

# Complications in obstructive jaundice: an experimental study in etiology and prevention

Citation for published version (APA):

Greve, J. W. M. (1990). *Complications in obstructive jaundice: an experimental study in etiology and prevention*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.19900420jg>

## Document status and date:

Published: 01/01/1990

## DOI:

[10.26481/dis.19900420jg](https://doi.org/10.26481/dis.19900420jg)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Chapter 9

# Summary / Samenvatting

### SUMMARY

The etiology of complications after surgery in patients with obstructive jaundice is multicausal and largely unknown. Many preoperative measures to reduce these complications have been suggested. The majority of treatments, however, is unfortunately not effective. The aim of this thesis was to study the etiology of the high morbidity and mortality associated with obstructive jaundice. In the first part of the thesis the etiology of the complications is studied. The second part is devoted to studies on prevention of the many postoperative complications in obstructive jaundice.

In Chapter 1 an overview of the literature is presented. Studies on complications rates after surgery in jaundiced patients show consistently a high morbidity and mortality. Recent publications suggest improvement, but the results of the studies are difficult to compare. Despite many experimental studies no unifying causative factor has been identified so far. Studies on toxic effects of bile acids and bilirubin did not provide consistent data. Malnutrition was suggested as a possible factor involved in the high complication rates but evidence was not sustained. Impairment of the immune system was convincingly shown, both experimentally and clinically, which correlates with the frequent septic complications. However, no direct etiologic mechanism was found for the impaired immune functions.

Renal impairment, another complication related to obstructive jaundice, was also extensively investigated. Renal impairment was clearly related to alterations of renal and systemic circulation. Again no convincing causative mechanism was revealed, however in some studies a relation between renal insufficiency and endotoxemia was found.

Endotoxemia was also mentioned in relation with postoperative hemorrhage. In clinical studies endotoxemia was related to disseminated intravascular coagulation and postoperative mortality. This and the observation that preoperative treatment with anti-endotoxin agents, in animals as well as in the clinical situation, can prevent postoperative complications in obstructive jaundice, suggests that endotoxins are involved in the etiology of some complications.

Finally, on theoretical grounds, preoperative biliary drainage is the most physiologic preventive treatment. Clinical studies with external biliary drainage were however disappointing. Experimental studies suggest that internal biliary drainage offers greater benefit and this has to be explored further.

A description of the aim of this thesis and a short introduction to the experiments are provided in Chapter 2. The techniques used to measure endotoxins and the mediator of endotoxin toxicity, TNF, are discussed. Unfortunately both endotoxin and TNF are difficult to determine in plasma, due to the intermittent and often short duration of their presence. Therefore triglycerides, a more stable factor reflecting TNF activity, were measured in the *in vivo* experiments.

Experiments to investigate the role of endotoxins in the etiology of complications in obstructive jaundice are presented in Chapter 3. Germ-free, endotoxin poor, rats were used to study the effects of biliary obstruction on cellular immunity and nutritional status in presence of very small amounts of endotoxins. In contrast to conventional rats, cellular immunity in germ-free rats was not suppressed following biliary obstruction. No differences were observed with respect to the nutritional status of germ-free and conventional jaundiced rats. A relation was found between the activation of peritoneal macrophages (measured by spontaneous TNF release, indicative for toxic effects of endotoxins) and the suppression of cellular immunity in jaundiced rats. The results strongly indicate that endotoxins cause the observed suppression of cellular immunity in jaundiced rats.

In Chapters 4 and 5 experiments are reported that study the mechanism through which "anti-endotoxin" agents such as bile acids and lactulose are active. Both studies were *in vitro* experiments. The model used was based on the TNF production by monocytes after stimulation with endotoxins. It was shown that bile acids and lactulose, agents used in clinical studies to prevent endotoxin related complications, significantly inhibit the production of the mediator of endotoxin toxicity. Deoxycholic acid was a strong inhibitor of TNF release whereas chenodeoxycholic acid was less and ursodeoxycholic acid was

not effective. These results correlate clearly with the results of these bile acids in jaundiced patients. In contrast to previous reports no direct effect of the bile acids and lactulose on endotoxin as measured with the endotoxin assay was found. The results suggest that bile acids and lactulose are effective by a direct inhibitory effect on the effector cell of endotoxin toxicity.

