

SEPTİK SIÇANLARDA KARACİĞER GLUTATHIONE
UPTAKE SİNTİGRAFİSİ SONUÇLARI

RESULTS OF GLUTATHIONE UPTAKE SCANNING IN SEPTIC RATS

Dr. A. Erkan ÜNAL* Dr. M. Hakan ÇEVİKEL* Dr. Hayati AKIN** Dr. Yusuf DUMAN*

ÖZET: Sepsis, travma ve şok gibi kritik hastalıklarda immünoşüpresyon, glutathione (GSH) yetmezliği ile birlikte dir. Bu yüzden sepsiste karaciğer hedef organdır ve sepsiste hepatik GSH düzeyleri düşer. Bu çalışmada sepsis esnasında hepatik GSH düzeylerini Tc 99m GSH sintigrafisi ile inceledik. Siçanlardaki sepsis, çekal ligasyon ve perforasyon yöntemi ile yapıldı. Sepsisten 24 saat sonra intrakardiak yolla Tc 99m GSH verildi ve hepatik GSH uptake sintigrafisi yapıldı. Sonucunda sepsiste hepatik GSH uptake'inde anlamlı bir değişiklik bulunamadı.

Anahtar kelimeler: Hepatik glutathione uptake, Tc 99m GSH sintigrafisi

SUMMARY: Critical illness such as sepsis, trauma and shock is associated with both immunosuppression and glutathione (GSH) deficiency. Liver is a target organ during sepsis because of this. Hepatic GSH levels decrease due to sepsis. We have investigated the level of hepatic GSH during sepsis by Tc 99m GSH scanning. Sepsis was induced in rats by cecal ligation and puncture following 24 hours of sepsis. Tc 99m GSH was administered by cardiac puncture and hepatic GSH uptake scanning was performed. As a result no significant changes of hepatic GSH uptakes was determined by Tc 99m GSH in sepsis.

Key words: Hepatic glutathione uptake, Tc 99m GSH Scanning.

Sepsis ve sistemik inflamatuvar response sendromu (SIRS) sağaltımında yaşanan güçlükler ve yüksek mortalite ve morbidite oranları nedeniyle günümüzde halen önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Sepsiste özellikle karaciğer en çok etkilenen organlardan biridir. Karaciğerin yaşamsal işlevleri olan detoksifikasyon ve protein sentezinde büyük ölçüde bozulmalar olmakta ve birçok biyokimyasal kaskat aktive olarak önemli metabolik bozukluklara yol açmaktadır (1).

Vücutta en çok karaciğerde bulunan ve detoksifikasyon işleminde çok önemli rol oynayan glutathione (GSH) büyük bir antioksidan olup konak defansının vital bir komponentidir (2).

Kritik hastalarda (sepsis, travma ve şokta) immünoşüpresyon ve GSH yetmezliği birlikte dir (3). Biz de bu noktadan hareketle sepsiste karaciğer GSH tüketimini ve uptake'ini sintigrafik olarak izlemek istedik.

MATERYAL - METOT

Bu çalışma 1996 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Nükleer Tıp laboratuvarlarında yapıldı. Ağırlıkları 120-180 gm olan 20 erkek albino rat randomize olarak 2 gruba ayrıldı. 1. gruba (Sham operasyon-kontrol) yalnız çekal eksplorasyon, 2. gruba (Septik grup) çekal ligasyon+perforasyon işlemi yapıldı. Tüm laparotomiler 5 mg/kg ketamine anestezisi, orta hat kesisi ve steril şartlarla yapıldı. Çekal ligasyon + perforasyon işlemi Chaudry ve ark. (4) tarafından tanımlandığı şekilde çekumun ileoçekal valvülün altından 4/0 ipekle bağlanıp 22 no'lu iğne ile antimezenterik yüzeyinin 2 kez delinmesi ile uygulandı. Sham operasyon grubunda yalnızca çekum manipasyonu yapılarak ligasyon ve perforasyon yapılmadı. Tüm deneklere resüsitasyon için vücut ağırlıklarının 100 gramı için 5 ml olacak şekilde subkütan yolla serum saline verildi. Tüm denekler postoperatif dönemde standart yem ve su ile beslendiler ve operasyondan 24 saat sonra ketamin anestezisini takiben intrakardiak verilen Tc 99m ile işaretli GSH ile karaciğer GSH sintigrafileri çekildi. Sintigrafiden sonra 6. saatte deneklerin kanları intrakardiak girişimle tüplere alınarak sakrifiye edildiler. Karaciğerleri çıkartılarak tartıldı ve aktivite tutulumları count olarak sayıldı.

* Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, AYDIN

** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, İzmir

Yazışma Adresi: Dr. A. Erkan ÜNAL
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı, AYDIN

Tc 99 m GSH Sintigrafisi Protokolü:

Tc 99 m GSH, USA Sigma firmasından temin edildi. 20 mg GSH 2 ml distile su içinde eritildi. Buna 0.3 mg Sn Cl₂ H₂O (0.3 ml su içinde) eklendi. pH 0.5 NaOH ile 5 olacak şekilde ayarlandı. Karışım 0.22 mm membran filtresinden steril vial içine süzüldü.

500 mbq Tc 99m perteknetat olarak 1-2 ml bu vial e eklendi. Karışım birkaç saniye çalkalandı ve 10 dakika içinde deneklere uygulandı (5).

Sintigrafik Tetkik: Tüm deneklere ortalama 1-1.5 mCi dozunda Tc 99m GSH intrakardiyal olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan önce enjektörlerdeki aktivite (count) sayıldı, enjeksiyon sonrası enjektörlerde kalan aktivite sayıldı ve böylece her deneye verilen aktivite net olarak hesaplandı. Aktivite uygulandıktan sonra 1. saatte Toshiba 602 Gamma kamera ile tüm vücut imajları alındı (Resim 1-2). Daha sonra karaciğerler çıkartılıp tartıldı ve tüm aktivite tutulumları sayıldı. İşlemler sırasında aktivite bulaşım önlemek için her denekte ayrı eldivenler kullanıldı.

Karaciğer GSH Uptake'inin Hesaplanması:

Karaciğer Tc 99 m GSH uptake'i için denekler arasındaki vücut ağırlığından doğan farkları ekarte etmek amacı ile karaciğerde tutulan aktivite, verilen aktivitenin %'si olarak hesaplandı.

Karaciğer aktivite tutuş %'si = Karaciğer uptake'i / Verilen net aktivite x 100x2*

(*Tc 99m GSH yarı ömrü 6 saat olduğu için bulunan değer 2 ile çarpıldı.) Karaciğerler arası ağırlık farklarını ekarte etmek için de karaciğer aktivite tutuş %'si, karaciğer ağırlığına bölünerek 1 gm karaciğer dokusu tarafından tutulan aktivite miktarı hesaplandı.

Karaciğer aktivite tutuş %'si / Karaciğer ağırlığı = % aktivite tutuş / 1 gm karaciğer.

İstatistik Analiz: Gruplar arasındaki karaciğer fonksiyon testleri için Mann Whitney U testi, karaciğer GSH uptake'i için Student T testi kullanıldı.

SONUÇLAR

Sonuçlar Tablo I-II'de özetlenmiştir. Karaciğer fonksiyon testleri için uygulanan Mann Whitney U testine göre T. Bilirubin ve GGT yönünden her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

SGOT: Gruplar arasında anlamlı fark mevcut (p<0.05).

SGPT: Gruplar arasında anlamlı fark mevcut (p<0.05).

LDH: Gruplar arasında ileri derecede anlamlı fark mevcut (p<0.01).

Tablo II. de özetlenen karaciğer GSH uptake'leri ile ilgili olarak yapılan Student T testi sonuçlarına göre: Ortalama karaciğer ağırlıkları, verilen total dozlar, karaciğerde tutulan miktarlar, 1 gm karaciğerde tutulan miktar ve verilen dozun karaciğerde tutulma %'leri arasında anlamlı fark bulunamadı.

