

Stostatikler İle Azalan Karaciğer Rejenerasyonuna Glukagonun Etkisi

Mustafa KUÇUKAYDIN

Işık OLCAY

Selçuk YÜCESAN

Seyhan VARİNLİ

Mehmet KAYA

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Cerrahisi, Patolojik Anatomi ve Morfoloji Ana Bilim
Dalları, Adana

EFFECT OF GLUCAGON ON THE PARTIALLY
HEPATECTOMIZED RATS TREATED WITH
DACTINOMYCINE

Geliş tarihi: 26 Mart 1985

ÖZET

Bu çalışma, parsiyel hepatektomi sonrası DACT verilme suretiyle yavaşlatılan karaciğer rejenerasyonu üzerine Glukagonun etkisini araştırmak amacıyla düzenlenmiştir. Seksen Sprague Dewley tüpündeki sıçanlar; % 70 hepatektomi, % 70 hepatektomi + DACT, % 70 hepatektomi + Glukagon ve % 70 hepatektomi + DACT + Glukagon gruplarına ayrıldı ve deneyin 72. saatında öldürülerek, rejenerasyon hızındaki yavaşlamanın giderildiği saptandı.

Anahtar kelimeler: Parsiyel Hepatektomi, Karaciğer Rejenerasyonu, Dactinomycine, Glucagon.

T Kİ Tıp BU Araştırma Der C.3, S.3, 250-258,1985

Hepatik rezeksiyona, sıklıkla travma sonucu karaciğer yaralanması, kist, primer ve metastatik karaciğer tümörlerinde başvurulmakta, patolojinin durumuna göre organın % 80 gibi büyük bir bölümü çıkartılabilmektedir (2).

Hepatektominin uygulandığı alanlardan bir tanesi de karaciğerin embriyonal malign tümörleridir (2, 3, 4, 5). Son zamanlarda daha yüzdürücü sonuçlar almak amacıyla, bu alandaki tedaviye, sitostatikler de eklenmiştir (6). Ne var ki, başta Dactinomycine (DACT) olmak üzere, antitümör ilaçlar, karaciğer rejenerasyonunu ciddi şekilde yavaşlatmaktadır (2, 6).

Öte yandan, karaciğer rejenerasyonunu stimüle eden birçok faktör bilinmektedir (7, 8). Glukagon, bunlar arasında, etkisi uzun zamandan beri bilinen ve

SUMMARY

It is the purpose of this experiment to demonstrate the effect of glucagon on the partially hepatectomized rats treated with DACT. Eighty Sprague Dewley rats were divided into four groups as follows; Group A 70% Partial Hepatectomy, Group B: 70% Partial Hepatectomy + DACT, Group C: 70% Partial Hepatectomy + Glucagon, Group D. 70% Partial Hepatectomy + DACT + Glucagon. At the end of the 72 hours all the rats were sacrificed and studies were done for regenerated liver mass, liver mitotic activity and liver ultrastructure. The experiment showed that it is possible to increase the regeneration rate by using glucagon on the partially hepatectomized rats treated with DACT.

Key words: Partial Hepatectomy, Liver Regeneration, Dactinomycine, Glucagon.

T J Research Med Sel V.3, N.3, 250-238,1985

karaciğer rejenerasyonunun hızlandırılmasında kullanılan ajanlardan birisidir (1, 7).

Bu çalışma hepatektomi sonrası kullanılan sitostatiklerle (DACT) karaciğer rejenerasyonu sınırlanan deney hayvanlarında, karaciğer stimulanlarının (Glukagon) etkisini ortaya koymak amacıyla düzenlenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Bu deneysel araştırmada, ağırlıkları 100-250 gr arasında değişen 80 adet Sprague-Dewley türü beyaz sıçan kullanılmıştır. Dört gruba eşit olarak ayrılan deney hayvanlarına aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.3, S.3, 1985
rurkısı Journal of RESEARCH in Medical Sciences V.3, N.3, 1985

- Grup A % 70 Hepatektomi
Grup B % 70 Hepatektomi H- DACT
Grup C % 70 Hepatektomi + Glukagon
Grup D % 70 Hepatektomi + DACT +
Glukagon

Bütün gruplardaki hayvanlara uygulanan % 70 Hepatektomi, intraperitoneal Nembutal (Nembutal Sodium, Abbot-50 mg/kg) anestezi altında Higgins ve ark.12 yöntemi ile gerçekleştirildi. Çıkarılan karaciğer dokusu serum fizyolojik ile yıkanıp kurutulduktan sonra elektronik terazide (Sartorius 1364 MPG, West Germany) tartılarak kaydedildi.

Hepatektomi sonrası, Grup B'deki hayvanlara, damar yoluyla kilogram başına 150 μ g DACT (Lyovak-Cosmogen MSD-Sharp DOHME Gmb H); Grup C'deki hayvanlara, damar yoluyla, 100 gm vücut ağırlığı için 100 μ g Glukagon (Glucagon Novo Industrie Gmb H, Pharmaceutika); Grup D'deki hayvanlara ise, yine damar yoluyla, yukarıdaki miktarlarda DACT 4-Glukagon karışımı verildi.

Dört grupta yer alan hayvanların tümü 72. saatm sonunda dekapite edilerek öldürüldü. Karınları açılarak, tüm karaciğer dokusu çıkartıldı, izotonikle yıkanıp kurutuldu ve elektronik terazide tartıldı, ağırlığı