Experiments on the role of endotoxin and tumor necrosis factor on the occurrence of complications are presented in Chapter 6. Experimental renal ischemic damage was aggravated with concomitant administration of endotoxins or TNF. The observed effect was synergistic rather than additive. Not only deterioration of renal function but also mortality was significantly increased. These results indicated that in a compromised host, such as the jaundiced patients, in which circulating endotoxins and subsequently TNF possibly are chronically present a minor ischemic trauma may be sufficient to induce renal impairment and even worse mortality.

In order to study the effect of preventive treatments on postoperative complications the described renal ischemia model was used in jaundiced rats. The results are reported in Chapter 7. Renal ischemia in jaundiced rats resulted in a significantly increased renal impairment and mortality. Anti-endotoxin treatment with oral lactulose significantly reduced this mortality but not renal impairment, whereas internal biliary drainage significantly improved both. Increased triglyceride levels in jaundiced rats correlated significantly with "postoperative" (post renal ischemia) mortality. The latter suggested indirectly that endotoxin and subsequently TNF were involved in the observed morbidity and mortality.

It is concluded in Chapter 8 that endotoxins are related with renal impairment and suppression of cellular immunity. Furthermore anti-endotoxin treatments, e.g. oral lactulose or internal biliary drainage, can prevent these complications. Based on the results of the experiments a decision tree for the use of supportive preoperative therapy in jaundiced patients is proposed.

Internal biliary drainage is the preoperative preventive treatment of choice in jaundiced patients. The anti-endotoxin (lactulose) treatment may be used supplementary. Support can be provided by oral lactulose in cases where adequate, safe and complete drainage of the biliary tract is not possible.

## SAMENVATTING

De chirurgische behandeling van patiënten met een obstructie icterus gaat gepaard met een onevenredig hoog aantal complicaties. Het overlijdens risico is in vergelijking met gelijkwaardige operaties in niet icterische patiënten significant hoger. De oorzaak van deze verhoogde vatbaarheid voor postoperatieve complicaties is grotendeels onbekend. Ter voorkoming van deze complicaties werden in de literatuur een aantal preoperatieve behandelingen voorgesteld en klinisch getest. De meeste therapieën bleken echter weinig effect te hebben.

Het doel van dit onderzoek was meer inzicht te krijgen in de etiologie en de pathofysiologie van de complicaties die optreden bij obstructie icterus. Een onderzoek naar de oorzaken die hieraan ten grondslag liggen vormt het eerste deel van deze thesis. (Hoofdstuk 3,6) In het tweede gedeelte wordt een aantal preventieve behandelingen bestudeerd (Hoofdstuk 4,5,7).

In Hoofdstuk 1 wordt een overzicht gegeven van de literatuur met betrekking tot postoperatieve complicaties bij patiënten met een obstructie icterus. Hieruit blijkt dat er de laatste decennia nauwelijks enige verbetering is opgetreden. De sterfte cijfers en het aantal complicaties blijven onveranderd hoog, waarbij met name infecties, bloedingen en een verslechterde nierfunctie een rol spelen.

Uit zowel experimenteel als klinisch onderzoek zijn een aantal mogelijke oorzaken van deze complicaties naar voren gebracht. Er werd onder andere gesuggereerd dat toxische effecten van galzuren en/of bilirubine een rol spelen. De experimentele gegevens zijn echter controversieel. Hetzelfde geldt voor de slechte voedingstoestand die in relatie werd gebracht met de verhoogde kans op infecties en de slechte wondgenezing. Doorbloedingsstoornissen van de nier van systemische of lokale aard zouden een rol spelen in het optreden van nierinsufficiëntie, maar ook hiervoor kon geen definitieve verklaring worden vastgesteld.

