

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

Prof Dr Adil KARTAL

Anabilim Dalı Başkanı

HEPATOPULMONER SENDROMUN TEDAVİSİNDE FLAVANOİD VE
LİKOPODYUM KLAVATUMUN ETKİNLİĞİ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

UZMANLIK TEZİ

Talha ATALAY

Tez Danışmanı

Prof Dr Adnan KAYNAK

KONYA 2011

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	ii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
3. MATERYAL VE METOD	13
4. BULGULAR	16
5. TARTIŞMA	26
6. ÖZET.....	29
7. SUMMARY	30
8. KAYNAKLAR.....	31

KISALTMALAR

HPS: Hepatopulmoner sendrom

T.Bil: Total bilirubin

D.Bil: Direk bilirubin

AST: Aspartat aminotransferaz

ALT: Alanin aminotransferaz

ALP: Alkalen fosfataz

PO₂: Parsiyel oksijen basıncı

PCO₂: Parsiyel karbondioksit basıncı

SaO₂: Saturasyon

KC: Karaciğer

AKC: Akciğer

F: Flavanoid

LK: Likopodium Klavatum

NO: Nitrik Oksit

1. GİRİŞ

Organizmadaki tüm sistemler kronik karaciğer hastalarında belirli ölçüde etkilenmektedir. Akciğerlerde, karaciğer yetmezliğinin oluşturduğu sistemik etkiden en fazla etkilenen organlardandır.

Hiperventilasyon, respiratuar alkoloz, hipoksi, artmış alveoler-arterial gradient , kronik karaciğer hastalığı ve sirozu olan hastalarda karşılaşılan solunum problemleridir.

Kronik karaciğer yetmezliği olan hastaların %15’inde $PO_2 < 70$ mmHg ölçülmüştür. Sirozlu hastaların önemli bir kısmında oluşan oksijenlenme probleminin sebebi Hepatopulmoner sendromdur (HPS).

Karaciğer transplantasyonu sonrası geridönüşümü olan HPS’un, insidansı %13-%47 arasında değişmektedir. HPS, sirozu olan hastalarda yaşam kalitesini azaltmakta ve son dönem karaciğer hastaları için ciddi mortalite ve morbidite sebebi olmaktadır.

Karaciğer yetmezliği, intrapulmoner vasküler dilatasyon ve arteriyel oksijenlenme bozukluğu olan sendromun halen oluşum mekanizması anlaşılamamış fakat bazı teoriler tartışılmıştır. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda, kronik karaciğer yetmezliği sonucu intrapulmoner vasküler dilatasyonlar, pulmoner arteriovenöz şantlar, düşük vasküler direnç ve artmış sistemik dolaşım nedeni ile arterial oksijenizasyonun bozulduğu anlaşılmıştır.

Artmış sistemik dolaşım ve düşük vasküler direnç karaciğer yetmezliğinin sistemik bulgularıdır. Bu durum hipoksiyi artırır fakat HPS’na spesifik değildir. Yapılan çalışmalarda, hipoksiye neden olan patolojinin, intrapulmoner vasküler dilatasyon olduğu ve pulmoner arteriovenöz şantların ise sonradan oluştuğu düşünülmektedir.

İntrapulmoner vasküler dilatasyonun oluşum sebebi, yoğun bir araştırma konusu olmuş ve birçok neden araştırılmıştır. Deneysel çalışmalarda endotel kaynaklı nitrik oksit ve endotelin-1 üzerinde durulmaktadır. Bunların dışında başka ajanlarda suçlanmış fakat vasküler dilatasyonların birçok faktörün ortak etkisinden kaynaklandığı kanaatine varılmıştır.

Yapılan çalışmalarda, HPS oluşumunda başlıca rolü olan NO ‘in engellenmesinin tedavide faydalı olacağı düşünülüp birçok ajan denenmiştir. Bizde çalışmamızda NO inhibe edici etkisi olan Flavanoid (F) ve bir bitki ekstresi olan Likopodium Klavatumun (LK) HPS tedavisindeki etkinliğini deneysel olarak araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Hepatopulmoner sendrom, ileri evre karaciğer yetmezliği ve pulmoner vasküler dilatasyonlarla birlikte ortaya çıkan arterial oksijenasyon bozukluğu ile karakterize bir sendromdur (1,2,3). Pulmoner mikrosirkülasyondaki genişlemeler sonrası oluşan alveoler-arterial oksijen gradientin artması ile oksijenlenme bozulmakta ve klinik belirtiler oluşmaktadır(3,4). Karaciğer hastalığının derecesi Child-Pugh A-C arasında değişmektedir ancak hastalığın derecesi ile HPS arasındaki ilişki net anlaşılmamıştır. Hastaların bir çoğunda portal hipertansiyon bulunmakla beraber, portal hipertansiyon gelişmedende HPS oluşabilmektedir (1,5,6).

Karaciğer ve akciğer arasındaki klinik etkileşimleri ilk defa 1884 yılında Fluckinger (7) ortaya koymuştur. Karaciğer tutulumu olan sifilisli bir hastada siyanoz, çomak parmak ve siroz birlikteliğini tarif etmiştir. 1956 yılında Rydell ve Hoffbauer (8) detaylı bir klinik ve otopsi çalışması ile Juvenil siroz gelişen 18 yaşındaki bir hastada, HPS'mun detaylarını tespit etmişlerdir. Progresif dispne, hemoglobin desaturasyonu, pulmoner vasküler şantlar tespit etmişlerdir. Ayrıca otopside dilate pulmoner damarları ve direkt arteriovenöz anastomozları göstermişlerdir (8).

1977 yılında Kennedy ve Kundson tarafından ilk kez HPS tanımlanmıştır. Alkolik siroz nedeni ile portokaval şant yapılan 4 yıl sonra egzersiz dispnesi gelişen hastada sendromun özelliklerini açıklamışlardır (9).

Krowka ve Cortese (10), HPS'daki tanı kriterlerini ortaya koymuşlardır. Karaciğer hastalığı ile birlikte , alveoler-arterial oksijen gradientinin >20 mmHg ve $PO_2 < 70$ mmHg olması, pulmoner vasküler değişikliklerin ve arteriovenöz şantların özel yöntemlerle gösterilmesi, tanı esaslarını oluşturmaktadır.

Mayo kliniğinde HPS tanısı konularak takip edilen hastaların %41'i 2,5 yıl içerisinde ölmüştür. En sık ölüm nedeni gastrointestinal sistem kanaması, sepsis, böbrek yetmezliği ve ardından solunum yetmezliğidir. HPS gelişmiş sirozlu hastalarda bulgulara gerileme görülmemiştir (11).

HPS insidansı çeşitli kliniklere göre %12-%47 arasında değişmektedir (12-13). Karaciğer yetmezliğinin her çeşidi görülebilmekle beraber en sık kriptojenik siroz, alkolik siroz ve kronik aktif hepatit karşımıza çıkmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Mayo Kliniğinde Hepatopulmoner Sendrom tanısı konulan hastalarda karaciğer hastalıklarının dağılımı

Kriptojenik siroz	14
Alkolik siroz	12
Kronik Aktif Hepatit	10
Post nekrotik Siroz	5
Bilier Atrezi	4
Primer Bilier Siroz	2
Juvenil Siroz	2
Wilson Hastalığı	2
Trizomi	1

HEPATOPULMONER SENDROMUN OLUŞUMU VE PATOFİZYOLOJİSİ

Kronik karaciğer yetmezliğinde damar endotelinin fonksiyon ve yapısında oluşan değişiklikler, HPS ‘daki intrapulmoner vasküler dilatasyonlara neden olmaktadır. Normalde perialveoler kapiller damar çapı 8–15 µm iken HPS’da damar çapları 500 µm’eye kadar genişlemektedir. Perfüzyon-difüzyon defekti (14), Alveoler- kapiller oksijenlenme denge bozukluğu sendromu (15) adları ile de anılmıştır. HPS’da klinik ve fizyopatolojik değişiklikleri akciğerin alt bölgelerinde olmasının sebebi akciğerlerde alveol, venül ve arteriol arasındaki basınç farklılıklarında kaynaklanmaktadır.

HPS’da gelişen intrapulmoner vasküler dilatasyonların meydana geliş nedeni, damar endotelinde oluşan patolojik değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Karaciğer yetmezliği ile damar endotelinde etkisini gösteren bazı mediatörlerin , vasküler dilatasyonlara sebep olduğu düşünülmektedir.

Akciğerlerdeki gaz alışverişi alveol, arteriol ve venüller arasındaki basınç farkı ile oluşmaktadır. Bu yapıların basınçları akciğerin çeşitli kısımlarında farklılık göstermektedir. Akciğerin apeksinde alveol basıncı en yüksek, basalinde ise en düşüktür. Pulmoner arteriol basıncı orta ve alt bölgelerde en yüksektir. Pulmoner venöz basınç ise apekte en düşük, basalde ise en yüksektir (16).

Basınç farklılıkları nedeni ile HPS'daki vasküler dilatasyonlar özellikle alt bölgeleri etkilemekte ve klinik belirtilerde bu doğrultuda ortaya çıkmaktadır. Pulmoner arterio-venöz anastomozlar daha çok alveol basıncının en düşük olduğu bazal bölgelerde kendini göstermektedir.

ENDOTELYUM

Endotelyum, özellikle kapillerde, vasküler permeabiliteyi düzenleyici olarak önemli bir rol oynar. Endotel hücreleri, ayrıca dolaşımdaki hormonları aktive ve deaktive eder (17). Angiotensin dönüştürücü enzim, endotel hücresi membranının bir enzimidir ve angiotensin I 'i angiotensin II' ye dönüştürür. Bradikinin ise inaktif ürünlere parçalar, öte yandan monoaminoksidaz enzimi norepinefrin ve serotonin gibi monoaminleri inaktive eder. Endotel hücreleri, t-PA (doku plazminojen aktivatörü) ve plazminojen inhibitörü gibi koagülasyon faktör inhibitörlerinin kaynağıdır ve nitrik oksid (NO), prostaglandinler ve endotelin I gibi vazodilatör maddeler salgırlar. Ayrıca, endotel hücreleri, heparin, heparin sülfat ve TGβ1 gibi büyüme inhibitörleri ve FGF ve PDGF gibi büyüme faktörlerinin kaynağıdır (18). Bundan dolayı, endotelyumun biyolojik fonksiyonu, vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonu ve proliferasyonunun regülasyonunda rol oynar (19). Normal koşullarda, vasküler tonus, trombosit fonksiyonu, koagülasyon ve proliferatif yanıtlar üzerindeki inhibe edici etkiler ağır basmaktadır, bu da organizmanın fizyolojik koşullardaki koruyucu doğasını yansıtır (20,21). Endotelyumun fonksiyonel özelliklerini değiştiren hastalıklar vasküler tonus, koagülasyon ve büyüme üzerindeki lokal kontrolde büyük değişikliklere yol açabilir ki bu fenomenlerin tümü koroner arter hastalığının patogenezinde önemli ölçüde katılmaktadır (22).

Damar duvarındaki düz kası güçlü bir şekilde gevşeten EDRF, solübl guanilat siklazı aktive ederek cGMP düzeyini artırır (23). EDRF 2'nin şimik yapısı basitçe NO veya onu içeren bir kompleks olabilir. Prostasiklin (PGI₂) endotelden salgılanan başka bir vazodilatördür ve etkisi adenilat siklaz aracılığı ile cAMP'nin artışına bağlıdır. EDRF ve prostasiklin vasküler düz kası gevşetmek ve trombosit agregasyonunu inhibe etmek bakımından sinerjik olarak etki edebilirler. Endotel hücreleri , hiperpolarize edici bir faktör (EDHF) de salgırlar. EDHF'nin doğal yapısı bilinmemektedir, büyük olasılıkla araşidonik asidin bir metaboliti, epoksit veya lipoksittir.

