

## DeneySEL Olarak Safra Kanalı Ligasyonu Oluşturulan Köpeklerde Karaciğer Hasarı ve Safra Yolu Tıkanıklıklarının Ultrasonografik Olarak Değerlendirilmesi\*

Remzi GÖNÜL, Yücel MERAL, Abdullah KAYAR, Utku BAKIREL, Mehmet Erman OR  
İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Gülbin ŞENNAZLI, Aydın GÜREL

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Ziya ASLAN

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Merkez Tahlil Laboratuvarı, Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 04.01.2002

**Özet:** Bu çalışmada deneySEL olarak safra kanalı ligatüre edilen köpeklerde meydana gelen karaciğer hasarı ve safra yolu tıkanıklıkları ultrasonografik olarak değerlendirildi.

Çalışmada değişik ırktaki 7 adet sağlıklı köpek denek olarak kullanıldı. Klinik ve ultrasonografik muayenelerinden sonra, ortak safra kanalı duodenal bölgede iki kez düğümlendi. Bunu takiben 6 hafta boyunca deneklerin klinik muayeneleri, biyokimyasal analizleri ve karaciğer, safra kesesi ile safra yollarının ultrasonografik kontrolleri yapıldı. Tüm köpeklerin çalışma sonunda nekropsileri yapılarak makroskopik ve mikroskopik değişiklikleri belirlendi.

Yapılan laboratuvar muayeneleri sonucunda bütün köpeklerde serum ALT, ALP, GGT ve T.Bilirubin düzeylerinin operasyon sonrası istatistikî bakımdan anlamlı olarak ( $p < 0,001-0,05$ ) arttığı saptandı. Ultrasonografik muayeneler sonucunda ise, tüm köpeklerde denemenin ilk haftasından itibaren safra kanallarının ve safra kesesinin dolgunlaştığı, safra kesesi boynunun normale göre daha geniş ve daha kıvrımlı hal aldığı ve safra kesesi içinde hipoekojenik çamurlanmanın belirginleştiği, karaciğer paransiminde çalışma sonuna doğru perivasküler multifokal hiperekoik odakların geliştiği tespit edildi. Bu değişiklikler yapılan nekropside makroskopik ve mikroskopik olarak izlenerek doğrulandı.

Çalışma sonucunda, kan serum parametreleriyle birlikte ultrasonografik kontrollerin de yapılmasının bilier hastalıkların erken dönemde tespiti ve hepatik hastalıklardan ayırt edilmesinde faydalı bilgiler sağlayacağı kanısına varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Köpek, ligasyon, karaciğer, safra kesesi, ortak safra kanalı, ultrasonografi

### Ultrasonographic Evaluation of Liver Damage and Obstruction of the Biliary Tract in Experimentally Bile Duct Ligated Dogs

**Abstract:** The liver damage and obstructions of the biliary tract were evaluated ultrasonographically in experimentally bile duct ligated dogs.

Seven healthy dogs of different breeds were used. The common bile duct was double ligated at the duodenal region after clinical and ultrasonographic examinations. After that, clinical examinations, biochemical analyses and examinations of the liver, gallbladder and biliary tract were done ultrasonographically over 6 weeks. All dogs were necropsied and macroscopic and histologic alterations were determined at the end of the study.

It was determined that the levels of serum ALT, ALP, GGT and T. Bilirubin were ( $p < 0.001-0.05$ ) statistically significantly increased after the operation in all dogs. As a result of ultrasonographic examinations, it was determined that the bile ducts and gallbladder were distended, the neck of the gallbladder was larger and more tortuous than normal, hypoechoic sludge was prominent in the gallbladder, and perivascular, multifocal hyperechoic areas appeared in the liver parenchyma toward the end of the study. These alterations were confirmed macroscopically and microscopically at the end of the autopsy in all dogs.

We consider that as well as blood serum parameters, ultrasonographic examinations are useful in the early diagnosis of biliary diseases and in differentiating them from hepatic diseases.