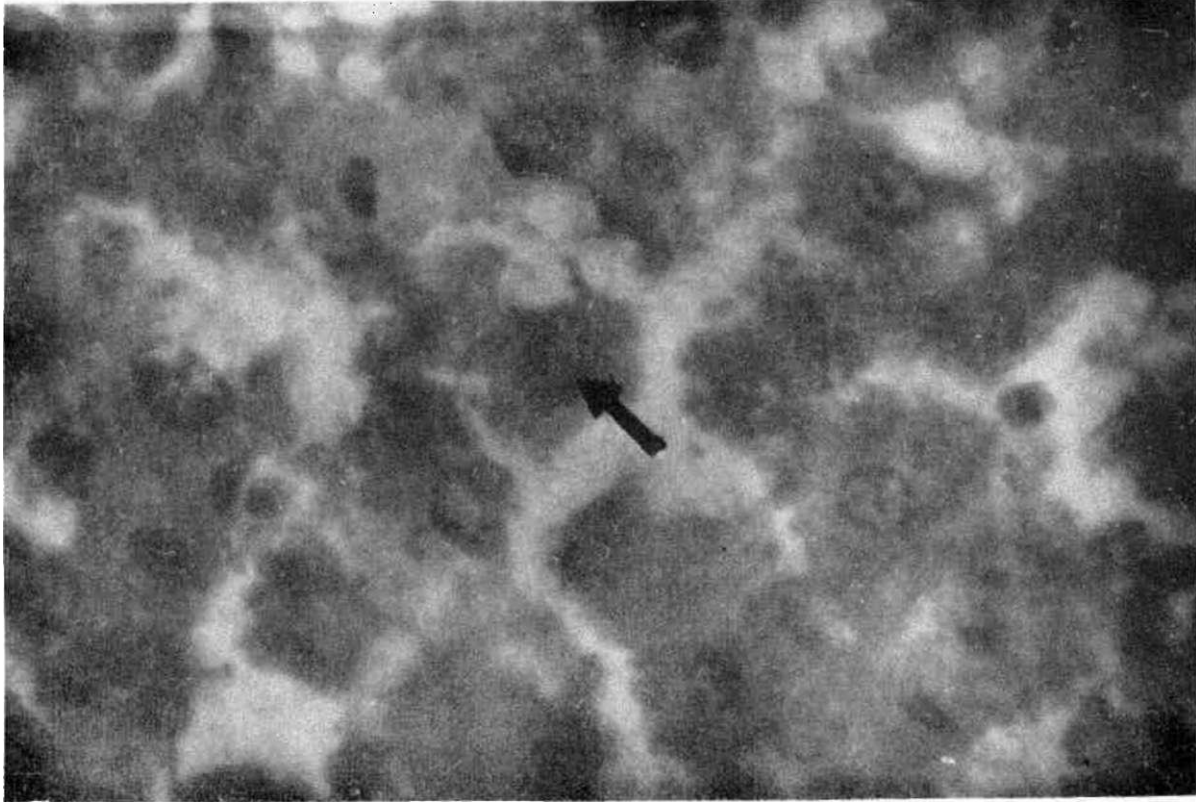
kaydedildi. Doku parçalarının bir bölümü ışık mikroskopu için % 10 formalinde tesbit edildi, kesitler H. + E. boyası ile boyandı. Çekirdek zarı ortadan kalkmış, kromatin ağı sitoplazma içinde dağılmış hücreler mitoz kabul edilerek her preparatta Uç ayrı sahada 1000 hücrede mitoz sayıldı, sonuçlar kaydedildi (Şekil-1, 2). Doku parçalarının bir diğer bölümü ultrastrüktür için, Millonig fosfat buffer'i içerisine alındı. Hazırlanan kesitler Zeiss E.M. 10 B. elektron mikroskopuyla incelendiler ve mikrografileri çekildi.

İstatistik çalışmaları "öğrenci t testi"ne göre yapıldı (35).

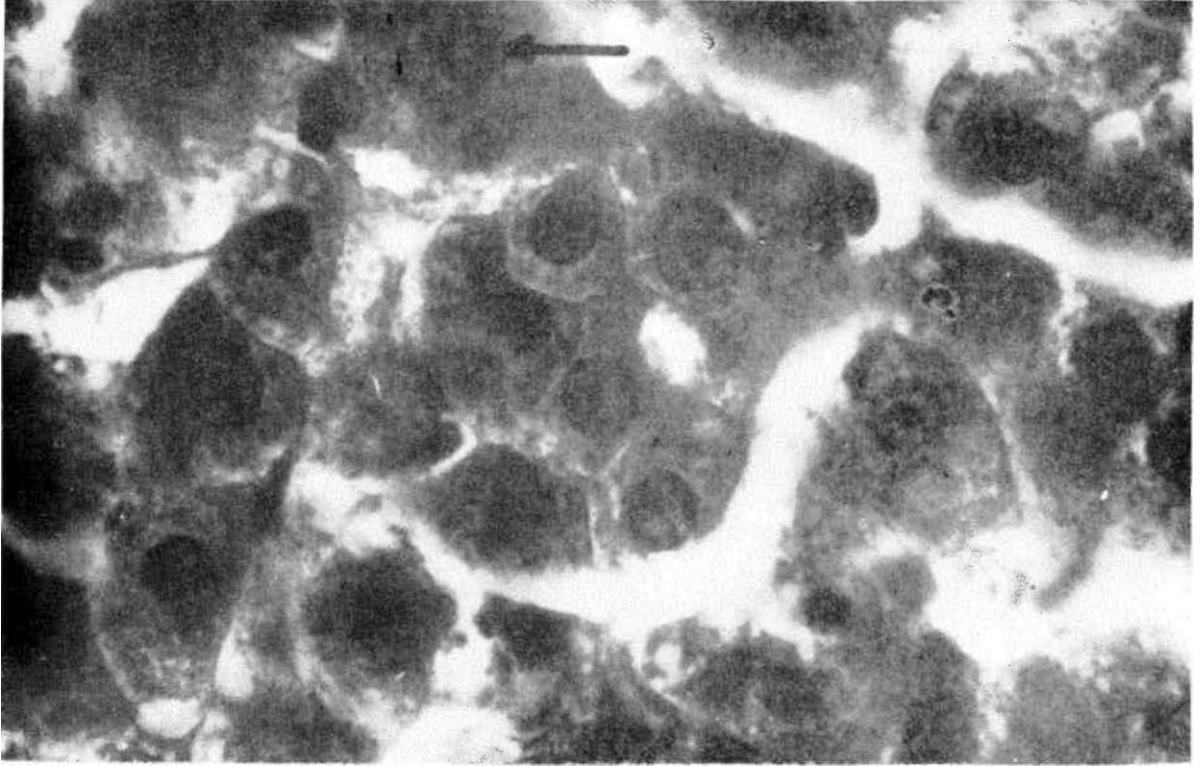
BULGULAR

A- Rejenere Karaciğer Ağırlığı:

Yalnızca hepatektomi yapılan deney hayvanlarında (Grup A), 100 gm vücut ağırlığına düşen karaciğer ağırlığı 1,45 gm ile 2,00 gm arasında değişim gösterdi. Ortalama değer 1.820 ± 0.032 gm olarak saptandı. Group B'de rejenere karaciğer ağırlığı 1.10 gm ile 2.60 gm arasında değişim gösterirken, ortalama rejenerasyon ağırlığı 1.553 ± 0.079 gm idi. Glukagon ile stimüle edilen deney hayvanlarının yer



Şekil-1. Işık Mikroskopunda, Parankim Hücresinde (Ok İşaretli) Kromatin Ağının Sitoplazmada Serbest Görünümü (H.E.)