Endotelden kaynaklanan en az iki damar büzücü faktör daha vardır. Bunlardan birisi indometazine duyarsız (ECDF1), diğeri ise indometazine duyarlıdır (EDCF2). EDCF vazodilatör etkiye sahiptir ve endotel kaynaklı gevşemelerin başlangıcına katkıda

bulunmaktadır (24). Agrege olan trombositlere karşı endotelyuma bağılı relaksasyonlar esas olarak adenin nukleotidler ve serotonin aracılığı ile gerçekleşir. Normal koşullarda, sağlam endotelyum varlığında bu relaksasyonlar ve kontraksiyonlar iyi bir denge halindedir (25).

Neticede endotelyum yalnızca kan ile dokular arasında madde alışverişinin yapıldığı nontrombojenik bir bariyer olmayıp aynı zamanda güçlü vazoaaktif, antikoagulan ve fibrinolitik madde üreten, vücudun en büyük , en aktif parakrin organıdır. Endotelyumun yapısal ve işlevsel bozukluklarının birçok vasküler hastalığın patogeneğinde rol aldığı düşünülmektedir.

HPS oluşumunda da endotel kaynaklı vazodilatatör ve vazokonstriktör ajanların önemli rol aldığı bilinmektedir. NO ve endotelin1 başlıca ajanlardır.

HEPATOPULMONER SENDROMDA HİPOKSEMİNİN MEKANİZMASI

HPS'mun oluşumunda birçok ajan-mediator suçlanmış ve çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. İleri karaciğer hastalıklarında hipokseminin birkaç nedeni vardır. Sağ-sol intrapulmoner şant, alveol-kapiller difüzyon yetmezliği ve alveoler-ventilasyon perfüzyon dengesizliği, hipoksemiye yol açan nedenlerdir. O₂-Hb dissosiasyon eğrisinin sağa doğru kayması önceden sirozdaki arterial oksijen yetmezliğinin sebebi olarak düşünülüyordu (26). O₂'nin hemoglobine azalmış afinitesini, intraselüler 2,3 difosfogliserat'ın karaciğer yetmezliğinde artmasından kaynaklandığı düşünülmekte idi (27,28). Hipokseminin tek başına derecesini bu açıklayamayacağı için yeni çalışmalar yapılmıştır.

Davis ve arkadaşları (29), sirozu bulunan bir hastanın, akciğer alt lobu boyunca 60–80 µm çapında ince duvarlı pulmoner damarların olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca gelişen hipokseminin, bunun sonucunda olduğunu belirlemişlerdir.

Williams ve arkadaşları (30), parasetamol intoksikasyonu sonucu hepatik yetmezliği olan 12 hastada , intra asinar damar genişliği , plevral spider nevi ve prekapiller damarlarda genişleme tespit ettiler. Bu yüzden otopside görülen HPS'a ait değişikliklerin daha önceden var olan pulmoner ve plevral damar genişlemelerinden kaynaklandığını gösterdiler.

Karaciğer hastalarında arterial oksijenizasyon anormallikleri çok yaygındır. Karaciğer transplantasyonu yapılmış hastalar da dahil olmak üzere , hastaların %56'da oksijenizasyon bozukluğu mevcuttur (31). Terminal dönem karaciğer hastalarında yapılan kontrastlı ekokardiyografi çalışmasında, hipoksemiye neden olan pulmoner damar genişlemesi oranının %13-%15 arasında olduğu gösterilmiştir (32,33).

HPS' da pulmoner damar değişikliklerinin gelişen hipoksemiye nasıl meydana getirdiği tam anlaşılamamıştır. Önceleri intrapulmoner şantların varlığının, tek başına hipoksemi nedeni olduğu gibi bir düşünce varken , daha sonra HPS'u olan hastarın çoğunun %100 O₂ verildikten sonra normale dönmesi, hipoksi nedeninin başka sebeblerede bağlı olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle HPS'daki hipokseminin asıl nedeninin intrapulmoner vasküler dilatasyon sonucu olması daha doğrudur. Çünkü gerçek şant olduğunda %100 O₂ ile solunum yaptırıldığında hipoksi düzelmemektedir. Bu nedenle 2 tip HPS tarif edilmiştir (1,34).

Tip I: %100 O₂ verildiğinde arterial oksijen basıncı 200 mmHg'nin üzerine çıkan hasta grubu. Bu hastalarda sadece pulmoner intravasküler dilatasyonlar mevcuttur.

Tip II: % 100 O₂ erildiğinde arterial oksijen basıncı 200 mmHg'nin üzerine çıkmayan hasta grubu. Bu hastalarda pulmoner intravasküler dilatasyonlara ilaveten arterivenöz şantlar gelişmiştir.

Van Obbergh ve arkadaşları benzer sonuçları karaciğer transplantı yapılan çocuklarda tespit ettiler (35). Hipokseminin derecesinin intrapulmoner şantın hacmine bağlı olduğunu gösterdiler. Bu araştırma sonucunda ileri derecede hipoksemisi olan hastalarda büyük bir şantın olduğunu ve sınırlı oksijen difüzyonunun varlığını tespit ettiler.

Buna karşın pulmoner arter genişlemesi ile birlikte normal oksijenizasyon veya hafif hipoksemik hastalarda Va/Q dengesizliği ve küçük şantlar mevcuttur. Daha da önemlisi HPS'u olan hastaların bazıları %100 O₂ olmasına rağmen PO₂ basınçları yükselmemektedir. Bu hastalarda ileri derecede intrapulmoner damar genişlemesi ve çok sayıda arteriovenöz bağlantılar vardır. Prekapiller damarların çapı artınca O₂ molekülleri mevcut arterio-venöz şantlar sebebi ile karışık olan venöz kana güçlkle ulaşır ve iyi oksijenlenmez. Bu olaya "difüzyon perfüzyon defekti" denmektedir (36,37). Hastalarda, normal oda havasında hipoksemi varsa (Pa<50 mmHg), bu HPS'un teşhisinde önemli bir noktadır (1).

Perialveoler kapillerde oksijenlenme esasları, kırmızı kan hücrelerinin endotele yakın olmaları ile orantılıdır. Endotele yakın olan kan daha iyi oksijenlenir. HPS'da, hipokseminin nedeni genişleyen peri alveoler kapillerdeki dilatasyonlardır. Damardaki akımın orta kısmında bulunan eritrositler yeterince oksijenlenemezler buda değişik oranda oksijenlenme yetersizliği yapar (37). İleri evre karaciğer hastalığındaki hiperdinamik dolaşım, oksijenin hızla akan kan içerisindeki hemoglobin ile birleşmesinde iyice bozmaktadır (38-40).

Yapılan birçok çalışmada HPS'u olan hastalarda, pulmoner vazodilatöterlerin ve vazokonstriktörlerin dengesizliği ve özellikle vazodilatörlerin artmasının damar

genişlemelerine neden olduğu düşünülmektedir. Buna karşın pulmoner vazokonstriktörler pulmoner hipertansiyona yol açar. Bu yüzden endotel seviyesinde, vazodilatörlere karşı düşük bir sensitivitenin, sözkonusu olması gerekmektedir.

HPS'daki dilatasyona Nitrik Oksit neden olduğunu birçok çalışma ile gösterilmiştir(41,42). HPS'da hastalarda NO seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (43,44). Karaciğer transplantasyonu sonrasında NO seviyelerinin normale döndüğü görülmüştür. Ancak NO bütün HPS bulgularını açıklamaya yetmemektedir.

HPS'un oluşturulmasında koledok ligasyonu ile siroz oluşturulması bilinen en uygun hayvan modelidir. Ratların akciğer homojenatlarında yüksek miktarlarda eNOS ve intrapulmoner vasküler dilatasyon tespit edilmiştir (45).

NİTRİK OKSİT'İN ETKİ MEKANİZMASI

Nitrik oksit L-arginin aminoasitinden L-sitrullin oluşumunda ara ürün olarak ortaya çıkar. Altı saniyelik yarı ömrü vardır. Diğer bir adıda "Endotelium derived relaxing faktör" dür. Organizmada iki tip NO enzimi bulunmaktadır. Endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz (eNOS) ve indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS). eNOS enzimi kalsiyum ve kalmoduline bağımlı olup endotel, sinir hücresi ve trombositte bulunur. iNOS kalsiyumdan bağımsızdır ve makrofaj, hepatosit, nötrofillerde bulunur (46,47).

Siroz hastalarında bilier epitelyum hücrelerinden Endotelin-1 ve buna bağlı artmış serum ET-1 düzeyleri tespit edilmiştir (48,49). ET-1 normal ve HPS'daki mikrovasküler endoteliumu etkilemektedir. ET-1, normal damar etkileşiminde lokal olarak endotelden salgılanır (50). Damar düz kasında ET-A reseptörlerine etki ederek vazokonstriksiyona yol açmaktadır. Bu olaya parakrin vazokonstriksiyon denir.

Damar lümeninde ET-1'in salgılanması eNOS aktive etmekte ve NO düzeyini arttırmaktadır. Bu etki, endoteldeki ET-B reseptörlerinin etkileşimi ile olmaktadır. Bu olayada endokrin vazodilatasyon denmektedir (51,52).

Koledok kanalı bağlanarak siroz oluşturulan deneklerde bilier epitelden ET-1 salgısının arttığı görülmüştür (51,53). Bununla doğru orantılı olarak, pulmoner endotelial NO düzeyleri ve intrapulmoner vasküler dilatasyonlarda artma gözlenmiştir (53,54).

Tablo 2. HPS oluşumunda suçlanan ajanlar

VAZODİLATATÖRLER	VAZOKONSTRİKTÖRLER
1. NİTRİK OKSİT 2. ATRİAL NATRİÜRETİK FAKTÖR 3. NEUROKİNİN A 4. VAZOAKTİF İNTESTİNAL PEPTİD 5. SUBSTANCE P 6. GLUKAGON 7. PLATELET AKTİVATİNG FAKTÖR	1. TİROSİN 2. ENDOTELİN 3. SEROTONİN 4. PG F2 5. ANJİYOTENSİN-I

HPS’da akciğerlerin hipoksiye karşı olması gereken fizyolojik cevap bozulmuştur. Normalde akciğer dokusu hipoksiye vazokonstriksiyonla cevap verir. HPS’da intrapulmoner vasküler cevap incelenmiştir.

Chang ve Ohara, koledok kanalını bağlayarak ratlarda 5 hafta beklemiş ve bilier siroz oluşturmayı başarmıştır (55). Bu ratlarda kardiyak outputun arttığını ve sistemik pulmoner vasküler direncin azaldığını gördüler. Pulmoner damarların hipoksiye cevabının ileri derecede azaldığını, pulmoner vasküler direncin %1 arttığını kontrol grubunda ise %42 olduğunu tespit ettiler. Siroz oluşturulan ratlarda alveoler arterial oksijen gradientinin 23 mmHg buna karşın kontrol grubunda 16 mmHg arttığını bildirdiler. Bu çalışmanın önemi, anjiyotensin II enjeksiyonu ile hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonun düzelmesidir. Bu ratlarda normal ratlardan yapılan kan ototransfüzyonlarıyla hipoksi düzelmemiştir. Buda bize asıl problemin akciğerden kaynaklandığını göstermektedir.

Intrapulmoner vasküler dilatasyonlar, HPS’u olan hastalardaki bozulmuş hipoksik pulmoner vazokonstriksiyonu açıklamaya yetmektedir. Vazokonstriksiyon 500 µm’den küçük arterlerde görülmektedir (26).

HPS’da intrapulmoner vasküler dilatasyonlar, hastalığın değişmez fizyopatolojik değişikliklerdir. Hipoksinin asıl nedeni damar değişiklikleridir. Pulmoner arterio-venöz anastomozlar, karaciğer yetmezliği ve siroz sonucu ortaya çıkan hiperdinamik dolaşım, hipoksinin daha da artmasına sebep olmaktadır.

HEPATOPULMONER SENDROMUN KLİNİK BELİRTİLERİ

Klinik belirtiler sendromun tanısını koymadan ortalama 5 yıl önce başlar ve çok az hasta akciğer problemleriyle başvurmaktadır. Hastaların %70'ten fazlası sendromun akciğer bulgularının ortaya çıkmasından önce karaciğer komplikasyonları nedeniyle müracaatta bulunur (11).