**Key Words:** Dog, ligation, liver, gallbladder, common bile duct, ultrasonography

\* Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir (Proje No: 1495/28082000).

## Giriş

Sarılık kanda artmış bilirubin konsantrasyonu sonucu dokularda bilirubin birikimini ifade eden bir terim olup, köpeklerde hemoliz, hepatosellüler hastalıklar ve hepatobilier hastalıkların yaygın bir klinik belirtisidir (1,2). Bununla birlikte, tedavilerindeki farklılıklar nedeniyle intrahepatik (hepatosellüler) ve ekstrahepatik (obstruktif) hastalıklar birbirlerinden ayırt edilmelidirler (2-5). Günümüzde bu amaçla kullanılmakta olan klinik laboratuvar testleri ve radyografi gibi geleneksel metotlar yetersiz kalmaktadır (1,2,3,5). Bu nedenle ultrasonografi, serum biyokimyasal değerlerinin şüpheli olduğu, klinik olarak sarılık bulguları gösteren hayvanlardaki hepatosellüler hastalıkların bilier tıkanıklıklardan ayırt edilmesinde oldukça faydalıdır (2,5). Ultrasonografi hem insan hem de veteriner hekimlikte safra kesesinin fonksiyonunun ve yapısının değerlendirilmesinde kullanılmakla birlikte (1,2,4-7), köpeklerdeki bilier hastalıkların teşhisinde henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır (3).

Araştırmacılar (5,6) tarafından köpeklerdeki obstruktif tipteki bozukluklarda ultrasonografik değişiklikleri incelemek için, deneysel olarak safra kanalı ligasyon modeli önerilmektedir. Obstruktif tipte safra yolları tıkanıklıkları sonucu azalan safra akışı bölgesel basınçta artış ve kolestasise neden olmaktadır. Safra kanalı ligatüre edilen köpeklerin karaciğerinde portal bölgedeki konnektiv dokunun önemli derecede arttığı, safra kanalı epiteli ile hepatositlerin proliferasyonunun fazlaştığı, hepatositlerde yangısel infiltrasyon, dejenerasyon ve nekrosis ile karakterize sirotik değişikliklerin meydana geldiği bildirilmiştir (6).

Çalışmada, köpeklerde deneysel olarak safra kanalının ligasyonu ile oluşturulan safra yolu tıkanıklıklarının ve karaciğer hasarının ultrasonografik olarak muayene edilmesi ve erken dönemde teşhis kriterlerinin değerlendirilmesi, elde edilen verilerin laboratuvar ve nekropsi bulgularıyla karşılaştırılması amaçlandı.

## Materyal ve Metot

Bu çalışmada denek olarak kiloları 11-29 kg arasında değişen, 3-7 yaşlı, değişik ırktan yedi adet köpek kullanıldı. Çalışma esnasında köpekler sınırlama olmaksızın ticari olarak piyasada bulunan standart kuru mama ile beslendiler. Operasyon öncesi denekler rutin klinik muayeneleri yapılarak iç ve dış parazitlerinden

arındırıldılar. Yapılan biyokimyasal ve ultrasonografik muayeneler sonucu sağlıklı olduğu tespit edilen denekler çalışmaya dahil edildi.

Köpeklerde ortak safra kanalı (8), duodenuma açılma yerinin hemen üzerinden Mwanza ve ark. (6), tarafından bildirilen tekniğe uygun olarak ligatüre edildi. Operasyon sonrası deneklere 5 gün süre ile antibiyotik uygulandı.

Ligasyon sonrası 1,5 ay süresince birer hafta ara ile alınan kan örneklerinde serum alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT) ve total bilirubin (T.Bilirubin) değerleri Biobak® ticari kitleri kullanılarak İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Merkez Tahlil Laboratuvarında bulunan Expres Ciba Corning auto-analyzer cihazında spektrofotometrik olarak belirlendi.

