

# PORTOKAVAL ANASTOMOZU TAKİBEN KÖPEK ÜRETER-MESANE EPİTELİNDE ERKEN DÖNEMDE ORTAYA ÇIKAN PRENEOPLASTİK DEĞİŞİKLİKLERİ, HEPATİK PERİARTERİYEL NÖREKTOMİ ÖNLÜYOR MU?

Dr. Vedat KIRIMLIOĞLU\*  
Dr. Sezai YILMAZ\*  
Dr. Kayhan BAŞAK\*\*  
Dr. Cüneyt KAYAALP\*\*\*  
Dr. Mehmet ÇAĞLIKÜLEKÇİ\*\*\*  
Dr. Musa AKOĞLU\*\*\*

*Tümüyle deneysel olarak ortaya konmuş olan portokaval anastomoz sonrası üreter-mesane epitelindeki karsinogenezisin mekanizması diyetteki karsinojenlerin karaciğer tarafından inaktive edilmemesi ile açıklanır. Bu deneysel çalışmada 8 köpekten oluşan 1. gruba yan-yan portokaval anastomoz , 2 gruba ise portokaval anastomoz ek olarak hepatik periarteriyel nörektomi uygulandı. Postop 21. gün relaparotomi yapılarak üreter ve mesane biyopsileri alındı. Feulgen-paraosanilin DNA boyasıyla görüntü analizi sonunda 1. grupta proliferasyon indeksi anlamlı olarak yüksek bulundu. Mevcut çalışma farklı deneysel model kullanılması, portokaval anastomozu takiben 3 hafta gibi erken postoperatif periyotta artmış proliferatif indeks gibi preneoplastik ürotelial değişiklikler ve hepatik periarteriel nörektominin bu değişiklikler üzerinde olumlu etkilerini ortaya koyması bakımından literatürde önceliklere sahiptir.*

**Anahtar kelimeler:** Portokaval anastomoz, ürotelial karsinogenez.

## **Does Hepatic Periarteriel Neurectomy Prevent the Alterations That Occur in Dog Urothelium at Early Follow up Following Portocaval Anastomosis?**

*The experimentally well documented mechanism of the urothelial carcinogenesis is related to not be able to inactivate of the dietary carcinogens by the liver after a portocaval anastomosis. In this experimental study, side to side portocaval anastomosis was performed on eight dog-group 1. Second group comprises seven dogs on which a hepatic periarteriel neurectomy was added to side to side portocaval shunt procedure. After a period of 3 weeks, relaparotomy was performed on all dogs and layers of ureter and bladder biopsies were taken. Image analysis with Feulgen-Pararosalyn DNA dye was completed and the proliferation index was found to be high in the first group ( $p<0.05$ ) which was stastically significant.*

*The present experimental study, first because of being a different dog experimental model, second because of the demonstration of the preneoplastic changes proved by the increased proliferation index even in the third week and thirdly because of the demonstration of the prohibiting effect of the hepatic periarteriel neurectomy upon these preneoplastic changes has a appreciative contribution to the literature .*

**Key words:** Portocaval anastomosis, urothelial carcinogenesis.

\* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Genel Cerrahi AD  
MALATYA  
\*\* GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi  
Patoloji Departmanı  
ANKARA  
\*\*\* Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi  
Gastroenteroloji Cerrahi Kliniği  
ANKARA

**Yazışma Adresi:**  
Dr. Vedat KIRIMLIOĞLU  
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Genel Cerrahi AD  
MALATYA

Portokaval anastomoz (PKA) sonrası ortaya çıkan, renal sirkülasyon ve fonksiyon değişiklikleri ile ilgili çok sayıda yayın olmasına karşılık<sup>1-3</sup>, bu prosedür sonrası üriner traktta meydana gelen morfolojik değişiklikler üzerinde pek durulmamıştır. İlk olarak Hertz arkadaşları, PKA sonrası üriner traktta ürik asit taşlarının oluştuğundan bahsetmiştir.<sup>4</sup> Daha sonraları PKA'ı takiben , sadece üriner trakt taşları değil, aynı zamanda üroteliumda oluşan, progressif natürde preneoplastik ve neoplastik değişiklikler de bildirilmiştir.<sup>5,6</sup>

Tümüyle deneysel olarak ortaya konmuş olan ürotelial karsinogenezisin mekanizması, diyetteki karsinogenlerin, PKA sonrası karaciğer tarafından inaktive edilememesi ile açıklanır. Hepatik periarteriel nörektominin (HPAN) , total karaciğer kan akımını artırıp, karaciğer hücreleri üzerinde olumlu morfolojik ve metabolik etkileri kanıtlanmıştır.<sup>7-9</sup> Bu deneysel çalışmada, PKA sonrası ürotelium da görülen preneoplastik, neoplastik değişikliklerin, PKA'a HPAN ilavesiyle önlenip, önlenemeyeceği araştırıldı.

