

Domuzlarda Karaciğer Transplantasyonu Sırasındaki Endotelin Cevapları

Endothelin Responses during Hepatic Transplantation in Pigs

Dr.A.Özdemir AKTAN, Dr.Cumhur YEĞEN, Dr.Yunus YAVUZ,
Dr.Zeynep ETİ*, Dr.Bahadır M.GÜLLÜOĞLU, Dr.Rifat YALIN

ÖZET: İskemi-reperfüzyon hasarı karaciğer transplantasyonunun başarısını etkileyen önemli mekanizmalardan bir tanesidir. Bu çalışma domuzlarda yapılan karaciğer transplantasyonunun değişik evrelerinde endotelin seviyelerindeki değişiklikleri araştırmak amacı ile düzenlenmiştir. Karaciğer transplantasyonu için beş domuz donör, beş tanesi ise alıcı olarak kullanıldı (ağırlık 25-40 kg). Alıcı domuzda hepatektomi öncesi damarları klemplemeden hemen önce serum endotelin seviyelerini ölçmek amacı ile pulmoner arter, portal ven ve infrahepatik vena kavadan kan örnekleri alındı. Diğer domuzdan alınan karaciğerin transplantasyonundan sonra, klempleri açmadan hemen önce ve reperfüzyondan 15 ve 30 dk. sonra aynı damarlardan yeniden kan örnekleri alındı. Transplantasyon işlemi süresince portal ven ve inferior vena kavadan, juguler vene, veno-venöz bypass yapıldı. Cerrahi işlem boyunca domuzlar hemodinamik olarak stabil kaldılar. Klemplemeden ve reperfüzyondan önce pulmoner arterden elde edilen ortalama endotelin seviyeleri sırasıyla 1.00 pg/ml ve 1.02 pg/ml idi ve reperfüzyondan 15 ve 30 dk. sonra bu seviyeler 0.44 pg/ml ve 0.42 pg/ml'ye düştü. Portal venadan elde edilen endotelin seviyeleri sırasıyla 0.34, 0.44, 1.06 ve 1.52 pg/ml, infrahepatik vena kavadan elde edilenler ise 0.58, 1.14, 1.94 ve 2.54 pg/ml idi.

Sonuç olarak endotelin cevabının iskemi-reperfüzyon hasarının reperfüzyon döneminde daha belirgin olduğu ve karaciğerin endotelin metabolizmasında önemli bir yerinin olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: İskemi-reperfüzyon hasarı, Karaciğer transplantasyonu, Endotelin, Domuz

SUMMARY: Ischemia/reperfusion (IR) injury is one of the important mechanisms affecting the outcome of liver transplantation. This study was designed to investigate the changes in endothelin levels during liver transplantation in pigs.

YAZIŞMA ADRESİ: Dr.A.Özdemir AKTAN
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 81190 Altunizade, İSTANBUL

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Genel Cerrahi Anabilim Dalı,
* Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı,
İSTANBUL

Five pigs served as donors and another five as recipients for liver transplantation. Blood samples were obtained from the pulmonary artery, portal vein, and infrahepatic vena cava before clamping, before declamping, 15 and 30 minutes after reperfusion for serum endothelin levels. Heart rate, mean arterial pressure, pulmonary artery pressure, pulmonary capillary wedge pressure, and blood gases were also monitored.

Mean endothelin levels obtained from the pulmonary artery were 1.00 pg/ml and 1.02 pg/ml before clamping and before reperfusion respectively and decreased to 0.44 pg/ml and 0.42 pg/ml 15 and 30 minutes after reperfusion. The endothelin levels obtained from the portal vein were 0.34, 0.44, 1.06 and 1.52 pg/ml and those obtained from the infrahepatic vena cava were 0.58, 1.14, 1.94 and 2.54 pg/ml respectively.

It is concluded that endothelin response is more pronounced in the reperfusion period of IR injury and liver is an important site for the metabolism of endothelin.