Aynı zamanda, karaciğer ve safra kesesinde meydana gelen ultrasonografik değişikliklerin kontrolü SCHIMADZU SDU 350A ultrasonografi cihazı ile tekniğine uygun olarak yapıldı (2,6). Ultrasonografik kontroller öncesinde denekler 24 saat süre ile aç bırakılarak rahat bir muayene yapılması sağlandı. Deneklerin sağ ve sol regio hipogastrik bölgeleri traş edilip, derideki yağın temizlenmesi amacıyla bu bölgelerin alkol ile silinmesinden sonra sağ ve sol yanları sünger yastıklarla desteklenerek sırt üstü pozisyonda muayene masasına yatırıldılar. Ultrasonografik muayene için 3,75 MHz dalga boyunda mikrokonveks transduser ve ultrasonik geçirgenliği sağlayan Sonogel marka ultrason jeli kullanıldı. Karaciğer paransimi, safra kesesi ve kanalları ile damar yapılarının görüntüleri standart olarak 32 desibel'de 80-110 mm. derinlikte alındı.

Sağ regio hipogastrik bölgeden sagittal düzlemde saat yönünün tersine 45° açılma yapılarak alınan 2-D (iki boyutlu) görüntülerde karaciğer paransimi, portal ven, safra kesesi ve kanalları görüldü. Sağ regio hipogastrik bölgeden 11-12. interkostal aralıktan horizontal düzlemde saat yönünün tersine 45-90° alınan 2-D görüntülerde ise karaciğer paransimi, V. porta ve obstruksiyondan sonra bu veni saran safra kanalları incelendi (2).

Elde edilen görüntüler dondurulduktan sonra Sony marka termal printer ile Sony HD 110 marka printer kağıdına yazdırıldı.

Safra kanalı ligasyonu sonrası 6. haftada biyokimyasal ve ultrasonografik kontrolleri tamamlanan denekler hemen ötenazi edilerek sistemik nekropsileri yapıldı.

Nekropsi sırasında organlardaki değişimler kayıt edildi ve mikroskopik muayene için karaciğerden uygun büyüklüklerde parçalar alınarak tespit etmek amacıyla % 10'luk formol saline solusyonuna konuldu. Tespit solusyonunda kalan organ parçaları rutin işlemlerden geçirilerek parafin blokları hazırlandı ve bu bloklardan 5-6 µ kalınlığında kesitler alınıp Hematoksilen-Eozin boyasıyla boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Biyokimyasal parametrelerde meydana gelen istatistikî değişiklikler Student t testi ile belirlendi (9).

## Bulgular

Araştırmada klinik olarak, deneklerin operasyonu çok iyi tolere ettikleri ve operasyon yarısının 10 gün içinde iyileştiği görüldü. Ancak safra kanalı ligasyonu sonrası ilk birkaç gün köpeklerin iştahsız oldukları, deri ve mukozalardaki sarılığın operasyon sonrası birinci günden itibaren artmaya başladığı gözlemlendi.

Yapılan laboratuvar muayeneleri sonucunda bütün köpeklerde serum ALT ve T.Bilirubin düzeylerinin operasyon sonrası artarak birinci haftada pik seviyeye ulaştığı ve bu artışın istatistikî bakımdan sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p<0,01$  düzeylerinde anlamlı olduğu, serum ALP ve GGT düzeylerindeki artışın ise operasyon sonrası ikinci haftada pik seviyeye ulaştığı ve bu artışların da istatistikî olarak  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı olduğu ve daha sonra bu değerlerin yavaş yavaş düşmeye başladıkları tespit edildi (Tablo 1).