Mayo kliniğinde takip edilen hastaların tanı konduktan sonra hayatta kalma süresi ortalama 2–3 yıldır. Hastaların çoğu gastrointestinal kanama böbrek yetmezliği ve sepsis nedeni ile kaybedilirler (11).

HEPATOPULMONER SENDROMUN KLİNİK BULGULARI

- Platypnea (yatar pozisyondan, ayağa kalkıldığında nefes alamama) ve efor dispnesi (%100)
- Çomak parmak (%75)
- Hipoksi ($PO_2 < 70$ mmHg)
- Siyanoz
- Ortodeksi (yatar pozisyondan, ayağa kalkıldığında kan gazı değerlerinde 3 mmHg'den fazla azalma)
- Karaciğer hastalığı bulguları

HEPATOPULMONER SENDROMUN TANI YÖNTEMLERİ

- Solunum Fonksiyon Testleri
- Akciğer grafisi
- Arterial kan gazı
- Tc 99 MAA (molekül ağırlığı arttırılmış albuminle işaretli Tc 99 ile sintigrafik inceleme)
- Kontrastlı Ekokardiyografi
- Pulmoner angiografi
- Spiral Kontrastlı Bilgisayarlı Tomografi
- Magnetik Rezonans Görüntüleme

HPS'da solunum fonksiyon testleri genellikle normaldir. %25 vakada restriktif tipte yetmezlik bulguları olabilir, ayrıca diğer akciğer patolojileri hakkında fikir verir. Akciğer grafisinde retiküler tarzda nodüler görünüm, akciğer bazallerinde görülebilir (56,57). Arterial kan gazlarında $PO_2 < 70$ mmHg olması veya ortodeksi tespiti önemlidir. Ayrıca hastayı %100 O_2 solutarak şant çalışmaları yapılabilir. Şant gelişmiş hastalarda PO_2 200 mmHg üzerine çıkmaz (56).

Periferik venlerden verilen Tc 99 MAA'nın böbrek ve beyin sintigrafisinde radyoaktif tutulumu bize intravasküler dilatasyonların varlığını göstermektedir. Pulmoner angiografi, portopulmoner ve pulmoner arteriovenöz şantları gösterebilir (60). Kontrastlı ekokardiografi HPS'da intravasküler dilatasyonları göstermede altın standarttır. Pulmoner dolaşıma verilen kontrastlı tuz moleküllerinin sol kalpte görülmesi pulmoner arterio-venöz anastomozların göstergesidir (61,62). Kontrastlı tomografi ve MR'ın tanıdaki yeri tartışmalıdır, ancak akciğeri ilgilendiren diğer patolojiler hakkında fikir verir.

HEPATOPULMONER SENDROMUN TEDAVİSİ

HPS'da birçok tedavi yöntemi denenmiştir. Somatostatin ve analogları, beta blokörler ve ajanistleri tedavide başarılı olamamıştır. Metilen mavisi, guanilat siklaz inhibisyonu ile damar düz kaslarında dilatasyonu azaltarak, kısmen hipokseminde düzelme sağlamıştır (63). Non steroid antiinflamatuvarlar, siklofosamid ve prednol hipokseminde kısmi düzeltilmeler sağlayabilmiştir ancak yeterli olmamıştır (64,65). Sarımsak tozu, HPS'ü bulunan hastalarda hipokseminde anlamlı düzeltilme olmuştur, fakat kalıcı çözüm olmamıştır (66). Medikal tedaviler dışında başka çözüm arayışına giren araştırmacılar, Poterucha ve ekibi tip 2 HPS'li bir hastada pulmoner embolizasyon yapmış parsiyel oksijen basıncında düzeltilme sağlamıştır (67). HPS'li hastada portal hipertansiyon nedeni ile cerrahi şant yapılmış, hastanın bulgularında gerileme tespit edilmiştir (68). Transjuguler porto sistemik şant denenmiş bir hastada da PO_2 'de düzeltilme kaydedilmiştir (69).

Karaciğer transplantasyonu yapılan hastalarda, preoperatif mevcut olan hipokseminin transplantasyon sonrası düzeldiği görülmüştür (70). Bu hastalarda intrapulmoner vasküler dilatasyonlarında tamamen gerilediği gösterilmiştir (71,72). Sonuç olarak HPS'un da kendi başına karaciğer transplantasyonu endikasyonu olması gerektiği bildirilmektedir (71).

Maalesef, HPS'lu hastalarda eğer intrapulmoner şanttan kaynaklanan hipoksemi ciddi ise karaciğer transplantasyonu yapıldıktan sonra bile, hastalarda 1 yıllık hayatta kalma oranı %71 gibi düşük bulunmuştur (72).

Rabiller ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada HPS'lu hastalarda antibiyotik tedavisinin (Norfloksasin) arterial oksijenizasyonda düzelme sağladığını göstermişlerdir (73).

Zang ve ekibi de fosfodiesteraz inhibitörlerinin (Pentoksifilin) TNF-alfa blokajı ile intrapulmoner vasküler dilatasyon ve gaz değişiminde iyileşme sağladığını hayvan deneyiyle göstermişlerdir (74,75). Bir başka çalışmada vazodilatör etkili İloprost dispne ve hipoksidede düzelme, efor kapasitesinde artma ve intrapulmoner şantlarda azalma sağlamıştır (76). NO antagonisti olan NG-nitro-L-argininemetilester (L-NAME) ve metilen mavisi arterial gaz değişiminde belli ölçüde düzelme sağlamıştır (77).

Tablo 3. Hepatopulmoner Sendromda denenmiş ajanlar

YIL	KULLANILAN AJAN	VAKA	SONUÇLAR
1993	Almitrine	6	Minimal iyileşme
1993	İndometazin	7	İyileşme yok
1994	Somatostatin	7	İyileşme yok
1994	Metilen Mavisi	1	İyileşme var
1994	L-Name	1	İyileşme yok
2005	Pentoksifilin	25	İyileşme yok
2007	Aspirin	3	İyileşme yok
2009	Sarısak tozu	21	15/21 kısmı iyileşme
2010	Norfloksazin	9	Minimal iyileşme

FLAVANOİD

Flavanoid , %90 flavone diosmin, %10 flavone hesperidin içerir. Reperfüzyon hasarında etkili olduğu bilinmekle beraber, bu etki mekanizması tam olarak ortaya konamamıştır. Bu etkinin lipooksijenaz inhibisyonuna ve interselüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) inhibisyonu ile lökosit tutulumunun azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir

(78,79). Diosminin lipid peroksidasyonunu inhibe etmede vitamin E kadar etkili olduğu gösterilmiştir (80). Rat karaciğer çalışmalarında flavonoidlerin hem enzimatik hem de non-enzimatik yolla oluşan süperoksit anonların oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (81,82).

LİKOPODYUM KLAVATUM (LK)

Kurtayağı, kibrit otu ve yer yosunu adlarıyla anılmaktadır. Bu yosunsu bitki, iki metreye kadar ulaşan tutunma filizleri ile ormanların zeminlerinde kök salarak uzanır. 7–10 cm uzunluğunda, süpürgeotunu andıran, ama ondan çok daha yumuşak saplar içerir.(83).

LK, radyum içeren bir bitkidir ve uzun kolları, sarıçiçek tozu içeren başakları ile öteki yosunsu bitkilerden kolayca ayırt edilebilir. Karaciğer iltihabında, karaciğer katılgan doku tümörlerinde, kötü karakterli olsalar bile, LK kullanılabilir (84). LK, anti-inflamatuar özelliği olan alkaloidler içerir (84). Ayrıca karaciğerin primer ve sekonder fonksiyonel bozukluklarında invitro anti oksidatif ve anti proliferatif etkinliği olduğu görölmüştür (85).

Literatürde, Likopodyum Klavatum ve Flavanoid'in antioksidan ve antiinflamatuar etkileri hakkında birçok araştırma mevcuttur. Ayrıca bu iki ajanın NO'i inhibe edici etkileri bilinmektedir (86). HPS oluşumunda primer sorumlu olduğu düşünölen NO'in azaltılmasının ne gibi sonuçlar oluşturacağını deneysel olarak değerlendirmek istedik. Amacımız daha önce oksidatif hasarı önleyici etkileri ve karaciğer iskemisinde olumlu etkileri bilinen bu ajanların HPS üzerindeki olumlu veya olumsuz etkilerini araştırmaktır.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu (06.04.2010 tarih ve 2010/35 sayılı karar) onayıyla, Selçuk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (SÜDAM) laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Deneyler için 24 adet erişkin Spraque Dawley türü ratlar kullanılmıştır. Ratlar, kafes başı dört hayvan olacak şekilde, sabit sıcaklık (22 ± 2 C°) ve nem (% 51) de barındırılmıştır. Ratlar için 12 saat aydınlık/karanlık döngüsüne sahip bir ortam oluşturulmuş ve ad-libitum ile beslenmiştir.

Deney Grupları

24 adet deney hayvanı ,her biri 6 adet rattan oluşan 4 gruba ayrılmıştır. Kullanılan denek gruplarının listesi tablo 4’de görülmektedir.

Tablo 4: Denek grupları

Grup	Adı	Uygulama	Sayı (n)
1	S	Sham	6
2	K	Koledok Ligasyonu	6
3	F	Koledok Ligasyonu +Flavanoid	6
4	L	Koledok Ligasyonu +Likopodyum Klavatum	6

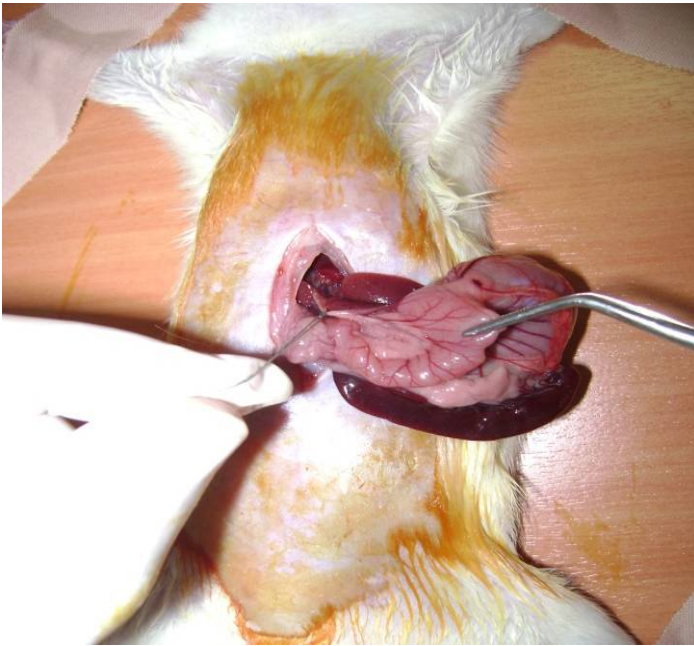
Ratlara , intraperitoneal Ketamin Hidroklorür (2 mg/kg,10 mg/ml) verilerek anestezi sağlandı. Sham grubundaki ratlara sadece laparotomi yapıldı.İkinci gruptaki ratların koledok kanalı diseke edildi,4/0 ipekle bağlandı (Şekil 1,2). Üçüncü ve 4. gruptaki ratların koledok kanalı diseke edilip, 4/0 ipekle bağlandı.

İki hafta sonra 3. gruba Flavanoid (Daflon 500 mg ,Les Laboratoires Servier, a Servier Company; Neuilly-Sur-Seine, Fransa) (100 mg/kg) orogastrik lavaj yöntemi ile günde 2 kez verildi.Dördüncü gruba da Likopodyum Klavatum (Lycopodium-30 Weleda Ltd.Heanor Road Ilkeston Derbyshire DE7 8DR) (100 mg/kg) yine orogastrik yöntemle günde 2 kez verildi.

Beşinci haftanın sonunda, tüm ratlar Ketamin Hidroklorür İ.P anestezi altında relaparotomi ile sakrifiye edildi.