Key Words: Ischemia-reperfusion injury, Liver transplantation, Endothelin, Pig

Ortotopik karaciğer transplantasyonu (OKT) sırasında, alt ekstremitelerde ve splanchnik sirkülasyonda venöz göllenmeyi önlemek amacıyla femoral ve portal venler ile aksiller ven arasına sıklıkla venövenöz bypass konulmaktadır.^{1,2} Venövenöz bypass sayesinde santral kan hacmi ve kalbe venöz dönüş korunmaktadır. Venövenöz

bypassın genellikle önemsenmeyen bir diğer etkisi de venöz göllenme ve transplantasyon sonunda ortaya çıkan reperfüzyonun oluşturduğu iskemi reperfüzyon (İR) hasarını önlemesi veya hiç değilse azaltmasıdır.

İskemi reperfüzyon hasarı değişik dokularda değişik etkiler ortaya çıkarsa da mekanizması aynıdır. Endotelin 1 (ET-1) miktarındaki artış İR hasarına karşılık ortaya çıkan yanıtlardan birisidir. Hepatik, renal ve splanknik İR hasarlarında endotelinlerin arttığı gösterilmiştir.^{3,4,5} ET-1 bilinen en güçlü vazokonstriktördür ve Endotelin A reseptörleri üzerinden etki göstermektedir; Endotelin B reseptörleri üzerinde ise vazodilatör etkisi izlenmektedir.^{6,7}

Ortotopik karaciğer transplantasyonunda endotelin yanıtı olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada OKT yapılan domuzlarda venövenöz bypass varlığında endotelin yanıtları incelenmiştir. Venövenöz bypassın transplantasyon sırasında IR hasarı ile ortaya çıkan endotelin yanıtını kısmi olarak önleyeceği hipotezi ile bu çalışma planlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ağırlıkları 25-40 kg arasında değişen 10 domuz bu çalışmaya alınmıştır. Beş domuz donör olarak kullanılmış ve çıkarılan karaciğerler soğuk Ringer Laktat çözeltisi ile perfüze edilip soğukta korunmuşlardır. Kalan beş domuz alıcı olarak kullanılmıştır. 12 saat açlıktan sonra intraperitoneal olarak verilen 10 mg/kg ketamine (Ketaset, Aveco, Fort Dodge, WI) ile premedikasyon gerçekleştirilmiştir.

Anestezi 3.5 mg/kg propofol (Difripan, Zeneca Ltd. Macclesfield, Cheshire, U.K.) ile başlatılmış daha sonra propofol ve alfentanil (Rapifen, Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium) (0.1 mg/kg) infüzyonuyla sürdürülmüştür. Kas gevşetici olarak pancronium (Pavulon, Organon Teknica B.V., Bostel, Holland) (0.1 mg/kg) kullanılmıştır. Anestezi aldıkları süre içerisinde domuzlar 20 mg/kg tidal volümden ve 18/dk. hızında %100 oksijen almışlardır.

Alıcı domuzlarda invaziv monitörizasyon ve venövenöz bypass için internal jüğüler venler ve eksternal karotid arter diseke edilmiştir. Juguler venlerden birisi 7 F Swan Ganz kateter konulması için kullanılırken diğeri bypassda kullanılmıştır. Sağ femoral venden girilerek inferior vena kava kanüle edilmiş ve venövenöz bypass için kullanılmıştır. Bu venöz yollara ilaveten kalp hızı ortalama arteriyel basınç, PaO₂, PaCO₂, pH ve solunum hızını ölçmek için pulse oksimetre, kan gazı aleti ve Protocol Propac 106 EL monitörü kullanılmıştır.

