

## SİROZLU HASTALARDA PLAZMA NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ

Nilgün ERTEN\*, M. Akif KARAN\*, Cemil TAŞÇIOĞLU\*, Pervin VURAL\*,  
Mukaddes CANBAZ\*\*

### ÖZET

Nitrik oksid (NO) sirozlu hastalardaki hiperdinamik dolaşım ve periferik vazodilatasyondan sorumlu tutulan medyatörlerden biridir. NO damar endotel hücrelerinden salınan güçlü bir vazodilatatör maddedir. Hipotansiyon, düşük sistemik vasküler direnç ve vazokonstriktör maddelere karşı azalmış cevap portal hipertansiyondaki hiperdinamik dolaşımın ana özellikleridir ve sirozun klinik komplikasyonları için ciddi bir tetikleyici faktördür. Amacımız sirozlu hastalarda hastalıkla ilgili patofizyolojik süreçlerle NO düzeylerinin klinik ilişkisini araştırmaktır. Hastalar (n=28) 52±10 yaşında, kontrol grubu ise (n=14) 45±13 yaşındaydı (p>0.05). Hasta grubunun plazma nitrat/nitrit düzeyi 75.88±21.24 µmol/l iken kontrol grubunun 50.75±14.35 µmol/l bulundu (p<0.0001). Asiti olan hastaların ortalama plazma nitrat/nitrit düzeyi (n=15) 83.74±24.06 µmol/l iken asiti bulunmayan hastaların (n=13) 66.81±13.17 µmol/l bulundu (p=0.033). Hastaların ortalama kan basıncı ile plazma nitrat/nitrit düzeyleri arasında orta derecede, anlamlı, negatif bir korelasyon saptandı (r=-0.62, p<0.0001).

Sonuç olarak, karaciğer sirozlu hastalarda vazodilatatör bir madde olan NO düzeyleri artmaktadır. NO düzeylerindeki bu artış sirozlu hastalarda sık rastlanan sistemik hipotansiyon ve asit gelişimine katkıda bulunabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Nitrik oksit, siroz, asit

### SUMMARY

*Plasma nitric oxide levels in cirrhotic patients.* NO is an important regulator of a variety of physiological functions and synthesised from L-arginin. Patients and experimental animals with cirrhosis characteristically have hyperperdynamic circulation which characterized by low arterial blood pressure, high cardiac output and low peripheral resistance. It has been known for a long time that this hyperdynamic circulation is accompanied by a hyporeactivity to different vasopressors. Systemic and especially splanchnic vasodilatation are crucial contributors to the hemodynamic derangement in chronic portal hypertension.

In our study we aimed to examine any relationship between plasma nitrat/nitrit levels and course of the cirrhosis. The study group was consisted of 28 patients (mean age, 52±10 years) and control group was 14 patients (mean age, 45±13 years). Plasma nitrat/nitrit levels were 75.88±21.24 µmol/l in patients with cirrhosis and 50.75±14.35 µmol/l in controls (p<0.0001). Plasma nitrat/nitrit levels were 83.74±24.06 µmol/l in cirrhotic patients with ascites (n=15) and 66.81±13.7 µmol/l in cirrhotic patients without ascites (n=13) (p=0.033). There was moderate a negative correlation between systemic arterial tension and plasma nitrat/nitrit levels (r=-0.62, p<0.0001). The results of this study supports the concept that there is increased production of nitric oxide in patients with cirrhosis. We conclude that increased production of NO contributes to systemic arterial hypotension and development of ascites in patients with cirrhosis.

**Key Words:** Nitric oxide, cirrhosis, ascites

### GİRİŞ

Nitrik oksid (NO) immün yanıt, barsak peristaltizmi ve vasküler dilatasyon gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda regülatör görevi yapan, insan biyolojisine önemli etkileri

olan bir molekül olup, NO sentetaz (NOS) tarafından L-argininden sentezlenir. NOS'nin nöronal, uyarılabilir, endotelial olmak üzere 3 izoformu mevcuttur (13). Kuvvetli bir vazodilatatör olan NO vasküler

tonusun regülasyonunda önemli rol oynar. Sonuçta siklik GMP oluşarak düz kasta gevşeme meydana gelir. NO nun majör inaktivasyonu şekli nitrit ya da nitrat oluşturmaya üzere spontan oksidasyonudur (10).

Sirozda düşük arter kan basıncı, yüksek kardiyak debi ve düşük periferik direç ile karakterize hiperdinamik dolaşım söz konusudur (17). Bu hastalıkta nörohümorale vazokonstriktör sistemlerin (renin-angiotensin-aldosteron aksı, sempatik sinir sistemi gibi) aktivitesinin arttığı, vazokonstriktörlere pressör yanıtın azaldığı gösterilmiştir (3,12,19).