In een aantal publikaties werd een relatie beschreven tussen de endotoxemie en het ontstaan van acute nierinsufficiëntie. In andere studies werd de endotoxemie gerelateerd aan het optreden van postoperatieve bloedingen, gedissemineerde intravasale stolling en aan de verhoogde mortaliteit. De preventieve behandeling tegen endotoxine, met oraal lactulose of orale galzuren, bleek in enkele klinische studies met icterische patiënten effectief te zijn (minder nierfunctie stoornissen). Deze observaties suggereren dat endotoxinen een rol spelen in de pathofysiologie van complicaties die kunnen optreden bij icterische patiënten.

Op theoretische gronden is preoperatieve drainage van de afgesloten galwegen de preventieve behandeling van keuze. In de praktijk bleek echter dat de, aanvankelijk gebruikte, uitwendige galwegdrainage geen vermindering geeft van het percentage complicaties. Resultaten van dierexperimentele studies suggereren dat inwendige galwegdrainage, met herstel van de enterohepatische kringloop, wel effectief zou zijn. Dit laatste dient nader onderzocht te worden.

Hoofdstuk 2 bestaat uit een introductie van de experimenten beschreven in dit proefschrift. Het doel van de studie wordt hierin naar voren gebracht. Een belangrijk deel van de experimenten heeft direct of indirect te maken met endotoxinen. Met name de rol van endotoxinen in het ontstaan van complicaties en het effect van preventieve behandelingen gericht tegen deze endotoxinen werden bestudeerd. Voor de bepaling van endotoxinen werd een recent gemodificeerde chromogene limulus amoebocyte lysate (LAL) test gebruikt. In plasma is het meten van endotoxinen, met name door de korte halfwaardetijd, zeer gecompliceerd. Vandaar dat ook de belangrijkste mediator van endotoxine, tumor necrosis factor (TNF), werd gemeten. Hiervoor werd een zeer gevoelige en specifieke ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) gebruikt. Helaas bleek ook de plasmakinetiek van TNF onvoorspelbaar te zijn. Daarom werden in de laatste experimenten serum triglyceriden gemeten, die mogelijk direct gerelateerd zijn aan TNF en dus ook indirect aan endotoxine.

De rol van endotoxine in de etiologie van complicaties ten gevolge van galwegobstructie werd bestudeerd in kiemvrije ratten. De resultaten zijn beschreven in Hoofdstuk 3. In de kiemvrije en dus praktisch endotoxinevrije ratten werd het effect van galwegobstructie op cellulaire immuniteit en voedingsstatus bestudeerd. In tegenstelling tot de conventionele rat was de cellulaire immuniteit in de kiemvrije rat niet onderdrukt na experimentele galwegobstructie. De voedingstoestand van de icterische kiemvrije rat was niet verschillend van die van de conventionele icterische rat. In conventionele ratten met galwegobstructie werd een relatie gevonden tussen de activiteit van peritoneaal macrofagen (bepaald aan de hand van spontane TNF productie) en de beschreven onderdrukking van de cellulaire immuniteit. De resultaten suggereren dat de onderdrukking van de cellulaire immuniteit in icterische ratten wordt veroorzaakt door endotoxinen.