Tablo I: Gruplar arasındaki karaciğer fonksiyon testlerinin ortalama değerleri.

Gruplar	T. Bilirubin	SGOT	SGPT	LDH	GGT
Grup I Sham op. Kontrol	0.50±0.03	376.3±35.5	72.6±5.6	1747±133	6.80±1.01
Grup II SEPSİS	0.74±0.08	402±52.1	84.1±15.6	3943±198	8.5±1.07

Tablo II: Gruplar arasındaki ortalama karaciğer ağırlıkları ve ortalama Tc 99 m GSH verileri.

Gruplar	KC ağırlığı (Gr)	Verilen total doz (count)	KC'de tutulan miktar (count)	1 gr KC'de tutulan miktar	GGT
Grup I Sham op. Kontrol	3.38±0.2	466.9±46.6	5.6±0.6	1.7±0.1	1.3±0.08
Grup II SEPSİS	3.23±0.2	488.2±32.7	5.9±0.6	1.9±0.3	1.2±0.09

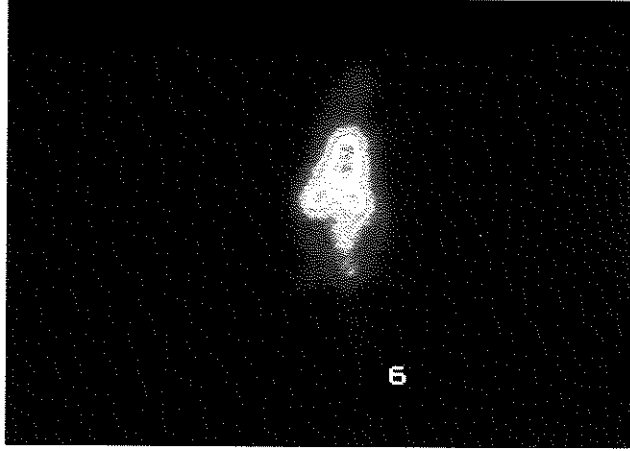
TARTIŞMA

Sepsis; antibiyotikler, beslenme desteği ve agresif cerrahi işlemlere rağmen günümüzde halen cerrahi hastalıklar arasında mortalitenin en büyük nedenidir. Sepsis patogenezinde serbest oksijen radikallerinin büyük bir rol oynadığı da ayrı bir gerçektir (6,7,8).

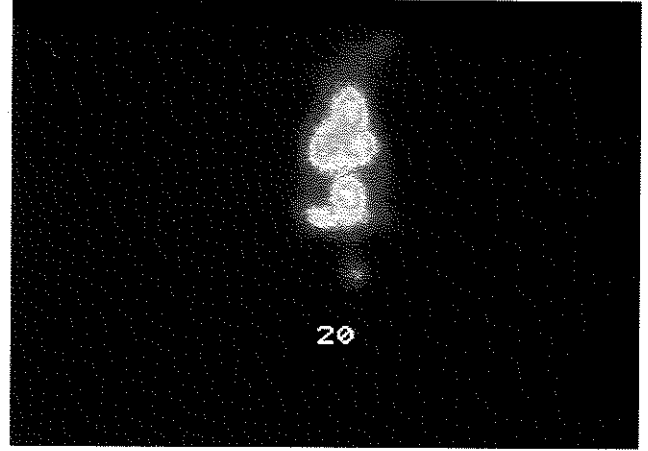
GSH; glutamate, cysteine ve glycine içeren bir tripeptid olup antioksidan defansın önemli bir parçasıdır (9). GSH vücuttaki tüm dokularla birlikte en çok da karaciğerde bulunmakta ve deneysel travma ve şok modellerinde gösterildiği gibi anlamlı derecede depresyona uğramaktadır (10). Yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ki; birçok değişik kaynaktan gelen oksidize ajanlar GSH tarafından indirgenmekte ve bu şekilde hepatic GSH tüketimi artmaktadır (11).