## MATERYAL VE METOT

Bu deneysel çalışma Nisan 1997-Haziran 1997 arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Toplam 15 adet, 20-25 kg ağırlığında dişi, melez sokak köpeği uygulamaya dahil edildi. Köpeđin cinsiyetine önem verilmedi. Karantina işlemleri (kuduz aşısı vs) dışında köpeklerin hazırlanış ve beslenmelerinde bir özellik yoktu. Operasyondan 12 saat önce denekler aç bırakıldı. Başlangıç anestezisi, 5 cc İM Xylazin (Rompun %2, Bayer) ile, operasyon esnasında anestezisi gereksinimi 2 cc İM Keta-min HCL (Ketalar 50 mg/ml, Parke-Davis) ile sağlandı. Sterilizasyona maksimum özen gösterilerek profilaktik amaçlı, preoperatif 500 mg Ceftriaxon İM ve 5000 Ü heparin subkutan olarak yapıldı. Orta hat kesiyile laparotomi ve abdominal eksplorasyon sonrası 8 köpekten oluşan grup 1' de vena porta ve suprarenal vena cava inferior en az 5 cm kadar mobilize edilerek, proksimal ve distal kısımlar 2/0 ipek sütürlerle kement şeklinde askıya alınıp, kan akımı durduruldu. Daha sonra 5/0 polipro-

pilenle devamlı sütürler kullanılarak, yaklaşık 2 cm' lik yanyana PKA gerçekleştirildi. Peritoneal temizlik kompreslerle yapıldı ve karın duvarı 0 numara loop naylonla devamlı olarak kapatıldı. Grup 2'yi oluşturan 7 köpekte ise, bu prosedürlere ek olarak hepatik arter çevresinde en az 2 cm boyunca nörektomi gerçekleştirildi. Birinci operasyon sonrası köpekler 21 gün yaşatıldı. Bu süre içinde hepatik ensefalopati riskinden dolayı, denekler proteinden fakir diyetle beslendi. Yirmibirinci günde köpeklere relaparotomi yapıldı. PKA'ın tıkalı olup olmadığı kontrol edildi. Bundan önceki çalışmamızda PKA ve HPAN'ın böbrekler üzerinde önemli etkisi görülmediğinden<sup>7</sup>, bu çalışmada deneklere nefrektomi uygulanmadı. Tüm deneklerin en az 5 cm'lik üreteri ve 5 cm<sup>2</sup>'lik tam kat mesane duvarı rezeke edildikten sonra intrakardiyak KCl enjeksiyonuyla sakrifikasyon sağlandı.

Deneklerin üreter ve mesanesi total olarak absölu alkol ile fikse edildi. Üreterden 2'şer ve mesaneden 2'şer adet doku örneği incelemeye alındı. Dokular rutin taktipten sonra, parafinle bloklandı, ve her bir blokta 5 ve 8 µm kalınlığında kesitler hazırlandı.

Kesitlerden 5 µm kalınlığında olanlar rutin Harris Hematoksilin & Eosin ile boyandı, diğer kesitler ise Feulgen-Paraosanilin DNA boyası ile görüntü analizi uygulanmak üzere boyandı.

İnceleme sırasında Zeiss – Axiophot mikroskop ve JVC KY-F55 Color Video Camera ile elde edilen görüntüler, double pentium 100 mikroişlemci, 32 Mbyte RAM, 1 Gbyte hard disk, MAGIC (Matrox Advanced Graphic Imaging Controller) ekran kartı, 17 " Viewsonic monitor donanımı ile , ALCATEL'e ait Windows 3.1 altında çalışan SAMBA IMAGE ANALYSIS yazılımı kullanılarak , Ploidy Analysis yapıldı.