In de Hoofdstukken 4 en 5 worden de resultaten weergegeven van een onderzoek naar het werkingsmechanisme van galzuren en lactulose die als "anti-endotoxine" middel klinisch zijn gebruikt. In de proefopstelling werd gebruik gemaakt van het feit dat monocytten TNF, de mediator van endotoxine

toxiciteit, produceren wanneer ze worden gestimuleerd met endotoxine. Het effect van de genoemde stoffen kon worden bepaald aan de hand van hun invloed op de door endotoxine geïnduceerde TNF productie. Tevens werd met behulp van de LAL test het rechtstreekse effect van deze stoffen op endotoxine gemeten. Bij de gebruikte concentraties bleken zowel lactulose als de galzuren niet in staat endotoxine direct te inactiveren, dit in tegenstelling tot eerdere publikaties. Toch verminderde het galzuur deoxycholzuur en in mindere mate chenodeoxycholzuur de productie van de mediator van endotoxine toxiciteit (TNF) significant. Ursodeoxycholzuur had geen effect op de TNF productie van de monocytten gestimuleerd met endotoxine. Deze resultaten komen overeen met de effectiviteit van deze galzuren in de klinische studies. Ook lactulose veroorzaakte een significante vermindering van de TNF productie na stimulatie met endotoxine. De resultaten van deze experimenten geven een duidelijke aanwijzing dat zowel galzuren als lactulose effectief de toxiciteit van endotoxine verminderen doordat zij de effectorcel van de endotoxine toxiciteit, de mononucleaire fagocyten, rechtstreeks remmen.

De rol van endotoxine en TNF bij het ontstaan van complicaties werd verder bestudeerd in experimenten beschreven in Hoofdstuk 6. In een rattenmodel werd het effect van endotoxine en TNF in combinatie met nierischemie op de nierfunctie en de mortaliteit gemeten. Beide stoffen bleken de nierbeschadiging door ischemie significant te verergeren. Het gemeten effect was daarbij synergistisch en niet additief. Ook bleek de mortaliteit ten gevolge van nierischemie in combinatie met endotoxine of TNF significant verhoogd te zijn. De resultaten suggereren dat bij patiënten in een matige toestand, zoals de icterische patiënt, waarin lage hoeveelheden endotoxine en mogelijk ook TNF in het plasma aanwezig zijn, slechts een beperkte weefselbeschadiging voldoende kan zijn om een acute nierinsufficiëntie of zelfs mortaliteit te veroorzaken.

In Hoofdstuk 7 werd het effect van preventieve behandelingen in een rattenmodel getest. Het nierischemie model werd hiervoor gebruikt in ratten met een experimentele galwegobstructie. Het effect van preoperatieve behandeling met lactulose werd vergeleken met het effect van preoperatieve inwendige galwegdrainage. Nierischemie in icterische ratten resulteerde in een significant verhoogde nierinsufficiëntie en verhoogde mortaliteit in vergelijking met niet icterische controle ratten. De "anti-endotoxine" behandeling met lactulose verminderde de mortaliteit na nierischemie in de icterische rat significant. De nierinsufficiëntie leek wel verminderd maar het verschil was niet statistisch significant. Inwendige galwegdrainage gaf een significante vermindering van zowel de nierinsufficiëntie als de mortaliteit. Verhoogde triglyceriden spiegels

in icterische ratten correleerden significant met postoperatieve mortaliteit. Dit suggereert indirect dat TNF en dus ook endotoxinen een rol spelen in het ontstaan van complicaties bij obstructie icterus.

In hoofdstuk 8 wordt een algemene conclusie van de experimenten weergegeven. Endotoxinen lijken verantwoordelijk voor zowel de nierfunctiestoornissen als de verminderde cellulaire immuniteit. Het effect van "anti-endotoxine" behandeling met galzuren en lactulose kan worden verklaard door een remmend effect op TNF productie door mononucleaire fagocyten. In vivo blijkt lactulose ook effectief te zijn. Het preventieve effect van de inwendige galwegdrainage was echter superieur.

Op basis van de experimentele bevindingen wordt aan de hand van een beslisboom een voorstel gedaan voor het preoperatieve beleid bij patiënten met een galwegobstructie. De resultaten geven aan dat een veilige inwendige galwegdrainage de preventieve behandeling van keuze is. Blijkt om technische redenen een adequate drainage van de galwegen niet mogelijk dan kan een preventieve behandeling met lactulose ondersteuning geven.