334: 1717-1725.
65. Car BD, Eng VM, Schnyder B et al. Interferon gamma receptor deficient mice are resistant to endotoxic shock. *J Exp Med* 1994; 179: 1437-44.
66. Kamijo R, Le J, Shapiro D et al. Mice that lack the interferon gamma receptor have profoundly altered responses to infection with *Bacillus Calmette-Guerin* and subsequent challenge with lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1993; 178: 1435-40.
67. Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, and Wallach D. I. *Biol Chem.* 1989; 264; 11974-11980.
68. Seckinger P, Kaaz S, and Dayer JM. I. *Exp Med* 1988; 167: 1511-1516.
69. Barbara JA, Smith WB, Gamble JR et al. Dissociation of TNF- α cytotoxic and proinflammatory activities by p55 receptor and p75 receptor-selective TNF- α mutants. *Embo J* 1994; 13: 843-850.
70. O'Brien DP, Briles DE, Sanz I et al. Tumor necrosis factor alpha receptor-I is important for survival from *Streptococcus pneumoniae* infections. *Infect Immun* 1999; 62: 595-601.
71. Andreas Eigler, Bhanu Sinha, Gunther Hartmann and Stefan Endres, Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Review immunology today* 1997 october; Vol. 18, No: 10, 487-492.

72. Parker SJ, Watkins PE. Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg* 2001; 88: 22–30.
73. Beutler B, Cerami A. Cachectin : more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987; 316: 379–85.
74. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR et al. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *New Engl J Med*. 1988; 318: 1481– 86.
75. Moore KW, Malefyt RW, Interleukin-10 and the IL-10 receptor *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 683-765.
76. Weiss JM, Sundar SK, Becker KJ, Cierpial MA. Behavioral and neural influences on cellular immune responses: effects of stress and interleukin -1. *J Clin Psychiatry* 1989; 50:43-53.
77. Abbas A.K., Lichtman A.H., editors. Cellular and molecular immunology, 5th ed., Philadelphia, W.B. Saunders, 2003: 562.
78. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C: Cytokines: Basic and Clinical Immunology. Stites DP, Terr AI, Parslow TG (Eds). Appleton and Lange, Connecticut, California, Eight Edition, 1994:105-123.
79. Burdin N, Peronne C, Banchereau J, Rousset F: Epstein -Barr virus transformation induces B lymphocytes to produce human IL -10. *J Exp Med*. 1993;177:295.
80. Vincent JL, Abraham E. The last years of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* ,2006;173:256-263.
81. McLean AS, Tang B, Huang SJ. In: Vincent JL, ed. 2007 Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine, Berlin:Springer-Verlag.2007;3-9.
82. Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, et al. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and metaanalysis. *Crit Care Med* 2006; 34:1996-2003.
83. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-1256.

84. Meisner M, Tschaikowsky K, Palmaers T, Schmidt J. Comparison of PCT and CRP plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care* 1999;3:45-50.
85. Tang BM, Eslick GD, Craig JC, McLean AS. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:210-2-17.
86. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002;420:885-891.
87. Wiersing WJ, van der Poll T. The rol of Toll-like receptors in sepsis. In: *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine* (Vincent JL ed). Berlin:Springer, pp 3-13,2006.
88. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J Immunol* 164:499-1-4995,2000.
89. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF et al: The process of microbial translocation. *Ann Surg* 1990; 212(4): 496-510.
90. Aran Ö: Safra yolları hastalıkları. Sayek İ.(ed) *Temel cerrahi* 1996;cilt 2:1299.
91. Assimakopoulos SF, Vagianos CE, Patsoukis N, Georgiou C, Nikolopoulou V, Scopa CD: Evidence for intestinal oxidative stress in obstructive jaundice-induced gut barrier dysfunction in rats. *Acta Physiol Scand* 2004; 180(2):177-185.
92. Brooks SG, May J, Sedman P, et al: Translocation of enteric bacteria in humans. *BJ Surg*.1993; 80:901-902.
93. Barber AE, Jones II WG, Minei JP et al: Bacterial overgrowth and intestinal atrophy in the etiology of gut barrier failure in the rat. *Am J Surg* 1991; 161:300-303.
94. Saadia R, Schein R, MacFarlane C, Boffard KD: Gut barrier function and the surgeon. 1990; 77: 487-492.
95. Ziegler TR, Smith RJ, O'Dwyer ST et al: Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients. *Arch Surg* 1988; 123: 1313-1319.