Ultrasonografik muayenelerde; safra kanalı ligasyonu sonrası üç gün içinde patolojik değişikliklerin olduğu gözlemlendi. Üçüncü günden itibaren kistik kanalın ilerleyen bir şekilde genişlediği ve safra kesesi hacminde operasyon sonrası ikinci haftadan itibaren belirgin bir artış olduğu, ortak safra kanal lumeni, kistik kanal ve safra kesesi içinde az miktarda hipoekojenik safra ile kendini gösteren ultrasonografik görüntülerin belirginleştiği tespit edildi (Şekil 1 A,B). Ayrıca, safra kesesi boyununun normale göre daha geniş ve daha kıvrımlı hal aldığı ve tıkanma sonrası intra ve ekstrahepatik safra kanallarının da görülebilir hale geldiği belirlendi (Şekil 2). Duodenuma akışı durdurulan safranin kesede birikmesi sonucunda kese içerisinde zamanla tortulaşmaya (çamurlaşmaya) varan bir yoğunlukta yaygın hipoekojenik görüntülerin olduğu gözlemlendi. Bu arada, safra kesesi duvarının düzensiz bir şekilde hiperekoik olarak kalınlaştığı, gerek biriken safranin gerekse de kalınlaşan safra kesesi duvarına bağlı olarak safra kesesinin ventralinde distal gölgelenmenin olduğu izlendi (Şekil 3). Karaciğer kan akımında meydana gelen aksamalara bağlı olarak özellikle portal venanın düzensiz olarak genişlediği ve operasyon sonrası beşinci haftadan itibaren karaciğer paransiminde özellikle genişleyen safra kanalı odaklı ve periportal olarak yer alan çok odaklı hiperekoik alanların şekillendiği belirlendi (Şekil 4).

Nekropside karaciğerin büyüdüğü, kenarlarının kütleştiği ve sert kıvamda olduğu tespit edildi. Ayrıca safra kesesinin aşırı dolgun ve gergin olduğu, kan

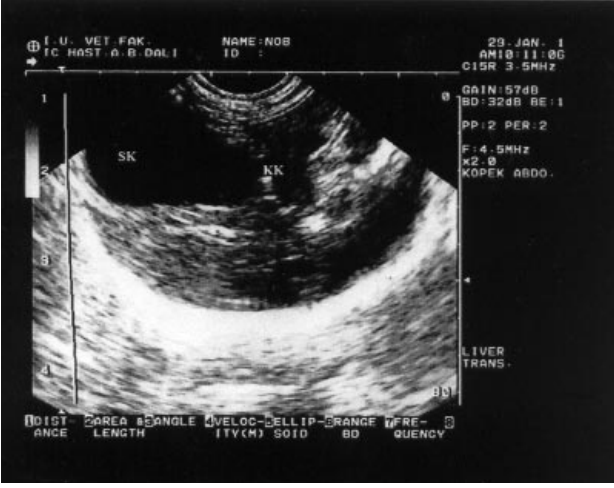
Tablo 1. Deneysel olarak safra kanalı ligasyonu ile oluşturulan karaciğer hasarı ve safra yolu tıkanıklıkları öncesi ve sonrasında kan serum parametreleri.

n=7	0. Saat X±Sx	1. Hafta X±Sx	2. Hafta X±Sx	3. Hafta X±Sx	4. Hafta X±Sx	5. Hafta X±Sx	6. Hafta X±Sx
ALT (U/L)	19,4±4,3	598,4±285,3***	359,9±124,0***	330,6±198,7**	129,8±41,6	135,6±80,6	66,5±28,3
ALP (U/L)	101,4±85,4	2325,1±799,1*	2832,4±485,4**	2748,1±1976,1**	2491,1±2297,7*	1728,1±1671,4	1051±1007,5
GGT (U/L)	8,4±6,6	82,2±28,2*	107,8±46,3**	104,8±49,7**	78,1±55,0*	66,5±55,1	69,2±61,6
T.Bilirubin (mg/dl)	0,8±0,4	7,1±2,4**	5,7±3,8*	5,2±3,2*	5,1±3,9	4,6±2,8	4,4±3,1

\*  $p<0,05$

\*\*  $p<0,01$

\*\*\*  $p<0,001$



A



B

Şekil 1. Safra kanalı ligasyonu sonrası karaciğerin transversal sonografisi. Kistik kanal (KK) ve safra kesesinde (SK) genişleme A: 3. gün, B: 2. hafta.