Şekil 1. Deneklerde koledok diseksiyonu yapıldı.



Şekil 2.Koledokun 4/0 ipekle bağlanması.

Biyokimyasal değerlendirme:

Biyokimyasal parametreler için direk kalpten 5 cc kan alındı.Kan gazı değerlendirmeleri için de aorta abdominalisten heparinli enjektörle 1 cc kan alındı. Total bilirubin, Direk bilirubin , AST, ALT, ALP değerleri Olympos/AO 5200 Konsesyum/USA cihazında ölçüldü.Kan gazı değerlendirmeleri, GEM Premier Plus İnstrumentation Lab. Lexington MA 02173 cihazında yapıldı.

Patolojik değerlendirme:

Karaciğer ve akciğer dokuları histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Alınan parçalar Ototeknikon cihazında takip işleminden geçirildi ve parafin bloklara gömüldü.Bu bloklar mikrotom yardımı ile 5 mikron kalınlığında kesildi ve Hemotoksilen-Eosin ile boyandı.İnceleme ışık mikroskopu ile x10,x40,x100 büyütülerek yapıldı. İncelemeyi yapan patolog grup bilgilerinden habersizdi.

Siroz gelişimi , rat karaciğerindeki pleomorfizm, atipik mitoz, periduktal proliferasyon ve fibrosizin tespiti ile ortaya kondu.Patolojik bulgular; hiç olmaması 0,hafif olması 1,orta derecede olması 2 ,ağır derecede olması 3 olarak derecelendirildi.Gruplar arasında patolojik bulgular karşılaştırıldı. HPS gelişimi ise parsiyel oksijen basıncının 70 mmHg'den az olması ve akciğer perialveolar kapiller dilatasyonun varlığının gösterilmesi ile tespit edildi.

Akciğer bulguları; iltihabi hücre infiltrasyonu, bronşiol duvar harabiyeti, perialveoler kapiller damarların genişlemesi, gruplar arasında değerlendirildi. Perialveoler kapiller damar çapları patolog tarafından okülometre ile ölçüldü. Her rat için 6 değişik akciğer bölgesinden damarlar seçilerek ölçümler yapıldı.

İstatistiksel analiz

Deneklerden elde edilen veriler ortalama $\pm$ SS şeklinde özetlendi.Gruplarda denek sayısı az olduğundan gruplar arası istatistiksel karşılaştırmada non parametrik testlerden Kruskal- Wallis tek yönlü varyans analizi uygulandı.Ardından Posthoc olarak Bonferroni düzeltilmesi yapılarak Mann Withney U testi kullanıldı . $p<0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Ratlardan 5 hafta boyunca kaybedilen olmadı. Tıkanma ikteri ve siroz geliştirilen ratlarda günlük beslenme ve su tüketiminde azalma görüldü. Tıkanma ikterli rat gruplarında kilo kaybı ve hareketlerde yavaşlama gözlemlendi.

Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal parametreler ve kan gazı değerleri tablo 5 ve tablo 6 da (Ort±SS) olarak verilmiştir.

Tablo 5:Gruplardaki deneklerin biyokimyasal değerleri(Ort±SS)

Biyokimyasal Parametreler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
T.Bil	0.30±0.09	7.50±0.39	7.30±0.31	8.40±1.04	p<0.05
D.Bil	0.15±0.08	5.90±0.46	6.10±0.18	6.38±0.40	p<0.05
AST	117.30±9.00	477.50±20.33	323.80±77.37	812.70±73.27	p<0.05
ALT	46.00±18.51	114.70±8.09	100.30±19.98	186.70±10.63	p<0.05
ALP	87.00±15.58	569.50±32.72	513.00±43.67	521.00±19.67	p<0.05

Tablo 6:Gruplardaki deneklerin kan gazı değerleri (Ort±SS)

Kan gazı Değerleri	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
PO ₂ mmhg	95.00±1.20	67.70±2.33	72.30±2.34	62.00±3.10	p<0.05
PCO ₂ mmHg	34.00±3.13	38.00±1.89	38.00±5.51	46.00±3.00	p<0.05
Ph	7.30±0.02	7.30±0.03	7.30±0.02	7.30±0.02	p<0.05
Sa O ₂ %	96.00±1.70	67.70±2.33	93.70±2.34	86.30±1.86	p<0.05

Koledok ligasyonu yapılan deneklerle, sham grubu (Grup1) arasında biyokimyasal ve kan gazı değerlendirmelerinde istatistiksel anlamda fark tespit edildi (p<0.05).(Tablo 5,6)

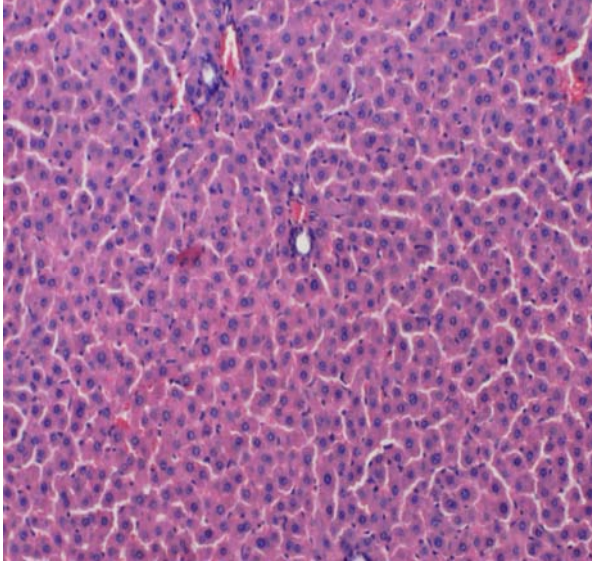
T.Bil,AST,ALT,PO₂ ,PCO₂ değerleri grup 3 ile grup 4 arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü (p<0.05).(Tablo 5,6)

ALP,AST,ALT,PO₂,PCO₂, SaO₂ değerleri grup 2 ile grup 4 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (p<0.05).ALP,AST,PO₂,SaO₂ değerleri grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu(p<0.05). pH değerleri tüm denek gruplarında bir birine yakın parametrelerde ölçüldü.(Tablo 6)

PATOLOJİK DEğERLENDİRME:

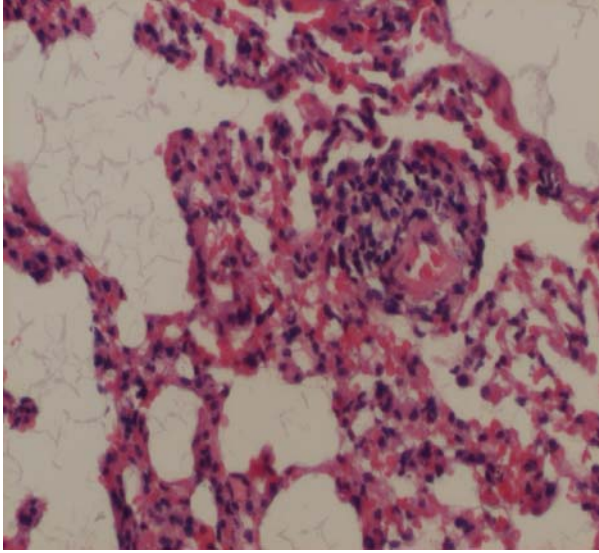
MİKROSKOPİK BULGULAR(GRUP 1)

Sinüzoidler ve perialveoler damar çapları normal görünümde idi. Karaciğer normal olarak değerlendirildi(şekil 3).



şekil 3.Sham grubundaki ratların normal görünümdeki karaciğer parankim dokusu. (H&EX100)

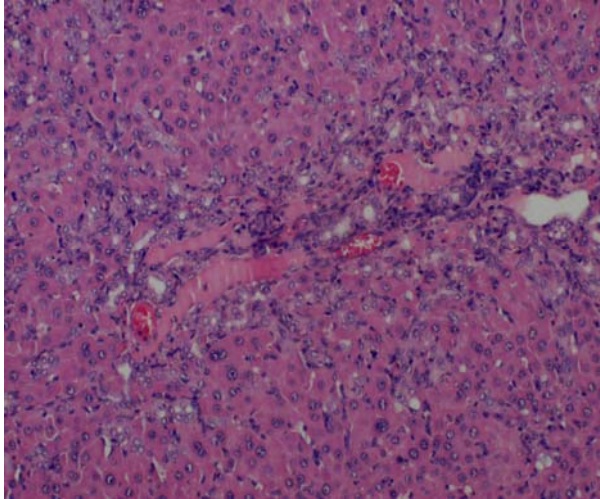
Akciğer bronşları normal, alveoller hafif amfizematzd. Bazı alanlarda lenfosit toplulukları ve seyrek nötrofiller mevcuttu (şekil 4).



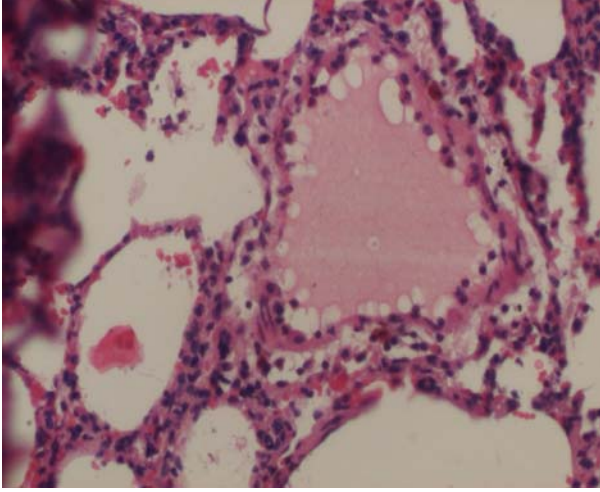
Şekil 4. Sham grubundaki ratların normal görünümdeki akciğer dokusu .Normal perialveoler damar çapı . (H&EX100)

MİKROSKOPİK BULGULAR (GRUP 2)

Karaciğerde vena sentralisler çevresi ve periportal mesafelerde parankim içerisine infiltrate nötrofil ve mononükleer iltihabi hücreler (kronik aktif hepatit) mevcuttu. Porto-portal, porto sentral fibroz bantlar ile sirotik nodüller izlendi. Perialveoler damar lümenleri sham kontrol grubuna göre genişlemiş ve konjesyoneydi. (Şekil 5).



Şekil 5. 2.grup ta koledok ligasyonu sonrası 5 hafta beklenerek gelişen sekonder bilier siroz bulguları. (H&EX100).

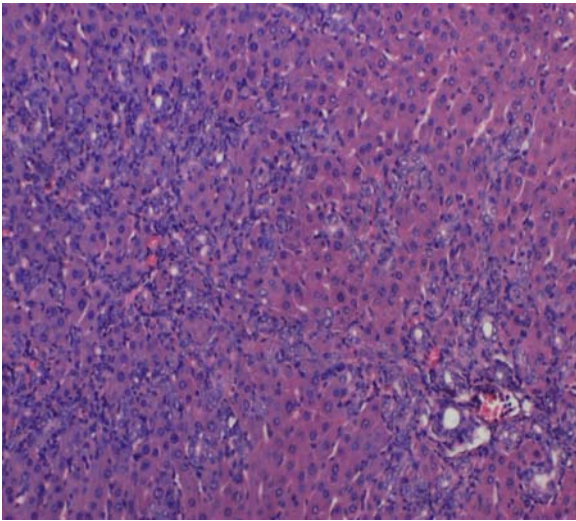


Şekil 6. Grup 2’deki ratlarda koledok ligasyonu sonrası genişlemiş perialveoler damar çapı artışı.(H&EX100)

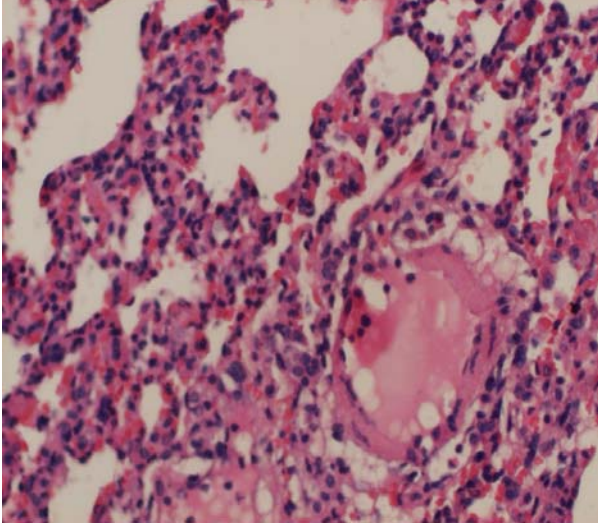
Akciğer bronş duvarlarında kısmen harabiyet, nötrofil ve mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu, alveol duvarlarında fibrin birikintileri, kalınlaşma ve parçalanma, damarlarda belirgin konjesyon, ödem ve damar çaplarında belirgin dilatasyon izlendi. İntertisiyel sahada ve kapiller duvarlarında fibrin birikintileri ve kısmen kalınlaşma mevcuttu (Şekil 6).

