

Karaciğer Transplantasyonunda İntraportal Prostasiklin İnfüzyonunun Karaciğer Glikojen Düzeyine Etkisi

The Effect of Intraportal Prostacyclin Infusion on Hepatic Glycogen Content in Liver Transplantation

Dr.Cumhur YEĞEN^{*}, Dr.A.Özdemir AKTAN^{*}, Dr.Ömer GÜNAL^{**}
Dr.İlhan ONARAN^{**}, Dr.Serap ARBAK^{***}, Dr.Rifat YALIN^{*}

ÖZET: İntraportal olarak infüze edilen glikozun domuz karaciğer glikojen içeriğini hızla arttırdığı gösterilmiştir. İyi beslenmiş deney hayvanlarından alınan karaciğerler soğuk iskemiden ileri gelen hasara daha iyi direnebilirler ve beslenme transplantasyon sonrası organ fonksiyonlarını olumlu yönde etkilemektedir. Prostasiklinlerin doku koruyucu özellikleri uzun zamandır bilinmekte olup karaciğer mikrosirkülasyonunu düzenleyici özellikleri de bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı donör operasyonu sırasında portal yoldan verilen glikoz (grup 1) ve glikoz + prostasiklinin (grup 2) karaciğer glikojen düzeyinde nasıl bir etki yapacağını araştırmaktır. Standart karaciğer transplantasyonu operasyonu grup 1'de 3 grup 2'de 4 domuzda tamamlanmıştır. İşlem sırasında 4 ayrı karaciğer biopsisi alınmış glikojen içerikleri ve histolojik değerlendirilmesi yapılmıştır. Bulgular değerlendirildiğinde karaciğer glikojen değerlerinin grup 2'de, grup 1'e kıyasla daha yüksek olduğu ve operasyon boyunca yüksek kalmaya devam ettiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak glikoz + prostasiklin infüzyonunun donör karaciğerinin glikojenizasyonu için yararlı bir yol olduğu ve bunun transplant fonksiyonlarını etkileyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer transplantasyonu, Glikojen, Prostasiklin

SUMMARY: It was demonstrated that glycogen stores could be rapidly repleted in pig by intraportal infusions of glucose and prostacyclin during donor operation. Livers from nutritionally repleted animals are less susceptible to injury originating from cold ischemia and this may also improve the posttransplant initial function. Prostacyclins have long been known as a cytoprotector and they can regulate the hepatic microcirculation. The aim of this study is to determine whether the infusion of prostacyclin and glucose have synergistic action on hepatic glycogen content. Two

YAZIŞMA ADRESİ: Cumhur YEĞEN

Marmara Üniversitesi Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı,
81190 Altunizade, İSTANBUL

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
* Genel Cerrahi Anabilim Dalı,
** Biyokimya Anabilim Dalı,
*** Histoloji Anabilim Dalı,
İSTANBUL

groups of pig were replenished nutritionally either glucose (group 1) or glucose + prostacycline (group 2) by portal route during donor operation. Hepatic glycogen content was found to be significantly increased in group 2 when compared with group 1, and values were maintained higher during the operative procedure.

It is concluded that glucose and prostacyclin infusions may be useful for the glycogenisation of donor liver and may improve the outcome of transplantation.

Key Words: Liver transplantation, Glycogen, Prostacyclin

Karaciğer transplantasyonunda allogreftin fonksiyon göstermemesi klinikte karşılaşılan en önemli problemlerden biridir. Tekrar transplantasyon ile tedavi edilebilen bu durum klinikte %5-10 oranında görülmektedir.¹ Organ donörleri genellikle yoğun bakımdaki tedavileri sırasında çok az besinsel destek alırlar ve bu dönemde karaciğerin bütün glikojen depoları boşalır. İntrasek enerji kaynakları tükenmiş bir karaciğerin transplantasyonun metabolik stresine dayanma gücü göstereceği ve hipoksiye karşı artmış bir hassasiyet içine gireceği bildirilmiştir.²

