

Portal hipertansiyonun intestinal bariyer üzerine etkisi

Effect of portal hypertension on intestinal barrier

Portal Hipertansiyonda İntestinal Bariyer

Gökhan İÇÖZ¹, Pars TUNÇYÜREK², Rafet DİNÇ³, Murat ZEYTUNLU¹, Murat KILIÇ¹, Ömer ÖZÜTEMİZ⁴, Mustafa KORKUT¹, Murat ALKANAT⁵

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı¹, Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği², Aliğa Devlet Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği³, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı⁴, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı⁵

Giriş ve amaç: Portal hipertansiyon splanknik dolaşımda belirgin hemodinamik değişikliklere neden olmaktadır. Güçlü bir mediatör olan nitrik oksit fonksiyonel mukozal bütünlüğün korunmasına katkıda bulunmakla birlikte paradoks etki de gösterebilir. Çalışmamızın amacı portal ven daraltılması ile oluşturulan portal hipertansiyon sonucunda sindirim kanalında ortaya çıkan histopatolojik değişiklikleri incelemek; portal hipertansiyon ve nitrik oksit doku konsantrasyonunun bakteriyel translokasyon üzerine olan etkisini araştırmaktır. **Gereç ve yöntem:** Çalışmada kullanılan 20 adet erkek Wistar sıçanı iki gruba ayrıldı. Gruplardan birinin portal veni daraltıldı, diğer gruba sham operasyonu uygulandı. 12 hafta sonra deneklerin portal basınç ölçümü yapıldı. Nitrik oksit düzeyi ve histolojik inceleme için intestinal örnekler alındı. Mezenterik lenf nodu, karaciğer ve dalak kültürleri yapıldı. **Bulgular:** Portal ven daraltılan grupta venöz basınç (22.7 ± 5.7 cmH₂O) sham grubuna (10.4 ± 1.5 cmH₂O) göre anlamlı düzeyde farklı idi ($p < 0.05$). Ancak nitrik oksit düzeyi, bakteriyel translokasyon ve doku kültürleri yönünden gruplar arasında istatistiksel anlamda fark yoktu ($p > 0.05$). **Sonuç:** Portal ven daraltılmasına bağlı venöz basınç artışı sağlanmış, ancak deney sürecinde portal hipertansiyona bağlı intestinal bariyer etkilenmemiştir.

Anahtar sözcükler: Portal hipertansiyon, nitrik oksit, bakteriyel translokasyon.

Background and aims: Portal hypertension leads to considerable hemodynamic changes in the splanchnic circulation. Although nitric oxide may enhance functional mucosal continuity as a potent mediator, it may produce a paradoxical influence. The aim of the study was to assess the histopathologic changes in the digestive tract and evaluate the potential influence of portal hypertension on bacterial translocation together with the role of nitric oxide. **Materials and methods:** Twenty male Wistar rats used for the study were randomized into two groups. Portal vein constriction was performed in the first group while the second underwent Sham operation. Twelve weeks later portal venous pressures were registered. Intestinal samples were taken for nitric oxide levels and histological examinations. Liver, spleen, and mesenteric lymph node complex were harvested for cultures. **Results:** Portal venous pressures (22.7 ± 5.7 cmH₂O) were significantly higher in the constriction group compared with the sham operation group (10.4 ± 1.5 cmH₂O) ($p < 0.05$). However, there were no statistically significant differences in nitric oxide levels, bacterial translocation, and tissue cultures ($p > 0.05$). **Conclusions:** Increased portal venous pressure was obtained with constriction. Intestinal barrier was not significantly altered in our groups.

Key words: Portal hypertension, nitric oxide, bacterial translocation.

GİRİŞ

Portal hipertansiyon (PH) etyolojisinden bağımsız olarak splanknik dolaşımda belirgin hemodinamik değişikliklere neden olmaktadır. Kanama hastalığının seyrinde prognozu belirleyen en önemli parametre olmakla birlikte, gastrointestinal sistemde (GIS) hastalığın kronik seyrine bağlı mikrosirkülasyon bozuklukları ortaya çıkmakta, alta yatan hastalığın da katkısı ile lokal ve sistemik mediatörlerin etkileri belirginleşmektedir. PH'na bağlı gastropatiyi fizyolojik ve anatomik yönleri ile inceleyen çok sayıda çalışma vardır (1-3). Son yıllarda yapılan çalışmalar PH'na bağlı hiperdi-

namik dolaşım nedeni ile sindirim kanalında yaygın değişikliklerin ortaya çıktığını göstermiştir.