İnceleme sırasında 8 µm kalınlığında Feulgen-Paraosanilin ile boyanmış kesitlerde , 100 büyütme ile her bir kesitten mesane için ortalama 129 adet üreter için 45 adet hücre değerlendirildi. Ekstresek kontrol olarak, rat karaciğerinden hazırlanan imprintler kullanıldı. İntrensek kontrol olarak subepitelial alandaki lenfositler seçildi.

İncelemenin doku kesitlerinde yapılması nedeni ile ölçümlerin yapılacağı nükleuslar manuel olarak seçildi. Üroteliumun değerlendirilmesi sırasında yüzeydeki diploid hücreler, değerlendirme dışında tutuldu. Seçimler sırasında teknik engellerin ölçümü mümkün kılmadığı nükleuslar dışında, tüm nükleuslar cell gallery kullanılarak değerlendirildi.

Değerlendirmeler sonucunda ploidi balansı (ploidy balance), hiperploidi derecesi, proliferasyon indeks, anöploidi derecesi ve DNA indeksi saptandı. Grup 1 ve grup 2'ye ait elde edilen değerler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı ve  $p < 0.05$  değerleri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Spesmenlerin gross incelemesinde makroskopik olarak herhangi bir özellik saptanmadı. Ayrıca relaparatomisi esnasında, parsiyel mesane rezeksiyonu yaparken, mesane içinde taş ve kuma rastlanmadı.

Harris Hematoksilin & Eosin ile boyanan kesitlerin mikroskopik incelemesinde, morfolojik değişiklikler izlenmedi.

Her 2 gruba ait mesane dokusunun DNA boyasıyla görüntü analizi sonucunda elde edilen çeşitli parametrelere ait verilerin karşılaştırılması ile aşağıdaki sonuçlar elde edildi (Şekil 1 ve 2):

1. Ploidi balansı: Anöploid hücrelerin öploid hücrelere oranını ifade eder. Her 2 grup arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ).
2. Hiperploidi derecesi:  $2n$  üzerindeki genetik materyal içeren hücrelerin tüm hücrelere oranını ifade eder. Her 2 grup arasında anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ).
3. Proliferasyon indeks: Proliferasyondaki hücrelerin tüm hücrelere oranını ifade eder. Grup 2'de grup 1'e göre anlamlı olarak daha düşük proliferasyon indeksine rastlandı ( $p = 0,0357$ ,  $p < 0.05$ ).

4. Anöploidi derecesi ; $2n$ 'den daha az veya daha fazla miktarda genetik materyal içeren hücrelerin tüm hücrelere oranında anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ).

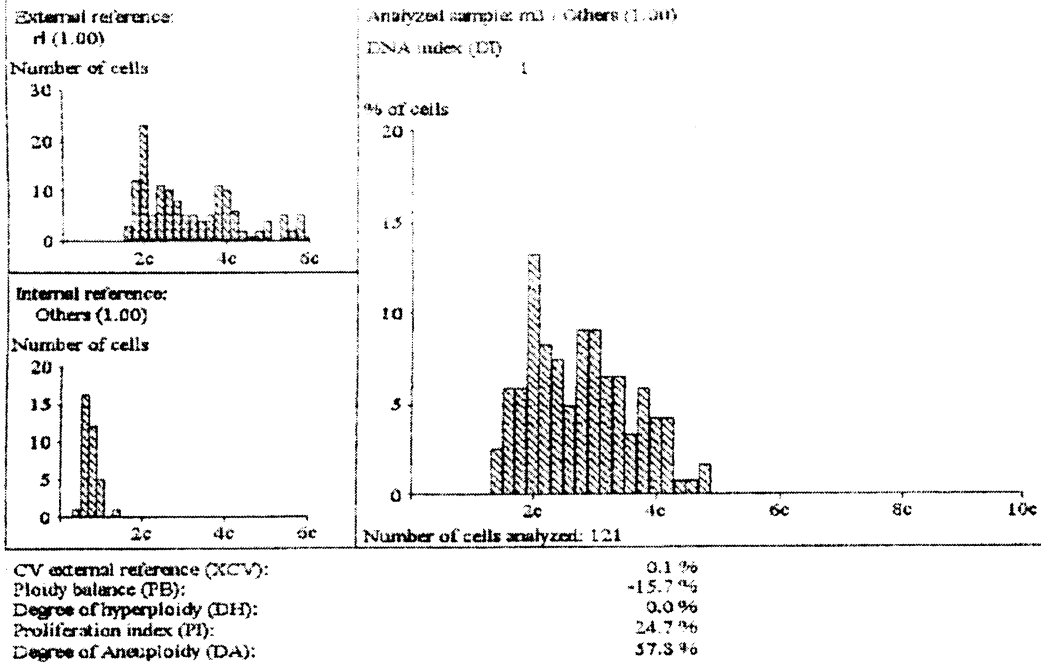
5. DNA indeksi: Doku analizi ile elde edilen eğrisinde pik noktasına karşılık gelen hücrelerin DNA içeriğini ifade eder. Her 2 grup arasında anlamlı fark yoktu ( $p > 0.05$ ).