96. Duffy LC: Interactions mediating bacterial translocation in the immature intestine. *J Nutr* 2000; 130: 432-436.
97. Edmiston CE Jr, Condon RE. Bacterial translocation. *Surg Gyn Obst.* 1991; 173: 73–78.
98. Albillos A, Hera A. Multifactorial gut barrier failure in cirrhosis and bacterial translocation : working out the role of probiotics and antioxidants. *J Hepat* 2002; 37: 523-526.
99. Kirnmings AN, Deventer SJH, Obertop H et al. Inflammatory and immunologic effects of obstructive jaundice: Pathogenesis and treatment. *J Am Coll Surg* 1995; 181:567- 581.
100. Ohshio G, Manabe T, Tobe T et al. Circulating immune complex, endotoxin and biliary infection in patients with biliary obstruction. *Am J Surg* 1988; 155:343-347.
101. Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, et al. Canadian Clinical Practice Guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN* 2003;27:355–73.
102. Scurlock C, Mechanick JI. Early nutrition support in the intensive care unit: a US perspective. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008;11:152-5
103. Kudsk LA, Croce MA, Fabian TC, et al: Enteral versus parenteral feeding: effects on septic mortality after blunt and penetrating abdominal trauma *Ann Surg* 1992; 215:503-13.
104. Kenneth M. Moser. New and Old Questions About Acute Venous Thromboembolism. *Chest* 1997;111;531-532.
105. Jolliet P, Pichard C, Biolo G, et al: Enteral nutrition in intensive care patients: A practical approach. *Intensive Care Med* 1998; 24: 848-859.
106. Braunschweig CL, Levy P, Shehan PM, Wang X. Enteral compared with parenteral nutrition: a meta – analysis. *Am J Clin Nutr* 2001;74:534-42.
107. Le Gall JR. The use of severity scores in the intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2005; 31(12): 1618-1623.

108. Heidegger CP, Romand JA, Treggiari MM, Pichard C. Is it now time to promote mixed enteral and parenteral nutrition for the critically ill patient? *Intensive Care Med* 2007; 33: 963-9.
109. Miller AL. Therapeutic Considerations of L-Glutamine: A Review of the Literature *Altre Med Rew* 1999; 4: 239-248.
110. Lacey JM, Wilmore DW. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutrition Reviews* 1990; 48: 297-309.
111. Abcouwer SF, Bode BP, Souba WW. Glutamine as a metabolic intermediate, 'Nutrition and Metabolism in the Surgical Patient'(Fischer JE), 2th Edition, Little, Brown and Company, New York, 1996: 353-84.
112. Robert P.R., Zaloga G.P.: Enteral Nutrition, In "Textbook of Critical Care" Ed. W.C. Shoemaker, 4 th Edition, 2000; 875-897.
113. Powell-Tuck J, Jamieson Cp, Bettany GE et al. A double blind, randomised, controlled trial of glutamine supplementation in parenteral nutrition. *Gut* 1999; 45: 82-88.
114. Parry-Billings M, Evans J, Calder PC, Newsholme EA. Does glutamine contribute to immunosuppression after major burns? *Lancet* 1990; 336:523-525.
115. Planas M, Schwartz S, Arbós MA, Farriol M: Plasma glutamine levels in septic patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1993; 17: 299-300.
116. Curthoys NP. Watford M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rew Nutr* 1995; 15: 133-159
117. Robin G. Garrett-Cox, Giorgio Stefanutti, Clare Booth, Nigel J. Klein, Agostino Pierro, Simon Eaton. Glutamine decreases inflammation in infant rat endotoxemia. *Journal of Pediatric Surgery* 2009; 44: 523–529.
118. Evans MA, Shrontz EP. Intestinal Fuels: Glutamine, Short-chain fatty acids, and dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 1992; 92: 1239-1246,1249.
119. Souba WW, Klimberg VC, Plumley DA ve ark. The role of glutamine in maintaining a healthy gut and supporting the metabolic response to injury and infection. *J Surg Res* 1990; 48: 383-391.

120. Hwang T., O'Dwyer S., Smith R. Preservation of small bowel mucosa using gluamin enriched parenteral nutrition Surg Forum 1986; 37: 56-58.
121. Dudrick P.S., Souba W.W. Aminoacids in surgical nutrition. Principles and practice. Surg clin North Am 1991; 71(3): 459-477.
122. Aldemir M, Geyik MF, Kokoglu OF, Buyukbayram H, Hosoglu S, Yagmur Y: Effects of ursodeoxycholic acid, glutamine and polyclonal immunoglobulins on bacterial translocation in common bile duct ligated rats. ANZ J Surg 2003 Sep;73(9): 722-6.
123. Collen S, Mark AD, Lieberman M. Mark's Basic Medical Biochemistry. Çeviri:İnal ME. Mark's Temel Tıbbi Biyokimyası. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2007; 720.
124. Watford M. Glutamine and glutamate metabolism across the liver sinusoid. J Nutr 2000; 130: S983-S987.
125. Karinch AM, Pan M, Lin CM, Strange R, Souba WW., Glutamine Metabolism in Sepsis and Infection, J Nutr. 2001 Sep;131(9 Suppl):2535S-8S; discussion 2550S-1S.
126. Plumley DA, Austgen TR, Sallaum RM, Souba WW. Role of lungs in maintaining amino acid homeostasis. JPEN 1990;14:569-573.
127. Wu G. İntestinal mocosal amino acid catabolism. J Nutr 1998;128:1249-1252.
128. Alverdy JA, Aosy E, Weiss-Carrington P, Burke a. The effect of glutamin-enriched TPN on gut immune cellularity. J Surg Res 1992;52:34-38.
129. Burke DJ, Alverdy JC, Aosy E, Moss GS. Glutamine supplemented TPN improves gut immune function. Arch Surg 1989;124:1396-1399.
130. Foitzik T, Kruschewsk M, Kroesen AJ, Hotz HG, Eibl G, Buhr HJ. Does glutamine reduce bacterial translocation? A study in two nimal models with impaired gut barrier. Int J Colorectal Dis 1999;14:143-149.
131. Sedman PC, Macfie J, Segar P ve ark. The prevalence of gut translocation in humans. Gastroenterology 1994;107:643-9.

