

Akut apandisitte plazma ve eritrosit süperoksit dismutaz aktiviteleri*

Uğur KOLTUKSUZ, Efsan UZ, Harun GÜRSOY, Mehmet DEMİRCAN, Mustafa AYDINÇ, Murat MUTUŞ, Selma ÇETİN, Abdurrahman KARAMAN, Ömer AKYOL

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ve Biyokimya Anabilim Dalları, Malatya

Özet

Serbest oksijen radikallerinin birçok inflamatuvar hastalığıdaki rolü iyi bilinmekle beraber karın içi iltihabi patolojilerde yeterince incelenmemiştir. Bu radikallerin akut apandisitte inflamasyon başladıktan sonraki seyrin mekanizmasında rolü olup olmadığını anlamak için, akut apandisit tanısıyla ameliyat ettiğimiz 18 hastadan ve 10 sağlıklı çocuktan kontrol amacıyla kan aldık. Bu kanların plazma ve eritrositlerini ayırdıktan sonra, her iki kompartmandaki süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri tayin edildi. Ayrıca hastalar apandisit intraoperatif muayene bulgusu ve histopatolojik sınıflaması ile paralel olarak, apandiksi perfore olan (n=8) ve perfore olmayan (n=10) olarak iki gruba ayrıldı. Bu iki grup arasındaki ve bu iki grup ile kontrol grubu arasındaki SOD aktiviteleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Apandisiti perfore olan ve perfore olmayan hastaların hem plazma hem de eritrosit, ortalama SOD aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendi (plazma 4.2 ± 1.7 ve 2.0 ± 0.7 U/ml, $p < 0.05$; eritrosit 1690.7 ± 799.6 ve 1104.2 ± 225.1 U/grHb, $p < 0.05$). Perfore olmayan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, perfore grup ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı bulundu (plazma 4.2 ± 1.7 ve 2.6 ± 0.9 U/ml, $p < 0.05$; eritrosit 1690.7 ± 799.6 ve 1148.8 ± 152.2 U/grHb, $p < 0.05$). Bu sonuçlara göre, inflamatuvar hadise sonrasında polimorfonükleer lökositlerden ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin, muhtemel başka faktörlerin de katkısıyla, akut apandisit seyrinde önemli rol oynayabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Akut apandisit, serbest oksijen radikalleri, süperoksit dismutaz

Summary

Erythrocyte and plasma superoxide dismutase activities in acute appendicitis

Although the role of oxygen free radicals in many inflammatory diseases has been well known, it has not been thoroughly investigated in the inflammatory diseases of the abdomen. In order to investigate the possible role of oxygen free radicals in the mechanism of progression following the onset of inflammation, blood samples from 18 patients diagnosed as acute appendicitis and 10 healthy children as controls were collected. After plasma and erythrocytes of the blood samples were separated, superoxide dismutase (SOD) activities were measured in these compartments. Additionally, the patients with appendicitis were divided into perforated (n=8), and nonperforated (n=10) subgroups, according to intraoperative examination findings and histopathological classification. SOD activities were compared statistically between these two groups, and the control group. A significant difference in SOD activity between perforated and nonperforated appendicitis in both plasma and erythrocyte was observed (plasma: 4.2 ± 1.7 and 2.0 ± 0.7 U/ml, $p < 0.05$; erythrocyte: 1690.7 ± 799.6 and 1104.2 ± 225.1 U/grHb, $p < 0.05$). The difference between the nonperforated group and control group was not significant, whereas there was a significant difference between the perforated and control groups (plasma: 4.2 ± 1.7 and 2.6 ± 0.9 U/ml, $p < 0.05$; erythrocyte: 1690.7 ± 799.6 and 1148.8 ± 152.2 U/grHb, $p < 0.05$). According to these results, we may speculate that free oxygen radicals released from polymorphonuclear leucocytes following an inflammatory condition may play an important role in the progression of acute appendicitis with the contribution of some other possible factors.

Key words: Acute appendicitis, oxygen free radicals, superoxide dismutase activity

Giriş

Akut apandisit oluşmasındaki mekanizmalar kısmen

anlaşılmış olmakla birlikte inflamasyon başladıktan sonraki seyir tam olarak aydınlatılamamış ve bu yönde yapılan çalışmaların çoğu morfolojik ya da fizyolojik yönde olmuştur^(1,2).

