

## НАРУШЕНИЯ В ИНТЕСТИНАЛНИЯ ПЕРМЕАБИЛИТЕТ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ЧЕРНОДРОБНА ЦИРОЗА И ПОРТАЛНА ХИПЕРТЕНЗИВНА ГАСТРОПАТИЯ

В. Герова<sup>1</sup>, Д. Свиначаров<sup>2</sup>, С. Стойнов<sup>1</sup>, Б. Владимиров<sup>1</sup> и Д. Кацаров<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна“, Медицински университет – София

<sup>2</sup>Централна лаборатория за терапевтичен лекарствен мониторинг и клинична фармакология, УБ „Александровска“, Медицински университет – София

## ALTERATIONS IN INTESTINAL PERMEABILITY IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS AND PORTAL HYPERTENSIVE GASTROPATHY

V. Gerova<sup>1</sup>, D. Svinarov<sup>2</sup>, S. Stoinov<sup>1</sup>, B. Vladimirov<sup>1</sup> and D. Katsarov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Gastroenterology, University Hospital “Queen Joanna” – Sofia

<sup>2</sup>Central Laboratory of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Pharmacology, University Hospital “Alexandrovska” – Sofia

**Резюме:** Целта на изследването е да се проучи връзката между интестиналната бариерна функция и порталната хипертензивна гастропатия (ПХГ) при пациенти с чернодробна цирроза (ЧЦ) посредством тест за интестинален пермеабилитет (ИП). Проучването включва 31 пациенти с ЧЦ и 25 здрави доброволци. ИП е измерен с помощта на рентгеновия контраст йохексол (Omnipaque), който е приет перорално (25 ml, 350 mg/ml) 2 часа след закуска. След 3 и 6 часа серумните концентрации на йохексол (СКЙ) са определени чрез валидирани хроматографски методи. Подгрупата пациенти с ендоскопски данни за ПХГ ( $n = 18$ ) имат значимо по-високи СКЙ на 3-тия ( $2,67 \pm 1,90$  mg/l) и на 6-ия час ( $2,54 \pm 2,02$  mg/l) в сравнение с подгрупата цирозно болни без ПХГ ( $n = 13$ ) ( $1,15 \pm 0,71$  mg/l, съотв.  $1,24 \pm 0,79$  mg/l) и с контролите ( $1,25 \pm 1,40$  mg/l, съотв.  $1,11 \pm 1,10$  mg/l) ( $p < 0,05$ ). ИП е повишен при 33,3% от циротиците с ПХГ, при 7,7% от тези без ПХГ и при 8% от контролите. Пациентите с ЧЦ и ПХГ имат повишена честота на нарушен ИП на йохексол, което вероятно се дължи на структурните промени в тънкото/дебелото черво като част от спектъра на микроциркулаторните нарушения в гастроинтестиналния тракт в резултат на порталната хипертония.

**Ключови думи:** чернодробна цирроза, портална хипертензивна гастропатия, интестинален пермеабилитет, йохексол

**Адрес за кореспонденция:** Д-р В. Герова, Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоана“, ул. „Бяло море“ № 8, 1527 София, GSM: 0898 65-31-84

**Summary:** Studied is the relationship between intestinal barrier function and portal hypertensive gastropathy (PHG) in patients with liver cirrhosis (LC) by assessment of intestinal permeability (IP). The study included 31 patients with LC and 25 healthy controls. The diagnosis was made on the basis of commonly accepted criteria. IP was assessed using a contrast medium iohexol (Omnipaque), which was administered orally (25 ml, 350 mg/ml) 2 hours after breakfast. Three and six hours later serum iohexol concentrations (SIC) were determined by a validated high-performance liquid chromatography technique. In the sub-group of patients with PHG ( $n = 18$ ), the median SIC at 3 ( $2,67 \pm 1,90$  mg/l) and at 6 h ( $2,54 \pm 2,02$  mg/l) after its ingestion were significantly higher in comparison to the patients without PHG ( $1,15 \pm 0,71$  mg/l, respectively  $1,24 \pm 0,79$  mg/l) and to the controls ( $1,25 \pm 1,40$  mg/l and respectively  $1,11 \pm 1,10$  mg/l) ( $p < 0,05$ ). Abnormal IP was found in 33.3% of pt with PHG, 7.7% in cases without PHG and in 8% of the controls. Increased IP to iohexol in patients with LC and PHG was found more frequently, probably related to structural changes in small/large intestinal mucosa as a part of spectrum of microcirculatory alterations in gastrointestinal tract secondary to portal hypertension.