Konjestif enteropati portal sisteme venöz dönüşün azalmasına bağlı olduğu kadar, sistemik ve lokal etkili vazodilatörlere verilen yanıtta da bağlıdır (4). Nitrik oksit (NO) potent vazodilatör ve bakterisid etkisi ile mukozal bütünlüğün korunmasına katkıda bulunmakla birlikte, yüksek konsantrasyonlarda mukozal hasarlanmaya neden olmaktadır. NO konsantrasyonlarındaki

dengesizlik bakteriyel translokasyon ve spontan peritonit gelişimi ile ilişkili olabilir (5).

Çalışmamızın amacı portal ven daraltılması ile oluşturulan PH sonucunda sindirim kanalında ortaya çıkan histopatolojik değişiklikleri incelemek; PH ve NO doku konsantrasyonunun bakteriyel translokasyon üzerine olan etkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma yerel etik komite tarafından onaylanmış ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Denekler ve çalışmanın dizaynı:

Çalışmada ağırlıkları 280-350 g arasında değişen 20 adet erkek Wistar sıçanı kullanıldı. Kontrollü laboratuvar ortamına adaptasyon periyodunda sıçanlar bir hafta süreyle ayrı ayrı kafeslerde tutularak standart yem (Purina chow) ile beslendiler. Bir haftalık periyodun sonunda denekler portal venin daraltıldığı grup (PVD) ve sham grubu olarak randomize edilerek iki gruba ayrıldılar. Her iki grup 10 adet sıçandan oluşmaktaydı.

İlk operasyon:

Tüm deneklere intramusküler yoldan 10 mg/kg dozunda ketamin enjekte edildi ve orta hat laparotomisi uygulandı. PVD grubunda subhepatik alana ulaşılarak portal venin prehepatik kısmı, üst duodenopankreatik ven ile birleşim yerinin üzerinden disseke edilerek hazırlandı. Hepatik arter yaralanma ve bağlanma olasılığından kaçınmak için görülerek korundu. Portal venin kenarına 21F katater yerleştirildi. Portal ven ve katater birlikte 4-0 ipek ile bağlandı. Ardından katater çıkartıldı ve portal vende belirli kalibrasyonda bir darlığın olduğu gözlemlendi. İkinci gruba sham operasyonu uygulandı. Laparotominin ardından hepatoduodenal bölge disseke edilerek portal ven izole edildi. Operasyonların bitiminde karın tabakalarının kapatılmasının ardından denekler kafeslerine yerleştirildi.

İkinci operasyon:

İkinci laparotomiler 12 hafta sonra gerçekleştirildi. Portal venin prehepatik bölümü ortaya konuldu. Her sıçanda portal ven kanüle edilerek portal basınç cmH₂O olarak ölçüldü. Steril teknik kullanılarak lenf nodu örnekleri, karaciğer ve dalak çıkartıldı. İleum, asendan kolon ve sigmoid kolon-

dan 2'şer cm uzunluğunda örnekler alındı.

Histolojik inceleme:

Histolojik inceleme Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. İntestinal örneklerin luminal içeriği serum fizyolojik ile yıkandı. Örnekler %10 tamponlanmış formaldehit solüsyonu ile sabitlenip parafin bloklar içine gömüldü. 5 µm kalınlığında kesitler hazırlanarak standart hematoksilin-eosin ve PAS (periodik asid-Schiff) ile boyandı. İntestinal örneklerde mural kalınlığı belirlemek için mikroskopik inceleme yapıldı. Kesitler x10 ve x40 büyütmede ışık mikroskobu ile incelendi. Değerler µm cinsinden hesaplandı.