* XVI. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur (14-17 Ekim 1998, Antalya).
Adres: Dr. Uğur Koltuksuz, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, 44069-Malatya

Değişik inflamatuvar hastalıkların etyolojisinde oksijen radikallerinin rolü incelenmiş, fakat görebildi-

ğimiz kadarı ile iki çalışma dışında akut apandisit ve serbest oksijen radikalleri arasındaki ilişki yeterince incelenmemiştir (7,9).

Moleküler oksijen (O₂) vücutta yaygın olarak kullanıldığından en çok görülen radikal türleri serbest oksijen radikalleridir. Bunlar; süperoksit (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali (OH) ve singlet oksijendir (¹O₂). Bu radikaller fizyolojik şartlarda sürekli üretilip yokedilmekle birlikte, bazı patolojik durumlarda üretimleri artmakta ve /veya yokedilmeleri yavaşlamaktadır.

Organizmadaki bütün dokular kendilerini oksidatif sistemin zararlı etkilerinden korumak için bazı antioksidan enzimler içerirler. Bunlardan biri olan ve süperoksit radikalini H₂O₂ gibi O₂⁻ radikalinden daha az zararlı bir bileşiğe çeviren süperoksit dismutaz (SOD), bu dokulardaki antioksidan defans sisteminin bir göstergesidir (4).

Defans sisteminin devreye girmesinden bağımsız olarak hücre ortamında veya hücre dışı sıvıda üretilen serbest oksijen radikalleri membran yapılarını etkileyerek lipid peroksidasyonu oluştururlar (6). Bu olayın oluşması ve önlenmesinde rolü olan faktörlerin doku veya vücut sıvısı bazında belirlenmesinin tanısal açıdan büyük önemi vardır (5).

Buradan hareketle bu çalışmada; akut apandisitli hastalarda antioksidan defans sisteminin etkinliğini araştırmak için eritrosit ve plazma SOD aktiviteleri tesbit edildi.

Gereç ve Yöntem

Akut apandisit tanısıyla kliniğimize yatırılan 18 hasta çalışma grubunu, inguinal patolojileri nedeniyle başvuran 10 çocuk ise kontrol grubunu oluşturdu. Kontrol grubunu oluşturan çocuklardan ve bütün hastalardan, ailelerinden izin alınarak preoperatif rutin biyokimya ve hematoloji incelemeleri için örnek alınırken, bu çalışma için de heparinize tüplerine kan alındı.

Kan örnekleri 1500/dk devirle, +4° C'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra plazma ve eritrositler uygun yöntemlerle birbirinden ayrıldı. Plazma doğrudan SOD aktivite ölçümü için kullanıldı. Eritrosit

SOD aktivitesi ise, üzerindeki lökosit tabakası dikkatlice uzaklaştırılıp yıkama işlemi yapıldıktan sonra distile su ile hemoliz oluşturularak tayin edildi.

SOD aktivitesi, süperoksit jeneratörü olan ksantin-ksantin oksidaz sisteminin nitroblue tetrazoliumu indirgemesi üzerinden belirlendi (8). % 50 inhibisyon oluşturan enzim aktivitesi 1 ünite olarak kabul edildi. Sonuçlar eritrosit için U/grHb, plazma için U/ml şeklinde ifade edildi. Hastalara apandektomi uygulandıktan sonra, intraoperatif muayene bulguları ve histopatolojik sınıflaması ile paralel olarak apandiksi perfore olan (n=8) ve olmayan (n=10) olarak iki gruba ayrıldı.

İstatistik: Sonuçlar "ortalama±standart sapma" şeklinde ifade edildi ve gruplar Mann-Whitney U testi kullanılarak birbirleriyle karşılaştırıldı.