132. Heberer M, Babst R, Juretic A ve ark. Role of the glutamine in the immune response in critical illness. *Nutrition* 1996;12 (S):71-72.
133. Watford M. Is there a requirement for glutamine catabolism in the small intestine? *Br J Nutr* 1999;81:261-262.
134. Bushen O.Y., Davenport J.A., Lima A.B., Piscitelli S.C., Uzgiris A.J., Silva T.M., et al. Diarrhea and reduced levels of antiretroviral drugs: improvement with glutamine or alanyl glutamine in a randomized controlled trial in northeast Brazil, *Clin Infect Dis*. 2004; 38 (12): 1764-70,
135. Furst P., Albers S., Stehle P. Glutamine-containing dipeptides in parenteral nutrition, *JPEN J. Parenter Enteral Nutr* 1990;14(4):118-124.
136. Prabhu R, Thomas S, Balasubramanian KA. Oral glutamine attenuates surgical manipulation-induced alterations in the intestinal brush border membrane; *J Surg Res* 2003 Nov; 115(1):148-56.
137. Sacks GS. Glutamine supplementation in catabolic patients. *Ann Pharmacoter* 1999;33:348-54.
138. Gardner ML, Earl SD, Wood D. Elemental diets in the repair of small intestinal damage. *Nutrition* 1997;13:755-759.
139. Bengmark S, Gianotti L, Nutritional support to prevent and treat multiple organ failure. *World J Surg* 1996;20:474-481.
140. Klibberg VS, Souba WW, Dolson DJ ve ark. Prophylactic glutamine protects the intestinal mucosa from radiation injury. *Cancer* 1990;66:62-68.
141. Calder PC. Glutamine and the immune system. *Amino Acids* 1999;17:227-241.
142. Keast D, Newsholme EA. Effects of mitogens on the maximum activities of hexokinase, lactate dehydrogenase, citrate synthase and glutaminase in rat mesenteric lymph node lymphocytes and splenocytes during early period of culture. *Int J Biochem* 1990;22:133-136.

143. Jensen GL, Miller RM, Talabiska DG, Fish J, Gianteranta L. A double-blind, prospective, randomized study of glutamine-enriched compared with standart peptide-based feding in critically ill patient. *Am J Clin Nutr* 1996;64:615-621.
144. Hall JC, Hell K, McCauley R. Glutamine. *Br J Surg* 1996;83:305-312.
145. Hirsch EM. L-glutaminase: suppression of lymphocytes blastogenic responses in vitro. *Science* 1970;172:736-738.
146. Ardawi MSM. Glutamine and glocose metabolism in human peripheral lymphocytes. *Metabolism* 1988;37:99-103.
147. Brand K, Fekl W, von Hintzenstern J, Langer K, Lupp P, Schoerner C. Metabolism of glutamine in lymphocytes. *Metabolism* 1989;38:29-33.
148. Saito h, Furukawa S, Matsuda T. Glutamine as an immunoenhancing nutrient. *JPEN* 1999;23(S):59-61.
149. Furukawa S, Saito H, Fukatsu K ve ark. Glutamine-enhanced bacterial killing by neutrophils from postoperative patients. *Nutrition* 1997;13:863-869.
150. Wilmore DW, Shabert JK. Role of glutamine in immunologic responses. *Nutrition* 1998;14:618-626.
151. Newsholme P, Gordon S, Newsholme EA. Rates of utilisation and fates of glucose, glutamine, pruvate, fatty acids and kteone bodies by murine macrophage. *Biochem J* 1987;242:631-636.
152. Vlessis AA, Goldman RK, Trunkey DD. New concepts in the pathophysiology of oxygen metabolism during sepsis. *Br J Surg* 1995;82:870-976.
153. Grant J. Use of L-glutamine in total parenteral nutrition. *J Surg Res* 1988;44:506-513.
154. Hammarqvist F., Wernerman J., Ali R., Von Der Decken A., Vinnars E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spares free glutamine in muscle, counteracts the fall in muscle protein synthesis, and improves nitrogen ballance. *Ann Surg* 1989; 209:455-461.