Orta hat insizyonu ile karına girdikten sonra standart yöntemler ile hepatektomi uygulanmıştır. Karaciğer ortotopik olarak transplante edilmiştir. Sırayla önce suprahepatik daha sonra infrahepatik kaval anastomoz, portal ven ve hepatic arter anastomozları gerçekleştirilmiştir. Safra drenajı için eksternal yol tercih edilmiştir. Portal ve kaval klemplerin açılmasıyla sona eren portal anastomozların bitimine kadar bütün işlem boyunca nonpulsatil venövenöz bypass 1.5 lt/dk hızında çalışmıştır. Vena kava ve portal venin klemplenmesinden önce pulmoner arter, portal ven ve inferior vena kavadan kan örnekleri alınmıştır. Aynı damarlardan transplantasyon sonrası klempler açılmadan önce, reperfüzyon sonrası 15. ve 30. dakikalarda kan örnekleri alınmıştır. Bir saatlik reperfüzyondan sonra kanatarak domuzlar öldürülmüşlerdir.

Endotelin ölçümleri bioassay yöntemiyle yapılmıştır.⁸

İstatistik yöntemi olarak Friedman nonparametrik tekrarlayan ölçümler testi ve Dunn'un multipl karşılaştırma testleri kullanılmıştır.

SONUÇLAR

Total anestezi zamanı 210±41 dk anhepatik dönem ise 57±11 dk olarak ölçülmüştür. Kalp hızı ortalama kan basıncı, pulmoner arter basıncı ve pulmoner kapiller wedge basıncı değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. PaO₂, PaCO₂ ve pH değerleri ise Tablo 2'de gösterilmektedir.

TABLO 1: Kalp hızı (KH), ortalama arteryel basınç (OAP), pulmoner arteryel basınç (PAB) ve pulmoner kapiller wedge basıncı (PKWB)

| | KH (sayı/dk) | OAB (mmHg) | PAB (mmHg) | PKWB mmHg |
|--------------------|-----------------|---------------|---------------|--------------|
| 1. saat | 129.1±22.6 | 104.1±9.0 | 18.7±2.1 | 9.8±2.5 |
| Klemp öncesi | 125.0±27.9 | 105.6±12.7 | 19.1±5.2 | 8.4±1.9 |
| Anhepatik 15. dk | 157.7±12.9 | 42.6±4.2 | 13.7±3.1 | 6.6±2.4 |
| Anhepatik 30. dk | 158.8±19.2 | 44.4±4.8 | 16.7±6.3 | 6.9±2.0 |
| Anhepatik 45. dk | 148.1±21.3 | 44.3±7.0 | 16.8±4.6 | 7.6±2.1 |
| Reperfüzyon 30. dk | 122.5±18.1 | 49.4±20.2 | 23.7±6.1 | 8.8±1.5 |
| Reperfüzyon 60. dk | 130.5±25.1 | 49.7±28.7 | 23.6±5.5 | 9.2±1.9 |

Klempleme öncesi ve perfüzyon öncesi pulmoner arterden alınan kan endotelin seviyeleri sırasıyla 1.00 Pg/ml ve 1.02 pg/ml olarak ölçülmüştür. Reperfüzyon sonrası bu değerler 15 ve 30 dakikalarda 0.44 pg/ml ve 0.42 pg/ml olarak belirlenmiştir. Portal venden alınan endotelin değerleri sırasıyla 0.34, 0.44, 1.06 ve 1.52 pg/ml, infrahepatik vena kavadan alınanlar ise 0.58, 1.14, 1.94 ve 2.54 pg/ml olarak belirlenmiştir. Portal vendeki ve infrahepatik vena kavadaki endotelin artışı ile transplante karaciğerin reperfüzyonu sonrası pulmoner arterdeki endotelin azalması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 1) ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