Şekil-2, Çekirdek Zarı Kaybolmuş, Kromatin Ağrı Sitoplanmada Serbest Halde (H.E).

aldığı **Grup C**'de en düşük rejenere karaciğer ağırlığı 1.09 gm, en yüksek rejenere karaciğer ağırlığı 2.83 gm ve ortalama rejenere karaciğer ağırlığı 2.095 T **0.089** gm olarak bulundu. Hepatektomiye ek olarak DACT ve Glukagon'uu birlikte kullanıldığı Grup D'de, en düşük ve en yüksek rejenere karaciğer dokularının ağırlıkları 1.82 gm ile 2.40 gm arasında değişiklik gösterdiği ve bu grubun ortalama değerinin 2.040 ± 0.036 gm olduğu görüldü (Tablo 1).

8- Karaciğerde Mitoz:

Dört grupta saptanan ortalama mitotik aktiviteler şu değerler içinde yer almıştır (Tablo-I).

Grup A	30 ± 0.25
Grup B	10 ± 0.21
Grup C	50 ± 0.31
Grup D	40 ± 0.23

C- Karaciğer İnce Yapısı:

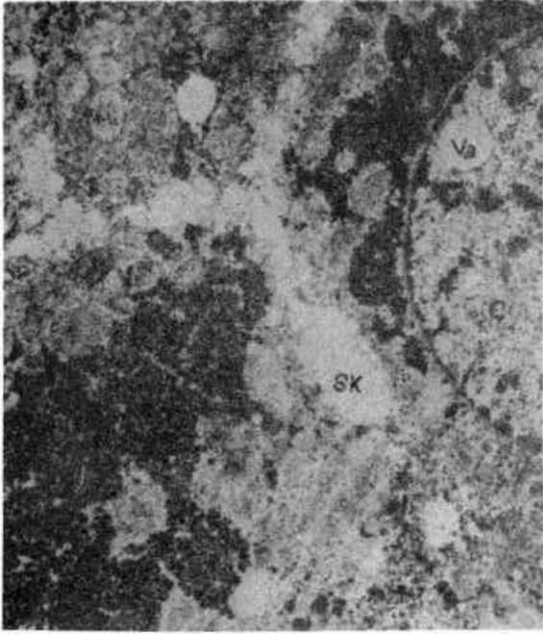
Grup A - Parankim hücrelerinin bazılarının düzenli yapıda oldukları gözlenirken, önemli bir bölümünde sınırın düzensiz olduğu ve sitoplazmik yapıların normal görünümünü kaybetmiş oldukları izlendi. Genellikle oval veya elipsoit biçimli olan çekirdekler düzgün bir sınıra sahiptiler. Bazı çekirdeklerde kromatin ince ve homojen bir dağılım gösterirken, diğer bazı çekirdeklerde kromatin bir araya toplanarak

Tablo -1

Deney Gruplarında Saptanan Rejenere Karaciğer Ağırlığı (gm/kg. V.A.) ve Mitotik Aktivite (1000 hücrede) Değerleri

Gruplar	Rejenere Karaciğer Ağırlığı	Mitotik Aktivite
İnisiyasyon	1.820 ± 0.032	30 0.25
Grup I	1.53 ± 0.079	10 0.21
(Grup C)	2.09, r 0.089	50 0.31
Ortalama	2.040 ± 0.036	40 ± 0.23

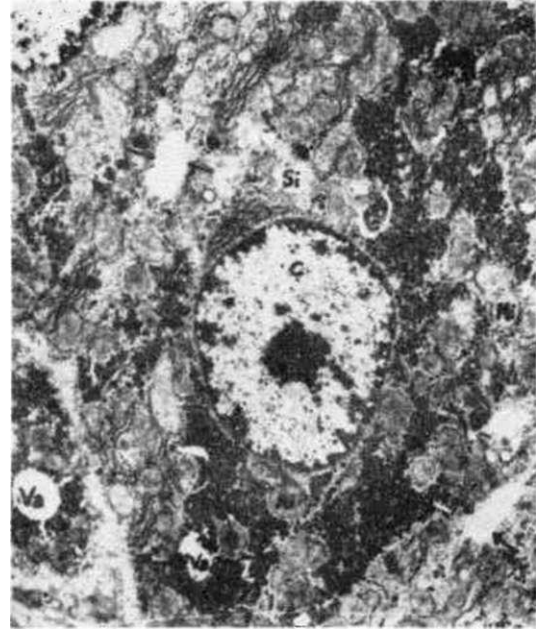
yoğun kümeler oluşturmuşlardı. Granüler endoplazmik retikülüm (GER) sisternaları, normal görünümüne bazı hücrelerin dışında fragmanlara parçalanmıştı. Oldukça azalmış izlenimi veren GER sisternaları, birbirlerine olan düzenli paralel dizilimlerini kaybetmişti. Glikojen partikülleri bazı hücrelerde çok az bulunurken, hücrelerin büyük bir çoğunluğu da geniş bir sitoplazmik alanı tutan kümeler oluşturmuşlardı. Bazı hücrelerde Golgi kompleksi sonuçlarının şişkinleşmiş olduğu gözlenmiştir. Özellikle glikojenden zengin karaciğer parankim hücreleri arasındaki safra kanallikülferini bazıları genişlemiş görünümündeydi (Şekil 3).



Şekil-3. Karaciğer parankim hücresinde granüler endoplazma retikülümünün (GER) fragmanlara parçalanmış ve düzenliliğini kaybetmiş oldukları gözlenmektedir. Mitokondriya! (Ml) malriksin s iinmiş olduğu, glikojen parüküllerinin (C«l) sitoplazmada (Si) değişik yerlerde ırı kümeler, İmzan ile bir vakuol (Va) etrafında bir hat oluşturdukları i/lenmektedir. Çekirdekçik (Çç) iri bir küme şeklinde » kromatin de çekirdek (Ç) /arma yaslanmış ve çekirdek içinde değişik büyüklüklerde kümeler şeklindedir. Safra kanallıklarının (okları) genişlemiş ve mikrovillusların ayulmuş oldukları dikkati < kinektedir. x 12.150.