MİKROSKOPİK BULGULAR (GRUP 3)

Kronik aktif hepatit ve sekonder bilier siroz bulguları mevcut olmakla beraber parankim dejenerasyonu, fibrosis, vasküler konjesyon ve dilatasyon, yalnız koledok ligasyonu yapılan gruba oranla daha hafif görünümündedir.



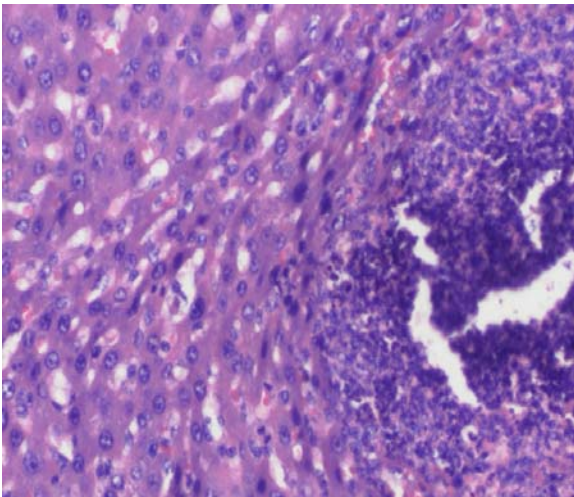
Şekil 7.Grup 3'teki ratlarda karaciğer parankim dokusu. Geniş safra kanalikülleri, periportal mesafade ve vena sentralis çevresinde köprüleşme nekrozu, fibrozis ve mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmektedir (H&EX100).



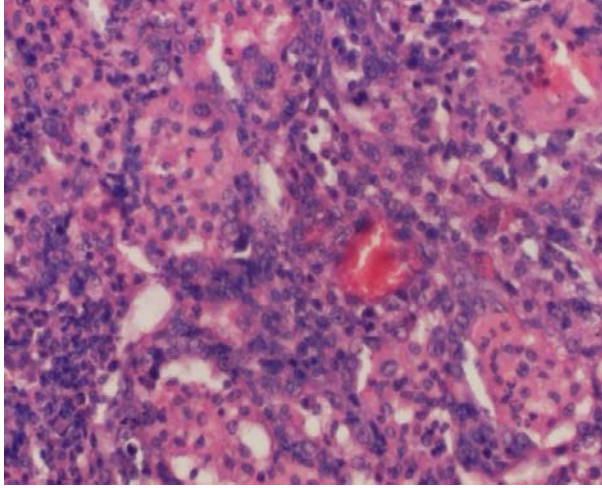
Şekil 8.Grup 3 'teki ratlarda akciğer dokusu.Perialveoler damar çapı artışı , perialveoler harabiyet, nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyon bulguları (H&EX100).

MİKROSKOPİK BULGULAR (GRUP 4)

Karaciğerde belirgin kronik aktif hepatit ve sekonder bilier siroz bulguları mevcut. Fibrosis koledok ligasyon grubuna oranla daha fazla ayrıca belirgin karaciğer nekrozu tespit edilmiştir (Şekil 9).Bu grupta safra kanaliküllerindeki proliferasyon, diğer tıkanma ikterli gruplardan daha az tespit edilmiştir.



Şekil 9.Grup 4'te karaciğerde oluşan kronik karaciğer ve santral hepatik nekroz bulguları(H&EX100).



Şekil 10. Grup 4'te akciğerdede oluşan bronş ve alveol harabiyeti, fibrin birikimi bulguları(H&EX100).

Tablo 7:Karaciğer dokusunda saptanan histopatolojik değişiklikler.(Ortanca (min-max))

Histopatolojik Değişiklikler	Grup 1 (n:6)	Grup 2 (n:6)	Grup 3 (n:6)	Grup 4 (n:6)	p değeri
Pleomorfizm	0(0-0)	2(2-2)	2(2-3)	2(2-3)	p<0.05
Atipik Mitoz	0(0-0)	3(2-3)	0(0-1)	3(2-3)	p<0.05
Periduktal Proliferasyon	0(0-0)	3(2-3)	2(2-2)	2(2-3)	p<0.05
Sirotik Skorlama	0(0-0)	3(2-3)	2(2-3)	3(2-3)	p<0.05

(**Ortanca** :Veri setini ortadan ikiye bölen değerdir.)

Gruplar histopatolojik olarak karşılaştırıldığında grup I ile diğer gruplar arasında siroz oluşum düzeyleri açısından anlamlı fark bulundu ($P<0.05$). Grup 2,3,4 'te pleomorfizm, atipik mitoz ve periduktal proliferasyon bulguları değerlendirildikten sonra siroz gelişiminin tamamlandığı kanaatine varıldı.

Grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 3'te sirotik bulguların , grup 2'ye ve grup 4'e göre daha düşük olduğu istatistiksel olarak tespit edildi ($P<0.05$). (Tablo 7)

Grup 3 te atipik mitoz ve pleomorfizm bulguları grup 2 ve grup 4'de oranla daha az tespit edildi. Grup 4' te periduktal proliferasyon ve pleomorfizm bulguları grup 2' ye oranla daha az tespit edildi. (Tablo 7)

Grup 4 ' te atipik mitoz oranının yüksek olması, bazı kesitlerde karaciğer parankiminde nekrotik alanlar oluşturması nedeni ile tıkanma ikterli denek gruplarında likopodyumun toksik etki oluşturmuş olabileceği kanaatine varıldı.

Tablo 8. Akciğer dokusunda saptanan perialveoler damar çaplarının ölçümü(μm). (Ort $\pm$ SS).

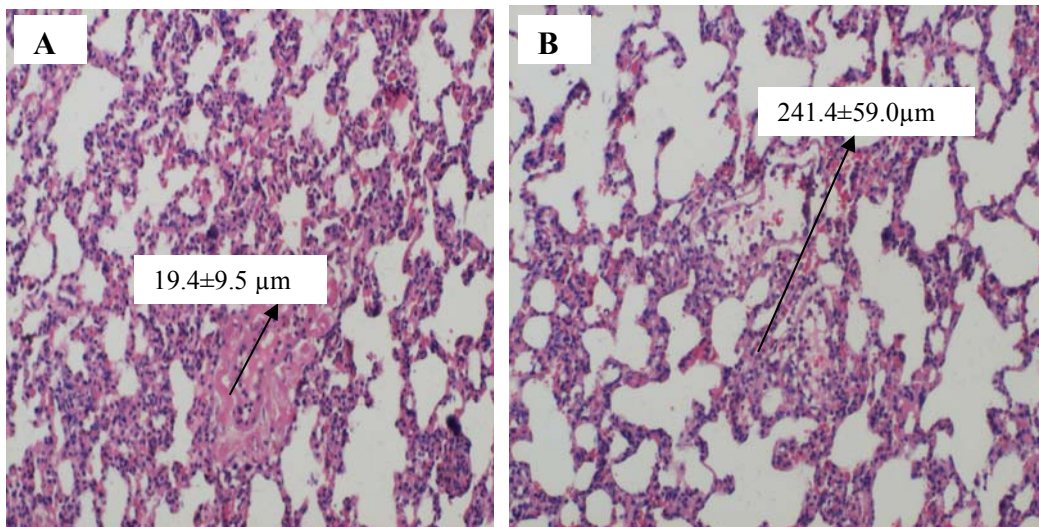
Perialveoler Damar Çapları (μm)	Grup 1 Sham	Grup 2 Koledok Ligasyonu	Grup 3 Koledok Ligasyonu+ Flavanoid	Grup 4 Koledok Ligasyonu+ Likopodyum	p
1.Çap Ort.	16.83 $\pm$ 8.61	235.00 $\pm$ 71.68	187.33 $\pm$ 36.23	294.83 $\pm$ 84.40	$p<0.05$
2.Çap Ort.	16.50 $\pm$ 1.20	212.33 $\pm$ 33.17	131.33 $\pm$ 47.61	336.33 $\pm$ 90.89	$p<0.05$
3.Çap Ort.	21.33 $\pm$ 9.90	246.67 $\pm$ 37.44	154.00 $\pm$ 31.79	209.83 $\pm$ 19.94	$p<0.05$
4.Çap Ort.	19.33 $\pm$ 12.73	234.67 $\pm$ 61.75	160.67 $\pm$ 47.71	304.00 $\pm$ 32.56	$p<0.05$

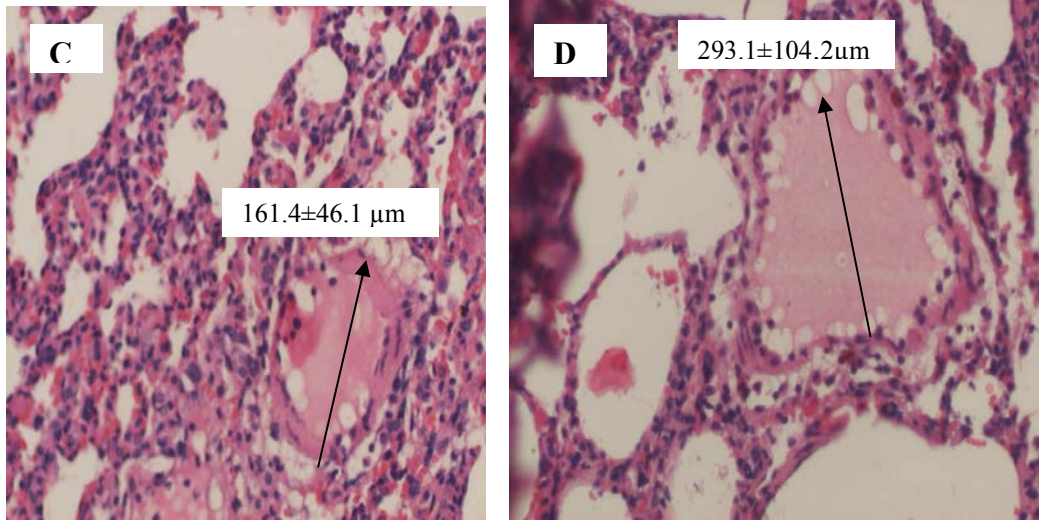
5.Çap Ort.	16.50±9.91	267.83±74.27	135.00±36.63	317.00±127.44	p<0.05
6.Çap Ort.	25.67±10.48	251.83±72.92	200.33±45.52	296.50±55.11	p<0.05

Sham grubunda ölçülen perialveoler damar çapları ,grup 2,3,4 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (p<0.05).

Tıkanma ikteri oluşturulan tüm ratlarda akciğerlerin histopatolojik değerlendirmelerinde perialveoler damar çaplarında artış tespit edildi.Koledokları bağlanan ve Flavanoid verilen 3.grupta perialveoler damar çapları (161.4±46.13 µm) diğer 2.grup (241.4±59.09 µm) ve 4.gruba (293.1±104.02 µm) oranla daha düşük ölçüldü(p>0.01).