Bulgular

Kontrol grubunun ortalama SOD aktivitesi plazmada 2.6±0.9 U/ml, eritrositte 1148±152.2 U/grHb idi. Perfore apandisiti olan hastaların ortalama plazma SOD aktivitesi 4.2±1.7 U/ml bulunurken, apandisiti perfore olmayan hastaların ortalama plazma SOD aktivitesi 2.0±0.7 U/ml bulundu. Ortalama eritrosit SOD aktiviteleri ise apandisiti perfore olmayan grupta 1690±7±799.6 U/grHb bulunurken, perfore grupta 1104±225.1 U/grHb bulundu.

Her iki gruptaki hem plazma, hem de eritrosit ortalama SOD aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05 ve p<0.05). Hasta gruplarının enzim aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apandiksi perfore olmayan grupla kontrol hastaları arasında hem plazma hem de eritrosit SOD aktivitelerinde istatistiksel fark gözlenmezken, kontrol grubu ile perfore apandisitli hastaların enzim

Tablo I. Akut apandisitte plazma ve eritrosit SOD aktiviteleri

		SOD	
		Plazma (U/ml)	Eritrosit (U/grHb)
Kontrol		2.6±0.9	1148.0±152.2
Apandisit	Perfore olmayan	2.0±0.7	1104.0±225.1
	Perfore	4.2±1.7*	1690.0±799.6*

*p<0.05 (kontrol ve perfore olmayan gruplara göre).

aktiviteleri karşılaştırıldığında, hem plazma hem de eritrosit SOD aktivitelerine ait değerler arasındaki farklar anlamlıydı (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$) (Tablo I).

Tartışma

Organizmada dokular kendilerini oksidatif stresin etkilerinden korumak için birçok enzim ve enzim olmayan antioksidanlar bulundurlar. SOD bu enzimlerden biri olup bir aktif oksijen radikali olan süperoksit radikal süpürücüsü olarak iş görür⁽⁵⁾.

Akut apandisit klinikopatolojik olarak fokal, süpüratif, gangrenöz ve rüptüre apandisit olarak ayrılmakla birlikte, apandiksin gros olarak rüptüre olup olmadığı klinik açıdan önemlidir. Çocuklarda apandisitlerin genellikle 1/3 kadarı rüptüredir ve bu durum hastalığın mortalite ve morbiditesine önemli ölçüde etki eder⁽³⁾.

Apandisitler, genellikle süpürasyon safhası sonrası gangrenöz safhada perfore olurlar. Bu safhada, başlangıçta minimal olan inflamasyon üst düzeye erişir. Bu inflamasyon sırasında polimorfonükleer lökositlerin NADPH oksidaz enziminin etkisi ile moleküler oksijenden aktif oksijen ürettikleri iyi bilinmektedir.

Çalışmamızda perfore apandisitli hastaların hem plazma, hem de eritrosit SOD aktivitelerinin yüksek olması, dolaylı olarak aktif oksijen üretiminin yüksek olduğunu göstermektedir. İnflamasyonun düşük derecede olduğu, apandiksin henüz perfore olmadığı evrede ise her iki ortamdaki SOD aktivitesi düşük ya da normal düzeyde bulunmuştur.

SOD aktivitesinin perfore apandisitli hastalarda yüksek düzeylerde bulunması, apandiksin perfore olduğu gangrenöz safhada inflamasyonun ve nötrofil infiltrasyonunun yüksek düzeyde olduğunu göstermektedir. Satomi ve ark.⁽⁷⁾ yaptıkları çalışmada apandiks dokusundaki SOD aktivitesine bakmışlar ve gangrenöz apandisitli hastalarda enzim aktivitesinin yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Apandisitte olduğu gibi lökositler herhangi bir stimulusla uyarıldıklarında lizozomal içeriklerini dışarı vermeye başlarlar ve aynı zamanda zararsız oksijeni elektron transferiyle reaktif oksijen türlerine çevirir-

ler. Bunlar süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH) ve hipoklorid (HOCl) gibi halid oksidasyon ürünleridir⁽¹⁰⁾. Uyarı devam ettiği takdirde oluşan bu radikalik ürünleri lökositlerin kendi antioksidan sistemleri de uzaklaştırılmaz ve sonuçta membran yapısının bozulmasıyla hücre içeriği dış ortama geçer. Lökosit dışına çıkan reaktif oksijen türleri, bulunduğu dokudaki hücrelerde SOD aktivitesini artırabileceği gibi lökositlerin bol miktarda parçalanmasıyla hücreler arası sıvıya ve dolayısıyla plazmaya SOD enzimi katkısı olabilmektedir.