Bakteriyel translokasyon:

Santral mezenterik lenf nodu kompleksi, dalak ve karaciğer çıkartılarak mikrobiyolojik inceleme için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Çıkarılan doku örnekleri içerisinde 1 ml serum fizyolojik bulunan tüplere konularak homojenize edildi. Aerob ve anaerob bakteri kültürü için 0.1 ml süpernatant kullanıldı. Aerobik kültür için alınan örnekler 37°C'de 3 gün süre ile, anaerobik kültürler aynı ısıda bir hafta süreyle bekletildiler. Mikroorganizmaların tanımlanması için standart yöntemlerin yanısıra API sistemi de kullanıldı. Yaşayan bakteri sayısı koloni oluşturan ünite (KOU) olarak gr doku için hesaplandı. Koloni sayıları için logaritmik transformasyon uygulandı.

Doku nitrik oksid (NO) düzeyleri:

NO düzeyleri 2 cm uzunluğundaki ileal örneklerin analizi ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Eczacılık Fakültesi'nde hesaplandı. Örnekler Krebs solüsyonu içeren tüplere konularak soğuk ortamda korundular. Literatürde tanımlanan elektrokimyasal teknik ile ölçümler uygulandı.

İstatistik değerlendirme:

Gruplar arasındaki fark t-testi ve Mann-Whitney U testi ile araştırıldı, p değerinin 0,05 ten küçük olması anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Deney sürecinde ölüm olmadı. İlk operasyondan 12 hafta sonra PVD grubunda belirgin mezenterik venöz dilatasyon ve hepatofugal kollateral dolaşım olduğu gözlemlendi.

Portal ven basıncı:

Ortalama portal ven basıncı PVD grubu için 22.7 ± 5.7 cmH₂O, sham grubu için 10.4 ± 1.5 cmH₂O idi. Aradaki fark anlamlıydı ($p < 0,05$).

Histolojik inceleme:

Kesitlerin incelemesinde PVD grubunda submukozal venlerde belirgin dilatasyon gözlemlendi. İntestinal örneklerin duvar kalınlığı μm cinsinden hesaplandı (Tablo 1).

Tablo 1: İntestinal örneklerin duvar kalınlıkları.

Duvar kalınlığı (μm)	PVD	SHAM
Asendan kolon	$676.2 \pm 133 \mu\text{m}$	$734.1 \pm 192 \mu\text{m}$
Sigmoid kolon	$775.3 \pm 208 \mu\text{m}$	$907 \pm 192 \mu\text{m}$
İleum	$642.3 \pm 131 \mu\text{m}$	$633 \pm 119 \mu\text{m}$

Asendan kolon için PVD ve Sham grubunun duvar kalınlığı ortalamaları sırasıyla $676.2 \pm 133 \mu\text{m}$ ve $734.1 \pm 192 \mu\text{m}$ idi. PVD grubunun sigmoid kolon duvar kalınlığı $775.3 \pm 208 \mu\text{m}$, Sham grubunun $907.0 \pm 192 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü. İleal örneklerin incelemesinde PVD grubunda ortalama duvar kalınlığı $642.3 \pm 131 \mu\text{m}$, Sham grubunda $633.0 \pm 119 \mu\text{m}$ idi. İntestinal örneklerin duvar kalınlıkları arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Doku NO düzeyleri:

PVD grubunun ileal örneklerinde ölçülen ortalama NO düzeyi 18.4 ± 2.1 nanoamper, Sham grubunun 18.7 ± 1.0 nanoamper idi. Gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Bakteriyel translokasyon:

PVD ve Sham grubundaki birer ratın doku kültürlerinde üreme saptandı. PVD grubunda üreyen bakterinin E.coli, Sham grubunda üreyenin S. aureus olduğu görüldü. Bakteriyel translokasyon açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

TARTIŞMA

Kronik PH splanknik vasküler yapıların anatomisi ve gastrointestinal mikrosirkülasyon üzerinde belirgin değişikliklere yol açmaktadır. GIS'de PH nedeni ile ortaya çıkan anatomik ve fizyolojik değişiklikler hastalığın prognozunu olumsuz yönde etkilemektedir (4). Dolaşım fizyolojisinde ve anatomisinde ortaya çıkan değişiklikler ile hastalığın önde gelen belirtileri meydana gelmektedir.