Şekil 2. Safra kanalı ligasyonu sonrası 4. haftada karaciğerin transversal sonografisinde, kistik kanal, safra kesesi boynunda aşırı genişleme ve ekstra hepatik safra kanalları (EHK).



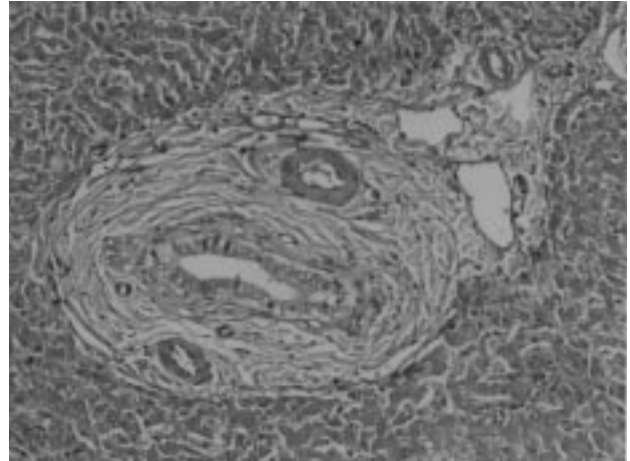
Şekil 3. Safra kanalı ligasyonu sonrası 5. haftada karaciğerin transversal sonografisinde safra kesesi lumeninde ekojenik çamurlaşma (Ç), safra kesesi duvarında ekojenite ve distal gölgelenme (DG).

damarlarının ve safra kanallarının genişlediği, safra kesesi içinde safra maddesinin aşırı yoğunlaşmış-tortulaşmış olduğu ve karaciğer dokusunun kesit yüzeylerinden yeşil renkte yoğun kıvamda safra maddesinin sızdığı gözlemlendi. Yapılan histopatolojik incelemede ise, gerek paransim hücreleri içerisinde, gerekse disse aralıklarında makrofajlar içerisinde safra renkli maddeler yoğun olarak tespit edildi. Duktus hepatikusda fibröz bağ doku üremesi, lenfosit ve makrofajların varlığına bağlı olarak kalınlaşmalar, lümen epitelinde kübikten yassılaşmaya

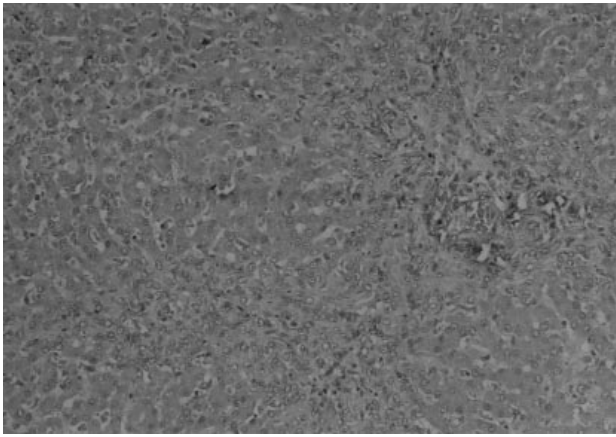
varan değişimlerle birlikte yer yer dejenerasyona bağlı dökülmeler izlendi. Venöz damar lümenlerinde dökülmüş, dejeneratif karaciğer paransim hücreleri gözlemlendi. Kiernan aralıklarında yangısel hücre infiltrasyonu ve interlobuler safra kanallarının (Duktus bilifer) fibröz bir bağ doku ile kuşatıldıkları görüldü (Şekil 5). Yine bazı deneklerin karaciğer doku kesitlerinde ise Kiernan aralıklarında artan bağ dokunun paransim doku içerisine infiltre olduğu ve interlobuler safra kanal epitelinde yoğun, düzensiz üremeler izlendi (Şekil 6).