- 155.** Klimberg V.S., Souba W.W., Sitren H. Glutamine enriched total parenteral nutrition supports gut metabolism. Surg Forum 1989; 40:175-177.
- 156.** Wallace C., Keast D. Glutamine and macrophage function. Metabolism 1992; 41:1016-20.
- 157.** Parry-Billing M, Bargne RJ, Lamont pm ve ark. Effects of major and minor surgery on plasma glutamine and cytokine levels. Arch Surg 1992;127:1237-1240.
- 158.** Souba WW, Herskowitz K, Klimberg VS ve ark. The effects o sepsis and endotoxemia on gut glutamine metabolism. Ann Surg 1990;211:543-551.
- 159.** Gökpınar İ, Gürleyik E, Pehlivan M, et al. Erken Enteral ve Glutaminli Enteral Beslenmenin Kolon Anastomoz İyileşmesine Etkisi. Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery. 2006;12;17-21.
- 160.** Newsholme EA, Parry-Billing M. Properties of glutamine release from muscle and its importance for the immune system. JPEN 1990;14(S):130-136.
- 161.** Richard D. Griffiths. The evidence for glutamine use in the critically-ill. Proceedings of the Nutrition Society (2001);60:403-410.
- 162.** Zulfikaroglu B, Zulfikaroglu E, Ozmen MM, Ozalp N, Berkem R, Erdogan S et al. The effect of immunonutrition on bacterial translocation, and intestinal villus atrophy in experimental obstructive jaundice. Clin Nutr. 2003 Jun;22(3):277-81)
- 163.** Castell LM, Newsholme EA. The effects of oral glutamine supplementation on Athletes after prolonged, exhaustive exercise. Nutrition 1997;13:738-742.).
- 164.** Ogle CK, Ogle JD, Mao JX ve ark. Effects of glutamine on phagocytosis and bacterial killing by normal and pediatric burn patient neutrophils. JPEN 1994;18:128-133.
- 165.** Furukawa S, Saito H ve ark. Supplemental glutamine augments reactive oxygen intermediate production and phagocytosis by phagocytes from postoperative patients. Clin Nutr 1998;17(S1):33.

- 166.** Li J, Kudsk KA, Gocinski B. Effects of parenteral and enteral nutrition on gut-associated lymphoid tissue. *J Trauma* 1995;39:44-52.
- 167.** Wu G, Meier SA, Knabe DA,. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *J Nutr* 1996;126:2578-2284.
- 168.** Alverdy JC. Effect of glutamine supplemented diets on immunology of the gut. *JPEN* 1990;14(S):109-113.
- 169.** Wells CL, Jechorek RP, Erlandsen SL, Lavin PT. The effect of dietary glutamine and dietary RNA on ileal flora ileal histology and bacterial translocation. *Nutrition* 1990;6:70-75
- 170.** Blomqvist BI, Hammarqvist F, van der Decken A, Wernerman J. Glutamine and alpha-ketoglutarate prevent the decrease in muscle free glutamine concentration and influence protein synthesis after total hip replacement. *Metabolism* 1995;44:1215-1222.
- 171.** Wernerman J, Hammarqvist F, Vinnars E. Alpha-ketoglutarate postoperative muscle catabolism. *Lancet* 1990;335:701-703.
- 172.** Morlion BJ, Stehle P, Wachtler P ve ark. Total parenteral nutrition with glutamine dipeptide after major abdominal surgery. *Ann Surg* 1998;227:302-308.
- 173.** Stehle P, Zander J, Mertes N ve ark. Effect of parenteral glutamine dipeptide supplements on muscle glutamine loss and nitrogen balance after major surgery. *Lancet* 1989;1:231-233.
- 174.** Tremel H, Kienle B, Weilemann LS, Stehle P, Fürst P. Glutamine dipeptide supplemented parenteral nutrition maintains intestinal function in the critically ill. *Gastroenterology* 1994;107:595-601.
- 175.** de Beaux AC, O'Riordain MG, Ross JA, Jodozi L, Carter DC, Fearon KC. Glutamine-supplemented TPN reduces blood mononuclear cell interleukin-8 release in severe acute pancreatitis. *Nutrition* 1998;14:261-265.
- 176.** Ziegler TR, Young LS, Benfell K ve ark. Clinical and metabolic efficacy of glutamine-supplemented parenteral nutrition after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med* 1992;116:821-828.