**Key words:** liver cirrhosis, portal hypertensive gastropathy, intestinal permeability, iohexol

**Address for correspondence:** V. Gerova, MD, Clinic of Gastroenterology, UMBAL “Tsaritsa Yoana”, 8 Bialo more str., Bg-1527 Sofia, GSM: 0898 65-31-84

Порталната хипертония (ПХ) е хемодинамично нарушение, свързано с най-честите и сериозни усложнения на чернодробната цирроза (ЧЦ), като асцит, чернодробна енцефалопатия, кървене от гастроезофагеални варици и др. [1,

2, 5, 7]. Тя е причина и за различни патологични промени в целия гастроинтестинален тракт (ГИТ), които се установяват при ендоскопско изследване [16]. Сред тях най-чести са вариците на хранопровода и стомаха, порталната хи-

пертензивна гастропатия (ПХГ) и порталната хипертензивна колопатия (ПХК) [3, 4, 5, 7, 12]. Тънкото черво е най-голямата част от ГИТ, но поради по-трудната достъпност малко се знае за промените в него, предизвикани от ПХ (портална хипертензивна ентеропатия – ПХЕ) [14]. Порталната хипертензивна вазопатия е термин за описание на фундаменталните структурни промени в ГИТ поради промени в интестиналната микроциркулация при дълготрайна ПХ [19, 22]. Гастроинтестиналните мукозни нарушения в резултат на ПХ може да бъдат причинени от свръхпродукция на азотен окис, което води до нарушаване интегритета на чревния епител [8, 14].

Малко са проучванията върху нарушенията в гастроинтестиналния пермеабилитет при пациентите с ЧЦ. В някои от тях е установена връзка между повишението на порталното налягане и нарушенията в пермеабилитета [8, 19]; отчетено е подобрение на пермеабилитетните показатели след редуциране на порталното налягане [23]. В литературата липсват съобщения за промените в пермеабилитетната бариера при циротици с ПХГ и ПХЕ.

Нашата цел беше да проучим връзката между интестиналната бариерна функция и ПХГ при пациенти с ЧЦ посредством тест за интестинален пермеабилитет (ИП).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

### 1. Изследвани лица

Проучването включва 31 пациенти с ЧЦ – 25 мъже и 6 жени, на средна възраст 53.9 (37-70) год. Диагнозата е поставена на базата на общоприети клинично-биохимични, ехографски и ендоскопски критерии.

ПХГ е класифицирана ендоскопски по скалата на MacCormack [18]: 1. Лека ПХГ (фини червени петънца по лигавицата или скарлатиноподобно зачервяване, промени по типа «мозаечност» или «змийска кожа»), 2. Тежка ПХГ (червени петна върху фино гранулирана лигавица, тип «черешови петна» със или без спонтанно кървене от лигавицата). Ендоскопски данни за ПХГ установяваме при 18 (58.1%) от циротиците. При 14 от тях става въпрос за лекостепенни и само при 4 – за тежки изменения.

Като контроли са включени 25 здрави доброволци – 18 жени и 7 мъже, на средна възраст 40.6 год. (25-68 год.).

Пациентите и контролите не са приемали алкохол и нестероидни противовъзпалителни медикаменти поне 10 дни преди изследването. Изключени са също медикаменти като антидеп-

ресанти, антихолинергици, метоклопрамид и лактулоза, които биха могли да повлияят гастроинтестиналния мотилитет.

### II. Изследване на интестиналния пермеабилитет

#### 1. Протокол за изследване на интестиналния пермеабилитет

Сутрин, 2 часа след закуска, пациентът поема през устата 25 ml/350 mg/ml йохексол – Omnipaque (Nycomed), и изпразва пикочния мехур. Кръв за изследване (10 ml) се взема 3 и 6 часа след поемане на веществото с епруветки тип затворена система и се центрофугира за получаване на серум, който се замразява на  $-20^{\circ}\text{C}$ , ако не се изследва същия ден. Приемаме, че серумните концентрации на йохексол (СКЙ) в края на периода 0-3 часа след пероралното му приложение отразяват пермеабилитета на проксималните тънчочревни отдели, а на периода 3-6 часа – пермеабилитета на дисталните тънчочревни отдели и на част от дебелото черво (поне проксимален колон).