Bu çalışmada kronik karaciğer hastalığı tanısı konmuş hastalarda plazma nitrat/nitrit düzeylerini ölçmeyi, varsa plazma nitrat/nitrit düzeyi ile hastalığın evresi, arter kan basıncı, asit varlığı, plazma ALT, AST, alkalen fosfataz, hemoglobin düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

## MATERYAL ve METOD

Çalışma grubu İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Dahiliye Bilim Dalı servisine yatırılarak siroz tanısı konmuş 28 hastadan oluşuyordu. Siroz tanısından klinik ve laboratuvar bulguları ile şüphelenilmiş, tanı laparoskopi ve/veya karaciğer biopsisi ile doğrulanmıştı. Hastaların 10'u kadın ve 18'i erkek olup yaşları 32 ile 71 arasında değişiyordu (ortalama  $52 \pm 10$  yıl). Kontrol grubu 3'ü kadın ve 11'i erkek 14 sağlıklı erişkinden oluşuyordu ve yaşları 27 ile 64 arasında değişiyordu (ortalama  $45 \pm 13$  yıl). Sirozun etyolojisinden 11 hastada Hepatitis B virusu, 4 hastada Hepatitis C virusu, 4 hastada alkol sorumlu idi, 9 hastaya kriptojenik siroz tanısı konuldu. Hastaların 15'inde asit mevcuttu. Hastaların tümünde ösofagus varisi saptandı, 6 hasta daha önce üst gastrointestinal sistem kanaması geçirmişti. Child-Pugh sınıflamasına göre 10-hasta Child A, 12 hasta Child B ve 6

hasta Child C evresinde yer almaktaydı. Hastalardan 12 saat açlık sonrası antekübital venden alınan kandan ALT, AST, alkalen fosfataz, bilirubinler DAX-72 (Technicon-Bayer Diagnostics, Newyork) seçimli otoanalizörü ile; protein elektroforezi "Rapid electrophoresis (REP)" (Helena Labotatuaries, Texas) ile; kan sayımı H2 otoanalizörü (Technicon-Bayer Diagnostics, Newyork) ile, protrombin zamanı STAGO ST-Compact tam otomatik koagülometre ile tayin edildi.

Plazma NO düzeyini tayin için 12 saat açlık sonrası 10 ml venöz kan antekübital venden EDTA'lı tüpe alındı, 3500 devirde santrüfüje edildi. Elde edilen plazma ependorf tüplere konularak  $-700C$  saklandı. Bir serbest radikal olan NO, oksijenli ortamlarda stabil değildir ve spontan olarak moleküler oksijen ile reaksiyona girerek çeşitli nitrojen oksit ürünlerine dönüşmektedir (6). Bu oluşan ürünlerden en stabil olanları  $NO_2^-$  (nitrit) ve  $NO_3^-$  (nitrat) olduğu gösterilmiştir (6). Plazma nitrit konsantrasyonlarını ölçmek için bazı modifikasyonlar uygulanarak Gris-ham'ın metodu kullanıldı (6).  $NO_3^-$ , Aspergillus nitrat reduktaz enzimi yardımı ile  $NO_2^-$  haline ve bunu takiben  $NO_2^-$ 'nin tayini Griess reaksiyonu ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi.

## BULGULAR

1. Hasta grubunun plazma nitrat/nitrit düzeyi  $75.88 \pm 21.24 \mu\text{mol/l}$  iken kontrol grubunun  $50.75 \pm 14.35 \mu\text{mol/l}$  bulundu, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.0001$ ).
2. Child A grubunda ( $n=10$ ) plazma nitrat/nitrit düzeyi  $70.00 \pm 13.98 \mu\text{mol/l}$ , Child B grubunda ( $n=12$ )  $81.96 \pm 24.74 \mu\text{mol/l}$ , Child C grubunda ( $n=6$ )  $73.51 \pm 23.94 \mu\text{mol/l}$  bulundu, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

3. Asiti olan hastaların ortalama plazma nitrat/nitrit düzeyleri asiti bulunmayan hastalardan daha yüksek idi (sırasıyla,  $83.74 \pm 24.06$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $66.81 \pm 13.17$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $p=0.033$ ).

4. Hastaların ortalama kan basıncı ile plazma nitrat/nitrit düzeyleri arasında orta derecede, anlamlı, negatif bir korelasyon saptandı ( $r=-0.62$ ,  $p<0.0001$ ).

