

Tıkanma Sarılığı Olan Parsiyel Hepatektomili Sıçanlarda Eksternal / İnternal Drenajın ve Ağızdan Verilen Safra Bileşenlerinin Hepatik Rejenerasyona Etkisi

THE EFFECT OF EXTERNAL/ INTERNAL DRAINAGE OR ORAL ADMINISTRATION OF BILE COMPONENTS ON HEPATIC REGENERATION IN OBSTRUCTIVE JAUNDICED RATS WITH PARTIAL HEPATECTOMY

Dr. B. Serdar AKSOY¹, Dr. Berna K. OKTAR¹, Dr. Berrak Ç. YEĞEN¹, Dr. Asım CİNGİ¹, Dr. Dilara SAVCI¹, Dr. Çiğdem ÇELİKEL-ATAİZİ², Dr. Cumhur YEĞEN¹

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalları

²Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalları / İstanbul

ÖZET

Amaç: Tıkanma sarılıklı sıçanlarda hepatektomi sonrası uygulanan internal drenajın ve eksternal drenajla birlikte ağız yoluyla safra bileşenlerinin verilmesinin karaciğer rejenerasyonuna olan etkilerini araştırmaktır.

Durum Değerlendirmesi: Daha önce birçok çalışmada hepatic rejenerasyon açısından internal drenajın üstünlüğünün, intestinal sistem içindeki safranin varlığından kaynaklandığı gösterilmiştir. Ancak, internal drenajın hangi mekanizmalar ile ve safranin hangi komponentleri ile bu üstünlüğü sağladığı açık değildir.

Yöntem: Çalışmada kullanılan Wistar-Albino cinsi sıçanlar da safra kanalları bağlanarak 3 günlük tıkanma sarılığı oluşturuldu. Üç günün sonunda %50 parsiyel hepatektomi ve koledokovezikal fistül uygulanarak eksternal drenaj (ED) sağlanan sıçanlar, her gün orogastrik olarak serum fizyolojik (SF), kolesterol-lesitin (KL) ve safra tuzu (ST) verilen 3 eksternal drenaj grubuna ve %50 parsiyel hepatektomi ve koledokoduodenal fistül uygulanan internal drenaj (İD) gruplarına ayrıldı. Sıçanlar 3. ve 7. günlerde sakrifiye edildiler. Deney gruplarında karaciğer fonksiyon testleri, parsiyel hepatektomi ile elde edilen ve sakrifiye edilen sıçanlardan çıkarılan karaciğer dokularının ağırlıkları ölçüldü. PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) ve Ki-67 immünohistokimya yöntemleri ile hepatic rejenerasyon oranları değerlendirildi.

Çıkarımlar: Üçüncü günde PCNA ve Ki-67 yöntemleri ile hepatic rejenerasyon oranlarına bakıldığında, ED grupları içinde KL verilen grupta ve İD grubunda hepatic rejenerasyonun diğer gruplara oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Yedinci günde ise her iki yöntemle hepatic rejenerasyon oranları irdelendiğinde, sadece SF verilen ED grubunun diğer tüm gruplara kıyasla daha düşük değerlerde olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Kolesterol-lesitin veya safra tuzu verilen tıkanma sarılıklı gruplarda özellikle erken dönemde rejenerasyon oranları daha yüksek değerlere ulaşmış ve hatta internal drenaja bile üstün bulunmuştur. Bu sonuçlar klinik uygulamada, internal drenajın eksternal drenaja tercih edilmesi gerektiğini ve eksternal drenajın zorunlu olduğu durumlarda oral safra tuzları veya yapay safra ile rejenerasyonun hızlandırılabileceğine düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatic rejenerasyon, parsiyel hepatektomi, internal drenaj, eksternal drenaj.