Grup B. . . . Parankim hücrelerinden bir bölümü az yapısal değişiklikler gösterirken, önemli bir bölümü ileri derecede değişim içindeydi. Yapı değişikliklerinin belirgin şekilde gözleendiği kesitlerde karaciğer parankim hücreleri birbirlerinden ayrılmış ve hücre sınırları düzensiz bir görünüm almışlardı. Hücreler arasında geniş boşluklar oluşmuştu. Çekirdek düzgün sınırlı olmakla birlikte, kromatin parçalanmış ve bütün çekirdek içerisine dağılmıştı. Glikojen partikülleri kümeler oluşturmuş ve sitoplazmanın her tarafına gelişigüzel dağılmıştı. Daha normal görünümde olan karaciğer hücrelerinde kromatin küçük kümeler şeklinde çekirdeğin her tarafında ve çekirdek zarına yapılmış durumda gözlenmiştir, Komşu karaciğer hücreleri arasında yer alan safra kanallıkları oldukça daralmıştı (Sekili).

Grup C - Parankim hücrelerinin bir kısmında parçalanma görülürken, çoğunluğunda değişik derecelerde yapı değişiklikleri gözlenmekteydi. Yapı değişikliklerinin belirgin olduğu parankim hücrelerinde

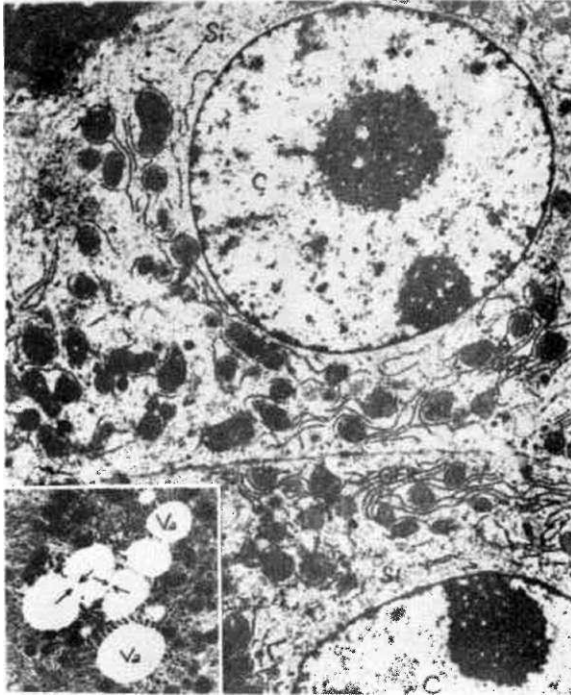


Şekil-4. Birbirlerinden uzaklaşmış, dolayısı ile aralarında geniş boşluklar (kaim oklar) oluşmuş karaciğer parankim hücrelerini; iri ve yoğun kümeler şeklinde organize olmuş glikojen (Gl) partikülleri ve tamamen silinmiş mitokondriyonlar (Mi) gözlenmektedir. Çekirdek (Ç) içerisinde perilere yakın vakuolün (Va) bulunması ve safra kanallıklarının (SK) genişlemiş oldukları dikkati çekmektedir. x 12.150.

çekirdek sınırları dalgalı bir görünümdeydi Genellikle birbirlerinden ayrılmış olarak izlenen karaciğer parankim hücreleri sitoplazmasında GER sisternaları birbirlerine paralel dizilimini kaybetmiş ve fragmanlara ayrılmışlardı. Sitoplazmada irili ufaklı ve yuvarlak biçimli vakuoller oldukça yaygın bir şekilde gözlenmekteydi. Vakuollerin bulunduğu yerlerde glikojen partiküllerinin de yoğun bir şekilde bulunduğu ve vakuollerin dış sınırına yapışarak periferal bir glikojen halesi oluşturdukları gözlenmekteydi. Bu vakuollerin en azından bir kısmının lipoid karakterde oldukları düşünüldü. Komşu karaciğer parankim hücreleri arasında, hücreler birbirlerinden uzaklaşmış bulduklarından belirgin mesafeler oluşmuştu. Yakın komşuluklarını koruyabilenler arasında safra kanallıkları oldukça düzensiz görünümdeydi (Şekil 5-6).

Grup D) • Kesitlerin büyük bir çoğunluğunda hücre içerikleri, ortamda, dökülmüş vaziyette idi. Bu hücrelerde mitokondriyonlar, GER, Golgi kompleksi, glikojen partikülleri gibi hücre elemanları ve vakuoller serbest vaziyette görülebilmekteydi. Parçalanma göstermeyen, fakat yapı değişikliklerinin belirgin olduğu hücrelerin birbirlerinden uzaklaşmış, safra kanallıklarının oldukça genişlemiş oldukları izlenmek-

teydi. Çoğu mikrograflarda GER sistemalen paralel düzenlemelerini yitirmişler ve sitoplazmada dağınık bir şekilde düzenlenmişlerdi. Mitokondriyonlarda da belirgin bir azalma göze çarparken, bazılarının matrislerinde küçük veziküller görülmekteydi. Miktarı azalmış, ancak irileşmiş glikojen partikülleri araları seyrek, küçük kümeler oluşturmuşlardı. Glikojen partiküllerinin vakuoller ve mitokondriyonlarla olan yakın ilişkileri özellikle dikkati çekmekteydi. Bazı hücrelerde glikojen partiküllerinden oluşan çizgi, Mitokondriyonların etrafında gözlenmekteydi. Golgi kompleksi sarnıçları oldukça şişkinleşmişti (Şekil 7)



Şekil-5. Karaciğer parankim hücrelerinde granüler endoplazma retikülümün (GER) fragmanlara parçalanmış, mitokondriyonların (Mi) azalmış oldukları gözlenmektedir. Çekirdekte (Ç) kromatin azalmış ve çekirdekçik (Çç) oldukça irileşmiştir. Sitoplazmanın (Si) glikojen partikülleri yönünden oldukça fakir olduğu dikkati çekmektedir. x 9.450.