SONUÇLAR:

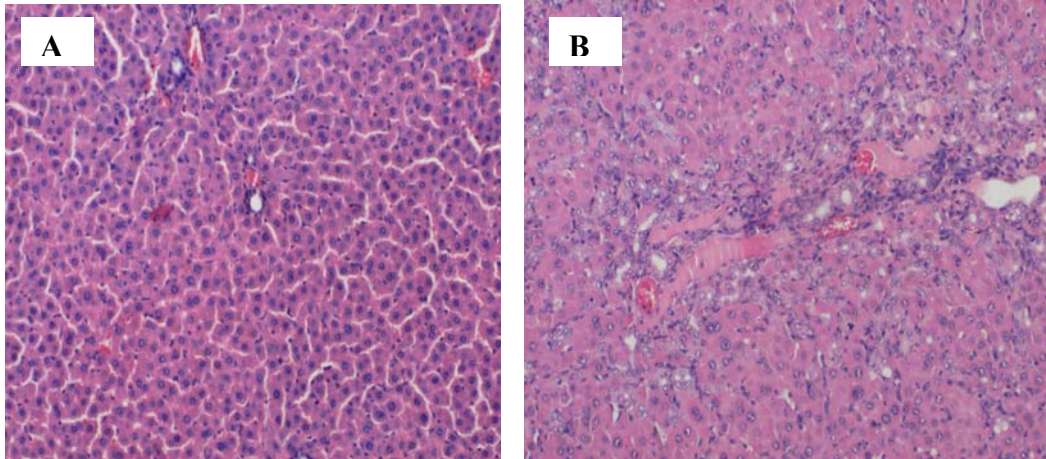


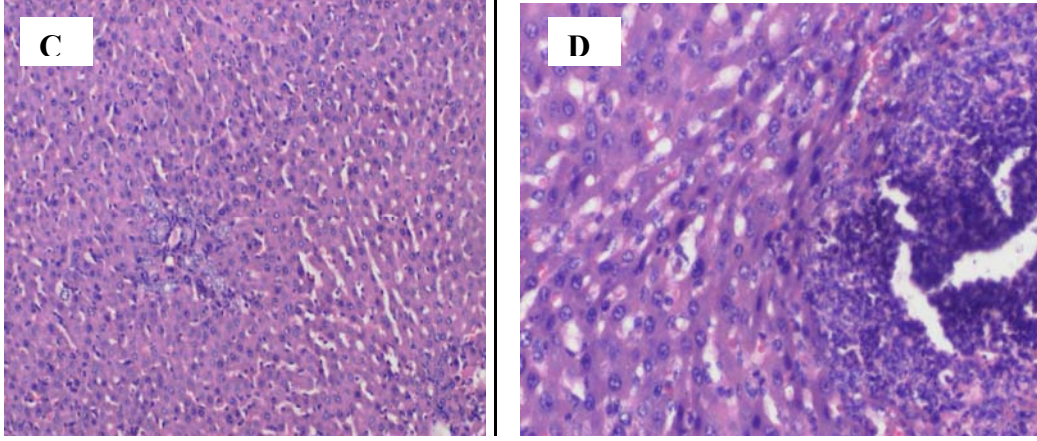


Şekil 11:Ratlarda peri alveoler damar çapları (H&EX 100). A-Sham grubu(Grup 1) , B-Koledok Ligasyonu grubu (Grup 2) ,C-Koledok ligasyonu + Flavanoid verilen grup (Grup 3) ,D-Koledok ligasyonu + Likopodyum verilen grup (Grup 4)

Tıkanma ikteri oluşturulan tüm ratlarda akciğerlerin histopatolojik değerlendirmelerinde perialveoler damar çaplarında artış tespit edildi.

Koledokları bağlanan ve Flavanoid verilen Grup 3'te perialveoler damar çapları ($161.4 \pm 46.13 \mu\text{m}$)(Şekil 11-C) diğer Grup 2 ($241.4 \pm 59.09 \mu\text{m}$)(Şekil 11-B) ve Grup 4'de ($293.1 \pm 104.02 \mu\text{m}$)(Şekil 11-D) oranla daha düşük ölçüldü($p > 0.01$).





Şekil 12:Ratlarda hepatik dokuların histopatolojik görünüşleri.(H&E X 100)
A-Sham grubu(Grup 1) , B-Koledok Ligasyonu ile siroz oluşturulan grup (Grup 2) ,
C-Koledok ligasyonu + Flavanoid verilen grup (Grup 3) ,D-Koledok ligasyonu +
Likopodyum verilen grup (Grup 4)

Gruplar histopatolojik olarak karşılaştırıldığında grup 1 ile diğer gruplar arasında fibrozis düzeyleri açısından anlamlı fark vardır ($P<0.05$)(Şekil 12-A).

Grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 3'te fibrozisin grup 2'ye göre daha düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü($P<0.05$)(Şekil 12 B-C).

Grup 4' te sirotik değişiklikler safra yollarında proliferasyon ve atipik mitoz mevcuttur (Şekil 12-D).

Gruplar	T.Bil mg/dl	D.Bil mg/dl	AST Ü/l	ALT U/l	ALP U/l	PO2 mmhg	O2 % Satürasyon	D.Çapı (µm)	p
Grup 1 Sham	0.30±0.09	0.15±0.08	117.30±9.00	46.00±18.51	87.00±15.58	95.00±1.20	96.00±1.70	19.40±9.50	p<0.05
Grup 2 Koledok Ligasyonu	7.50±0.39	5.90±0.46	477.50±20.33	114.70±8.09	569.50±32.72	67.70±2.33	86.30±1.86	241.40±59.09	p<0.05
Grup 3 Koledok Ligasyonu +Flavanoid	7.30±0.31	6.10±0.18	323.80±77.37	100.30±19.98	513.00±43.67	72.30±2.34	93.70±2.34	161.40±46.13	p<0.05
Grup 4 Koledok Ligasyonu+ Likopodyum	8.40±1.04	6.38±0.40	812.70±73.27	186.70±10.63	521.00±19.67	62.00±3.10	86.30±1.86	293.10±104.02	p<0.05

Tablo 9:Denek gruplarındaki kan gazı,kan biyokimyası ve akciğer damar çapları (Ort.± SS) değerlerinin toplu sonuçları.

5. TARTIŞMA

HPS, karaciğer hastalığı ile ilişkili intrapulmoner vasküler dilatasyonların (IPVD) neden olduğu bir arteriyel oksijenasyon defekti olarak tanımlanmaktadır (1,2). Vasküler komponenti tipik olarak difüz veya lokalize dilate pulmoner kapillerleri , daha az olarak da pleural ve pulmoner arteriovenöz bağlantıları kapsamaktadır. Sonuçta, HPS arteriyel deoksijenasyon, IPVD ve karaciğer bozukluğundan oluşan bir klinik triadı içermektedir(2).

Çalışmamızda , HPS’da intrapulmoner vasküler dilatasyonların azaltılmasında ve HPS tedavisinde Flavanoid ve LK etkinliği araştırmayı amaçladık. Ratlarda koledok kanalı bağlanarak oluşturulan siroz modeli, insanlardaki HPS ile uyumluluk gösterir (55). HPS olgularının çoğunda portal hipertansiyon bulunmakla birlikte, portal hipertansiyon oluşmadanda HPS gelişebilmektedir (1,4,6). Sadece portal hipertansiyon oluşturulan ratlarda, HPS oluşmaması, akciğerlerdeki damar genişlemelerini direk basınç etkileşimi ile değil, karaciğer yetmezliğinin direk ve indirek etkileri ile oluştuğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda , koledokları bağlı ratlarda 2.haftadan itibaren karaciğer hasarı ve bulguları başlamış 5.haftanın sonunda siroz ve HPS gelişmiştir. Koledok ligasyonundan 5 hafta sonra sonuçta karaciğerde sekonder bilier siroz bulguları ve akciğerlerde perialveoler kapiller dilatasyonlar tespit edilmiştir ($p<0.05$).

HPS’da perialveoler kapiller dilatasyonlar, hipokseminin asıl sebebidir. Damarlardaki genişleme, akımın ortasında bulunan eritrositleri endotelden uzaklaştırır ve buda değişik oranlarda oksijenizasyon yetmezliğine neden olur (37). Son dönem karaciğer yetmezliğinde oluşan hiperdinamik durum oksijenin hızla akan kan içerisinde hemoglobin ile birleşmesini zorlaştırır (38,40). Çalışmamızda siroz gelişen ratlarda perialveoler damar çapında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir genişleme ve kan gazı değerlerinde hipoksi tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Koledok ligasyonu ile siroz oluşturulan ratlardaki intrapulmoner vasküler dilatasyonların, bu ratların akciğer homojenatlarında saptanan yüksek eNOS miktarıyla birlikte rapor edilmiştir.Aynı şekilde ana safra kanalının bağlamasıyla siroz oluşturulan deneklerde ,bilier eptelden salgılanan dolaşımdaki Endotelin-1 (ET-1) düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiştir (51,52).Bu artışla doğru orantılı olarak ,pulmoner endotelyal NO düzeyleri ve intrapulmoner vasküler dilatasyonlarda artma saptanmıştır.İnsanlarda ortaya çıkan sirozlarda bilier epitelyum hücrelerinden endotelin-1 sekresyonu ve buna bağlı olarak serum ET-1 düzeylerinde artma tespit edilmiştir (48,49).HPS’da normalde vazokonstriktif ajan olarak bilinen ET-1 ‘in ,damar lümenine salınmasıyla,endotelyal nitrik oksit sentaz aktive

olmakta ve NO miktarları artmaktadır.Bu etki endoteldeki ET-B reseptör etkileşimi ile olmaktadır.Bu olaya endokrin vazodilatasyon denmekte ve Endotel-1'in sistemik etkisiyle sadece HPS'de görülmektedir.(52,55)

HPS'de pulmoner kapiller dilatasyonun mekanizması kesin olarak bilinmemektedir.Prostasiklin, atrial natriüretik peptid, nitrik oksit ve platelet aktive edici faktör gibi vazodilatör ajanların sorumlu olması olasıdır (87,88). Nitrik Oksit(NO) ciddi karaciğer yetmezliğinde hiperdinamik sirkülasyondan sorumlu önemli bir mediyatördür.İnsan ve hayvan çalışmalarında sirozlularda akciğerde NO yapımının arttığı, bunun da önemli bir vazodilatatör olduğu gösterilmiştir (89,90). HPS'lu hastalarda ekshale edilen NO düzeyinin yüksek olduğu ve transplantasyondan sonra bu düzeyin normale döndüğü saptanmıştır. Ayrıca NO inhibisyonu ile HPS tedavisinde etkin fayda sağlanacağı birçok çalışma ile tespit edilmiştir(74).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin önlenmesinin kolestatik karaciğer hasarını ve buna sekonder oluşabilecek patolojileri önlemede önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Safra yolu tıkanıklıkları üzerine antioksidanların etkileriyle ilgili Kawada ve ark. (86) yaptığı çalışmada hücre kültürü ortamında, sıçan hepatik stellat hücre ve kupffer hücrelerinin fonksiyonları üzerine antioksidan ajanların etkileri araştırılmıştır. Bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları, aynı zamanda karaciğer hasarından sorumlu tutulmaktadır. Literatürde görüldüğü gibi tıkanma ikterinde oksidatif hasarın antioksidanlar vasıtasıyla önlenmesi hepatik hasar gelişimini engellemekte ve doku üzerine sitoprotektif etki göstermektedir.

Çalışmamızda kullandığımız Flavanoid'in literatürde sitoprotektif ,antioksidan ,antienflamatuar etkilerini gösteren bir çok çalışma mevcuttur (81,82). Flavanoid 'in Shen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, reperfüzyon hasarını HSP 70'i artırarak ve anti inflamatuvar etki göstererek azalttığı tespit edilmiştir (83).HPS ve kolestatik sarılıktaki hasar üzerine etkisini araştıran çalışma mevcut değildir. Flavanoid reaktif oksijen metabolitlerini ve reaktif nitrojen metabolitlerini etkisiz hale getirerek antioksidan etki gösterir.Direk antioksidan etkisi yanında inflamatuvar enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek ve intrasellüler glutatyonun sentezini artırarak etkisi oluşturur. Bizim yaptığımız çalışmamızda , Flavanoid 'in tıkanma ikteri oluşturulan ratlarda karaciğer sirozunu azalttığı histopatolojik olarak tespit edildi. HPS'da olumlu etki sağladığı ölçülen biyokimyasal parametrelerle tespit edildi (p<0.05).