SUMMARY

In the present study, the effects of internal and external drainage and oral administration of bile components on hepatic regeneration of obstructive jaundiced rats with hepatectomy were studied by evaluating the immunohis-

tochemical criteria. Common bile ducts of rats were cannulated and the catheter was bent and ligated to produce obstructive jaundice. On the third day of the obstruction, rats underwent 50 % hepatectomy. Then, the ligated catheters of the rats were surgically inserted into the duodenum for internal drainage (ID) or inserted into the bladder for external drainage (ED). Rats in the ED groups were orally given saline (S), cholesterol-lecithin (CL) or bile salt (BS) for 3 or 7 days. On the 3rd or 7th day of the treatments, rats were decapitated, blood samples were taken for the analysis of hepatic function tests, liver wet weights were recorded and hepatic samples were stored to assess PCNA and Ki-67 by immunohistochemical methods. On the third day, the hepatic regeneration rates with PCNA method in the CL group were significantly higher when compared to saline-treated external drainage and internal drainage groups. On the seventh day, the hepatic regeneration rates were significantly lower compared to the bile duct ligation group. On the third day, the hepatic regeneration rates determined by Ki-67 method were significantly higher in the CL group. On the seventh day, the hepatic regeneration rates of the S-treated ED group were found to be significantly lower compared to the internal drainage group and the BS-treated ED group. In conclusion, external drainage group which received only saline demonstrated lower hepatic regeneration compared to internal drainage group in both the early and the late periods. It is found that when CL and BS are given in the external drainage groups, especially in the early period, regeneration rates reach higher values and become even higher than that observed in the internal drainage group. However in the late period, CL or BS administrations in the external drainage groups approximate the regeneration rates to those of internal drainage group.

Keywords: Hepatic regeneration, partial hepatectomy, internal drainage, external drainage.

GİRİŞ

Tıkanma sarılığı, safra yollarını tıkayan ve safra akışını engelleyen çeşitli hastalıklar nedeni ile ya da iyatrojenik olarak oluşabilmektedir. Safra yollarını tıkayan taşlar, safra yollarında veya komşu dokularda gelişen tümörler tıkanma sarılığının en sık karşılaşılan nedenlerindedir^[1]. Son yıllarda karaciğer cerrahisindeki gelişmeler, tıkanma sarılıklı karaciğer hiler karsinomu olan çoğu hastada hepatic rezeksiyonu mümkün kılmıştır. Hepatik rezeksiyon olsun ya da olmasın, tıkanma sarılığı nedeni ile ameliyat edilen hastalar çeşitli komplikasyonlarla karşılaşmaya adaydırlar^[2-5]. Bu komplikasyonların azaltılabilmesi ve safra akışının tekrar sağlanabilmesi için çeşitli eksternal ve internal drenaj yöntemleri kullanılmaktadır. İyomasa ve ark.^[6], tıkanma sarılıklı sıçanlarda, %70 hepatektomi sonrası yapılan eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonunu önemli ölçüde baskıladığını göstermişlerdir. Yine Suzuki ve ark.^[7] tıkanma sarılıklı sıçanlarda internal biliyer drenajın, karaciğer rejenerasyonu açısından eksternal biliyer drenaja göre avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Saiki ve ark.^[8] ise, hepatic rejenerasyon açısından safra'nın enterohepatik dolaşımının tekrar sağlanmasının, biliyer dekompresyondan daha önemli olduğunu göstermişlerdir. Daha önce birçok çalışmada hepatic rejenerasyon açısından internal drenajın üstünlüğünün, barsaklar içindeki safra'nın varlığından kaynaklandığı gösterilmiştir. Ancak, internal

drenajın hangi mekanizmalar ile bu üstünlüğü sağladığı açık değildir. Bu çalışmadaki amacımız, tıkanma sarılıklı sıçanlarda hepatektomi sonrası uygulanan eksternal ve internal drenajın ve ağız yoluyla verilen çeşitli safra bileşenlerinin eksternal drenajla birlikte uygulandıklarında karaciğer rejenerasyonuna etkilerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Etik Kurulu onayı alınarak Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 175-350 g. arasında değişen eşit sayıda dişi ve erkek Wistar-Albino cinsi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar 20-25°C oda sıcaklığında, %65-70 nem içeren, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık dönemleri sağlanan bir ortamda, standart yem ile beslendiler. Sıçanlar cerrahiden önceki gece aç bırakıldılar, ancak su alımları kısıtlanmadı.