Yapılan hayvan deneyleri ile besin desteği sağlandığı ortamlarda karaciğer transplantasyonlarının fonksiyonlarının daha başarılı olduğu gösterilmiştir.³ İntraportal olarak infüze edilen yüksek konsantrasyondaki glikozun karaciğerde glikojen olarak depolandığı ve bu glikojenin operas-

yon sürecinde giderek azaldığı, ancak glikojenize edilmiş olan bu organların başlangıç fonksiyonlarının daha iyi ve iskemiye daha dirençli olduğu hem deneysel hem de insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir.⁴

Evvelce yapmış olduğumuz pankreas adacık hücresi transplantasyonlarında stabil bir prostasiklin analogu olan İloprost'un⁵ sitoprotektif etkisinin yanında insülin sekresyonu da stimüle edici etkilerinin olduğunu tespit etmiştik. Yine prostasiklin, konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda hiperglisemi geliştiği^{6,7} bildirilmiştir. Bu bilgilere dayanarak planlanan bu deneysel çalışmada donör cerrahisi sırasında vena portadan infüze edilen glikoz ve prostasiklin analogu olan İloprost'un (ZK 36374) karaciğer glikojen düzeyine olan etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada ağırlıkları 30-35 kg olan çiftlik domuzları kullanıldı. Her domuz operasyondan 48 saat önce aç bırakıldı ve sadece su içmelerine izin verildi. Cerrahi işlemlerin tümü genel anestezi altında ve steril koşullarda gerçekleştirildi.

Solüsyonun hazırlanışı:

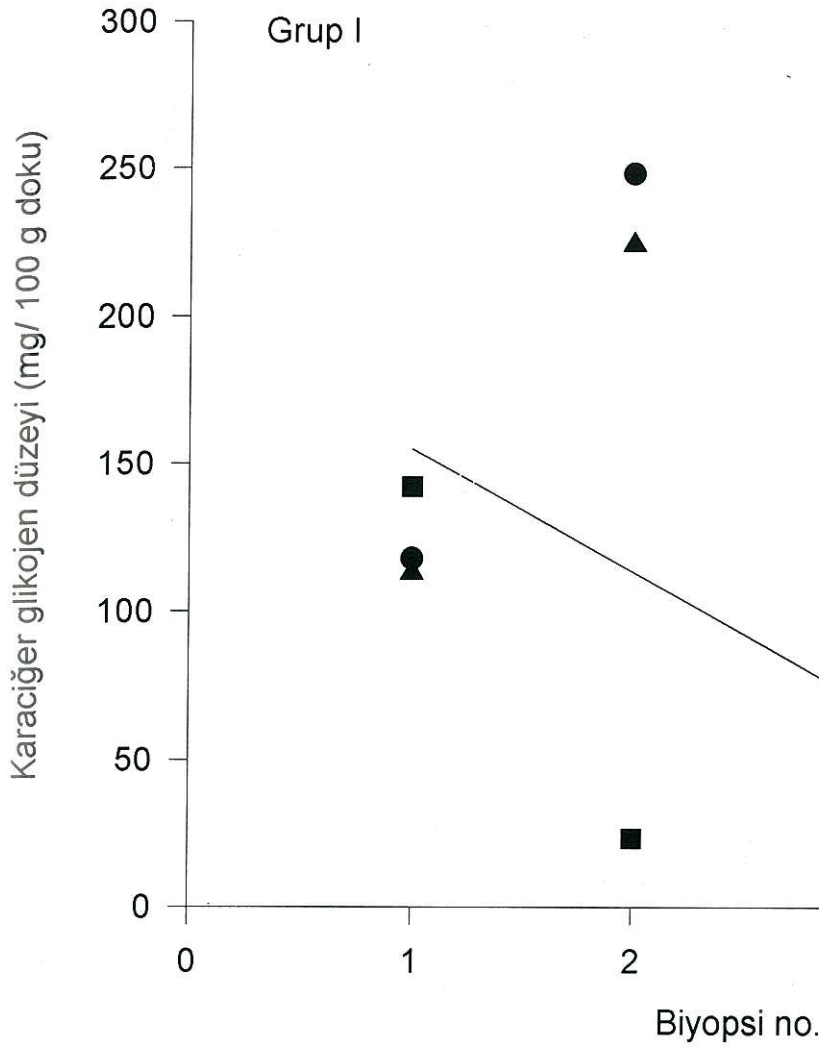
1 lt %20 Dekstroz solüsyonuna 20mEq Kcl ve 100U İnsülin (Humulin)[®] ilave edilerek hazırlanan stok solüsyon 1. grubun (n=3) infüzyon solüsyonu olarak kullanıldı. 2. grup (n=4) da ise stok solüsyona 5 (gr/ml İloprost (ZK 36374) ilave edildi. Her iki solüsyonda donör operasyonu sırasında 5 ml/kg/60 dak. hızda dalak veninden infüze edildi.