Üreter epitelinin incelemesinde yukardaki parametreler yönünden her 2 grupta herhangi bir farklılık saptanmadı.

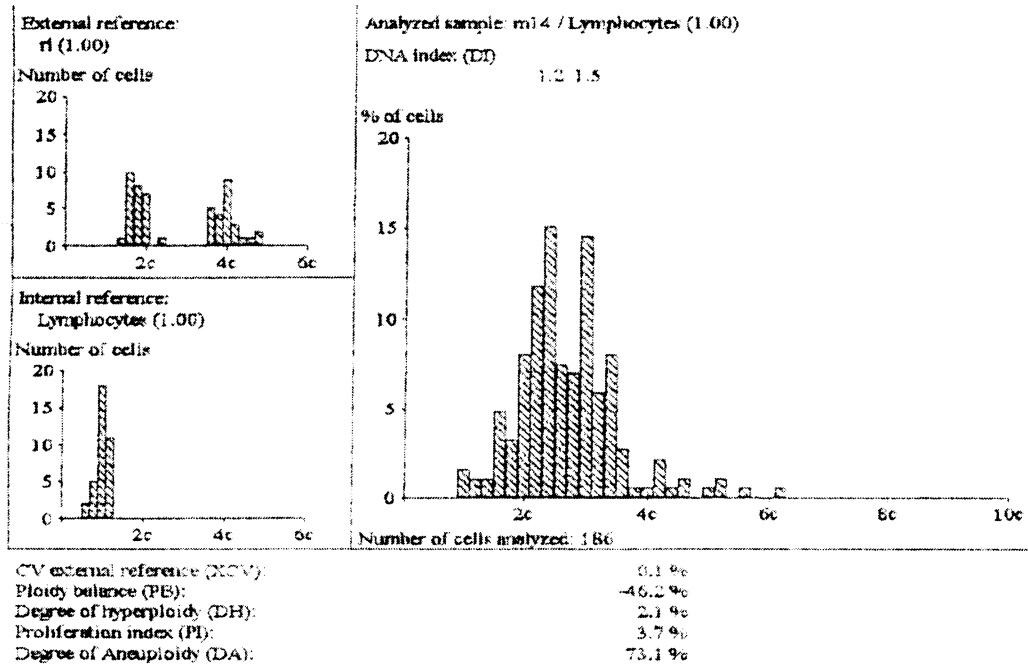
## TARTIŞMA

HPAN'ın PKA gibi portal venöz akımı azaltan bir stimülüs mevcudiyetinde, total hepatik kan akımını arttırdığı<sup>8</sup>, karaciğer hücre metabolizmasını etkileyerek lipopeksi fonksiyonu üzerinde inhibitör, glikopeksi fonksiyonu üzerinde aktivatör rolü oynadığı bilinmektedir.<sup>10</sup> Deneysel oluşturulan karaciğer sirozunda HPAN ile karaciğer hücre regenerasyonu hızlanıp, mevcut nekrozlar sınırlanarak nedbeleşme sağlanmıştır. Ayrıca karaciğer hücrelerinin direncini artırarak ornitin dekarboksilaz (ODC) aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. HPAN'ın PKA sonrası kan amonyak seviyelerini düşürüp, karaciğer hücreleri üzerine olumlu morfolojik etkileri son çalışmamızda gösterilmiştir.<sup>7</sup> Mevcut çalışmada "HPAN'ın olumlu etkilerinin, PKA sonrası üroteliumda ortaya çıkması olası preneoplastik değişikliklere nasıl yansıtacağı" konusu araştırıldı. Teorik olarak, HPAN'ın ODC aktivitesini azaltması, karsinogenezisin promotörü olarak anılan bu enzim üzerinden preneoplastik veya neoplastik değişiklikleri önleyebileceğini düşündürür. Çalışmamızda, HPAN'ın PKA'a ilavesi mesane dokusunun proliferasyon indeksini normal sınırlara çekmiştir. Her iki grup arasında anöploidi, kalitatif olarak farklı olarak gözlenmesine rağmen, istatistiki anlam farkı elde edilemedi. Bu durum çalışmadaki denek sayısının azlığına bağlanabilir.