Şekil-6. Sitoplazmada (Si) yer alan irili ufaklı çok sayıda vakuoller (Va) gözlenmektedir. Vakuollerin (Va) bazıları birbirleri ile birleşmişlerdir (oklar). x. 5.000.

TARTIŞMA

Higgins, sıçanlarda % 70 parsiyel hepatektomi yaparak kalan karaciğer dokusunun, ağırlık artımını incelediği çalışmasında, hepatektomiden sonra kalan % 29,4 oranındaki karaciğer dokusunun 24 saat sonra % 45,3 ve onuncu günde % 100'e ulaştığını göstermiştir (36, 37). Bunun dışında Nancy ve Bucher'in yap-



Şekil 7. Bir karaciğer parankim hücre çekirdeğinde (Ç) kromatin çekirdekçik (Çç) etrafında kümelenmiş olduğu, diğer bir hücrede de ortamda, iri yocun kümeler şeklinde serbest buldukları izlenmektedir. Granüler endoplazma retikülümü (GER) düzgün görünümünü nisbeten korurken ribozomlarını kaybetmiş, sitoplazmada glikojen (G) nisbeten azalmış ve küçük kümeler oluşturmuş sitoplazmada irili ufaklı vakuoller ortaya çıkmıştır. Az sayıda gözlenen mitokondriyonların (Mi) içerisinde küçük vesiküller belirmiştir. Safra kanallıkları (SK) genişlemiştir. x. 9.450.

tığı çalışmada, sıçanlarda % 70 parsiyel hepatektomiden 48 saat sonra karaciğer ağırlığının iki katına çıktığı, yedinci günde orijinal ağırlığına eriştiği görülmüştür. Yine bu konuda yapılan bazı çalışmalar kalan karaciğer ağırlığının ilk on günde % 100-110 oranına çıktığını göstermektedir (13).

Parsiyel hepatektomiden sonra hücre bölünmesindeki 24 saatlik gecikme Dezoksi Ribo Nukleik Asid (DNA) senteziyle geçen süredir. DNA sentezinin maksimal düzeyde olduğu, 15. saatten altı-sekiz saat sonra hücre bölünmesi başlamaktadır. Bu döneme kadar olan karaciğerdeki ağırlık artımı hücre hacmindeki artışa bağlıdır. Restore olan karaciğer dokusunun % 90-95 kadarını parankim hücreleri oluşturmasına rağmen, sayıca % 65'ini teşkil etmektedir. Kupffer hücreleri ve safra yolları hücreleri ise sayı olarak % 35-40, kitle olarak %5-10'unu oluşturmaktadır. Konnektif doku restorasyonu oldukça geç başlamakta ve yavaş yavaş devam etmektedir. Altıncı haftaya kadar konnektif dokunun parankim hücrelerine oranı oldukça az bulunmaktadır (38, 39, 40).

DACT hepatektomiden sonra verildiğinde, ilk L2 saat içinde DNA sentezinde etkili olan bazı enzimlerin işlevini bozmakta, buna bağlı olarak yeni DNA kalıbı oluşmamaktadır. Yeni oluşacak DNA talibına bağlı bilgi aktarım görevinin bozulması ribonukleik Asid (RNA) sentezi; protein sentezi ve ücre bölünmesinin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu değişimlere paralel olarak karaciğer «jenerasyonu verilen DACT dozuna bağlı ya çok yavaş olmakta, ya da tamamen durmaktadır. Rejenerasyonun tamamen durduğu 50 mg/100 gm dozda DACT /erilen hayvanların büyük çoğunluğunda ilk 48 saatte jüm husule gelmiştir (24, 43, 44, 45).

Glukagon hem siklik AMP, hem de insüline olan etkisiyle ortaya çıkan histon fosforilaz yoluyla hepatektomiden sonra 12 saatlik dönemde RNA, protein sentezini başlatarak artmasına neden olurken, daha geç dönemde ise DNA sentezinin yükselmesine sebep olmaktadır. Bu etkilerin sonucu, karaciğer parankim hücrelerinde erken dönemde hipertrofi, geç dönemde ise hiperplazi ortaya çıkmaktadır. Karaciğer hücrelerinde ortaya çıkardığı sayıca ve hacimce artışlar karaciğer ağırlığının artmasına sebep olarak gösterilmektedir (31,46,47,48,49).

Çalışmamızda, 72 saatin sonunda ortalama karaciğer ağırlık artımının en fazla glukagon verilen grupta (Grup C) olduğu görülmüştür. Salt hepatektomi yapılan gruptaki (Grup A) ağırlık artımı Grup C ve Grup D (DACT + Glukagon)'ye yakın bulunurken, en düşük ağırlık artımının DACT tedavisi görmüş hayvanların yer aldığı grupta (Grup B) olduğu saptanmıştır (Tablo-I).

Ağırlık değişimleri istatistiki olarak hesaplanmış, bulunan değerler Tablo-II'de gösterilmiştir. Grup B'deki ağırlık artımının, diğer gruplara oranla az olması, ortaya istatistiki anlamlılık çıkarmaktadır. Bu anlamlılık, Grup A, Grup C ve Grup D ile karşılaştırıldığı zaman da söz konusudur. İstatistiki anlamlılığın gösterilemediği tek karşılaştırma Grup C ve Grup D arasındadır (Tablo-II). Tüm gruplardaki ağırlık değişimleri yeniden gözden geçirildiğinde, hepatektomiden sonra glukagonla birlikte DACT verilen grupta, yalnızca DACT verilen gruba oranla belirgin ağırlık artımının olması, glukagonun erken dönemde RNA, protein sentezi ve daha geç dönemde DNA sentezini stimüle edici etkisine bağlı olabileceği düşüncesine varılmıştır.

Memelilerin çoğunda, karaciğer parankim hücrelerindeki mitotik aktivite oranı 1/20.000'den daha düşüktür. Bu kadarcık bir hücre değişimi ile canlılar yaşamlarını sağlıklı bir şekilde sürdürebilmektedirler (25, 26).