Transplantasyonun yapılışı:

Verici: Genel anestezi uygulanacak domuzlarda premedikasyon için 10 mg/kg Ketamin Hidroklorür intraperitoneal olarak verildi. Daha sonra kulak veni kanüle edilerek propofol (3.5 mg/kg) ile anestezinin devamı sağlandı. İntratrakeal olarak entübe edilerek ventilatöre bağlanan domuzlarda anestezi süresince 20 ml/kg tidal volüm ve 18/dak. solunum sayısı ile %100 oksijen solutuldu. Orta hat kesisi sağa doğru transvers olarak uzatıldı ve ekartörler yerleştirildikten sonra 1. karaciğer biopsisi alındı. Dalak veni buluna-

rak No:8 beslenme tübü ile kanüle edildi ve infüzyon sistemi ile bağlantısı sağlandı. Bu aşamada infüzyon başlatıldı. Daha sonra sırasıyla inferior vena kava, portal ven, hepatik arter bulunarak disseke edildi. Mümkün olduğunca karaciğerden uzak olarak yapılan hepatoduodenal ligaman disseksiyonu sırasında koledok duodenumu yakın olarak kesildi. En son supra hepatik vena kava hazırlığı yapıldı, diyafragmaya olan yan dalları bu sırada bağlandı. Karaciğer perfüzyonu için hazırlık amacıyla infrarenal aorta No:1 beslenme kateteri ile kanüle edildi. Solüsyon infüzyonu için kullanılan kateter portal ven perfüzyonu için kullanılmak üzere perfüzyon sistemine bağlandı. Perfüzyon için, içinde 10.000 Ü Heparin ve 100 mg Prednisolon bulunan 2lt Ringer Laktat solüsyonu kullanıldı. Diyafragma açılarak aortaya klemp konuldu aynı anda 1Ü arteriyel kan alımını takiben perfüzyon başlatıldı. Karaciğerin etrafı bullarla kaplandı ve suprahepatik vena kava kesilerek perfüzyon sıvısının serbestçe akması sağlandı. Karaciğer tam olarak perfüze edildikten sonra vasküler pediküller dikkatle kesilerek yerinden çıkarıldı. Bu aşamada 2. karaciğer biopsisi alındı. Buzlu serum fizyolojik üzerinde muhafaza edilirken damar üzerinde adventisya temizliği yapıldı ve anastomoz için hazır hale getirildi.

Alıcı: Verici operasyonu için yapılan hazırlığı aynı tamamlandıktan sonra sıvı tedavisi monitorizasyon ve venöz bypass için sağ (No:8 beslenme kanülü) ve sol juguler ven (Swan Ganz kateteri), sağ femoral ven (No:10 beslenme kanülü) ve sol karotis arteri kanüle edildi. Alıcının monitorizasyonunda arteriyel tansiyon, kalp atım hızı, pulmoner arter basıncı, pulmoner kapiller wedge basıncı, oksijen saturasyonu, solunum sayısı ve tidal sonu karbondioksit basıncı, kan gazı, hematokrit ve elektrolit değerleri kullanıldı. İmmunosupresif olarak 2mg/kg Cyclosporin-A ve 10 mg/kg Prednisolon intravenöz olarak verildi. Damar disseksiyonları mümkün olduğunca karaciğere yakın olması haricinde benzer cerrahi işlem alıcı üzerinde tekrarlandı. Karaciğer yerinden çıkarılmadan önce femoral ven yoluyla inferior vena kavaya yerleştirilmiş olan kateter ile sağ juguler vena arasında venöz bypass işlemi başlatıldı. Hepatektomiyi takiben portal ven kanülü (No:10 beslenme