177. Schloerb PR, Amare M. TPN with glutamine in bone marrow transplantation and other clinical applications: a randomized, double-blind study. *JPEN* 1993;17:407-413.
178. Savy GK. Enteral glutamine supplementation: clinical review and practical guidelines. *Nutr Clin Pract* 1997;12:259-262.
179. Houdjik AP, Rijnsburger ER, Jansen J, ve ark. Randomised trial of glutamine-enriched nutrition on infectious morbidity in patient with multiple trauma patients. *Y Trauma* 1996;40:97-192.
180. Neu J, Roig JC, Meetze WH ve ark. Enteral glutamine nsuplementation for very low birth weight infants decreases morbidity. *J Pediatr* 1997;131:691-699.
181. Long CL, Borghesi L, Stahl R ve ark. Impact of enteral feeding of aglutamine supplemented formula on the hypoaminoacidemic response in trauma patients. *J Trauma* 1996;40:97-102.
182. Hornsby-Lewis L, Shike Mi Brown P, Klang M, Pearlstone D, Brennan MF. L-Glutamine supplementation in home TPN patients: stability, safety and effects on intestina absorption. *JPEN* 1994;18:268-273.
183. Ziegler TR, Bebfell K, Smith RJ ve ark. Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in human. *JPEN* 1990;14 (S):137- 147.
184. Elia M, Lunn PG. The use of gltamine in the treatment of gastrointestinal disorders in man. *Nutrition* 1997;13:743-748.
185. Weimann A, Braga M, Harsanyi L, et al. ESPEN (= European Society for Parenteral and Enteral Nutrition): guidelines on enteral nutrition: surgery including organ transplantation. *Clin Nutr* 2006; 25: 224–244.
186. Déchelotte P, Hasselmann M, Cynober L, Allaouchiche B, Coëffier M, Hecketsweiler B. et al. L-alanyl-L-glutamine dipeptide-supplemented total parenteral nutrition reduces infectious complications and glucose intolerance in critically ill patients: the French controlled, randomized, double-blind, multicenter study. *Crit Care Med*. 2006 Mar;34(3):598-604.
187. Singer P, Berger MM, Van den Berghe G, et al. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: Intensive care. *Clin Nutr* 2009 Aug;28(4):387-400.

- 188.** Klibberg VS, McClellan JL. Glutamine, cancer and its therapy. *Ann J Surg* 1996;172:418-424.
- 189.** Yoshida S, Matsui M, Shirouzu Y, Fujita H, Yamana H, Shirouzu K. Effects of glutamine supplements and radiochemotherapy on systemic immune and gut barrier function in patients with advanced esophageal cancer. *Ann Surg* 1998;227:485-491.
- 190.** Satoh J., Tsujikawa T., Fujiyama Y., Banba T. Enteral alanyl-glutamine supplement promotes intestinal adaptation in rats, *Int J Mol Med* ,2003;12:615-620.
- 191.** Wichterman KA, Chaudry IH, Baue AE. Studies of peripheral glucose uptake during sepsis. *Arch Surg* 1979; 114:740–5
- 192.** Cheatham ML, Safcsak K. Intraabdominal pressure: a revised method for measurement. *J Am Coll Surg* 1998; 186:594-5.
- 193.** Iskit AB, Senel I, Sokmensuer C, Guc MO. Endothelin receptor antagonist bosentan improves survival in a murine caecal ligation and puncture model of septic shock. *Eur J Pharmacol* 2004 ; 506: 83-8.
- 194.** Pass LJ, Schloerb PR, Pearce FJ, Drucker WR. Cardiopulmonary response of the rat to gram-negative bacteremia. *Am J Physiol* 1984; 246 (3 Pt 2): H344-50.
- 195.** Nakatani T, Sato T, Marzella L, Hirai F, Trump BF, Siegel JH. Hepatic and systemic metabolic responses to aerobic and anaerobic intra-abdominal abscesses in a highly reproducible chronic rat model. *Circ Shock* 1984; 13: 271-94.
- 196.** Cirioni O, Giacometti A, Ghiselli R, Mocchegiani F, Fineo A, Orlando F, Del Prete MS, Rocchi M, Saba V, Scalise G. Single-dose intraperitoneal magainins improve survival in a gram-negative-pathogen septic shock rat model. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:101-4.
- 197.** Bergmeyer H.U., L-Glutamine and L-Glutamate: UV-Method with Glutaminase and Glutamate Dehydrogenase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, 1986; Vol 8:357-363.

- 198.** Wischmeyer PE, Kahana M, Wolfson R, Ren H, Musch MM, Chang EB: Glutamine induces heat shock protein and protects against endotoxin shock in the rat. *J Appl Physiol* 2001, 90:2403-2410.
- 199.** Buyne OR, Bleichrodt RP, Verweij PE, Groenewoud HM, Goor HV, Hendriks T. A peritonitis model with low mortality and persisting intra-abdominal abscesses. *International Journal Of Experimental Pathology* 2006; 87: 361-368.
- 200.** O'Leary MJ, Ferguson CN, Coakley JH, Hinds CJ, Preedy VR. Influence of Starvation, Surgery, and Sepsis on Cardiac Protein Synthesis in Rats: Effects of Parenteral Nutrition, Glutamine, and Growth Hormone. *Shock* 2002; 18: 265-271
- 201.** Wischmeyer PE. Glutamine: role in gut protection in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006; 9: 607-612
- 202.** Wischmeyer PE, Lynch J, Liedel J, et al. Glutamine administration reduces Gram-negative bacteremia in severely burned patients: a prospective, randomized, double-blind trial versus isonitrogenous control. *Crit Care Med* 2001, 29:2075-2080.
- 203.** Sakomoto K., Hirose H., Onizuka A., et al. Quantitative study of changes in intestinal morphology and mucus gel on total parenteral nutrition in rats, *J Surg Res.*; 2000.94 (2): 99-106.
- 204.** Oudemans-van Straaten HM, Bosman RJ, Treskes M, Spoel HJ van der, Zandstra DF. Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions. *Intensive Care Med* 2001;27:84-90.
- 205.** Ziegler TR, Ogden LG, Singleton KD, et al. Parenteral glutamine increases serum heat shock protein 70 in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2005; 31:1079-1086.
- 206.** Singleton KD, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine prevents activation of NF-kappaB and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. *Shock* 2005; 24:583-589.