Brues ve ark.(26)'nın 1936'da; Bucher (13), Frederick ve ark.(25)'nin ayrı ayrı yaptıkları çalışmalar, sıçanlarda 2/3 hepatektomi yapıldıktan sonra mitotik aktivitenin 24. saatin sonunda başladığını,

Tablo - II

Deneysel Gruplarının Rejenerasyon Karaciğer Ağırlığı ve Mitotik Aktivite Açısından İstatistik Karşılaştırılması

Gruplar	Rejenerasyon Karaciğer Ağırlığı	Mitotik Aktivite
A — B	p < 0.01	p < 0.001
A - C	p < 0.01	p < 0.001
A — D	p < 0.01	p < 0.01
B - C	p < 0.01	p < 0.001
B - D	p < 0.01	p < 0.001
C - D	p > p. 05	p < 0.01

en yüksek oranın 32. saatte görüldüğünü bildirmişlerdir. Yapılan mitoz sayımlarında, 24. saatte 100/1000 nukleus, 32. saatte 130/1000 nukleus, 48. saatte 110/1000 nukleus, 72. saatte 40/1000 nukleus olduğunu bulmuşlardır. Yine Weinbren ve Takhızaden (27) tarafından yapılan ayrı bir çalışmada, subtotal (% 82) hepatektomi yapılan sıçanlarda mitotik aktivitede en yüksek oranın 39. saatte olduğu, bunun yanında parsiyel (% 70) hepatektomi yapılan sıçanlarda 29. saatte olduğu gösterilmiştir. Araştırmacıların yaptığı mitoz sayımında, 24 saatte 25/1000 nukleus, 29. saatte 38/1000 nukleus, 48. saatte 35/1000 nukleus, 72. saatte ise 20/1000 nukleus olduğu bulunmuştur (25, 26, 27).

Yapılan birçok çalışmanın gösterdiği gibi, hepatik hipertrofiye portal faktörler etkili olurken, hepatik hiperplaziyeye hormonal faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (21). Araştırmaların gösterdiği gibi, DNA sentezini hormonal faktörler başlatmaktadır (28,29). Glukagon karaciğer hücre membranındaki adenilsiklaz enzimini aktive ederek AMP'den ATP oluşmasına yol açar. Siklik AMP glukagonun adril siklaz enzimini aktive etmesiyle devam etmektedir. Hepatektomiden sonra histon fosforilasyonu ilk adımdır. Bu olayı da glukagon insülin aracılığıyla stimüle etmektedir. Glukagonun her iki etkisiyle RNA ve protein sentezi hepatektomilerden hemen sonra başlarken, DNA sentezi daha geç saatlerde başlamaktadır. Glukagonun etkilediği bu biyokimyasal olaylar rejenerasyonda mitotik aktivitenin artmasına neden olmaktadır (21, 28, 29).

Yapılan bir çalışmada, sıçanlarda % 70 parsiyel hepatektomiden 24 saat sonra 1 mg/kg olacak şekilde DACT verildiğinde, ilk saatlerde mitozun hızlı, birinci saatte 60/1000 nukleus, üçüncü saatte 20/1000 nukleus 6. saatte 20/1000 nukleus ve 16. saatte 1000 nukleus olduğu gösterilmiştir (11).

Yine aynı çalışmada mitotik aktivitenin DACT verildikten bir saat sonra başlamasına karşın, sitolojik değişimin üçüncü saatte olduğu görülmüştür. DACT'ın başka bir özelliği de RNA sentezlerinin kısa sürede maksimal DNA üzerine ise daha geç ve persistan etkili olmasıdır (30).

Çalışmamızda, 72 saatin sonundaki mitotik aktivitenin salt hepatektomi yapılan deney hayvanlarında $30 \pm 0.25/1000$ nükleus; DACT verilen grubda $10 \pm 0.21/1000$ nükleus; glukagon verilen grupta $50 \pm 0.31/1000$ nükleus ve DACT + Glukagon verilen grupta $40 \pm 0.23/1000$ nükleus olduğu bulunmuştur (Tablo-I). Mitotik aktivitenin DACT verilen grupta, diğer üç gruba göre belirgin şekilde az bulunması, istatistiki olarak çok anlamlı ($p < 0.001$) bulunmuştur (Tablo-II). Bu çok anlamlılık, Grup A ile Grup C istatistiki olarak karşılaştırıldığında da geçerlidir.

İNCE YAPI: Sıçanlarda % 70 parsiyel hepatektomiden sonra kalan karaciğer dokusundaki değişik Ekler incelendiğinde, rejenerasyon için en belirgin değişimin iki-dört günler arasında olduğu görülmektedir (23). Bu dönemde karaciğer parankim hücreleri ışık mikroskopuyla değerlendirildiğinde iki tip hücre görülür. Bunlardan bir grubu soluk renkli, diğer bir grubu ise koyu renklidir.

Koyu renkli hücreler E.M.de incelendiğinde, sitoplazmik organizasyonları düzenli, G.E.R.'da daha dar ventriküller mevcut ribozomlar artmış, glikojen partikülleri daha yoğun kümeler oluşturmuştur. Mitokondriyonlardaki şişkinlikler azalmış ve mikrobadyler artmış görülür.

Soluk renkli hücrelerin sayısı hepatektomiden sonra üç ve dördüncü günler arasında oldukça artmıştır. Bu tip hücrelerin sitoplazmaları, flagmatöz, granüler yapıda homojen görünümündedir. Mitokondriyonlar soluk, şişkin, kristallerinde silinme mevcut ve elektron yoğunlukları azalmıştır. Golgi kompleksinde şişkinlikler ve hipertrofi, safra yollarında şişkinlikler ve mikrovilluslarda azalma ya da kısalık mevcuttur. G.E.R.deki artmaya paralel olarak glikojen partiküllerinde de artma olurken, özellikle soluk, şişkin, mitokondriyonlarda azalmanın olması, üçüncü günden sonra rejenerasyonun özgün bulgusudur.

Glikojen birikimi perinükleer ve sitoplazmanın periferik zonunda olmaktadır. Hepatektomiden sonra erken dönemde lizozomlarda değişimler ve otofagozomlara uyar vakuoller oluşmaktadır. Ayrıca hepatektomiden sonra açlık halinin devam etmesi glikojen partiküllerinin ve G.E.R.nin azalmasına neden olmaktadır (31, 32, 33, 34, 35).