Sistemik dolaşımında vazodilatatör yoğunluğu artmakta, mikrosirkülasyonda NO ve prostaglandinler gibi endotel kaynaklı lokal vazodilatatörlerin artışı klinik olarak anlamlı değişikliklerle sonuçlanan vazodilatasyona neden olmaktadır (6). Çalışmamızda PVD grubunda saptanan anlamlı portal venöz basınç yüksekliği ve makroskobik vazodilatasyon, portal venin daraltılmasına bağlıdır. Portal venin daraltılması sonrasında, mediyatörlerin öncelikle sistemik etkilerine bağlı olarak anjiogenezis ve vazodilatasyonda artış bildirilmiştir (7, 8).

NO'in fizyolojik seviyelerde bulunması farklı lokal şartlarda mukozal bütünlüğü korumakta ve desteklemektedir (9). İntrahepatik portal dolaşımın düzenlenmesinde de rol oynayan NO'in doku konsantrasyonunun düşük olması, GIS'de mukozal hasarlanma ile ilişkili bulunmuştur (10). Deneysel modellerde kronik PH'nun splanknik vasodilatasyon ve hiperdinamik dolaşım ortaya çıkardığı gösterilmiştir (11). Hiperdinamik dolaşımın patogenezi kesin olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, damar endotelinden kaynaklanan vazodilatatörlerin yoğunluğu artmakta, endojen vazokonstriktörlere verilen yanıt azalmaktadır. Güçlü vazodilatatör özelliği uzun zamandır bilinen NO'in mikrosirkülasyon üzerindeki etkisi belirgindir. PH'da NO sentezinin durdurulması ile mikrosirkülasyonun hemodinamik regülasyonu sağlanabilmiştir (7, 12, 13). Çalışmamızda grupların NO düzeyleri arasında anlamlı fark olmasına rağmen deneklerimizde portal ven basıncı artışına bağlı vasküler değişiklikler ortaya çıkmıştır. Çok düşük, anlık doku konsantrasyonlarında bile etkisi belirgin olan NO, PH'da diğer sistemik mediyatörler ile birlikte vazodilatasyon oluşturmaktadır (14, 15).

Lokal immünite ve intestinal bariyer üzerindeki etkileri tartışmalı olan NO, intestinal florada bulunan çeşitli mikroorganizmalara karşı bakterisid etki göstermektedir (16). Normal fizyolojik seviyelerde bulunduğu mukozal fonksiyonlar ve intestinal bariyer üzerinde olumlu etkisi görülen NO'in inhibisyonu ile intestinal permeabilitenin arttığı bildirilmiştir (17). İntestinal bariyer, pek çok etkenin biraraya gelmesi ile fonksiyon göstermektedir. İntestinal flora bakterilerinin olağandışı çoğalması ve mukozal bütünlüğün bozulması, bakteriyel translokasyonun ortaya çıkmasını kolaylaştırmaktadır (18). NO düşük doku düzeylerinde mukozal kan akımını artırarak ve bakterisid etkili reaktif nitrojen metabolitleri ortaya çıkararak

mukozal bütünlüğü desteklemektedir. NO üretiminin arttığı durumlarda etki tersine dönmekte, epitel hasarlanmasına bağlı intestinal bariyer fonksiyonlarında bozulma olmaktadır (5).

PVD grubunda portal hipertansiyona bağlı morfolojik etkiler ortaya çıkmıştır, ancak gruplar arasında bakteriyel translokasyon açısından fark yoktur. Çalışmamız portal ven daraltılması ile oluşturulan PH'nun, tek başına bakteriyel translokasyon için risk oluşturmadığı yönündeki görüşü desteklemektedir. PH'nun tek başına bakteriyel translokasyona neden olmadığı bildirilmekle birlikte, karaciğer yetmezliğinin eşlik ettiği durumlarda dolaşımda artan vazodilatörlerin yol açtığı vasküler konjesyonun da etkisi ile intestinal

permeabilitede artış gözlenmektedir (19). PVD grubunda histolojik incelemede belirgin vazodilatasyon saptanmış olmasına rağmen, gruplar arasında mukozal morfometri yönünden fark yoktur. PH'da kronik dolaşım bozukluğu ile submukozal vasküler dilatasyon zaman içinde mukozal atrofi ve intestinal bariyer permeabilitesinde artış ile sonuçlanabilir (3, 20).