- 207.** Singleton KD, Serkova N, Beckey VE, Wischmeyer PE. Glutamine attenuates lung injury and improves survival after sepsis: role of enhanced heat shock protein expression. *Crit Care Med* 2005; 33:1206-1213.
- 208.** Jing L, Wu Q, Wang F. Glutamine induces heat-shock protein and protects against *Escherichia coli* lipopolysaccharide-induced vascular hyporeactivity in rats. *Crit Care* 2007; 11:R34.
- 209.** Morrison AL, Dinges M, Singleton KD, Odoms K, Wong HR, Wischmeyer PE: Glutamine's protection against cellular injury is dependent on heat shock factor-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290:C1625-C1632.
- 210.** Singleton KD, Wischmeyer PE: Glutamine's protection against sepsis and lung injury is dependent on heat shock protein 70 expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292:R1839-1845.
- 211.** Bosscha K, Nieuwenhuijs VB, Gooszen AW, van Duijvenbode-Beumer H, Visser MR, Verweij WR, et al. A standardised and reproducible model of intraabdominal infection and abscess formation in rats. *Eur J Surg* 2000;166:963-7.
- 212.** Horattas MC, Haller N, Ricchiuti D. Increased transperitoneal bacterial translocation in laparoscopic surgery. *Surg Endosc.* 2003 Sep;17(9):1464-7.
- 213.** Feuerstein G, Hallenbeck JM, Vanotta B. Effect of gram-negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF- α , circulating blood cells and the survival of rats. *Circ Shock* 1990; 30:205-278.
- 214.** Friedland IR, Jafari H, Ehrett S et al. Comparison of endotoxin release by different antimicrobial agents and the effect in experimental *Escherichia coli* meningitis. *J Infect Dis* 1993; 168:657-62.
- 215.** Windmueller G.H., Glutamine utilization by the small intestine. *Adv Enzymol* 1982;53:201-237.
- 216.** Newsholme E. A. , B. Crabtree and M. S. M. Ardawi. The role of high rates of glycolysis and glutamine utilization in rapidly dividing cells. 1985;vol5,5:393-400.

- 217.** Hong R.W., Rounds D.J., Helton W.S., Robinson M.K., Wilmore D.W. Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury. *Ann Surg* 1992; 21 S: 114-19.
- 218.** Başoğlu M, Yıldırğan İ, Akçay F, Kızıltunç A, Kavak İ, Ören D. Glutathione and Nitric Oxide Concentrations in Glutamine-Infused Rabbits with Intestinal Ischaemia/Reperfusion. *Clin Biochem* 1997; 35: 415-419.
- 219.** Fujita T, Sakurai K., Efficacy of glutamine-enriched enteral nutrition in an experimental model of ulcerative colitis. *Br J Surg* 1995; 82: 749–51.
- 220.** Apteker L, Goldin E, Wengrower D, Okon E. Beneficial effects of glutamine in TNB-induced experimental colitis. *Gastroenterology* 1996; 110: A852.
- 221.** Boelens P.G., Houdijk A.P.J., Fonk J.C.M.: Glutamine-enriched enteral nutrition increases HLA-DR expression on monocytes of trauma patients. *J Nutr* 2002; 132 (9): 2580–2586.
- 222.** Griffiths R.D., Allen K.D., Andrews F.J. Infection, multiple organ failure, and survival in the intensive care unit: Influence of glutamine-supplemented parenteral nutrition on acquired infection. *Nutrition* 2002; 18 (7-8): 546–552.
- 223.** Houdijk AP, Rijnsburger ER, Jansen J, Wesdorp RI, Weiss JK, McCamish MA, Teerlink T, Meuwissen SG, Haarman HJ, Thijs LG, van Leeuwen PA. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. *Lancet* 1998 Sep 5;352(9130):772-6.
- 224.** Newsholme P. Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection. *J Nutr* 2001;131:2515S-22S.
- 225.** Foitzik T, Stuffer M, Hotz HG ve ark. Glutamine stabilizes intestinal permeability of reduces pancreatic infection in acute experimental pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 1997;1:40-47.