ŞEKİL 1: Grup I'deki (glukoz) karaciğer glikojen değerlerinin infüzyon sonrası dağılımı

kanülü) de by pass sistemine bağlandı. Suprahepatik vena kava anastomozu 4.0 prolen ile intima intimaya gelecek şekilde tamamlandı, sonra portal ven kanülü çıkarılıp 5.0 prolen ile alıcı portasıyla anastomoz yapıldı. Portal ven klempini açılıp karaciğerin hemen perfüze olması sağlandı, bu aşamada 3. karaciğer biopsisi alındı. Daha sonra infra hepatic vena kava anastomozu 4.0 prolen ile tamamlandı ve by pass sonlandırıldı. 6.0 prolen ile hepatic arter anastomozu, 4.0 vikril ile koledokokoledostomi anastomozu tamamlandı. Portal perfüzyonun 1. saatinde 4. karaciğer biopsisi alındı.

Karaciğer biopsileri derin dondurucuda glikojen içeriği tayini için saklandı, ayrıca her parçadan PAS boyaması yapmak üzere birer parça formalin içine alındı.

Glikojen içeriğinin ölçümü:

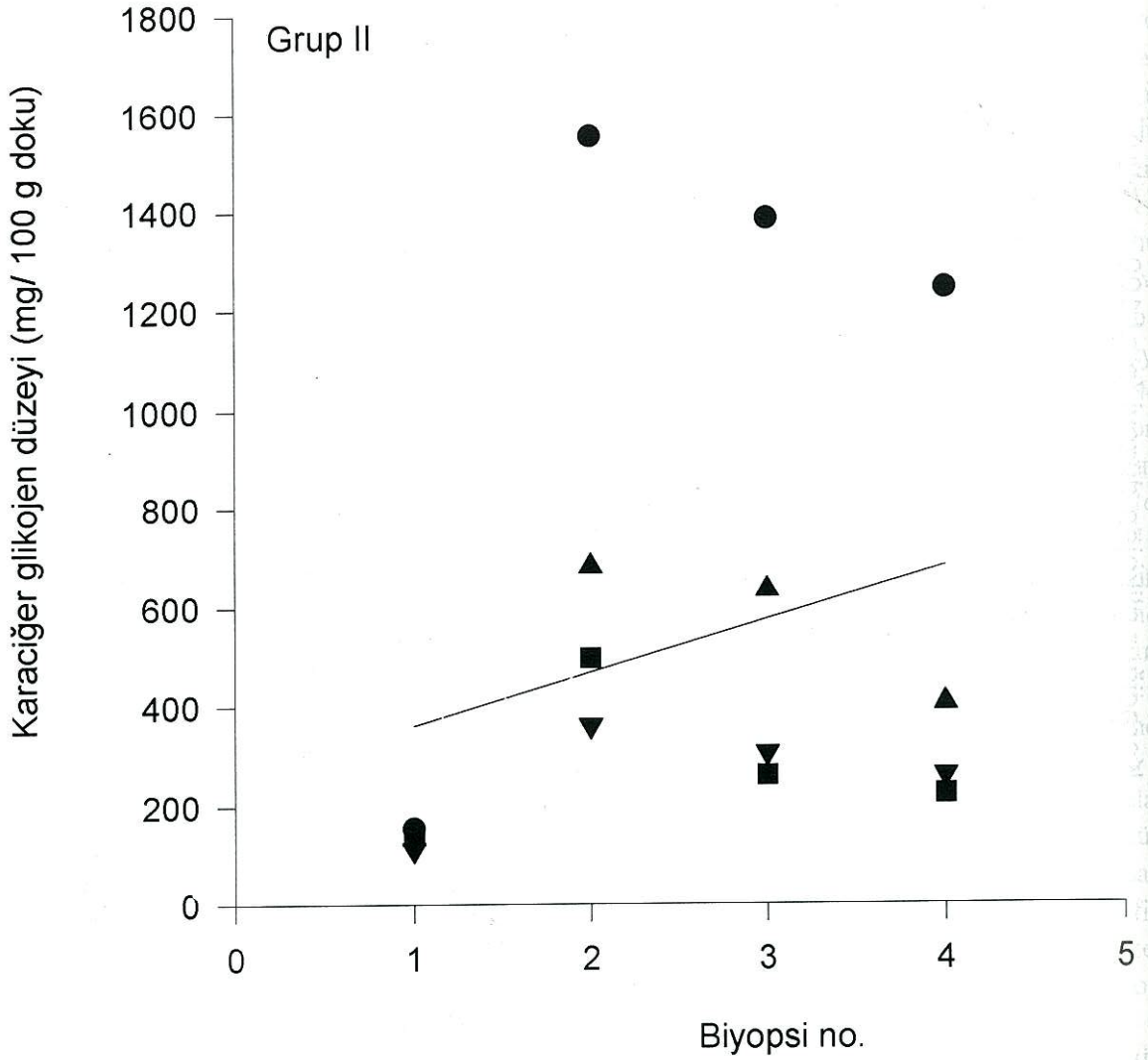
Karaciğer glikojen düzeyleri Carrol ve ark. tara-