5. NO düzeyleri ile ALT, AST, alkalen fosfataz ve hemoglobulin düzeyleri arasında bir korelasyon saptanmadı.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada sirozlu hastalarda hastalıkla ilgili patofizyolojik süreçlerle NO düzeylerinin ilişkisi araştırıldı. Sirozlu hasta grubunun plazma nitrat/nitrit düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş olup bu bulgu çeşitli çalışmaların sonuçlarıyla uyum göstermektedir (5,8,12,14,20). Hastalardaki NO düzeyleri Child-Pugh evresi ile korelasyon göstermedi.

Sirozda nitrik oksid yapımının artmasına yol açan sebep bilinmemektedir. Portal hipertansiyonun damar duvar gerilimini artırarak endotelial nitrik oksid sentazının (eNOS) up-regülasyonuna yol açtığı ve böylece NO aşırı yapımına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (12). Sirozlu hastalarda dolaşımda artan hormonlar da reseptör aracılığı ile eNOS aktivasyonuna yol açabilir veya endojen NOS inhibitör eksikliği söz konusu olabilir (13). Bir çalışmada sirotik hastalarda portosistemik şantlarla sistemik dolaşıma karışan barsak bakterileri ve endotoksinin NO sentezini arttırabileceği düşünülmüş hastalara norfloksasin uygulanmış ve artmış nitrik oksid etkilerinin düzeldiği gözlenmiştir (4).

Çalışmamızda ortalama arter kan basıncı hasta grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük bulundu. Hastaların ortalama kan ba-

sıncı ile plazma nitrat/nitrit düzeyleri arasında da orta derecede, anlamlı, negatif bir korelasyon saptandı. Azalmış sistemik ve splanknik vasküler direnç, sirozda hiperdinamik dolaşımın en belirgin özellikleridir (17). Sistemik ve splanknik vazodilatasyonunun sebebi geleneksel olarak endojen vazokonstriktörler ile vazodilatatörler arasındaki imbalansa bağlıdır (17,18) ve çeşitli vazokonstriktör sistemlerin aktive olduğu gösterilmiştir (9,17). Arteryel vazodilatasyon total kan akımının anormal dağılımına ve efektif santral kan akımının azalmasına yol açar (12). Sirozda vazokonstriktörlere pressör cevabın azalmasından en azından kısmen NO artışı sorumlu olup artan NO yapımının siroz olgularında hipotansiyona katkıda bulunmaktır (3,12,19). Bir çalışmada endotel denudasyonu yapıldıktan sonra pressör cevabın arttığı gözlemlenmiştir (1).

Çalışmamızda asiti olan sirotik hastalarda NO düzeyini asiti olmayanlara göre daha yüksek bulduk. Asiti olan sirotik hastalarda santral kan akımının azaldığı buna karşılık periferik kan volümünün belirgin arttığı gösterilmiştir (12,21). Asitli hastalarda sodyumun tubuler reabsorpsiyonunun artmasına bağlı sodyum retansiyonu sözkonusudur ve bu durum asit ve ödem gelişiminde başlıca rolü oynar (12). Asiti olan sirotik hastalarda vazokonstriktör sistemlerde persistan bir aktivasyon görülür ve bu sistemlerin aktivitesi pozisyonla suprese olmaz. Plazma atrial natriüretik peptid konsantrasyonu asitli sirotik hastalarda yükselmiş olup, böbreklerin bu peptide yanıtı azalmıştır (12). NO yapımının NOS inhibitörleri ile inhibe edilmesi azalmış periferik direnci normale döndürülür, kardiyak debiyi düzeltir ve renal sodyum ekskresyonunu düzeltir (5,12,15). Bir çalışmada asitli sirotik sıçanlara yedi gün süreyle NG-nitro-L-arginin methyl ester verilmesi arter kan basıncının, kardiyak indeksin ve total sistemik vasküler direncin normale dönmesine yol açmış olup bu düzelme plazma renin akti-

vitesi ve aldosteron, arginin vazopressin düzeylerinde azalma ile birlikteydi. Aynı çalışmada asitli sirotik farelerde düşük doz NG-nitro-L-arginin methyl ester verilmesinin idrar sodyum ekstrezyonunda ve idrar volümünde artmaya, negatif sodyum ve su balansına yol açtığı gösterilmiştir. Çalışmanın sonunda NG-nitro-L-arginin methyl ester ile tedavi edilen sirotik ratlarda asit olmadığı ya da belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir, bu bulgular NO'nun sodyum ve su homeostazını bozarak asit oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermektedir (12).