Flavanoid'in tıkanma ikterli ratlarda oksidatif hasarı gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik açıdan anlamlı olarak azalttığı söylenebilir. Bu çalışma literatürde Flavanoid'in tıkanma ikteri ve HPS üzerine olumlu etkilerini gösteren ilk çalışmadır.

LK karaciğer iltihabında, karaciğer katılgan doku urlarında kullanılabilir (83). LK, antienflamatuar özelliği olan alkaloidler içerir (84). Ayrıca karaciğerin primer ve sekonder fonksiyonel bozukluklarında invitro anti oksidatif ve anti proliferatif etkinliği olduğu görülmüştür (85).

Çalışmamızda LK'mun antienflamatuar ve antioksidan etkinliğinden faydalanarak tıkanma ikterli ratlarda iyileşmede sağlayabileceğini ve HPS oluşumunda engelleyici rolü olabileceğini düşündük. Daha önce yapılan çalışmalarda ilaç dozları göz önüne alınarak ratlara günde 100 mg/kg uygulandı (85). Normalde antioksidan özellikleri nedeni ile hemopoietik ilaç olarak da kullanılan LK alkaloidleri toksik etki oluşturmazlar(84). Fakat çalışmamızdaki likopodium verilen tıkanma ikterli denek grubunda biyokimyasal değerler, koledok ligasyonlu gruba oranla daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). LK verilen ratlarda karaciğer ve akciğerde nekroz tespit edildi. Bu sonuç bizi, LK'nın tıkanma ikterli grupta toksik etki oluşturduğu kanaatine ulaştırmıştır. Ratlara verilen LK dozu titre edilerek tekrar bir çalışma yapılması faydalı olacaktır.

Sonuç olarak yaptığımız deneysel çalışmada tıkanma sarılığında karaciğerde meydana gelen fibrozisin ve oksidatif hasarın ayrıca akciğerde perialveoler damar çaplarının Flavanoid verilmesi ile anlamlı olarak azaldığını gösterdik. Flavanoid'in HPS tedavisinde klinik olarak kullanılması için daha geniş karşılaştırmalı deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Özellikle tıkanma sarılıklı hastalarda tek başına veya nutrisyonel destek amaçlı olarak kullanılması karaciğer ve akciğer üzerindeki olumlu etkilerin hastaya faydalı olacağını düşünmekteyiz. Ayrıca hemopoietik ilaç olarak kullanılan LK'mun tıkanma ikterli denek gruplarında hem karaciğer hem akciğerde ciddi nekroza neden olduğunu tespit edildi. Bundan sonraki benzer deneysel çalışmalarda, LK ile ilgili sonuçlarımızın göz önünde bulundurulması gerektiği kanaatindeyiz.

6-ÖZET:

Amaç: Hepatopulmoner sendrom tedavisinde Flavanoid ve LK ‘un etkinliğini araştırılmıştır.

Durum değerlendirmesi: HPS’da hipoksinin nedeni perialveoler kapiller damar çapı genişlemeleridir. Buna etken olabilecek en önemli faktörün Nitrik Oksit yüksekliği olduğu düşünülmektedir. Kullandığımız farmakolojik ajanların HPS tedavisinde ne ölçüde etkin olacağını değerlendirmeyi amaçlamaktayız.

Yöntem: Deneysel çalışmada her biri 6 rattan oluşan 4 grup oluşturuldu. Grup 1: Sham-kontrol, grup 2: Yalnız koledoku bağlanan, grup 3: Koledok ligasyonu sonrası Flavanoid verilen, grup 4: Koledok ligasyonu sonrası Likopodyum verilen grup olmak üzere dört gruptan oluşturuldu. Koledok ligasyonu sonrası 2. haftada ratlara Flavanoid ve Likopodyum verildi. 5 hafta beklenip siroz oluşturuldu. Ratların akciğer ve karaciğerleri histopatolojik olarak incelendi ve perialveoler damar çapları okülometre ile ölçüldü. Arterial kan gazları ve biyokimyasal parametreler değerlendirildi.

Bulgular: Siroz oluşan koledok ligasyonu yapılan gruplarda, kontrol grubuna göre, tıkanma ikteri biyokimyasal parametreleri yüksek ölçüldü. Bununla birlikte hipoksi ve perialveoler damar çaplarında artma oldu. Koledok ligasyonu+Flavanoid verdiğimiz grup 3’te perialveoler damar çapları ve hipoksi, koledok ligasyonu yapılan gruba göre daha az tespit edildi. Ölçülen kan değerleri hem sham-kontrol grubu, hem de Likopodyum grubuna oranla daha iyi sonuçlar verdi. Ayrıca koledok ligasyonu+Likopodyum grubunda iyileşme ve düzelme beklentisinin aksine hem akciğer hem karaciğer dokusunda nekroz tespit edildi. Grup 4’te tıkanma ikterinde oluşan biyokimyasal parametrelerde , kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi.

Sonuç: Tıkanma sarılığında karaciğerde meydana gelen fibrozisin ve oksidatif hasarın ayrıca akciğerde perialveoler damar çaplarının Flavanoid verilmesi ile diğer siroz oluşturulan gruplara nazaran anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. HPS’da oluşan hipoksinin tedavisinde de ve siroz oluşumunun geciktirilmesinde faydalı olabileceği sonucuna varıldı. Likopodyum’un akciğer ve karaciğerde nekrotik etkiler oluşturması, tıkanma ikterinde toksik etki oluşturabileceği düşündürdü..

7. SUMMARY

THE EFFECTS OF FLAVANOID AND LYCOPODIUM CLAVATUM IN THE TREATMENT OF HEPATOPULMONARY SYNDROME.

Aim: Hepatopulmonary syndrome (HPS) has been classically attributed to intrapulmonary vascular dilatation impairing arterial oxygenation in the setting of liver disease. The loss of vascular tone in patients with intrapulmonary vascular dilatation is unexplained. In our study, we try to find out effect of Flavanoid and LC in the treatment of HPS .

Methods: We used an animal model for the study of HPS by common bile duct ligation (CBDL) in the rat. We induced biliary cirrhosis over 5 weeks of period. Four groups each of which contains 6 rats. (1: Sham-control, 2: Common bile duct ligation, 3: Common bile duct ligation+ Flavonoid , 4: Common bile duct ligation+LC (Lycopodium Clavatum) were studied. Arterial blood gases, biochemical parameters and histological features were evaluated. And oculometric measurements of perialveolar vascular dilatation were assessed.

Findings: In common bile duct ligated rats, we obtained biliary cirrhosis, hypoxemia and intrapulmonary vascular dilatation. Common bile duct ligated + Flavonoid given 3. group perialveolar vascular dilatation and hypoxia was better than 2. group and 4. group. Common bile duct ligated and LC given 4. group , at the pathological evaluations of lung and liver , tissue necrosis were observed. Biochemical parameters at common duct ligated groups were higher than other groups.

Results: In common bile duct ligated rats , Flavonoid given groups hepatic fibrosis and perialveolar vascular dilatation was less than other groups. And it can be a new drug of choice in treatment of HPS. LK which was an hemopoietic , antioxidant drug didn't evaluated in treatment of HPS, because of its toxic effect on icteric rats.

Key words: Hepatopulmonary syndrome, Flavanoid, Lycopodium Clavatum.

8. KAYNAKLAR

1. Ho V. Current concepts in the management of hepatopulmonary syndrome. *Vasc Health Risk Manag* 2008;4:1035-1041.
2. Fallon MB. Mechanisms of pulmonary vascular complications of liver disease: Hepatopulmonary syndrome. *J Clin Gastroenterology* 2005;39:S138-142.
3. Chávez-Tapia NC, Uribe M, López E. Pulmonary complications of hepatic cirrhosis: portopulmonary hypertension and hepatopulmonary syndrome. The paradox of pulmonary vasoconstriction and vasodilation. *Gac Med Mex* 2007;143:333-339.
4. Abrams GA, Nanda NC, Dubovsky EV, Use of macrogenated albumin lung perfusion scan to diagnose HPS. *Gastroenterology* 1998;114:305-310
5. Møller S, Krag A, Henriksen JH, Bendtsen F. Pathophysiological aspects of pulmonary complications of cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:419-427.
6. Sherlock S, Dooley J: Disorders of the Liver and Biliary system, 9 th ed. Oxford, 1993
7. Flückinger M. Vorkommen von trommelschlagel-formigen Fingerend phalangen ohne chronische veränderung an den Lungen oder am Herzen. *Wien Med. Wochenschr* 1884;34:1457
8. Rydell R, Hoffenbauer FW: Multiple pulmonary arteriovenous fistulas in juvenile cirrhosis. *Am J Med* 1956;21:450-460
9. Kennedy TC, Knudson TJ. Exercise-aggravated hypoxemia and orthodeoxia in cirrhosis. *Chest* 1977;72:305-309
10. Krowka MJ, Cortese DA. Hepatopulmonary syndrome. Current concepts in diagnostic and therapeutic considerations. *Chest*. 1994;105(5):1528-37.
11. Shafiq M, Khan AA, Alam A, Butt AK, Shafqat F, Malik K, et al. Frequency of hepatopulmonary syndrome in cirrhotic patients. *J Coll Physicians Surg Pak* 2008;18:278-281
12. Ferreira PP, Camara EJ, Paula RL, Zollinger CC, Cavalcanti AR, Bittencourt PL. Prevalence of hepatopulmonary syndrome in patients with decompensated chronic liver disease and its impact on short-term survival. *Arq Gastroenterol* 2008;45:34-37.
13. Lima BL, França AV, Pazin-Filho A,. Frequency, clinical characteristics, and respiratory parameters of hepatopulmonary syndrome. *Mayo Clin Proc*. 2004;79(1):42-8.
14. Genovesi MG, Tierney DF, Taplan GVI: An intravenous radionuclide method to evaluate hyperemia caused by abnormal alveolar vessels: *Am Rev Respir disease* 1976;114:59
15. Davis HH, Schwartz DC, Lefrak SS. Alveolar-capillary oxygen disequilibrium in hepatic cirrhosis. *Chest* 1978;73:507-511

16. Androli T, Carpenter C, Simith H: Cecil Essentials of Medicine WB. Saunders Company 2008 7 th edition Page:170-185
17. Henderson AH: Endothelium IN Control Br. Heart J 1991 ,65:116
18. Geerts A, Bergiers S, Vanheule E, Increased neo-angiogenesis and vascular endothelial growth factor (VEGF) protein expression in the lung of cirrhotic mice. Acta Gastroenterol Belg 2006;69:A01–A05
19. Yan Y, Bao XQ, Wang Y, Yu CH, Han GH, Jiang W. Roles of vascular mediators in the pathogenesis of hepatopulmonary syndrome in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2008;16:1053-1058.
20. Radomski NW et al. Endogenous Nitric Oxide Inhibits Platelet Adhesions on Vascular Endothelium, Lancet 1987,11:1057-8
21. Bosch J. Vascular deterioration in cirrhosis: the big picture. J Clin Gastroenterol 2007;41:S247–S253.
22. Nunes H, Lebrec D, Mazmanian M, Role of nitric oxide in hepatopulmonary syndrome in cirrhotic rats. Am J Respir Crit Care Med 2001;164:879–885.
23. Zhang J, Ling Y, Luo B, et al. Analysis of pulmonary heme oxygenase-1 and nitric oxide synthase alterations in experimental hepatopulmonary syndrome. Gastroenterology 2003;125:1441–1451.
24. Vanhoutte PM, Shimokawa H: Endothelium derived relaxing factor and coronary vasospasm. Circulation 1989,80:1
25. Filep JG. Endothelin peptides: biological actions and pathophysiological significance in the lung. Life Sci. 1993;52(2):119-33.
26. Vercelino R, Tieppo J, Forgiarini Junior LA, Dias AS, Marroni CA, Marroni NP. Experimental models for assessment of pulmonary alterations in hepatopulmonary syndrome. J Bras Pneumol 2008;34:453-460.
27. Rodriguez-Roisin R, Roca J, Agusti AG. 1987. Gas exchange and pulmonary vascular reactivity in patients with liver cirrhosis. *Am Rev Respir Dis*, 135:1085–92.
28. Berthelot P, Walter JG, Sherlock S, et al. Arterial changes in the lungs in cirrhosis of the liver-lung spider nevi. N Engl J Med 1966;274:291–298.
29. Scott VL, Dodson SF, Kang Y. 1999. The hepatopulmonary syndrome. *Surg Clin North Am*, 79:23–41.
30. Williams A, Trewby P, Williams R, 1979. Structural alterations to the pulmonary circulation in fulminant hepatic failure. *Thorax*,34:447–53.