## Kırmıoğlu ve ark



Şekil 1. Grup 1'e ait görüntü analizi verileri



Şekil 2. Grup 2'ye ait görüntü analizi verileri

PKA prosedürleri çocuk ve gençlerde uzun zamandan beri yapılmakta olup, uzun süreli yaşam süreleri bildirildiği halde<sup>11-15</sup>, şimdiye ka-

dar bu hastalarda ürotelial kanser bildirilmemiştir. Tümü deneysel rat modellerinde ortaya konan PKA sonrası ürotelial değişikliklere, en

erken 2. ayda rastlanmıştır.<sup>15</sup> Mevcut çalışma hem farklı deneysel model kullanılması, hem de 3 hafta gibi erken bir periodda ürotelial değişikliklerin araştırılması bakımından özellik taşımaktadır.

Mori ve Yamaguchi'nin çalışmasında<sup>16</sup> PKA sonrası 2. ayda rat üroteliumu 4-5 hücre kalınlığına erişmiş, 3. ayda intravesikal taşlarla beraber hiperplastik süreç başlamıştır. Dördüncü ayda süperfisiyel ve intermediate hücrelerin fokal skuamöz metaplazisine ek olarak, artmış hiperplazinin kanıtları mevcuttu. Beşinci ayda displazi, 12. ayda ise invert papiller tümör saptanmıştı. Jaffe ve arkadaşları ise, pankreatiko-lineal portal diversiyon uyguladıkları 136 ratın 16 aya varan izlemleri sonrası, %28'inde mesane taşı, %12'sinde ürotelial tümör ortaya koymuşlardır.<sup>6</sup> Wallace'ın çalışmasında 12-16 ay izlenen ratlarda mesane taşı %62, tümör ise %27 oranında görülmüştür.<sup>17</sup> Diyet triptofan ilavesi taş görülme oranını artırmış, fakat ürotelial neoplazi tesbit edilmemiştir. Mevcut çalışmada ise görüntü analizi yöntemi gibi ileri bir teknolojik yaklaşım uygulanarak üç hafta gibi kısa bir sürede PKA sonrası köpek üroteliumunda proliferatif indeks artışı saptanmıştır.

Ratlarda PKA sonrası, ürotelial karsinogenezisin mekanizması ile ilgili mevcut çalışmaların sonuçları, ürotelial tümör indüksiyonunda tek bir sorumlu faktör olmayacağı yönündedir. Portal diversiyon ve mesane kanseri arasındaki ilişkiyi açıklamada, Hicks tarafından tamamlanmış olan "Mesane karsinogenezisinin, multistage, multifaktörel konsepti" en geçerli yaklaşımdır.<sup>18</sup> Bu konseptte göre portal kanın, sistemik sirkülasyona diversiyonu, normalde karaciğer tarafından inaktive edilen karsinogenezisin başlatıcılarının, hatta karsinogenlerin, hedef organlarına ulaşmasına olanak sağlar. Ayrıca bozulmuş karaciğer metabolizması sonucu ortaya çıkan intravesikal taşlar, vitamin A eksikliği ve artmış ODC aktivitesi de mesane kanserinin başlatıcı etkenleridir. Bu faktörlerin kombinasyonu, uzun süreli portal akımı saptırılmış edilmiş ratlarda, invaziv ürotelial tümör oluşturmak için yeterlidir. PKA sonrası 6. ayda vitamin A

seviyelerinde düşme ve ürotelial ODC aktivite artması bildirilmiştir.<sup>16, 18</sup>

Bu deneysel çalışmada üreter epitelinde herhangi bir değişiklik saptanmadı. Diğer çalışmalarda da mesane epitelinde hiperplazi, papillom, transisyonel hücre tipi ve invaziv karsinom tesbit edildiği halde<sup>6,16</sup> üreter epitelinde bu değişikliklerden bahsedilmemiştir. Karaciğerde inaktive edilemeyen karsinogenlerle mesane epitelinin daha uzun bir süre temas etmesi, üroteliumun bu kısmında, değişikliklerin daha yüksek oranda görülmesini izah edebilir.