Çalışmamızda sirozun evresi ve serum ALT, AST, alkalen fosfataz, ve hemoglobin düzeyleri ile plazma NO düzeyi arasında bir ilişki saptamadık.

Sonuç olarak, karaciğer sirozlu hastalarda vazodilatatör bir madde olan NO düzeyleri artmaktadır. Artmış NO düzeyleri sirozlu hastalardaki sistemik hipotansiyona ve asit gelişimine katkıda bulunabilir ancak, NO düzeyleri siroz için evrelendirme ve prognoz açısından bir gösterge değildir.

## KAYNAKLAR

1. Atucha MN, Shah V, Cardena GG, Sessa EW: Role of endothelium in the abnormal response of mesenteric vessels in rat with portal hypertension and liver cirrhosis. *Gastroenterology* 111:1627 (1996).
2. Bernardi M, Trevisani F: Systemic and regional hemodynamics in preascitic cirrhosis. *J Hepatol* 27:588 (1997).
3. Castro A, Jimenez W, Claria J, Ros J, Martinez JM, Bosch M, Arroyo V, Piulats J, Rivera F, Rodes J: Impaired responsiveness to angiotensin 2 in experimental cirrhosis role of nitric oxide. *Hepatology* 18:367 (1993).
4. Chin Dusting J, Jennings G, Dudley F: Effect of fluoroquinolone on the enhanced nitric oxide-induced peripheral vasodilation seen in cirrhosis. *Ann Int Med* 127:985 (1997).
5. Claria J, Jimenez W, Ros J, Asbert M, Castro A, Arroyo V, Rivera F, Rodes J: Pathogenesis of arterial hypotension in cirrhotic rats with ascites: a role of endogenous nitric oxide (NO). *Hepatology* 15:343 (1992).
6. Grisham MB, Johnson GG, Gautreaux MD, Berg RD: Measurement of nitrate and nitrite in extracellular fluids: a window to systemic nitric oxide metabolism. *Methods: A comparison of methods in enzymology* 7:84 (1995).
7. Groszmann RJ: Hyperdynamic state in chronic liver diseases. *J Hepatol* 17:S38 (1993).
8. Gurner C, Soriano G, Tomas A, Bulbena O, Novella MT, Balanzo J, Vilardel F, Maurella M, Moncada S: Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 18:1139 (1993).
9. Henriksen JH: Systemic haemodynamic alteration in hepatic cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 3:705 (1991).
10. Loscalzo J: Nitric oxide: biologic and medical implications. In: Fauci SA, Braunwald E, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 14th edition. Vol.1. McGraw-Hill, 442-4 (1998).
11. Mac Gilchrist AJ, Summer D, Reid JL: Impaired pressor reactivity in cirrhosis: evidence for a peripheral vascular defect. *Hepatology* 13:689 (1991).
12. Martin PY, Gines P, Schrier RW: Nitric oxide as a mediator of hemodynamic abnormalities and sodium and water retention in cirrhosis. *N Eng J Med* 339:533 (1998).
13. Martin P, Xu D, Niedenberger M, Weigert A, Tsai P, St John J, Gines P, Schrier R: Upregulation of endothelial constitutive NOS: a major role in the increased NO production in cirrhotic rats. *Am J Physiol* 270: F494 (1996).
14. Morelas-Ruiz M, Jimenez W, Perez-Sala D et al: Increased nitric oxide synthase expression in arterial vessels of cirrhotic rats with ascites. *Hepatology* 24:1481 (1996).
15. Niederberger M, Martin PY, Gines P et al: Normalization of nitric oxide production corrects arterial vasodilatation and hyperdynamic circulation in cirrhotic rats. *Gastroenterology* 109:1624 (1992).
16. Podolsky KD, Isselbacher KJ: Cirrhosis and alcoholic liver disease. In: Fauci SA, Braunwald E, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 14th edition. Vol.2. McGraw-Hill 1704 (1998).
17. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen, JH, Rodes J: Peripheral arterial vasodilation hypotension: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 8:1151 (1988).
18. Sherlock S: Vasodilation associated with hepatocellular disease: relation to functional organ failure. *Gut* 31:365 (1990).
19. Sieber CC, Lopez-Talavera JC, Grozman R.J: Role of nitric oxide in the in vitro splanchnic vascular hyporeactivity in ascitic cirrhotic rats. *Gastroenterology* 104:1750 (1993).
20. Vallance P, Moncada S: Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide. *Lancet* 337:776 (1991).
21. Wong F, Liu P, Tobe S, Morali G, Blendis G: Central blood volume in cirrhosis: measurement with radionuclide angiography. *Hepatology* 19:312 (1994).