findan tanımlanan yöntemle tayin edildi.⁸ Karaciğer dokusu tartıldıktan sonra 5 hacim soğuk 0.1M sodyum fosfat tamponu, pH 7.4 ile homojenize edildi. Homojenattan 1ml alındı üzerine 1ml %4'lük sulfosalisilik asit eklendi, karıştırıldı, 20 dakikada 1000xg'de santrifüj edildi. Süpernatandan 0.2ml alındı 5 ml antrol ayracı (%0.05 antron, %1 tiyoüre %72 sülfirik asit içinde) ile karıştırıldı. Kaynar su banyosunda 15 dakika bekletildikten sonra oluşan renk 620nm dalga boyunda okundu. Glukoz standartı kullanılarak sonuçlar mg/100gr doku olarak ifade edildi.

İstatistiksel analiz için Student-t testi kullanıldı. Standart hatalar SEM olarak gösterildi.

SONUÇLAR

Karaciğer transplantasyonu işlemi 1. grupta 3, 2. grupta 4 domuzda tamamlanmıştır. İşlem sı-

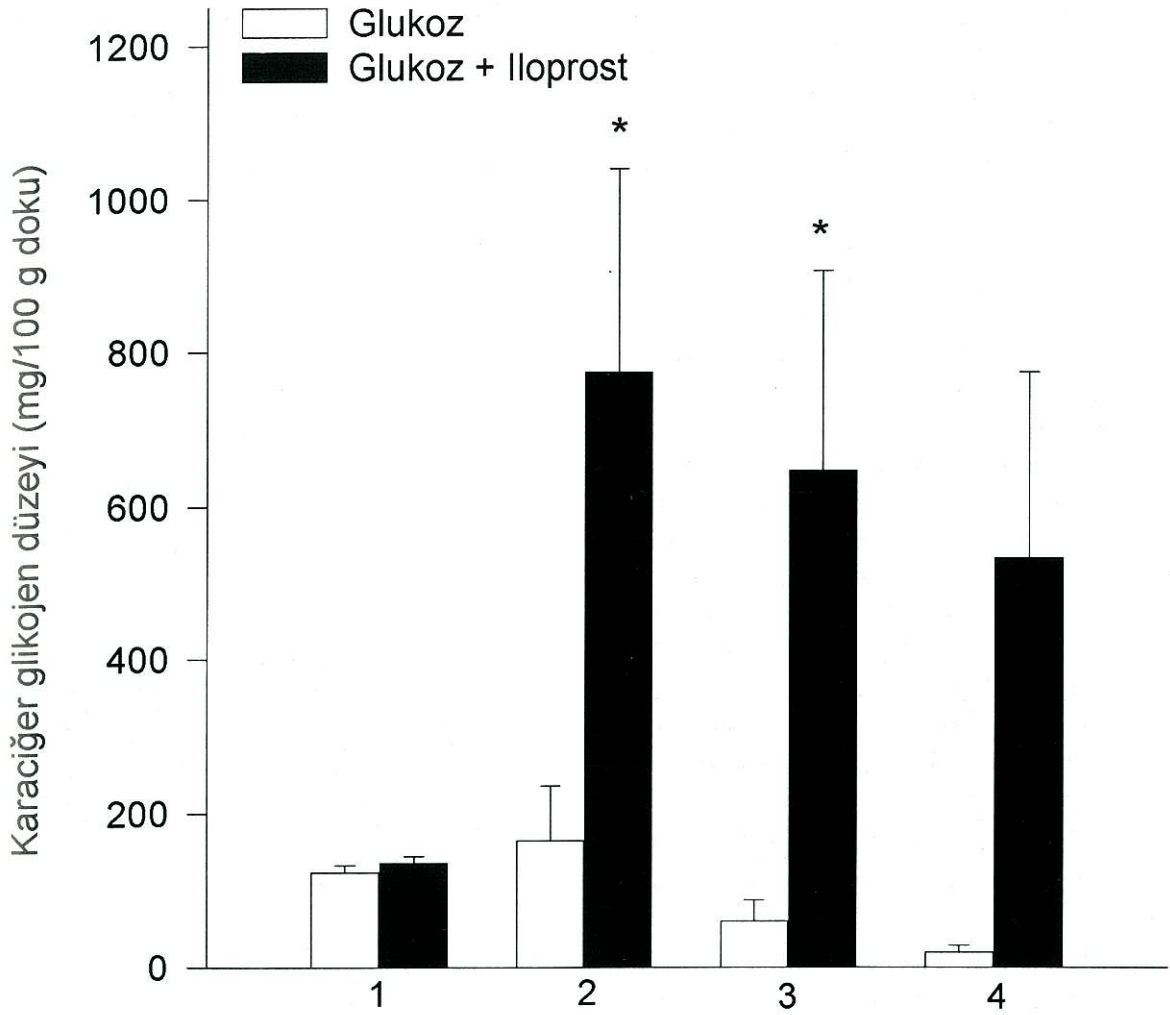


ŞEKİL 2: Grup 2'deki (glikoz + prostasiklin) karaciğer glikojen değerlerinin infüzyon sonrası dağılımı

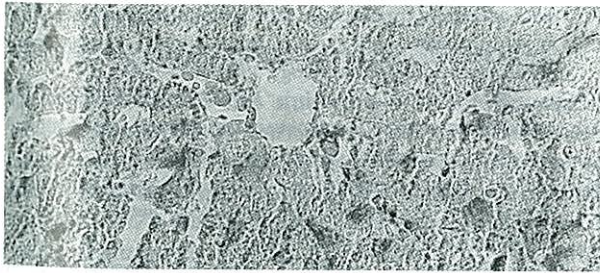
rasında her domuz için bir ünite allojenik kan transfüzyonu ve 500 cc/saat kristaloid solüsyonu resüsitasyon amacıyla kullanılmıştır. Her iki grupta gerçekleştirilen transplantasyonlarda sıcak ve soğuk iske mi zamanları arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Soğuk iske mi süresi ortalama 40 dakika iken sıcak iske mi süresi ortalama 90 dakikadır. İnfüzyon protokolünün gerçekleştirildiği verici operasyon süresi de her iki grup için hemen hemen aynı olmuş ve ortalama 80 dakika sürmüştür. Her iki grubun alınan karaciğer örneklerindeki glikojen içerikleri incelendiğinde 1 numaralı biopsi örneklerinin ortalama glikojen değerleri arasında fark bulunmadığı (grup 1'de 124 ± 8 mg/100g doku, grup 2'de 136 ± 9 mg/100gr doku), glikoz ve glikoz + iloprost infüzyonu yapılan gruplarda 2 numaralı biopsilerde glikojen içeriklerinin 1. biopsilerden önemli olarak yüksek bulunduğu (grup 1'de 165 ± 71