Bizim düşüncemiz her iki olayın ortak şekilde gelişmesiyle hem hücre içi, hem de hücre dışı ortamda SOD aktivitesinin arttığı yönündedir. Dolayısıyla elde ettiğimiz sonuçlar temelde Satomi ve ark. sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Apandisitte gangrenöz safhada yükselen aktif oksijen ürünleri lipid peroksidasyonuna ve diğer moleküller üzerinde yıkıcı etkilere yol açmaktadır. Organizma, aktif oksijeni ortadan kaldırmak için SOD aktivitesini yükselterek dokuları aktif oksijenin toksik etkisinden korumaya çalışmaktadır. Yüksek SOD aktivitesi ve apandiksin perfore olduğu gangrenöz evrede apandikte belirgin nötrofil infiltrasyonunu olması, aktif oksijenin inflamasyonun seyrinde rol oynadığını göstermektedir.

Sonuç olarak, akut apandisitteki inflamatuvar hadise sonrasında polimorfonükleer lökositlerden ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin antioksidan sistemi aktive ettiğini söyleyebiliriz. Organizma bu radikallerin zararlı etkilerini önlemek için hücrenel olarak SOD enziminin miktarını ve/veya aktivitesini artırmaktadır. Klinik enzimoloji açısından, belli bir grup hücrede meydana gelen spesifik bir enzim artışı neticede ekstrasellüler sıvıya ve dolayısıyla plazmaya yansiyacaktır.

Bu bilgilerin ışığında akut apandisitte plazma ve eritrosit SOD aktivitelerinin ölçülmesinin akut apandisitinin seyrinin takibinde yardımcı bir parametre olabileceğini düşünüyoruz.

Kaynaklar

1. Babekir AR, Devi N: Analysis of the pathology of 405

appendices. East Afr Med J 67:599, 1990

2. Chang AR: An analysis of the pathology of 3003 appendices. Aust N Z J Surg 51:169, 1981

3. Claud DT: Appendicitis, in Ashcraft KW, Holder TM (eds). Pediatric Surgery. Philadelphia, Pennsylvania, WB Saunders, 1993; p.470

4. Halliwell B, Gutteridge JM: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J 219:1, 1984

5. McLord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). J Biol Chem 214:6049, 1969

6. Sakuma N, Iwata S, Hibino T, et al: Effects of vitamin C and vitamin E on plasma levels of lipid hydroperoxides

and thiobarbituric acid reactive substance in humans. Curr Ther Res 58:317, 1997

7. Satomi A, Hashimoto T, Murakami S, et al: Tissue superoxide dismutase (SOD) activity and immunohistochemical staining in acute appendicitis: correlation with degree of inflammation. J Gastroenterol 31:639, 1996

8. Sun Y, Oberley LW, Li Y: A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem 34:497, 1988

9. Turan C, Küçükaydın N, Doğan P, et al: The effect of acute ligation of the rabbit appendix on antioxidant enzymes. Res Exp Med 196:45, 1996

10. Weiss SJ, LoBuglio AF: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. Lab Invest 47:5, 1982

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ XVI. GEVHER NESİBE TIP GÜNLERİ

I. DENEYSEL ve KLİNİK ARAŞTIRMA KONGRESİ & WORKSHOP'u

(Uluslararası katkı ile)
19-22 Mayıs 1998, Kayseri

Düzenleyen
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

Konular

- Deneysel araştırma etiği
- Deneysel araştırma yöntemleri
- Temel uygulamalar (anestezi, ötonazi, kateterizasyon vb.)
- Fetal cerrahi
- Embriyo ve doku kültürü

Yazışma adresi

Doç. Dr. Hamit Okur, Erciyes Üniv. Tıp Fakültesi, Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi,
38039, Kayseri Tel: 0352 437 49 11 Fax: 0352 437 52 85
e-mail: hedekam@kaynet.com.tr Web site: www.kaynet.com.tr/hedekam