Cerrahi İşlemler:

Tıkanma sarılığı oluşturmak üzere, ketamin+klorpromazin (100 mg/kg+15 mg/kg) anestezisi altındaki sıçanlarda orta hat kesisi ile koledokotomi yapılarak, dış çapı 1 mm olan silastik kateter ile proksimal safra kanalı kanüle edildi. Bir ucu ısıtılarak tıkanması sağlanan kateter kendi üzerinde kıvrılıp bağlanarak safra kanalının akışı engellenmiş oldu. Safra kanalı bağlanan (SKB) sıçanlar-

da cerrahi sonrası 3 gün beklenerek tıkanma sarılığının oluştuğu gözlemlendi.

Tıkanma sarılıklı sıçanlarda, hepatektomi uygulanacak 2. operasyondan 12 saat önce, kanama diyatezini azaltmak amacıyla cilt altına vitamin K (Libavit K®, Liba, İstanbul, 30 mg/kg) uygulandı^[8]. Eski insizyon yerlerinden yeniden relaparotomi yapılarak karaciğerin sol lateral, sağ anterior ve kaudat lobları çıkarılarak %50 hepatektomi (parsiyel hepatektomi, PH) gerçekleştirildi. Çıkarılan karaciğer segmentleri tartıldı ve bu dokular drenaj yapılmayan SKB grubunu temsil etmek üzere daha sonraki ölçümler için saklandı. PH'yi takiben, internal drenaj (İD) yapmak üzere, önceki operasyonda safra kanalına yerleştirilen silastik kateterin ucu kesilip açılarak duodenum içine ilerletildi ve kese ağzı dikişi ile koledokoduodenal fistül oluşturuldu. Eksternal drenaj (ED) gruplarında ise, PH'yi takiben, koledok kateteri mesane içine ilerletilerek koledokovezikal fistül yapıldı.

Deney protokolü:

ED gruplarında, günde bir kez hafif eter anestezisi altında orogastrik yolla serum fizyolojik (3.5 cc) ya da kolesterol ve lesitin (Sigma; 3.5 cc SF içinde 35 mg/kg/gün ve 460 mg/kg/gün, 3.5 cc SF içinde) ya da safra tuzu (Sigma; ursodeoksikolik asit; 3.5 cc SF içinde 5 mg/kg/gün) verildi. Tedavi dozları bu safra bileşenlerinin konsantrasyonlarının (mM) sıçanlardaki günlük safra hacmine oranlanması ile hesaplandı^[9] ve tedaviler 3 ya da 7 gün boyunca sürdürüldü; tüm ED grupları ile İD grubundaki hayvanların yarısı hepatektomi sonrası 3. günde ve diğer yarısı da 7. günde dekapite edildiler. Tedaviler süresince standart yem ve su alımları kısıtlanmadı. Deneklerden hiçbiri deney sırasında ölmedi. Dekapite edilen sıçanlardan alınan gövde kanları, 10 dakika süreyle, 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve -70°C'de saklandı. Serumda aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), total bilirubin (T. Bil.) ve direkt bilirubin (D. Bil.) değerlerine bakıldı. Hepatektomi ile elde edilen karaciğer dokuları, ağırlıkları ölçüldükten sonra, immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmek üzere (PCNA, Ki-67) formolde muhafaza edildiler.

İmmünohistokimya Yöntemi ve Değerlendirilmesi:

Deparafinizasyon, rehidrasyon işlemlerinden sonra 750 watt'lık mikrodalga fırında, tamponlu

sodyum sitrat solüsyonunda (10 mmol/L, pH=6.0'da, kesintisiz 15 dakika tutulan kesitlere, oda ısısında sırasıyla 60 dakika ve 15 dakika süre ile anti-Mouse PCNA (1/150, Novacastra) ve anti-Mouse Ki-67 (Ready to use, NovaCastra) kullanılarak streptavidin avidin biotin-peroksidaz yöntemi uygulanmıştır. Kromojen olarak DAB (3,3-diaminobenzidin tetrahidrokloride) kullanılmıştır. Zıt boya Mayer hematoksilen ile yapılmıştır. Negatif kontrol olarak, aynı işlem primer antikor kullanılmaksızın gerçekleştirilmiştir.

Uygulanan yöntem sonucunda Ki-67 ve PCNA hücre nükleuslarında kahverengi renkte boyanma olarak görülmüştür. Ki-67 ve PCNA immünohistokimya sayımı x200 büyütme kullanılarak yapılmıştır. En yoğun boyanmanın saptandığı 3 periportal ve 2 perisantral alanda en az 200'er hücre sayılmıştır. Boyanan hücre sayısının, sayılan total hücre sayısına oranı proliferasyon indeksi olarak belirlenmiştir.