Biz de bu çalışmamızda daha kantitatif bir yöntem olarak septik deneklere Tc 99 m ile işaretli GSH vererek bunun hepatic uptake'ini hesapladık. Sepsiste tüketimi artan ve düzeyleri düşen GSH'nin hepatic uptake'inin artması gerekir diye düşündük. Bu şekilde sepsisin prognozu ve yapılan sağaltımın etkinliğini sintigrafik olarak görüntülemeyi hedefledik. Literatürde böyle bir çalışmaya rastlamadık. Ancak elde ettiğimiz sonuçlar sepsiste GSH uptake sintigrafisinin klinikte yararlı bir yöntem

Resim I. Birinci gruba ait bir denekte tüm vücut Tc 99 m GSH sintigrafisi.



Resim II. İkinci gruba ait bir denekte tüm vücut Tc 99 m GSH sintigrafisi.



olmasından uzak bulundu. Bu durumu; hepatositlerin oksidatif yaralanması, GSH tüketimini artırırken uptake yeteneğini de azaltıyor şeklinde yorumladık.

24 Saatin üzerindeki çalışmalarda, dehidrasyon ve açlık gibi GSH düzeylerini değiştirebilecek diğer etkenler devreye girmekte ve bunların yorumunu zorlaştırmaktadır (11,12). Bu yüzden biz de çalışmamızı çekal ligasyon ve perforasyondan 24 saat sonra yaptık.

Sonuç olarak denilebilir ki; sepsiste karaciğer GSH uptake sintigrafisi klinik değerlendirmede tartışılmalı ve diğer prognostik verilerle birlikte ele alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Von Allmen D, Li S, Hasselgren PO, Fischer JE. Effect of ischemia on protein synthesis in the septic liver. *Surg. Gynecol and Obst.* 1991;172:441-447.
2. Hong RW, Rounds JD, Helton WS, Robinson MK and Wilmore DW. Glutamine preserves liver glutathione after hepatic injury. *Ann Surg.* 1992; 215 (2):114-119.
3. Robinson MK et al. Glutathione depletion in rats impairs T cell and macrophage immune function. *Arch Surg.* 1993; 128:29-35.
4. Chaudry IH, Wichterman KA, Baue AE. Effect of sepsis on tissue adenine nucleotid levels. *Surg* 1979, 85:205-11.
5. Duman Y et al. Clinical evaluation of metastase of

malignant melanoma imaging with Tc 99m GSH and Tc 99 m - and Tc 99 antimelanoma antibody: comperative study. Nucl Med Com 1995

6. Kraft R, Ruchti C, Turkhardt A, Cottier H. Pathogenetic principles in the development of gut-derived infectious-toxic shock (GITS) and multiple organ failure. *Cur Stud Hematol Blood Tranfus* 1992, 59:204-240.
7. Lundsgaard HP, Blauhut B. Markers and mediators in enterogenic infectious-toxic shock. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1992; 59: 163-203.
8. Hampton WA, Townsend MC, Haybron DM, Shirmer WJ, Fry DE. Effective hepatic blood flow and hepatic bioenergy status in murine peritonitis. *J Surg Res.* 1987, 42:33,38.
9. Robinson MK, Hong RW, Rounds JD, Jacobs DO, Wilmore DW. Glutathione depletion enhances bacterial translocation and alters immunologic status. *Surg Forum*, 1991; 42:65-67.
10. Keller GA, Barke R, Harty JT, Humphrey E, Simmons RL. Decreased hepatic glutathione levels in septic shock. *Arch Surg.* 1985, 120:941-945.
11. Sugino K, Dohi K, Yamada K, Kawasaki T. Changes in the levels of endogenous antioxidants in the liver of mice with experimental endotoxemia and the protective effects of the antioxidants. *Surg.* 1988;105(2):200-206.
12. Leaf G, Neuberger A. The effect of diet on the glutathione content of the liver. *Biochemistry* 1947; 41: 280-287.