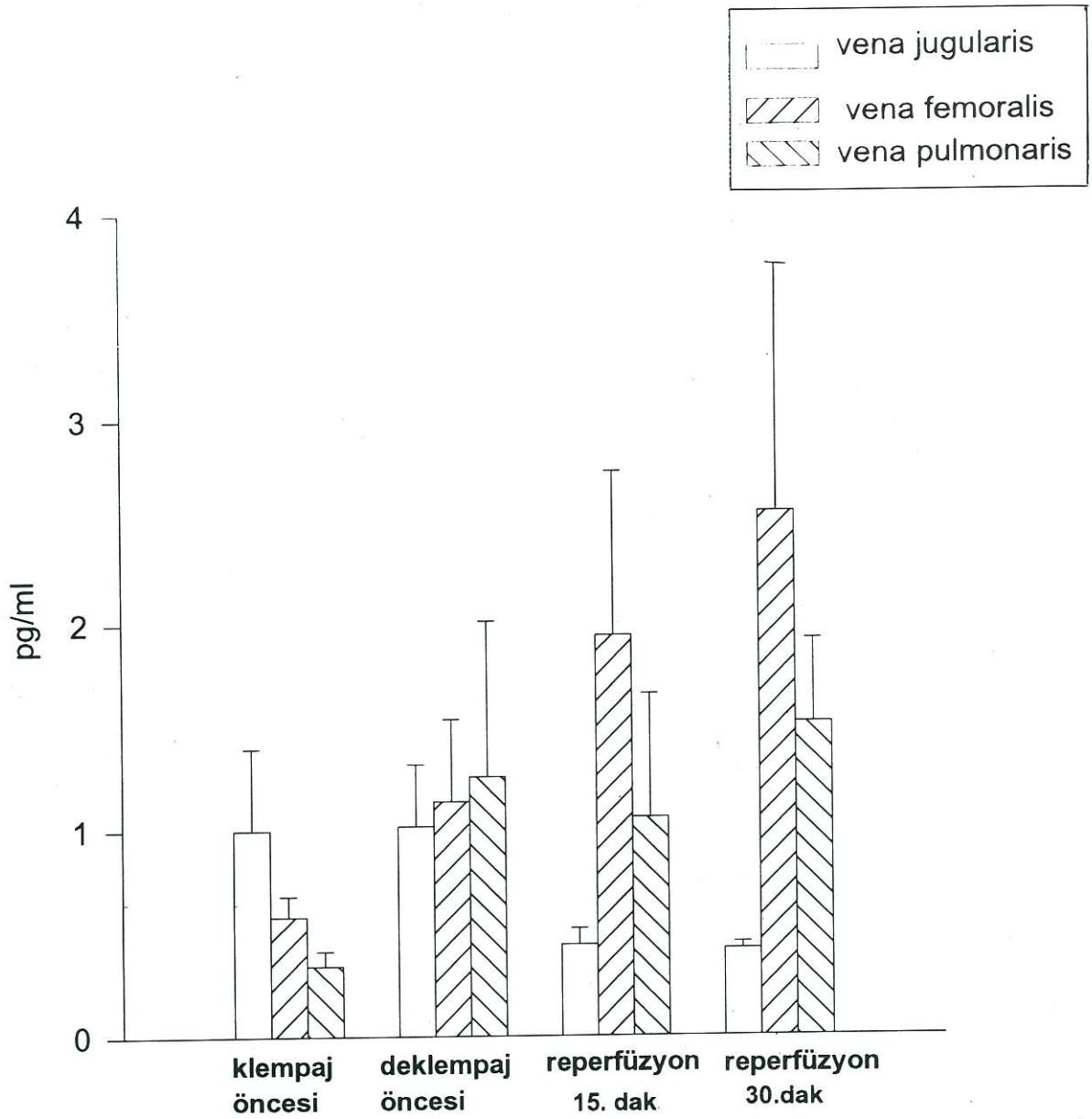
İskemi reperfüzyon hasarı karaciğer transplantasyonunun sonuçlarını etkileyen önemli bir me-

kanizmadır. Venövenöz bypass bu problem için kullanılırken portal mezenterik yatakta venöz göllenme nadir olarak görülmektedir. Bu çalışmada domuzlarda yapılan karaciğer transplantasyonunun değişik aşamalarında ortaya çıkan endotelin seviye değişiklikleri araştırılmıştır.