#### 2. Количествен метод за определяне на йохексол в серум

Концентрацията на йохексол е измерена с помощта на HPLC. Подготовката на серумните проби се състои в депротеинизация на серума чрез добавяне на 50  $\mu\text{l}$  5% разтвор на  $\text{ZnSO}_4$ , размесване на вортекс за 30 s и последващо центрофугиране за 5 min. 20  $\mu\text{l}$  от надстоящата течност са инжектирани в хроматографската система. Анализът на йохексол в серум е постигнат на C8 хроматографска колона Zorbax XDB C8 (150 x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$  размер на частиците, Agilent Technologies, USA), като е използвана UV детекция при 240 nm дължина на вълната и е поддържана температура от  $20^{\circ}\text{C}$ . Подвижната фаза се състои от ацетонитрил и вода в обемно съотношение 5:95, при изократен поток от 1,2 ml/min. Калибрационната крива е с линеен концентрационен диапазон 0.25-10.00 mg/L, като границата на количествено определяне (LOQ) е 0.25 mg/L йохексол. Възпроизводимостта на метода в линейния диапазон е добра (CV < 7%), като са оценени и краткосрочната температурна стабилност и стабилността на размразяване и замразяване на анализа в пробите и не е установено повлияване на резултатите.

СКЙ се представят в mg/l, всички стойности са представени като  $X \pm \text{SD}$ . Като патологични приемаме стойности над  $X + 2\text{SD}$  на СКЙ при контролната група.

Проучването е одобрено от Етичната комисия при УМБАЛ „Царица Йоанна“ и е проведено според правилата за добра клинична и лабора-

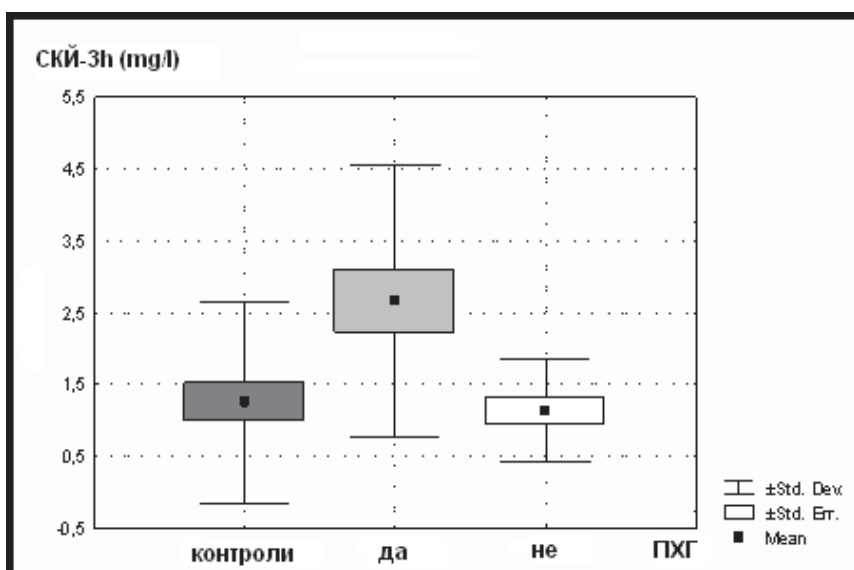
торна практика. Всички пациенти и контроли са подписали информирано съгласие за участие.

За анализ на данните са използвани следните статистически методи: дескриптивна статистика, параметричен – *t*-тест за сравнение на две несвързани извадки, непараметрични – метод на Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilks за оценка на нормалното разпределение на количествени признаци. За ниво на значимост приемаме  $p < 0.05$ .