Şekil 4. Safra kanalı ligasyonu sonrası 6. haftada karaciğerin transversal sonografisinde perivasküler multifokal hiperekoik odaklar (S).



Şekil 5. Kiernan aralıklarında yangısel hücre infiltrasyonu ve safra kanalları çevresinde fibröz bağ doku artışı. H.E. 100x.



Şekil 6. Kiernan aralıklarında artan bağ dokunun paransim doku içerisinde infiltrasyonu ve interlobuler safra kanal epitelinde yoğun ve düzensiz üremeler H.E. 200x.

## Tartışma

Günümüzde köpeklerdeki hepatosellüler ve obstruktif tipteki sarılıkların birbirinden ayırt edilmesinde rutin laboratuvar metotlarının yetersiz kaldığı, bu nedenle kesin teşhisin konulmasında ultrasonografik muayenelere başvurulması gerektiği bildirilmiştir (1,2,3,5). Ayrıca sonografik muayeneler köpeklerde gerçek insidensi tam olarak bilinmeyen karaciğer ve bilier hastalıkların değerlendirilmesine de olanak sağlamaktadır (3,4,6). Ancak ultrasonografik muayenenin köpeklerdeki bilier hastalıkların teşhisinde geniş olarak denenmediği de bildirilmektedir (3).

Bu çalışmada, deneysel olarak safra kanalı ligasyonu ile oluşturulan karaciğer hasarının ve safra kanalı tıkanıklıklarının ultrasonografik olarak değerlendirilmesi, ayrıca bu bulguların laboratuvar ve nekropsisi bulgularıyla karşılaştırılması yapıldı.

Safra kanalı ligasyonundan sonra deneklerin operasyonu çok iyi tolere ettikleri görüldü. Bununla birlikte deneklerde araştırmacıların bildirdiği (6) gibi, operasyon sonrası gelişen fizyolojik yanıtı bağlı olarak kısmi iştahsızlık ve halsizlik gibi belirtilerin şekillendiği gözlemlendi .

Araştırmacılar (5,6,10,11), serum ALT düzeyindeki artışın hepatik paransimdeki hücre hasarını, ALP ve GGT aktivitesindeki yüksek artışın ise bilier sistemdeki fonksiyon bozukluğunu yansıttığını bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda benzer olarak, safra kanalı ligasyonu sonrasında karaciğerdeki doku hasarına bağlı olarak serum ALT düzeyinin ( $p<0,001$ ), safra kanalının engellenmesine bağlı olarak serum T.bilirubin düzeyinin ( $p<0,01$ ) ve safra kanalı yangıları ile ilişkili olarak da serum ALP ve GGT düzeylerinin ( $p<0,01$ ) istatistiksel bakımdan önemli derecede arttığı ve bu değerlerin pik seviyeye ulaştıktan sonra yavaş yavaş azalmaya başladıkları saptandı. Serum enzim düzeylerinde gözlenen bu düşüşün, Mwanza ve ark.'nın (6) da bildirdiği gibi, ileri dönemde önemli derecede azalan portal sinusoidal kan akımına bağlı olarak bölgede fonksiyonel karaciğer hücrelerinin azalmasından kaynaklandığı belirlendi.

Genellikle karaciğeri mikroskopik olarak etkileyen diffuz paraneoplastik hastalıklar sonografik olarak ancak ileri safhalarda teşhis edilebilmektedir (2,4,7). Karaciğer dokusundaki eksojenite artışı paraneoplastik yağ ve fibröz doku ile infiltrasyonunu göstermektedir (4,6,7). Çalışmada saptanan ultrasonografik değişikliklerin de araştırmacıların (5,7) bildirdiklerine benzer şekilde histopatolojik bulgular ile uyumlu oldukları gözlemlendi.