31. Castro M, Krowka MJ. 1996. Hepatopulmonary syndrome: a pulmonary vascular complication of liver disease. *Clin Chest Med*, 17:35–48.
32. Hopkins WE, Waggoner AD, Barzilai B. 1992. Frequency and significance of intrapulmonary right-to-left shunting in end-stage hepatic disease. *Am J Cardiol*, 70:516–19.
33. Krowka MJ, Cortese DA. 1990. Hepatopulmonary syndrome: an evolving perspective in the era of liver transplantation. *Hepatology*, 11:138–42.
34. Thorens JB, Junod AF. 1992. Hypoxemia and liver cirrhosis: a new argument in favour of a diffusion-perfusion defect. *Eur Respir J*, 5:754–6.
35. Von obberg L, Carlier M, Clement de Clety S, Liver transplantation and pulmonary gas Exchange in hypoxemic children. *Am Rev Res Disease* 1993 148:1408-1410
36. Genovesi MG, Tierney DF, Taplin GV, 1976. An intravenous radionuclide method to evaluate hypoxemia caused by abnormal alveolar vessels. Limitation of conventional techniques. *Am Rev Respir Dis*, 114:59–65.
37. Krowka MJ, Cortese DA. 1987. Severe hypoxemia associated with liver disease: Mayo Clinic experience and the experimental use of almitrine bimesylate. *Mayo Clin Pro* 62:164–73.
38. Singh C, Sager JS. Pulmonary complications of cirrhosis. *Med Clin North Am* 2009;93:871-883,
39. Krowka MJ. 2000. Hepatopulmonary syndromes. *Gut*, 40:1–4.
40. Rodriguez-Roisin R, Krowka MJ, Herve P. 2004. Pulmonary-Hepatic vascular Disorders (PHD). *Eur Respir J*, 24:861–80.
41. Fallon MB, Abrams GA, Luo B, The role of endothelial nitric oxide synthase in the pathogenesis of a rat model of hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology* 1997;113:606–6
42. Vallance P, Moncada S: Hyperdynamic circulation in cirrhosis A role of nitric oxide: *Lancet* 1991 337:776-778
43. Wang YW, Lin HC. 2005. Recent advances in hepatopulmonary syndrome. *J Chin Med Assoc*, 68:500–5.
44. Cremona G, Higenbottam TW, Mayoral V. 1995. Elevated exhaled nitric oxide in patients with hepatopulmonary syndrome. *Eur Respir J*, 8:1883–5.
45. Schenk P, Madl C, Rezaie-Majid S, et al. 2000. Methylene blue improves the hepatopulmonary syndrome. *Ann Intern Med*, 133:701–6.
46. Breen EC. VEGF in biological control. *J Cell Biochem* 2007; 102:1358-1067.
47. Mary J, Mycek Richard A, Harvey C. Anti-anginal drugs. *Lippincott's Pharmacology* 5 th Ed. 2007 Syf:189

48. Zhang HY, Han DW, Wang XG, Zhao YC, Zhou X, Zhao HZ. Experimental study on the role of endotoxin in the development of hepatopulmonary syndrome. *World J Gastroenterol* 2005;11: 567-572.
49. Ling Y, Zhang J, Luo B, Song D, Liu L, Tang L, et al. The role of endothelin-1 and the endothelin B receptor in the pathogenesis of hepatopulmonary syndrome in the rat. *Hepatology* 2004;39: 1593-1602.
50. Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J. Vascular endothelial growth factor and receptor interaction is a prerequisite for murine hepatic fibrogenesis. *Gut* 2003;52:1347–1354.
51. Nunes H, Lebrec D, Mazmanian M. Role of nitric oxide in hepatopulmonary syndrome in cirrhotic rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:879–885.
52. Zhang HY, Han DW, Wang XG, et al. 2005. Experimental study on the role of endotoxin in the development of hepatopulmonary syndrome. *World J Gastroenterol*, 11:567–72.
53. Luo B, Abrams GA, Fallon MB. Endothelin-1 in the rat bile duct ligation model of hepatopulmonary syndrome correlation with pulmonary dysfunction. *J Hepatol* 1998;29:571-8
54. Filep JG. Endothelin peptides: Biological actions and pathophysiological significance in lung. *Life Science* 1992;52:119-133
55. Chang SW, Ohara N: Pulmonary circulatory syndrome. *Am Rev Res Dis*:1992 145:798-8
56. Dauod FS, Reeves JT, Schafer JW. Failure of hypoxic pulmonary vasoconstriction in patient with liver cirrhosis. *J Clin Invest* 1972 51:1076-1080
57. Kaspar MD, Ramsay MA, Shuey CB Jr. Severe pulmonary hypertension and amelioration of hepatopulmonary syndrome after liver transplantation. *Liver Trans Surg* 1998 4:177-179
58. Plevak DJ: The crucible: forum on critical care issues in liver transplantation: *Liver trans Surg*:1996 2:306
59. Wolfe JD, Holly FE, Hypoxemia of cirrhosis: Detection of abnormal pulmonary vascular channels by a quantitative radionuclide Br. *Med. J.* 1972 4:639-643
60. Ryu JK, Oh JH. 2003. Hepatopulmonary syndrome: angiography and therapeutic embolization. *Clin Imaging*, 27:97–100.
61. Zamirian M, Aslani A, Shahrzad S. 2007. Left atrial volume: A novel predictor of hepatopulmonary syndrome. *Am J Gastroenterol*, 102:1392–6.
62. Shub C, Tajik AJ, Seward JB, 1976. Detecting intrapulmonary right-to-left shunt with contrast echocardiography: observations in a patient with diffuse pulmonary arteriovenous fistulas. *Mayo Clin Proc*, 51:81–4.
63. Schenk P, Madl C, Rezaie-Majid S,. 2000. Methylene blue improves the hepatopulmonary syndrome. *Ann Intern Med*, 133:701–6

64. Shijo H, Sasaki H, Yuh K. 1991. Effects of indomethacin on hepatogenic pulmonary angiodysplasia. *Chest*, 99:1027–9.
65. Chavakis T, Athanasopoulos A, Rhee J-S, Angiostatin is a novel anti-inflammatory factor by inhibiting leukocyte recruitment. *Blood* 2005;105:1036–1043.
66. Mandell MS. Clinical controversies surrounding the diagnosis and treatment of hepatopulmonary syndrome. *Minerva Anesthesiol.* 2007;73(6):347-55.
67. Poterucha JJ, Krowka MJ, Dickson ER, 1995. Failure of hepatopulmonary syndrome to resolve after liver transplantation and successful treatment with embolotherapy. *Hepatology*, 21:96–100
68. Selim KM, Akriviadis EA, Zuckerman E,. 1998. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt: a successful treatment for hepatopulmonary syndrome. *J Am Coll Gastroenterol*, 93:455–8.
69. Allgaier HP, Haag K, Ochs A. 1995. Hepatopulmonary syndrome: successful treatment by transjugular intrahepatic portosystemic stentshunt (TIPS). *J Hepatol*, 23:102–5
70. Krowka MJ, Cortese DA. 1990. Hepatopulmonary syndrome: an evolving perspective in the era of liver transplantation. *Hepatology*, 11:138–42.
71. Roberts DN, Arguedas MR, Fallon MB. Cost-effectiveness of screening for hepatopulmonary syndrome in liver transplant candidates. *Liver Transpl.* 2007;13(2):206-14.
72. Arguedas M, Abrams GA, Krowka MJ, et al. 2003. Prospective evaluation of outcomes and predictors of mortality in patients with hepatopulmonary syndrome undergoing liver transplantation. *Hepatology*, 37:192–7.
73. Rabiller A, Nunes H, Lebrec D, 2002: Prevention of gram-negative translocation reduces the severity of hepatopulmonary syndrome. *AmJ Respir Crit Care Med*, 166:514–17.
74. Sztrymf B, Rabiller A, Nunes H, Prevention of hepatopulmonary syndrome by pentoxifylline in cirrhotic rats. *Eur Respir J* 2004;23:752–758.
75. Zhang J, Ling Y, Tang L, Pentoxifylline attenuation of experimental hepatopulmonary syndrome. *J Appl Physiol* 2007;102:949–955.
76. Krug S, Seyfarth HJ, Hagendorff A. 2007: Inhaled iloprost for hepatopulmonary syndrome: improvement of hypoxemia. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 19:1140–3.
77. Brussino L, Bucca C, Morello M. 2003. Effect on dyspnoea and hypoxemia of inhaled NG-nitro-L-arginine methyl ester in hepatopulmonary syndrome. *Lancet*, 362:43–4.
78. Labrid CL, Perdrix L: Mechanisms of oedema: activity of daflon 500 mg. *Phlebology* suppl. 2(1992) 30-6

79. Pickelman S, Nolte D, Leiderer R : Effects of phlebotropic drug Daflon 500 mg on postischemic reperfusion injury in striated skin muscle: a histomorphologic study in the hamster. *J Lab Clin Med* 1999;134:536-45
80. Santus R, Perdrix L, Haigle J : In vitro studies on aflavonoid fraction-induced inhibition of lipid peroxidation. *Eur J Pharmacol* 1990;183:692-3.
81. Santus R, Perdrix L, Haigle J: Daflon as a cellular antioxidant and a membrane-stabilizing agent in human fibroblasts irradiated by ultraviolet a radiation. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1991;8:200-5.
82. Robak J, Gryglewski RJ: Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 1988;37:837-41.
83. Ilkay O, Esra K, Bilge S, Erdem Y: Appraisal of anti-inflammatory potential of the clubmoss, *Lycopodium clavatum* L. *Journal of Ethnopharmacology* 109 (2007) 146-150
84. Ayer, W.A. et al: The *Lycopodium* alkaloids. *Natural Product Reports* 8,455–463.
85. Surajit P, Jayanta K, Surjyo J, Anisur R : Protective potentials of a potentized homeopathic drug, Lycopodium-30, in ameliorating azo dye induced hepatocarcinogenesis in mice *Molecular and Cellular Biochemistry* 285: 121–131, 2006.
86. Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T : Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology* 1998;27:1265-74.
87. Chang S, Ohara N : Pulmonary circulatory dysfunction in rats with biliary cirrhosis. An animal model of the hepatopulmonary syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:798-805.
88. Lee KN, Yoon SK, Lee JW : Hepatopulmonary syndrome induced by common bile duct ligation in a rabbit model: correlation between pulmonary vascular dilatation on thin-section CT and angiography and serum nitrite concentration or endothelial nitric oxide synthase (eNOS)1 expression. *Korean J Radiol.*2004;5(3):149-56.
89. Rolla G, Brussino L, Colagraneda P: Exhaled nitric oxide and impaired oxygenation in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Ann Intern Med* 1998; 129: 375–378
90. Fallon MB, Abrams GA, Luo B: The role of endothelial nitric oxide synthase in pathogenesis of a rat model of hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology* 1997;113: 606
91. Yol S ,Erikoglu M ,Tavlı S.:The effects of serum estrogen levels on hypoxemia and blood nitric oxide levels in experimental hepatopulmonary syndrome. *Hepatol. Res.* 2005 Sep;33(1):7-13.