Oluşturduğumuz PH modelinde portal ven daraltılmasına bağlı venöz basınç artışı sağlanmış, ancak Sham grubu ile PVD grubu arasında lokal NO konsantrasyonu ve mukozal morfometri, bakteriyel translokasyon yönünden fark oluşmamıştır. Deney sürecinde PH'na bağlı intestinal bariyerin etkilenmediği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. McCormack TT, Sims J, Eyre Brook I, et al. Gastric lesions in portal hypertension: Inflammatory gastritis or congestive gastropathy? *Gut* 1985; 26: 1226-32.
2. Grossmann RJ, Colombato RA. Gastric vascular changes in portal hypertension. *Hepatology* 1988; 8: 1708-10.
3. Agnihotri N, Kaur U, Dhawan V, et al. Extrahepatic portal hypertensive gastropathy in wistar rats. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 56-66.
4. Naveau S, Bedossa P, Poynard T, et al. Portal hypertensive colopathy. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1774-81.
5. Nadler E, Ford HR. Regulation of bacterial translocation by nitric oxide. *Pediatr Surg Int* 2000; 16: 165-8.
6. Grossmann RJ. Vasodilatation and hyper dynamic circulatory state in chronic liver disease. In: *Portal hypertension. Pathophysiology and treatment*. Bosch J, Grossmann RJ, eds. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994: 17-26.
7. Sumanovski L, Bettgey E, Stumm M, et al. Increased angiogenesis in portal hypertensive rats: Role of nitric oxide. *Hepatology* 1999; 29:1044-9.
8. Albillos A, Colombato LA, Grossmann RJ, et al. Vasodilatation and sodium retention in prehepatic portal hypertension. *Gastroenterology* 1992; 102: 931-5.
9. Alican I, Kubes P. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. *Am J Physiol* 1996; 270: 225-37.
10. Kubes P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. *Am J Physiol*. 1993; 264: 143-9.
11. Sikuler E, Kravetz D, Grossman RJ. Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model. *Am J Physiol* 1985; 248: 618-25.
12. Vallance P, Moncada S. Hyper dynamic circulation in cirrhosis: a role of nitric oxide? *Lancet* 1991; 237: 776-8.
13. Pizcueta MP, Piñque JM, Bosch J, et al. Effects of inhibiting nitric oxide biosynthesis on the systemic and splanchnic circulation of rats with portal hypertension. *Br J Pharmacol* 1992; 1992: 184-90.
14. Sieber CC, Grossmann RJ. Nitric oxide mediates the in vitro hyporeactivity to vasopressors in mesenteric vessels of portal rats. *Gastroenterology* 1992; 103: 235-9.
15. Claria J, Jimenez W, Ros J et al. Pathogenesis of arterial hypotension in cirrhotic rats with ascites: role of endogenous nitric oxide. *Hepatology* 1992; 15: 343-9.
16. Degroote MA, Fang FC. NO inhibitions: antimicrobial properties of nitric oxide. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 162-5.
17. Caplan MS, Hedlung E, Hill N, et al. The role of endogenous nitric oxide and platelet-activating factor in hypoxia-induced intestinal injury in rats. *Gastroenterology* 1994; 106: 346-52.
18. Barber A E, Jones W G, Minei J P, et al. Bacterial overgrowth and intestinal atrophy in the etiology of gut barrier failure in the rat. *Am J Surg* 1991; 161:300-4.
19. Wang X, Andersson R, Soltesz V, et al. Effect of portal hypertension on bacterial translocation induced by major liver resection in rats. *Eur J Surg* 1993; 159: 343-50.
20. Gonzales JF, Lanuza E, Zurita M, et al. Portal hypertensive colopathy: histological appearance of the colonic mucosa. *Hepato-Gastroenterology* 1998; 45: 40-3.