Golberg ve Reich DACT'nın DNA sentezine olan etkisiyle RNA ve protein sentezini de inhibe ettiğini göstermiştir. Yine bu konuda *in vivo* ve değişik doku kültürlerinde yapılan çalışmalarda RNA metabolizmasındaki bozulmaya bağlı hücrelerde ortaya çıkan morfolojik değişimler elektron mikroskopik çalışmalarla incelenmiş DACT verilen sıçanlarda çekirdek ve sitoplazmada olan değişikliklerin bir çoğunun 48 saat içinde geri dönmüş, kaba yüzeyli G.E.R. ve sitoplazmadaki ribozomlarda azalma dikkat çekici bulunmuştur. Sitoplazmada glikojen partikülleri ve vakuoller

üzerine belirgin etkisinin bulunmamasına rağmen çekirdekte vakuol teşekkülünde rol oynadığı bilinmektedir (17, 36, 37, 38, 39, 40, 41,42, 43),

Bu bilgiler ışığında % 70 hepatektomi yapılan gruptaki bulgularımız değerlendirildiğinde, çekirdekteki kromatin ağındaki değişimler, yer yer parçalanmalar sitoplazmadaki glikojen yoğunluğunun artmakta olması, glikojen partiküllerinin az olduğu hücrelerdeki mitokondriyonlardaki fazlalık, G.E.R.deki parçalanmalar, paralel dizilimlerini kaybetmiş olmaları ve mitokondriyonların etrafında demetler oluşturmaları, Golgi kompleksindeki şişkinlikler sitoplazmadaki vakuollerin sayılarındaki artma, safra kanallıklarındaki dilatasyon ve mikrovilluslardaki azalma veya kaybolma bu gruptaki hücrelerde hızlı bir rejenerasyon olayını simgelemekte olduğu anlaşılmaktadır.

Hepatektomi sonrası DACT verdiğimiz gruptan elde ettiğimiz elektron mikroskopik bulgularımızla kaynak bilgilerdeki özellikler karşılaştırıldığında; hem yapısal değişikliklerin fazla olduğu, hem de normal hücre görünümüne yakın olan hücrelerde, G.E.R. deki değişikliklerin az olması yağ vakuollerindeki diğer gruplara göre azlık, Golgi kompleksinde fazla bir değişikliğin olmaması, mitokondriyonların kristallerinin belirgin ve daha elektron yoğun görünmeleri, safra kanallıklarındaki darlık ve mikrovillusların uzun olması, çekirdekteki vakuollerin çok oluşu bu gruptaki hücrelerde diğer gruplara göre daha az ve yavaş bir rejenerasyon olayının devam ettiğini göstermektedir.

Hepatektomi yapıldıktan sonra glukagon verilen sıçanların karaciğerlerindeki elektron mikroskopik değişiklikler hemen 30 dakika sonra otofajik vakuollerin ortaya çıkmasıyla belirginleşmektedir. Değişik zamanlarda tekrarlanan glukagon enjeksiyonlarının oluşan vakuol sayısını değiştirmemesine rağmen, boyutlarında artmaya neden olmaktadır. Otofagozomlar subletal bir reaksiyon olmayıp, karaciğer dokusu uyarılınca patolojik ve normal hücrelerde ortaya çıkan yapılarıdır. Otofagozomların Golgi kompleksi ve E.R.den meydana geldiği sanılmaktadır. Ayrıca vakuollerin etrafında daha fazla glikojen partikülleri birikmesi olmaktadır (20). Bazan birden fazla otofagozomun birleşmesiyle dev vakuoller oluşabilmektedir.

Glukagon tedavisinden sonra ortaya çıkan diğer bir özellik de Golgi veziküllerinde belirgin artış olurken, asit fosfataz, aryl sülfataz ve thiolasetik asit esteras pozitif hale gelmektedir. Ayrıca glikojen partiküllerinde azalmalar olurken, yağ vakuollerinde de artma görülmektedir (20, 23, 44).

Hepatektomi sonrası glukagon alan hayvanların yer aldığı deney grubundaki bulgularımız kaynak bilgilerle karşılaştırıldığında; çekirdek zarının dalgalı görünümde olması, bazı hücrelerde kromatin ağıının dağılması, mitokondriyonların değişik büyüklükte

ve değişik elektron yoğun görünümleri, G.E.R.deki kalınlaşma paralel durumlarını yitirmeleri ve fragmanlara ayrılmış olması, artmış bir biyosentezin özgün belirtisi olan Golgi kompleksinin oldukça gelişmiş ve bal peteği görünümünü almış olması aktif, hızlı bir rejenerasyon olayının kanıtı olarak değerlendirilmiştir.

DACT ve Glukagonun ortak kullanıldığı gruptaki hücrelerde organellerin normale göre daha az olması, sitoplazmanın elektron yoğunluğunun azlığı, G.E.R.deki kabalaşma, paralel dizimlerini kaybetmesi ve fragmanlara ayrılmaları, glikojen partikülle-

rindeki azalma, çekirdek membranının ortadan kalkması ve kromatin ağının sitoplazma içine dağılması safra kanallıklarındaki genişleme ve mikrovilluslardaki azalma, Golgi kompleksinde olan belirgin genişleme ve bal peteği görünümü alması, sitoplazmadaki vakuollerin ve etrafındaki glikojen partiküllerinin dizilimi, bu grup hücrelerde de süratli bir rejenerasyon olayının cereyan ettiğini göstermektedir.