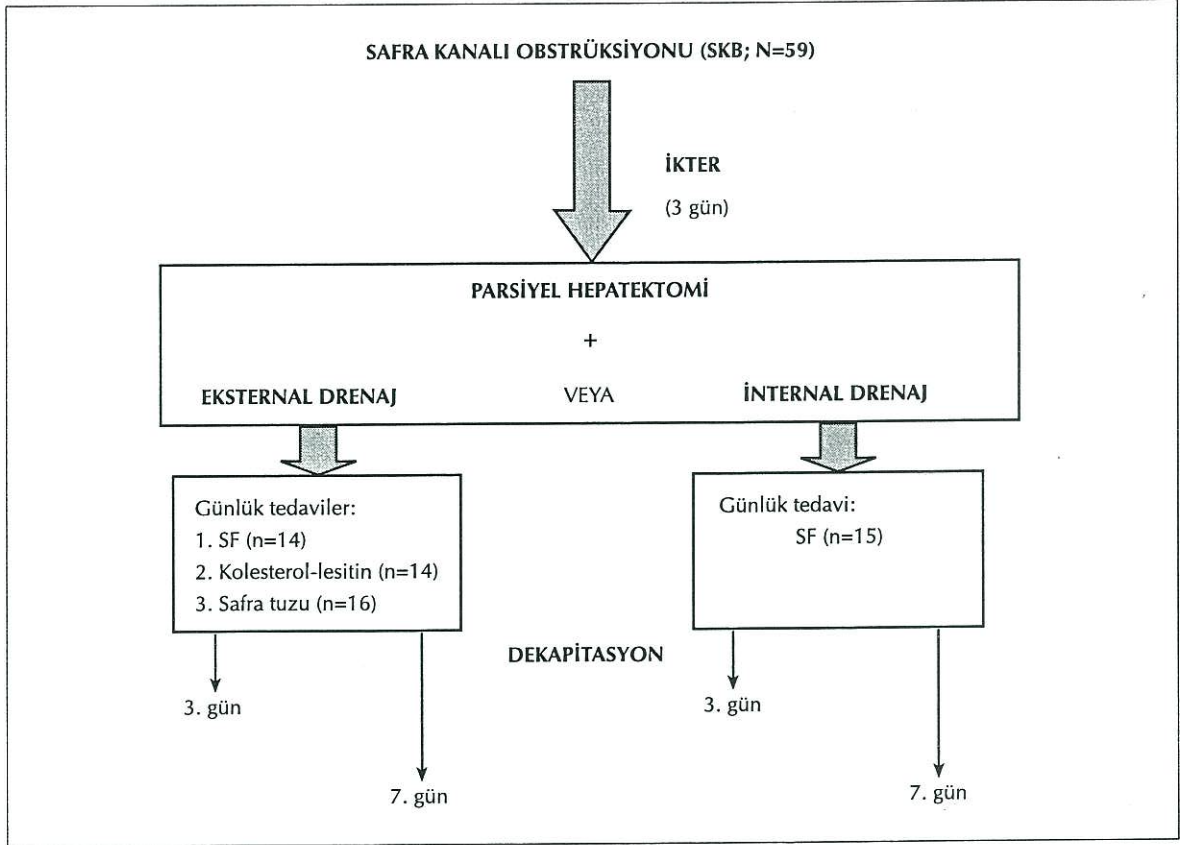
İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin dağılımına göre, gruplar arası karşılaştırmalarda, parametrik test olarak tek yönlü ANOVA (veriler normal dağılıyorsa ve varyanslar eşit ise Bartlett testi) kullanıldı, ardından çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey-Kramer testi kullanıldı. Non-parametrik test olarak ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırma testlerinden Dunn karşılaştırma testi yapıldı. Grup içi karşılaştırmalarda ise, verilerin dağılımına göre, parametrik test olarak, yinelenmiş veriler için Anova testi ve Student-Newman-Keuls çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Non-parametrik test olarak Friedman testi ve peşinden çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn testi kullanıldı. p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Karaciğer ağırlıkları:

Deney gruplarındaki sıçanlarda hem PH sırasında çıkarılan karaciğer dokuları hem de sakrifiye edildiklerinde kalan karaciğer dokuları tartıldı. Ölçülen karaciğer ağırlıkları, rölatif karaciğer ağırlıkları [(karaciğer ağırlığı / sıçan ağırlığı) x100] şeklinde ifade edildi. Buna göre, PH sırasında çıkarılan karaciğer ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bu da, PH'nin tüm gruplarda homojen olarak yapıldığını göstermektedir (Tablo 2). Sakrifiye edildiklerinde kalan karaci-

**Tablo 1.** Deney grupları ve çalışma protokolü

ğer dokularının ağırlıkları değerlendirildiğinde 3. günde ST grubunda, İD grubuna göre karaciğer ağırlığında anlamlı artış bulundu (Tablo 2; $p<0.01$). Yedinci günde ise İD grubundaki karaciğer ağırlıkları ST grubu ve KL gruplarına göre daha

yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu sonuçlara göre, 3. günde eksternal drenaj ile birlikte safra tuzu tedavisinin ve 7. günde ise tek başına internal drenajın karaciğer ağırlıklarını diğer gruplara göre daha fazla arttırdığı belirlendi.

Tablo 2. Sıçanların karaciğer ağırlıkları.

Karaciğer ağırlıkları (g/100 g hayvan ağırlığı)	Internal Drenaj	Eksternal Drenaj		
		Serum Fizyolojik	Kolesterol + Lesitin	Safra Tuzu (UDKA)
3. GÜN				
Parsiyel hepatektomi ile alınan	1.6±0.1	1.5±0.1	1.8±0.1	1.7±0.1
Sakrifiye edildiklerinde kalan	4.1±0.2	4.7±0.2	4.7±0.2	5.2±0.2**
7. GÜN				
Parsiyel hepatektomi ile alınan	1.7±0.1	1.6±0.1	1.6±0.1	1.5±0.1
Sakrifiye edildiklerinde kalan	5.5±0.2	5.1±0.2	4.7±0.2*	4.7±0.2*

* $p<0.05$, ve ** $p<0.01$, İnternal Drenaj grubuna göre.

Karaciğer fonksiyonları:

AST değerlerinin 3. günde SF verilen ED grubunda (733 ± 148 U/L) kontrol grubuna (188 ± 25 U/L) kıyasla anlamlı arttığı tespit edildi ($p < 0.01$). ALT değerleri açısından ise gruplar arasında herhangi bir fark saptanmadı. Alkalen fosfataz değerlerinin, 3. günde SF verilen ED grubunda (3446 ± 1354 U/L) kontrol grubuna (350 ± 84 U/L) kıyasla anlamlı arttığı görüldü ($p < 0.05$). Buna karşılık, 7. günde SF verilen (1230 ± 154 U/L; $p < 0.05$) ya da ST verilen (3283 ± 585 U/L; $p < 0.01$) ED gruplarında alkalen fosfataz değerlerinin kontrole göre anlamlı fark oluşturan yüksek değerlerde olduğu saptandı. Üçüncü günde belirlenen total bilirübin değerlerinin, SF verilen (4.2 ± 1.2 mg/dl), ST verilen (1.4 ± 0.5 mg/dl) ve KL verilen (1.0 ± 0.1 mg/dl) ED gruplarında ve İD gruplarında (1 ± 0.2 mg/dl) kontrol grubuna (0.1 ± 0.1 mg/dl) oranla anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0.01$ - $p < 0.001$). Ancak, 7. günde tüm gruplarda total bilirübinin kontrol değerlerine döndüğü gözlemlendi. Direkt bilirübin değerlerine bakıldığında, 3. günde SF verilen ED grubunda (2.8 ± 1.0 mg/dl), kontrol (0.01 ± 0.01 mg/dl), internal drenaj (0.3 ± 0.1 mg/dl) ve KL verilen ED gruplarına (0.3 ± 0.1 mg/dl) göre yüksek değerler tespit edildi ($p < 0.05$ - $p < 0.01$). Bu sonuçlara göre,