- 226.** Gerdien C. Melis, Petra G. Boelens, Joost R. M. van der Sijp, et al. The feeding route (enteral or parenteral) affects the plasma response of the dipeptide Ala-Gln and the amino acids glutamine, citrulline and arginine, with the administration of Ala-Gln in preoperative patients. *British Journal of Nutrition* 2005; 94: 19–26.
- 227.** Bongers T, Griffiths RD, McArdle A. Exogenous glutamine: the clinical evidence. *Crit Care Med.* 2007 Sep;35(9 Suppl):S545-52.
- 228.** Rubio IT, Cao Y, Hutchins LF, Westbrook KC, Klimberg VS. Effect of Glutamine on Methotrexate Efficacy and Toxicity. *Annals of Surgery* 1998; 227: 5 : 772-780.
- 229.** Austgen TR, Chakrabarti R, Chen MK, et al. Adaptive regulation in skeletal muscle glutamine metabolism in endotoxin-treated rats. *J Trauma* 1992;32:600-6.
- 230.** Hulsewe KWE, van der Hulst RRWJ, Ramsay G, et al. Pulmonary glutamine production: effects of sepsis and pulmonary infiltrates. *Intensive Care Med* 2003;29:1833-6.
- 231.** Austgen TR, Chen MK, Flynn TC, et al. The effects of endotoxin on the splanchnic metabolism of glutamine and related substrates. *J Trauma* 1991;31:742-51.
- 232.** Peng X, Yan H, You Z, Wang P, Wang S. Glutamine granule-supplemented enteral nutrition maintains immunological function in severely burned patients. *Burns.* 2006 Aug;32(5):589-93.
- 233.** Garrett-Cox RG, Pierro A, Spitz L, et al. Body temperature and heat production in suckling rat endotoxaemia: beneficial effects of glutamine. *J Pediatr Surg* 2003;38:37-43.
- 234.** Scheppach W, Loges C, Bartram P, et al. Effect of free glutamine and alanyl-glutamine dipeptide on mucosal proliferation of the human ileum and colon. *Gastroenterology* 1994; 107, 429–434.
- 235.** McCauley R, Kong SE & Hall J Glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. 1998; *JPEN* 22, 105–111.

- 236.** Wiren M, Magnusson KE & Larsson J. The role of glutamine, serum and energy factors in growth of enterocyte-like cell lines. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 1331–1336.
- 237.** Matthews DE, Marano MA & Campbell RG. Splanchnic bed utilization of glutamine and glutamic acid in humans. *Am J Physiol* 1993; 264, E848–E854.
- 238.** Le Bacquer O, Laboisse C & Darmaun D. Glutamine preserves protein synthesis and paracellular permeability in Caco-2 cells submitted to 'luminal fasting'. *Am J Physiol* (2003) 285, G128–G136.
- 239.** Menghua Luo, Niloafar Bazargen, Daniel P. Griffith, Conception F. Estivariz, Lorraine M, Leader, et al. Metabolic effects of enteral versus parenteral alanyl-glutamine dipeptide administration in critically ill patients receiving enteral feeding: A pilot study. *Clinical Nutrition* 2008; 27: 297-306.
- 240.** Tjader I, Berg A, Wernerman J. Exogenous glutamine--compensating a shortage?. *Crit Care Med.* 2007 Sep;35(9 Suppl):S553-6.
- 241.** Haskill, Peace A, Morris J et al. Identification of Three Related Human GRO Genes Encoding Cytokine Functions. *Proc. Natl. Acad. U. S. A.* 1990; 87: 7732–7736.
- 242.** Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *2000*, 117:1162 - 1172.
- 243.** Yoo SS, Field CJ, McBurney MI. Glutamine supplementation maintains intramuscular glutamine concentrations and normalizes lymphocyte function in infected early weaned pigs. *J Nutr* 1997;127:2253-2259
- 244.** Singleton KD, Wischmeyer PE: Glutamine induces heat shock protein expression via O-glycosylation and phosphorylation of HSF-1 and Sp1. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2008, 32:371-376.
- 245.** Billiau A, Vandekerckhove F. Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock. *Eur J Clin Invest.* 1991; 21:559–73.

- 246.** Casey LC., Balk RA., Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med.* 1993; 119:771– 78.112.
- 247.** Oliveira GP, Oliveira MB, Santos RS, et al. Intravenous glutamine decreases lung and distal organ injury in an experimental model of abdominal sepsis. *Crit Care.* 2009;13(3):R74.
- 248.** Reinhart K, Bloos F, Brunkhorst : Pathophysiology of sepsis and MOF. *Texbook of Critical Care 5th Ed Chapter 146 p.1249 in.* 2005.
- 249.** Ertel W, Kremer JP, Kenney J, et al. Department of Surgery, University Hospital Zurich, Switzerland. Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients. *Blood.*1995 Mar 1;85(5):1341-7.
- 250.** Karaca B, Uzuncan N., Evliyaoğlu O., Arısoy A., Ayten Coşkuner, Onur Özgenç. LBP, TNF α and CRP Levels in a Caecal Ligation and E. Coli Model of Sepsis in Rats. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2003; 2: (55-60).
- 251.** Andrews PJ, Avenell A, Noble DW, et al. Scottish Intensive care Glutamine or seleNium Evaluative Trial SIGNET. *Trials Management Group Randomised trial of glutamine and selenium supplemented parenteral nutrition for critically ill patients. Protocol Version 9,* 19 February 2007. *Trials.* 2007 Sep 20;8:25.
- 252.** Heyland DK, Dhaliwal R, Day AG, et al. Canadian Critical Care Trials Group. REducing Deaths due to OXidative Stress (The REDOXS Study): Rationale and study design for a randomized trial of glutamine and antioxidant supplementation in critically-ill patients. *Proc Nutr Soc.* 2006 Aug;65(3):250-63.
- 253.** Ziegler TR, Bye RL, Persinger RL, et al. Effects of glutamine supplementation on circulating lymphocytes after bone marrow transplantation: a pilot study. *Am J Med Sci* 1998;315:4-10.
- 254.** Fürst P, Pogan K, Stehle P. Glutamine dipeptides in clinical nutrition. *Nutrition* 1997;13:731-737.