mg/100g doku, grup 2'de 773 ± 267 mg/100gr doku; $p=0.05$), soğuk iske miye maruz kaldıkları süreç içinde glikojen konsantrasyonlarının fazla azalma gösterdikleri (grup 1'de 61 ± 27 mg/100gr doku, grup 2'de 646 ± 25 mg/100gr doku; $p=0.05$) tespit edildi (Şekil ve 2).

Yalnız glikoz infüze edilen grubun reperfüzyon sonrası glikojen değerleri 1. biopsileri ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük kaldıkları gözlenirken glikoz + iloprost alan grubun glikojen değerlerinin 1. biopsi glikojen değerlerinden her zaman yüksek kaldıkları görüldü. Reperfüzyon sonrası glikojen değerleri grup 1 için 20 ± 8 mg/100mg doku iken grup 2'de 533 ± 2 mg/100 mg doku olarak tespit edildi. Her iki grubun reperfüzyon sonrası glikojen değerleri arasında anlamlı olarak fark gözlenmedi (Şekil 3).



ŞEKİL 3: Deney gruplarındaki karaciğer glikojen değerlerinin kıyaslanması * $p=0.05$



RESİM 1: (100X)

Histolojik olarak yapılan incelemelerde glikojenin her iki gruptaki örneklerde de lobullerin tamamına yayılmış oldukları ve arada önemli bir farkın bulunmadığı tespit edildi (Resim 1). Yeni depolanmış olan glikojen daha fazla zon 1 ve 2'de yerleşmiş idi. Glikojenolizin başladığı soğuk iskemide ve reperfüzyon sonrası örneklerinde ise lobülün tamamında glikojende belirgin bir azalma olduğu tespit edildi.

TARTIŞMA

Evvelce yapılmış olan çalışmalarla iyi beslenmiş deney hayvanlarının karaciğer ATP düzeylerinin aç bırakılmış olanlara kıyasla daha yüksek kaldığı gösterilmiştir.^{3,9,10} Cywes ve ark.'nın çalışmalarında¹⁰ intraportal infüzyonun glikojen depolarını en hızla dolduran yol olduğu ortaya konulmuştur. İnsan donör karaciğerleri üzerinde yapılan ölçümlerde glikojenin transplantasyonun her aşamasında kullanıldığı, glikojen depolarının dışarıdan verilen glikoz ile doldurmanın mümkün olduğu ve bu glikojenin evvelce sentezlenmiş olan glikojenden daha elverişli olduğu tespit edilmiştir.⁴

Prostasiklinlerin organ preservasyonunda olumlu etkileri olduğu ve ayrıca prostasiklin içinde