Karaciğer nakli sirotik hastalarda yapıldığında birçok medikal problem ortaya çıkmaktadır. Genellikle bu hastalar kötü durumda olmakta ve portal hipertansiyona bağlı hemodinamik bozukluklar görülmektedir. Fakat en önemli hemodinamik değişiklikler reperfüzyon aşamasında görülmektedir. Perfüzyon sonrası arteryel kan basıncı, sistemik vasküler rezistans önemli derecede azalmakta, kalp debisi ve pulmoner kapiller wedge basıncı ise artmaktadır.⁹

TABLO 2: Domuzların PaO₂, PaCO₂ ve pH değerleri (Ortalama+SD)

| | PaO ₂ | PaCO ₂ | pH |
|--------------------|------------------|-------------------|-----------|
| 1. saat | 530.85±72.35 | 37.42±6.05 | 7.45±0.06 |
| Klemp öncesi | 546.71±84.76 | 36.14±6.93 | 7.38±0.11 |
| Anhepatik 15. dk | 562.57±75.39 | 32.43±2.43 | 7.29±0.04 |
| Anhepatik 30. dk | 547.71±79.71 | 32.00±7.04 | 7.21±0.04 |
| Anhepatik 45. dk | 518.14±80.41 | 37.00±10.3 | 7.23±0.04 |
| Reperfüzyon 30. dk | 575.66±96.10 | 35.33±8.40 | 7.11±0.06 |
| Reperfüzyon 60. dk | 574.83±93.41 | 38.16±7.05 | 7.08±0.12 |



ŞEKİL 1: Kan endotelin düzeyleri

Bu çalışmada, beraberinde portal hipertansiyon ve portal kollateral olmamasına rağmen reperfüzyon sonrası ortalama arteriyel basınç, pulmoner arter ve pulmoner kapiller wedge basınçları artmış kalp hızı azalmıştır. Bu olay transplantasyon sırasında kalbe venöz dönüşün azalması ve reperfüzyon sonrası kısmen tekrar artmasına bağlanmaktadır. 1.5 lt/dk hızda çalışan venövenöz bypass kalbe venöz dönüşün düzeltilmesini sağlayamamaktadır. İnsanda karaciğer nakli sırasında bazı merkezler venövenöz bypassı rutin bazıları ise selektif olarak kullanmaktadır.^{1,2} Bypass 2-2.5 litre/dk hızında kullanılmaktadır. Bu değerler kiloya göre ayarlandığında çalışmadaki hız elde edilmektedir.

Reperfüzyon sonrası portal ven ve inferior vena kavada ortalama endotelin değerleri artmaktadır. İR hasarı sırasında ortaya çıkan artmış endotelin yanıtlarının varlığı birçok organ üzerinde gösterilmiştir.^{3,4,5} Bu çalışmada bulunan artış transplantasyon işlemi sırasında oluşan İR hasarına bağlanmaktadır.

30. dakika endotelin değerleri 15. dakika ile karşılaştırıldığında endotelin seviyelerinin daha yüksek bulunması hasarın devam ettiğini göstermektedir. ET-1 artışları hipovolemi ve/veya hipoperfüzyon arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir.¹⁰ Fakat bu çalışmada reperfüzyon sonrası kalp hızı azalırken, ortalama arteriyel basınç

KAYNAKLAR

pulmoner arter ve pulmoner kapiller wedge basıncının artması nedeniyle ET-1 değerlerindeki artışın hipovolemi ile ilgili olmadığı görülmektedir.

Allograft transplantasyonu sırasındaki ET-1 seviyelerindeki yükselmenin bir diğer nedeni de akut rejeksiyondur.^{11,12} Ortalama ET-1 seviyeleri bu çalışmada reperfüzyon sonrası pulmoner arterde düşmektedir. İmmünolojik yanıtta ET-1'in sistemik seviyelerinde bir artış beklenmelidir. Karaciğer transplantasyonu sonrası karaciğerin temel antijen kaynağı olduğu düşünülürse pulmoner arterde ET-1 değerlerinin artması beklenirdi. Denek sayısının azlığı ve standart sapma değerlerinin büyük olması istatistiksel olarak anlamlı bir sonuca ulaşılmasına engel olmuştur. Bu nedenle bu çalışmadan bazı sonuçlara ulaşılmasa da bu değerler bazı olasılıklara dikkat çekmektedir.