- 255.** Zhou YP, Jiang ZM, Sun YH, et al. The effect of supplemental enteral glutamine on plasma levels, gut function, and outcome in severe burns: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2003 Jul-Aug;27(4):241-5.
- 256.** Houdijk AP, van Leeuwen PA. Glutamine-enriched enteral nutrition in multiple trauma patients. Nutrition. 2000 Jan;16(1):70-1.



7. TEŞEKKÜR

Asistanlığım sürecinde geçen her saniyenin mesleğime katkı sağladığını olabildiğince erken dönemde fark ettiren, anlayışın önkoşul olduğu interaktif bir eğitim ortamı içinde destekleyici yaklaşımları ile araştırmalara izin veren, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, asistanı olmaktan onur ve mutluluk duyduğum değerli Klinik Şefimiz Doç. Dr. Aysel ALTAN'a; en içten saygı ve şükran duygularıyla teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin tüm aşamalarında büyük yardımı olan, uzmanlık eğitimimde değerli katkılarıyla beni cesaretlendiren, bilgi ve becerilerini her zaman aktaran, araştırmaya teşvik eden, içten yaklaşımlarıyla her konuda desteğini hissettiren, tez danışmanım Klinik Şef Yardımcısı Doç. Dr. Ü.Aygen TÜRKMEN'e; sonsuz teşekkür ve minnettarlığımı sunarım.

Hastanemizde bilimsel çalışma ortamı sağlayan başhekimimiz Sayın Doç. Dr. Adem AKÇAKAYA'ya;

Uzmanlık eğitimimde değerli katkılarından dolayı başasistanımız Doç. Dr. Namigar TURGUT'a;

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum, kendisinden her zaman anlayış ve destek gördüğüm 3. Genel Cerrahi Klinik Şefi Op. Dr. Kazım SARI'ya; ve diğer klinik şeflerimize;

Tezimin mikrobiyolojik incelemelerini ve proje yürütücülüğünü yapan İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Yrd. Doç. Dr. Erdal POLAT'a;

Tezimin histopatolojik incelemelerinde, yoğun programlarına rağmen verdikleri destek için İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yersu KAPRAN'a ve Okmeydanı EAH Patoloji Klinik Şefi Uzm. Dr. Deniz ÖZCAN'a;

İşlerinde hep titiz bir çaba içinde olan, her zaman ve her konuda desteklerini gördüğüm Uzm.Dr.Hülya KÜLTÜR, Uzm.Dr.Şule VATANSEVER ve Uzm. Dr. Zekeriya ERVATAN'a;

Algoloji eğitimindeki katkıları nedeniyle Uzm. Dr. Ayşegül BİLEN'e ve diğer tüm uzmanlarıma;

Birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım, her birinin ayrı ayrı büyük önemi olan tüm asistan arkadaşlarıma;

Tezime olan katkılarının yanında her konuda yanımda olduklarını hissettiren Dr. İnci EKİNCİ, Dr. Hayat CARUS, Dr. Rabia CİVELEKOĞLU ve Dr. Sezgin ZEREN'e;

Ameliyatanenin tüm ağırlığını omuz omuza sırtladığımız hepsi birbirinden değerli tüm anestezi teknisyenlerimize;

Öncelikle yoğun bakım, ameliyatane ve polikliniğimizin hemşireleri ve personelleri olmak üzere, hastanemiz tüm çalışanlarına;

Minnettarlığımı kelimelerle asla anlatamayacağım sevgili aileme;

Koşulsuz ve sınırsız desteği ile her zaman yanımda olan eşime;

Ve tabii ki; canlarını bize emanet edip bir insanın insana güvenmesinin en güzel örneğini sergileyen hastalarımıza sonsuz teşekkürler...

Dr. Sevgi KESİCİ

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sevgi KESİCİ

Doğum Tarihi ve Yeri : 17.01.1979 - Bursa

Medeni Durumu : Evli

Adresi: Kaptanpaşa Mh. Ziya Türkkan
Cd. Ümit B Blok. No:10/61
Şişli / İstanbul

Telefon : 0 505 8256335

E-Mail : sevgiayyildiz@mynet.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çalıştığı Yerler : SB Okmeydanı EAH, Anesteziyoloji
ve Reanimasyon Kliniği,
Asistan doktor (2005_ -)

Yabancı Dil : İngilizce