Mevcut çalışma farklı deneysel model (köpek) kullanılması, PKA'yı takiben 3 hafta gibi erken postoperatif periodda artmış proliferatif indeks gibi preneoplastik ürotelial değişikliklerin ve HPAN'ın bu değişiklikler üzerinde olumlu etkilerini ortaya koyması bakımından literatürde önceliklere sahiptir.

## KAYNAKLAR

1. Hori M, Austen WG, Mc Dermott WV. Role of hepatic arterial blood flow and hepatic nerves on renal circulation and function: 1. Acute studies in the dog. *Ann Surg* 1965; 162: 849-62.
2. Hori M, Austen WG, Mc Dermott WV. Role of hepatic arterial blood flow and hepatic nerves on renal circulation and function: 1. Chronic studies in the dog. *Ann Surg* 1965; 162: 949-58.
3. Romeo JM, Lopez-Farre A, Martin-Paredero V, Lopez-Novoa JM. Renal function derangements induced by portocaval anastomosis in normal rats. *Eur Surg Res* 1991; 23: 195-200.
4. Herz R, Sauter V, Bircher J. Fortuitous discovery of urate nephrolithiasis in rats subjected to porto-caval anastomosis. *Experientia* 1997; 28: 27-8.
5. Dubuisson L, Vonmahme FJ, Balabaund C, Grun M. Neoplastic surface changes in urothelium of rats after portocaval anastomosis. A combined light and scanning electron microscopic study. *Ex Patol* 1984; 26: 49-58.
6. Jaffe V., Alexandre B, Price AB, Zanelli ED. The induction of bladder cancer in portally diverted rats. *Br J Cancer* 1992; 66 : 470-3.
7. Yılmaz S. Portokaval şant yapılan köpeklerde hepatic periarteriyel nörektominin karaciğer morfolojisi ve fonksiyonları üzerine etkileri. *Gastroenteroloji Cerrahisi Uzmanlık Tezi*, 1997.
8. Smith GW, Zug RC, Wilson SK. Periarterial neurectomy of the hepatic artery. *Am J Surg* 1967; 113: 117-23.
9. Kayabalı İ, Zayıfoğlu H, Acar H. Cholangiolite chronique traitée par neurectomie per artere hepaticque: resultat de 24 ans. *Lyon Chir* 1983;79:426-7.
10. Kayabalı İ. Arteria hepatica çevresinde yapılan nörektomi. *Kayabalı İ ed. Arteria Hepatica Cerrahisi*. Ank. Üniv. Tıp Fak. Yay., 1982: 169-210.
11. Bismuth H, Franco D, Alagille D. Portal diversion for portal hypertension in children. *Ann Surg* 1980; 192: 18-24.
12. Coran AG, Wesley JR, Weinfraub WH. The central splenorenal shunt for portal hypertension in children: Experience with eight consecutive patent anastomoses. *J Pediatr Surg* 1980; 15: 827-34.
13. Narmon LM, Dunn SP, Vinocur CD et al. Successful splenorenal shunt for emergent control of variceal bleeding in a small child. *Pediatr Surg* 1992; 27: 1049-50.

## Kıymılığlu ve ark

14. Van Vroonhoven TJ.,Molenaar JC. Distal splenorenal shunt for decompression of portal hypertension in children with cystic fibrosis. Surg Gynecol Obstet 1979; 149: 559-60.
15. Alvarez F, Bernard O, Brunelle F et al. Portal obstruction in children II. Results of surgical portosystemic shunts. J Pediatr 1983; 103:703-7.
16. Mori K, Yamaguchi Y. Preneoplastic changes in rat urothelium following portocaval anastomosis. J Surgical Oncology 1989; 103: 703-7.
17. Wallace DMA, Ackerman D, Davis B, Hartmann WH. Urothelial carcinogenesis and portocaval anastomosis in the rat. Urol Res 1987; 15: 195-7.
18. Hicks RM. Multistage carcinogenesis in the urinary bladder. Br Med Bull 1980; 36: 39-46.