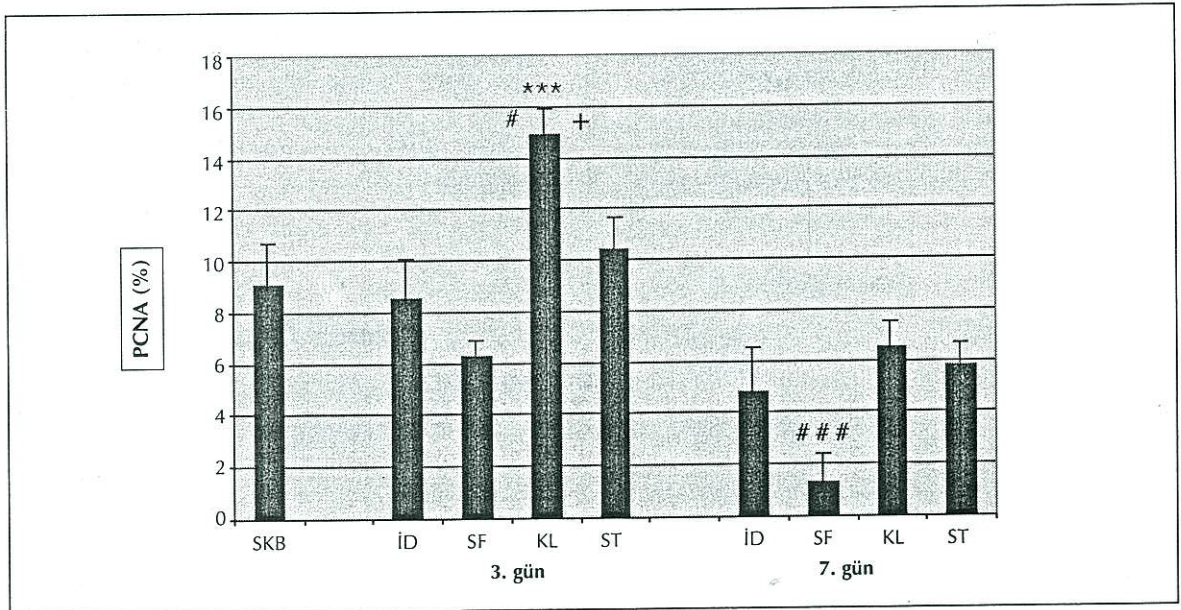
tüm parametrelerde sadece 3. gün SF grubunda tespit edilen yüksek değerlerin bu grupta sadece bazı sıçanlarda koledokovezikal fistül amacı ile kullanılan stentin uzun olmasından ve çapının darlığının kısmi bir tıkanıklık oluşturmasından kaynaklanabileceği düşünüldü. Buna göre diğer tüm gruplarda, oluşturulan tıkanma sarılığı sonrasında yapılan drenajlar ve verilen tedaviler neticesinde, karaciğer fonksiyonunu gösteren değerlerin kontrol grubundan yüksek olmakla birlikte, istatistiksel anlamlı fark oluşturmayacak şekilde normal değerlere yaklaştığı izlendi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme:

a) PCNA ölçümleri

Üçüncü günde sakrifiye edilen sıçanlar arasında hepatik rejenerasyon oranları karşılaştırıldığında rejenerasyonun KL verilen ED grubunda (% 14.9 ± 1), ED yapılan SF grubuna (% 6.3 ± 0.6), İD grubuna (% 8.5 ± 1.6) ve drenaj yapılmayan tıkanma sarılıklı (SKB; obstrüksiyonun 3. gününde) gruba (% 9.1 ± 1.6) göre yüksek olduğu görüldü ($p < 0.05$ - $p < 0.001$) (Şekil 1).

Yedinci gün grupları arasında SF verilen ED grubunun (% 1.3 ± 0.9) hepatik rejenerasyon oranları SKB grubuna (% 9.1 ± 1.6) göre istatistiksel an-