preserve edilmiş olan karaciğerde glikojen konsantrasyonunun yükseldiği bilinmektedir.¹¹ Anhepatik fazda prostaglandin E1 ile tedavi edilmiş karaciğer transplantasyonu çalışmalarında anhepatik fazdaki uzamanın olumsuz etkilerinin ortadan kaldırdığı gösterilmiş, ayrıca sağkalım oranlarında belirgin yükselmeler yapabildiği gösterilmiştir.¹² Bu çalışmanın amacını da bu bilgiler oluşturmuş ve prostasiklinin intraportal infüzyonunun glikojen içeriği üzerine etkileri araştırılmıştır. Sadece glikoz infüze edilen grupta da karaciğer glikojeni belirgin olarak artmıştır. Bu durum daha evvelki yapılan çalışmalarla paralelizm göstermektedir. Ancak glikoz ile beraber prostasiklin infüzyonunun yapılması daha kalıcı bir glikojenizasyona sebep olmuştur. Vazodilatasyon lizozomal membran stabilizasyonu trombosit agregasyonunu engelleme splanknik kan akımında artış yaratma gibi biyolojik etkileri ile karaciğeri iskemik hasardan koruyabilen prostasiklinlerin bu kalıcı etkiyi de benzer özellikleri ile gerçekleştirmiş olabilecekleri düşünülmektedir. Karaciğer kan akımında meydana gelen artış¹² ve yine hemodinamik stabilizasyon glikojen depolanması üzerine olumlu etki göstermiş olabilir. Soğuk iskemi ve reperfüzyon sırasında glikojenin en fazla boşaldığı daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.⁴ Bu çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiş ancak prostasiklin infüze edilen grubun glikojen boşalmasına daha fazla direnebildiği tespit edilmiştir.

Bu bulgular histolojik analizlerde desteklenememiş ancak her iki grubun örneklerinin de PAS ile glikojen (+) olarak boyandığı tespit edilmiştir. Reperfüzyon sonrası alınan örneklerde de histolojik olarak glikojenin boşalmış olduğu yolda kuvvetli deliller elde edilememiştir.

Sonuç olarak ölçülen glikojen içeriklerinin kıyaslamaları yapıldığında grupların standart hatalarında yükseklik bu konuda çok iddialı yorumlarda bulunmayı engellemekle beraber glikoz ve prostasiklin ile glikojenize edilmiş olan karaciğer donör allogreftlerinin kullanıldığı transplantasyonların greft fonksiyonu üzerinde olumlu etkileri olabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Greig PD, Woolf GM, Sinclair SB: Treatment of primary liver graft nonfunction with prostaglandin E1. *Transplantation* 1989, 447-453.
2. Savier E, Lindert K, Lemasters JJ, Thurman RG: Liver transplantation depletes hepatic carbohydrate reserves and increases sensitivity to hypoxia (abstract). *Hepatology*, 1990, 864.
3. Astarcioglu I, Adam R, Gigou M: High levels of glycogen in the donor liver improve survival after liver transplantation in rats. *Transplantation Proceedings*, 1991, 2465-2466.
4. Cywes R, Greig PD, Sanabria JR, Clavien PA, Levy GA, Harvey RC, Strasberg SM: Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation and outcome of liver transplantation. *Annals of Surgery*, 1992, 235-245.
5. Yeğen C, Aktan AÖ, Döşlüoğlu HH, Yalın R, Ercan S: The effect of iloprost on isolated and transplanted pancreatic islet cells. *Prostaglandins Leukotriens and Essential Fatty Acids* 1994, 257-262.
6. Zobertson PR: Prostaglandins. Glucose homeostasis and diabetes mellitus. *Medical Clinics of North America*, 1981, 759-772.
7. Ziegler O, Drouin P: Hemobiological activity of gliclazide in diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1991, 14 Suppl 2P S83-89.
8. Carrol NV, Longley RW, Roe JH: The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, 1956, 583-593.
9. Palombo JD, Hirschberg Y, Pomposelli JJ: Decreased loss of liver adenosine triphosphate during hypothermic preservation in rats pretreated with glucose: Implications for organ donor management. *Gastroenterology*, 1988, 1043-1049.
10. Cywes R, Clavien PA, Sanabria JR: Glycogen repletion and metabolism during porcine hepatic allograft retrieval and preservation (abstract). *Hepatology*, 1991, 574.
11. Araki H, Lefler: Cytoprotective actions of prostacyclin during hypoxia in the isolated perfused cat liver. *Annals of Physiological Society*, 1980, 176-185.
12. Xu HS, Rosentof KL, Pruet TL, Jones RS: Prostaglandin E1 increases survival with extended anhepatic phase during liver transplantation. *Annals of Surgery*, 1994, 53-58.