Pulmoner arterde ortalama ET-1 seviyeleri reperfüzyon sonrası düşmüştür. Bu büyük olasılıkla ET-1'in karaciğerdeki klerensine bağlanmalıdır. Karaciğer endotelin klerensinin yapıldığı temel organdır.¹³ ET-1'in karaciğerde hızlı klerensi endotelin metabolizmasında karaciğerin önemini göstermektedir. Bu aynı zamanda transplante karaciğerin erken fonksiyonlarının bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Bu çalışma karaciğer transplantasyonunda kullanılan venövenöz bypassın alt ekstremiteler ile portal yataktaki venöz göllenmeyi ve reperfüzyon hasarını tam olarak önleyemediğini göstermektedir. Aynı zamanda karaciğerin ET-1 metabolizması açısından önemli bir organ olduğu gösterilmiştir.

1. Rasmussen LS, Ejlersen E, Hijotrup A, Kirkegaard P, Secher NH: Venovenous bypass during human liver transplantation. *Trans Proc* 1994, 26:1971-1975.
2. Shaw BW, Martin DJ, Marquez JM: Venous bypass in clinical liver transplantation. *Ann Surg* 1984, 200:524-533.
3. Büyükgebiz O, Aktan AÖ, Yeğen C, Yalçın AS, Haklar G, Yalın R, Ercan S: Captopril increases serum endothelin levels and preserves intestinal mucosa after mesenteric ischemia-reperfusion injury. *Res Exp Med* 1994, 194:339-348.
4. Güllüoğlu BM, Aktan AÖ, Yeğen C, Kurtel H, Yalın R: Captopril significantly enhances endothelin and eicosanoid response in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Prost Leuk Essen Fatty Acids* (In press).
5. Günel Ö, Aktan AÖ, Yeğen C, Kurtel H, Yalın R: Captopril prevents the oxydative damage to proteins after renal ischemia reperfusion injury. *Prost Leuk Essen Fatty Acids* (In press).
6. Clozel M, Fischli W, Guilly C: Specific binding of endothelin on human vascular smooth muscle cells in culture. *J Clin Invest* 1989, 83:1758-1761.
7. Traish Am, Moran F, Saenz de Tejada I: Physiochemical characterization and solubilization of endothelin receptors. *Receptor* 1991, 1:229-242.
8. De Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P: Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelin derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988, 85:9797-9800.
9. Rettke SR, Janossy TA, Chantigian RC, Burritt MF, VanDyke RA, Harper JV, Ilsturp DM, Taswell HF, Wiesner RH, Krom RAF: Hemodynamic and metabolic changes in hepatic transplantation. *Mayo Clin Proc* 1989, 64:232-240.
10. Pittet JF, Morel DR, Hemsén A: Elevated plasma endothelin-1 concentrations are associated with the severity of illness in patients with sepsis. *Ann Surg* 1991, 213:261-268.
11. Büyükgebiz O, Aktan AÖ, Haklar G, Yalçın AS, Yeğen C, Yalın R, Ercan ZS: BQ-123, a specific endothelin (ETA) receptor antagonist, prevents ischemia reperfusion injury in kidney transplantation. *Transplant Int* (In press).
12. Watschinger B, Vychtil A, Schuller M: The pathophysiologic role of endothelin in acute vascular rejection after renal transplantation. *Transplantation* 1991, 52:743-746.
13. Gandhi CR, Harvey SA, Olson MS: Hepatic effects of endothelin: Metabolism of endothelin-1 by liver cells. *Arch Biochem Biophys* 1993, 305:38-46.