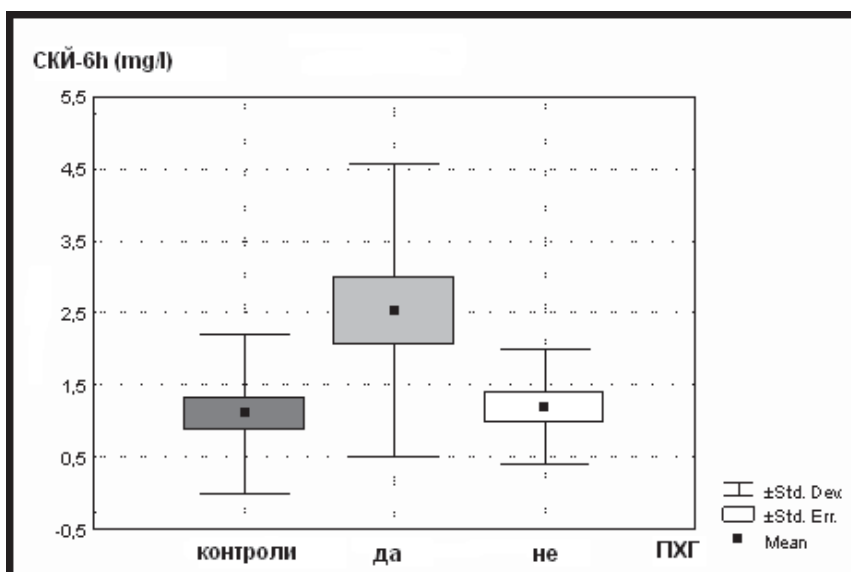
## РЕЗУЛТАТИ

Всички участници в проучването понесоха добре пермеабилитетния тест, без прояви на нежелани странични реакции.

Подгрупата пациенти с ендоскопски данни за ПХГ имат значимо по-високи средни СКЙ както на 3-тия ( $2.67 \pm 1.90$  mg/l), така и на 6-ия час ( $2.54 \pm 2.02$  mg/l) в сравнение със съответните параметри при подгрупата циротици без ПХГ ( $1.15 \pm 0.71$  mg/l, съответно  $1.24 \pm 0.79$  mg/l) ( $p < 0.05$ ), а също и в сравнение с контролите ( $1.25 \pm 1.90$  mg/l, съответно  $1.11 \pm 1.10$  mg/l), ( $p < 0.05$ ) (фиг. 1, 2). Интестиналната пенетрация на йохексол при пациентите без ендоскопски данни за ПХГ е сходна с тази на контролите както на 3-тия, така и на 6-ия час след пероралното му приложение ( $p > 0.05$ ).



Фиг. 1. Връзка между концентрация на йохексол (СКЙ-3h mg/l) и ПХГ



Фиг. 2. Връзка между концентрация на йохексол (СКЙ-6h mg/l) и ПХГ

ИП е повишен при 33.3% от циротиците с ПХГ и само при 7.7% от тези без ПХГ. Честотата на пермеабилитетните нарушения при последната подгрупа не се различава от честотата им при здравите контроли (8.0%). Всички пациенти с ПХГ имат и нарушения в пермеабилитета на проксималните тънкочревни отдели.

### ОБСЪЖДАНЕ

ПХГ отразява структурните промени в стомашната микроциркулация при дълготрайна ПХ. Те са описани за пръв път от MacComas и сътр. [18], но през последните две десетилетия привличат вниманието на ендоскописти и клиницисти, изучаващи физиологията на ПХ. Докато характерните ендоскопски, хистологични, ултрасруктурни и хемодинамични промени са добре документирани от редица автори [10, 12], точните патогенетични механизми за възникването на ПХГ не са напълно изяснени. ПХ, но не и цирозата, е основният фактор, тъй като ПХГ е описана и при пациенти без чернодробно заболяване [14]. Във възникването на ПХГ вероятно участват и някои хуморални фактори. Предполага се, че повишените циркулиращи нива на някои вазодилататори (глюкагон) или редуцираната чувствителност към ендогенни вазоконстриктори може да имат патогенетична роля. Напоследък се обсъжда, че в патогенезата на ПХГ може да участват и някои ендотелни фактори, като простагландини, азотен окис и съдов ендотелен растежен фактор. Връзката с НР инфекцията е слаба, а HBV инфекцията не участва в патогенезата на ПХГ [10, 11]. Резултатите от експериментални и клинични проучвания демонстрират, че стомашната лигавица при ПХГ има повишена чувствителност към различни увреждащи фактори, като жлъчни соли, алкохол, нестероидни противовъзпалителни средства и др. – в сравнение с циротиците с нормално портално налягане [6, 12]. Данните насочват към нарушение на мукозния интегритет в тези случаи. Той може да бъде свързан и със стадия на чернодробното увреждане, и с тежестта на самата ПХГ. Поради тези факти ПХГ представлява интерес не само като потенциален източник на кървене, но и като фактор, предразполагащ към повишение на пермеабилитета.

По подобен начин порталната хипертензивна интестинална вазопатия е термин за описание на структурните промени в тънкото и дебелото черво в резултат на ПХ. Измененията най-често са генерализирани, но поради по-лесната достъпност за изследване на стомаха и дуоденума обикновено се диагностицира само ПХГ [3, 4, 19, 22].