Araştırmacılar (2,6), intra ya da ekstrahepatik safra kanallarının ancak safra yolu tıkanıklıkları sonucu ultrasonografik olarak görüntülenebildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada da benzer şekilde operasyondan sonraki ilk haftadan itibaren safra kesesi ve kistik kanaldaki genişlemelerin belirginleştiği, safra kesesi

boynunun daha geniş ve daha kıvrımlı hale geldiği ve intra, ayrıca ekstrahepatik safra kanallarının da görülebilir hale geldiği belirlendi.

Safra kesesinin ultrasonografik muayeneleri sonucunda saptanan hacim artışının, tortulaşmanın, duvarında gözlenen kalınlaşmanın, ventralindeki distal gölgelenmenin araştırmacıların (2,3,6) bildirdiklerine benzer şekilde duodenuma akışı engellenen safra kesesi içinde birikmesi sonucu şekillendiği görüşüne varıldı.

Sonuç olarak, safra kanalı tıkanıklıklarının ve karaciğer hasarının serum enzim düzeylerinde meydana gelen değişikliklerle birlikte, yapılacak ultrasonografik kontrollerin de değerlendirilmesiyle erken dönemde teşhis ve ayırt edilebileceği kanısına varıldı.

## Kaynaklar

1. Finn-Bodner, S.T., Park, R.D., Tyler, J.W., Twedt, D.C., Curtis, C.R.: Ultrasonographic determination, in vitro and in vivo of canine gallbladder volume, using four volumetric formulas and stepwise-regression models. *Am. J. Vet. Res.*, 1993; 54 (6): 832-835.
2. Nyland, T.G., Mattoon, J.S., Wisner, E.R.: Ultrasonography of the liver. *Veterinary Diagnostic Ultrasound*. Philadelphia. W.B. Saunders Comp. Chapter 5, 52-73, 1995.
3. Boothe, H.W., Boothe, D.M., Komkov, A., Hightower, D.: Use of hepatobiliary scintigraphy in the diagnosis of extrahepatic biliary obstruction in dogs and cats: 25 cases (1982-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992; 201 (1): 134-141.
4. Tamura, T.: Ultrasonography of hepatic lesions in dogs and cats. *Jpn. J. Vet. Res.*, 1993; 41 (1): 51.
5. Rutgers, C., Stradley, R.P., Rogers, W.A.: Plasma amino acid analysis in dogs with experimentally induced hepatocellular and obstructive jaundice. *Am. J. Vet. Res.*, 1987; 48 (4): 696-701.
6. Mwanza, T., Miyamoto, T., Okumuro, M., Kadosawa, T., Fujinaga, T.: Ultrasonographic evaluation of portal vein hemodynamics in experimentally bile duct ligated dogs. *Jpn. J. Vet. Res.* 1998; 45 (4): 199-206.
7. Turgut, K., Demir, C., Ok, M., Çiftçi, M.K.: Ultrasonographic evaluation of liver damage in the dog with carbon tetrachloride intoxication. *Tr.J. of Veterinary and Animal Sciences*, 1995; 19: 335-338.
8. Evans, H.E.: The digestive apparatus and abdomen. *Miller's Anatomy of the Dog*. Philadelphia. W.B. Saunders Comp. 3rd Edition, Chapter 7, 456-458, 1993.
9. Evrim, M., Güneş, H.: Biyometri Ders Notları. İ.Ü. Veteriner Fakültesi Yayını. No 31: 13-24, 1994.
10. Center, S.A., Slater, M.R., Manwarren, T., Prymak, K.: Diagnostic efficacy of serum alkaline phosphatase and G-glutamyltransferase in dogs with histologically confirmed hepatobiliary disease: 270 cases (1980-1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992; 201 (8): 1258-1264.
11. Abdelkader, S.V., Hauge, J.G.: Serum enzyme determination in the study of liver disease in dogs. *Acta Vet. Scand.*, 1986; 27: 59-70.