DACT ile K.C. rejenerasyonu yavaşlatılmış sıçanlarda, glukagonun etkisini araştırdığımız bu çalışma, DACT'ın rejenerasyonu yavaşlatıcı etkisinin, tedaviye bir rejenerasyon uyarıcısının girmesiyle ortadan kalktığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Schwartz ISI, GT Shires, FC Spencer, EH Storer: Principles of Surgery, pp. 1285-1286, Third ed., McGraw-Hill Book Company, New York, 1979.
2. Raffensparger JG: Swenson's Pediatric Surgery, pp. 351-352, Fourth ed., Appleton-Century-Crofts, New York, 1980.
3. Ravith MM, KJ Welch, CD Benson, E Aberdeen, JG Randolph: Pediatric Surgery, pp. 843-844, Third ed., Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago-London, 1979.
4. Kasai Y, J Uchino, Y et Hata: Tumeurs du foie Chez L'enfant, Chirurgie Pediatrique. 20:27-30, 1979.
5. Hasagawa H: Hepatic tumor in childhood, Surgical Clinic, 28:365-478, 1973.
6. Grosfeld JL, L Ferdinandus, et al: Safe use of vincristine following partial hepatectomy. Surgical Forum 27:89-91, 1976.
7. Fisher B, FE Fisher, E Safer: Investigations concerning the role of a humoral factor in liver regeneration. Cancer Research 23:914-920, 1965.
8. Sakai A: Humoral factor triggering DNA Synthesis after partial hepatectomy in the rat. Nature (London), 228:186-187, 1970.
9. Higgins GM, FC Mann and JT Priestley: Restoration of the liver of the Domestic Fowl. Arch. Path., 14:491-1932.
10. Dixon WJ, FC Massey, Jr.: Introduction to statistical analysis, pp. 115-234, Second ed., McGraw-Hill Company, Inc., Newyork-Toronto-London, 1957.
11. Schwartz HS, JE Sodergren, et al.: Effect of nucleic acid and protein metabolism in intact and regenerating liver of rats. Cancer Res. 25:307-314, 1965.
12. Cavalieri LF and RG Nemchin: The mode of action of actinomycin D. with DNA. Biochim et Biophys. Acta. 87:641-52, 1964.
13. Bucher NC: Experimental aspects of hepatic regeneration. The New England Journal of Medicine, 277:686-693, 1967.
14. Stenger RJ, DB Confer: Hepatocellular ultra structure during liver regeneration after subtotal hepatectomy. Molec. Path., 5:455-457, 1966.
15. Steiner JW, et al.: Cell population dynamics in liver: review of quantitative morphological techniques applied to study of physiological and patological growth. Molec. Path., 5:146-150, 1966.
16. Becker FF: The normal hepatocyte in division regeneration of the mammalian liver. Progress in Liver Disease, 3:60-68, 1970.
17. Oda A and M Chiga: Effect of actinomycin D on the hepatic cells of partially hepatectomized rats, an electron microscopic study. Lab. Invest. 14:1419-1427, 1965.
18. Giudice G, et al.: Effect of actinomycine D on the synthesis of DNA polymerase in hepatectomized rats. Biochem. Biophys. Res. Commun., 12:383-387, 1963.
19. Bader M, et al.: Act-D toxicity liver function and morphological findings in rats. Acta. Biol. Med., 32(1): 91-98, 1974.
20. Arstila AG, F. Trump: Studies on cellular autophagocytosis, the formation of autophagic vacuoles in the liver after glucagon administration. Am. J. Path., 53: 694-98, 1968.
21. Price JB, et al.: Glucagon as the portal factor modifying hepatic regeneration Surgery. 72:74-80, 1972.
22. Ilornadova M, et al.: Age-related differences in the effects of glucagon on metabolism rat liver. Physiol. Bohemoslov., 28(2): 123-128.
23. Hruby VS, et al.: Glucagon structure-function relationships using isolated rat hepatocytes. Biochem-Biophys. Acta., 674(3) :383-90, 1981.
24. Laeken L, et al.: Three-dimensional study of organelle interrelationships in regenerating rat liver: 7. size shape and dynamism of secondary liysosomes. Cell. Biol. Int. Rep., 5(6):617-26, 1981.
25. Frederick F, et al.: Restoration of liver mass following partial hepatectomy. Am. J. Path., 43:501-503, 1963.
26. Brues AM, DR Drury, et al.: A quantitative study of cell growth in regenerating liver. Arch. Path., 22:658-663, 1936.
27. Weinbren K, A Taghizadeh: The mitotic response after subtotal hepatectomy in the rat. Brit. Exp. Path., 46: 413-17, 1965.

28. Moolten FL and NLR Bucher: Regeneration of rat liver: Transfer of humoral agent by cross circulation, *Science*, 158:272, 1967.
29. Koch NG, et al.: The effect of glucagon on hepatic blood flow: An experimental study in the dog. *Arch. Surg.*, 100:147-149, 1970.
30. Haney A, EE Peacock, et al.: Liver regeneration and hepatic collagen deposition in the rats with dimethyl-nitro-samine-induced cirrhosis. *Ann. Surg.*, 175:863-869, 1971.
31. Wiragh S, I Bartok: An electron microscopic study of the regeneration of the liver following partial hepatectomy. *Am. J. Path.*, 49 :825-839, 1960.
32. Becker FF, et al.: Regeneration of the mammalian liver. *Am. J. Path.*, 49:227-233, 1966.
33. Trump BF, JH Dees and JD Shelburne: The ultrastructure of the human liver cell and its common patterns of reaction to injury, pp. 80-118. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1973.
34. Ma MH and L Biempica: The normal human liver cell, cytochemical and ultrastructural studies, *Am. J. Pathol.*, 62:353-390, 1971.
35. Popper H and Schaffner: Fine structural changes of the liver. *Ann. Intern. Med.*, 59 :674-91, 1963.
36. Goltblatt PJ, E Färber: Morphologic and metabolic alternations in hepatic cell nucleoli induced by varying doses of actinomycine D. *Cancer Res.*, 29:124-129, 1969.
37. Journey IJ and MN Golstein: Electron microscope studies on hela cell lines sensitive and resistant to actinomycin D. *Cancer Res.*, 21:929-932, 1961.
38. Maraldi NM, et al.: Ultrastructural investigation of the effect DNA, RNA and protein synthesis inhibitors on ribosomea crystallisation, *J. Ultrastruct. Res.*, 44:265-78, 1973.
39. Khan MM, et al.: Actinomycine-D binds with highest affinity to nonribosomal DNA, *J. Biol. Chem.* 255(8): 3581-3584, 1980.
40. Holtreer RC, et al.: Effect of actinomycin-D on deoxycytidylate deaminase activity of rat liver after partial hepatectomy. *Lab. Invest*, 13:1514-9, 1964.
41. Stenram U: The effect of actinomycin-D on ultrastructure and radioautographic RNA and protein labeling in rat liver after partial hepatectomy. *Cancer Res.*, 26:765-772, 1966.
42. Dolbeare F, et al.: Fractionation of rat liver chromatins effects of cations, hepatectomy and actinomycin D. *Procsol. Exp. Biol. Med.*, 135:636-41, 1970.
43. Stenram U: Electron microscopic study on liver cell of rats treated with actinomycin D. *Zellforsch*, 63:81-96, 1964.
44. Sturm L, et al.: Regeneration of intrahepatic biliary ducts after subtotal hepatectomy in rats, *Morphol. Embryol.*, 27(1) :7-9, 1981.