В нашето проучване 18 от 31 пациенти с цироза имат ендоскопски данни за ПХГ. В преобладаващия брой от случаите (14/18) измененията са леки, което съответства и на литературните данни [3, 10, 12].

Оценката на гастродуоденалния (ГД) пермеабилитет се извършва чрез измерване на екскрецията в урината на перорално приета сукроза [20]. Известно е, че абсорбцията на сукрозата нормално е ограничена в ГД лигавица, тъй като в проксималния йеюnum тя се разгражда от ензима сукраза в тънкочревната лигавица. Затова повишената абсорбция на сукрозата се дължи на дефицит на сукраза поради увреждане на чревната лигавица или поради нарушение на бариерния интегритет на ГД лигавица, водещо до повишение на пермеабилитета. Установено е, че абсорбцията на сукрозата се повишава пропорционално на степента на увреждане на ГД лигавица. Giofre и сътр. (2000) при 31 пациенти с ЧЦ и ПХГ са намерили повишен стомашен пермеабилитет за сукроза, с положителна корелация със степента на ендоскопските промени, характерни за ПХГ [15]. Не са установени значими различия в екскрецията на лактулоза и манитол при пациентите със или без ПХГ. Keshavarzian A и сътр. (1999) установяват повишена абсорбция на сукроза в две групи алкохолици със и без чернодробно заболяване. Обаче средната екскреция в урината в групата с чернодробно заболяване е била най-малко 6-кратно по-висока в сравнение с групата без чернодробна болест, която от своя страна е била 6 пъти по-висока в сравнение с контролната група [17]. В две проучвания с едновременното приемане на три пермеабилитетни субстрата (сукроза, лактулоза и манитол) при пациенти с първична билиарна цироза е доказано повишение както на ГД, така и на ИП [9, 13].

Резултатите от нашето проучване показват, че резорбцията на йохексола при циротиците с ендоскопски данни за ПХГ е по-висока в сравнение с циротиците без прояви на ПХГ. Установеното повишение на ИП с помощта на йохексол, който е субстрат за оценка на ИП, най-вероятно се дължи на едновременното наличие и на ПХЕ при пациентите с ендоскопски данни за ПХГ. ПХЕ е част от спектъра на конгестивната гастроентеропатия и се наблюдава почти толкова често, колкото и промените в стомаха и дуоденума. Циркулиращите хормонални вазодилататори от чревен произход, нарушеният чернодробен клирънс и повишената продукция на азотен окис и в този случай са причина за структурните промени и в тънкочревната лигавица. Хис-

тологично в тънкото черво при пациенти с цироза са описани дилатирани капилляри със задебелени стени, оток на lamina propria, фибромускулна пролиферация, редуцирано съотношение вили/крипти и задебелена muscularis mucosa [8, 22]. Морфологично интактни tight junctions са установени в малко проучване на Such и сътр. (2002) на клинично стабилни циротици без данни за предшестваща инфекция с чревен тип бактерии, но при пациенти с ЧЦ е документирана значителна дилатация на интерцелуларните пространства под tight junctions, които са втората линия на защита срещу парацелуларната абсорбция [21]. Мукозната конгестия може да доведе и до загуба на протеини (протеингубеща ентеропатия) в допълнение към кръвозагубата, вероятно поради дисфункция на интестиналните лимфни съдове. Описаните промени водят до нарушение на мукозната интегритет и са предпоставка за повишение на ИП.

В заключение, установените в проучването повишени СКЙ при циротиците с ПХГ както на 3-тия, така и на 6-ия час от пероралното му приложение показват, че в тези случаи е налице повишение на ИП както на проксималните, така и на дисталните тънкочревни отдели и на част от дебелото черво. Пермеабилитетните нарушения най-вероятно са свързани със структурни промени в тънкото/дебелото черво като част от спектъра на микроциркулаторните нарушения в целия ГИТ в резултат на ПХ.

*\*Финансирането на Отпирание е осигурено чрез Грант 24/2006 г., МУ, София.*

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Кръстев, З. Хепатоциркулаторен синдром – съдови промени в порталната, спланхникусова система, системното и бъбречното кръвообращение. Бълг. Хепатогастроентерол., **3**, 2002, № 1, 57-63.
2. Митова, Р. и др. Промени в съдовата резистентност на а. hepatica при чернодробна цироза: връзка с порталния кръвоток. – Диагн. Терапевт. Ултразвук, 1998, № 1, 3-9.
3. Спасова, З. и др. Ултраструктурни промени в лигавицата на стомаха при болни с чернодробна цироза и портална хипертензивна гастропатия. – Бълг. Хепатогастроентерол., **4**, 2002, № 1, 27-32.
4. Спасова, Зл. и др. Ендоскопска и морфологична характеристика на промените в дебелото черво при болни с чернодробна цироза и портална хипертензия. – Бълг. Хепатогастроентерол., **3**, 2002, № 3, 52-56.
5. Услонения при чернодробната цироза – портална хипертензия-варици на хранопровода, варици на стомаха и портална хипертензивна гастропатия. Асцит, рефрактерен асцит, спонтанен бактериален перитонит, хепаторенален синдром. Практически алгоритми (консенсуси) по гастроентерология, приети през 2005 година от българското дружество по гастроентерология с гастроинтестинална ендоскопия и абдоминална ехография. – Бълг. Хепатогастроентерол., **8**, 2006, № 1, 134-146.
6. Aurox, J. et al. Gastroduodenal ulcer and erosions are related to portal hypertensive gastropathy and recent alcohol intake in cirrhotic patients. – Dig. Dis. Sci., **48**, 2003, № 6, 118-123.
7. Bosch, J. et J. Garcia-Pagan. Complications of cirrhosis: I. Portal hypertension. – J. Hepatol., **32**, 2000, № 1, Suppl., 141-156.
8. De Palma, G. et al. Mucosal abnormalities of the small bowel in patients with cirrhosis and portal hypertension: a capsule endoscopy study. – Gastrointest. Endosc., **62**, 2005, № 4, 529-534.
9. Di Leo, V. et al. Gastroduodenal and intestinal permeability in primary biliary cirrhosis. – Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., **15**, 2003, 9, 967-73
10. Dong, L. et al. Portal hypertensive gastropathy and its interrelated factors. – Hepat. Pancreat. Dis. Int., **2**, 2003, № 2, 226-229.
11. Dong-Wei, P., R. Y. Xun et Y. M. Chen. Correlations of portal hypertensive gastropathy of hepatitis B cirrhosis with other factors. – Hepat. Pancreat. Dis. Int., **1**, 2003, № 4, 527-531.
12. Eleftheriadis, E. Portal hypertensive gastropathy. – Ann. Gastroenterol., **14**, 2001, № 3, 196-204.
13. Feld, J. J., J. Meddings et E. J. Heathcote. Abnormal intestinal permeability in primary biliary cirrhosis. – Dig. Dis. Sci., **51**, 2006, № 9, 1607-1613.
14. Figueiredo, P. et al. Effect of portal hypertension in the small bowel: an endoscopic approach. – Dig. Dis. Sci., **53**, 2008, 2144-2150.
15. Giofré, M. R. et al. Gastric permeability to sucrose is increased in portal hypertensive gastropathy. – Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., **12**, 2000, № 5, 529-533.
16. Higaki, N. et al. Characteristic endoscopic features of portal hypertensive enteropathy. – J. Gastroenterol., **43**, 2008, 327-331.
17. Keshavarzian, A. et al. Leaky gut in alcoholic cirrhosis: a possible mechanism for alcohol-induced liver damage. – Am. J. Gastroenterol., **94**, 1999, 200-207.
18. McCormack, T. T., J. Sims et I. Eyre-Brook. Gastric lesions in portal hypertension: inflammatory gastritis or congestive gastropathy? – Gut, **26**, 1985, 1226-1232.
19. Merkel, C. et al. Portal hypertension and portal hypertensive gastropathy in patients with liver cirrhosis: a hemodynamic study. – Dig. Liver Dis., **35**, 2003, № 4, 269-274.
20. Sun, Z., X. Wang et R. Anderson. Role of intestinal permeability in monitoring mucosal barrier function. History, methodology and significance of pathology. – Dig. Surg., **15**, 1998, № 5, 386-397.
21. Such, J. et al. Ultrastructural characteristics of distal duodenum mucosa in patients with cirrhosis. – Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., **14**, 2002, № 4, 371-376.
22. Viggiano, T. R. et C. J. Gostout. Portal hypertensive intestinal vasculopathy: a review of the clinical, endoscopic, and histopathologic features. – Am. J. Gastroenterol., **87**, 1992, 944-954.
23. Xu, W. H. et al. Influence of portal pressure change on intestinal permeability in patients with portal hypertension. – Hepat. Pancreat. Dis. Int., **1**, 2002, № 4, 510-514.