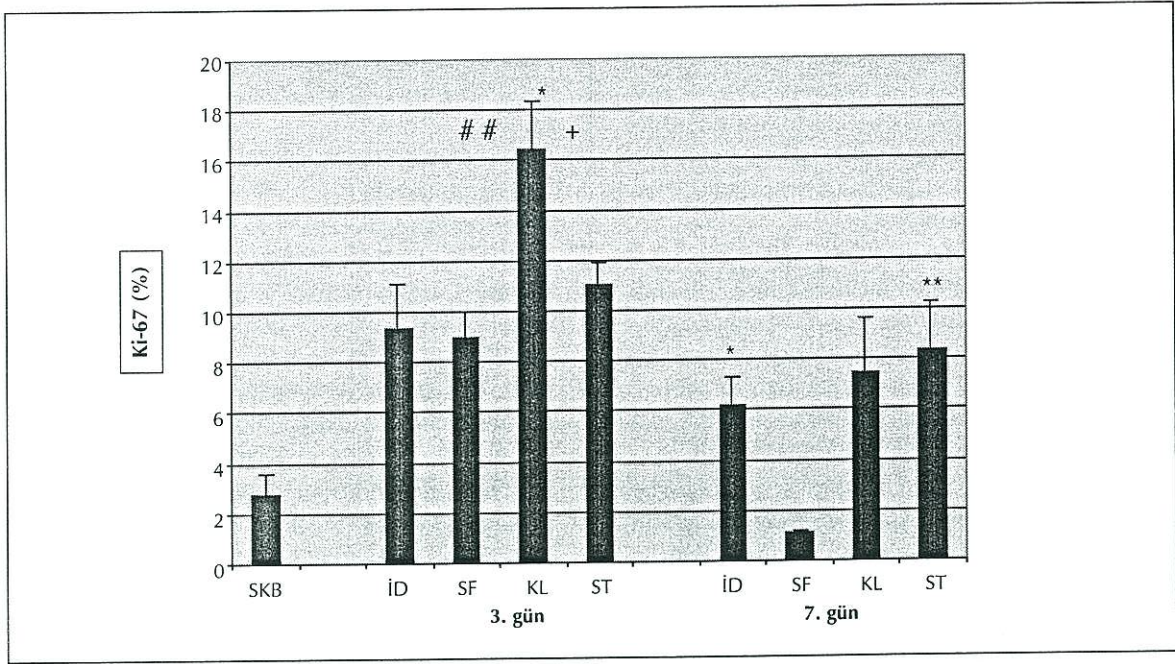


Şekil 1. Tıkanma sarılığını takiben internal drenaj yapılan veya eksternal drenaj ile birlikte SF, KL veya ST verilen ve 3 ya da 7. günde sakrifiye edilen sıçanlarda karaciğer rejenerasyonunu gösteren PCNA'nın karşılaştırılması.

*** $p < 0.001$, 3. gün SF grubuna göre

+ $p < 0.05$, İD grubuna göre

$p < 0.05$, ### $p < 0.001$, SKB grubuna göre.



Şekil 2. Tıkanma sarılığını takiben internal drenaj yapılan veya eksternal drenaj ile birlikte SF, KL veya ST verilen ve 3 ya da 7. günde sakrifiye edilen sıçanlarda karaciğer rejenerasyonunu gösteren Ki-67' nin karşılaştırılması.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, aynı gündeki SF grubuna göre

+ $p < 0.05$, ID grubuna göre,

$p < 0.01$, SKB grubuna göre.

lamlı olacak şekilde düşük bulundu ($p < 0.001$). İnternal drenaj grubunda (4.8 ± 1.7), kolesterol-lesitin verilen (6.5 ± 1.0) ve safra tuzu verilen (5.8 ± 0.9) ED gruplarında ise, SF verilen ED grubuna (1.3 ± 0.9) göre yüksek rejenerasyon oranları gözlenmesine rağmen istatistiksel fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Şekil 1).

b) Ki-67 ölçümleri

Üçüncü günde bakılan hepatic rejenerasyon oranları KL verilen ED grubunda (16.4 ± 1.9), SF+ED grubuna (9.0 ± 1.0), internal drenaj grubuna (9.4 ± 1.7) ve SKB grubuna (2.8 ± 0.8) göre yüksek bulundu. ($p < 0.05$ - $p < 0.01$) (Şekil 2).

Yedinci gündeki hepatic rejenerasyon oranlarına bakıldığında ise internal drenaj grubunda (6.2 ± 1.1) ve safra tuzu verilen ED grubundaki (8.3 ± 1.9) rejenerasyonun SF verilen ED grubuna (1.1 ± 0.1) oranla anlamlı yüksek olduğu bulundu ($p < 0.05$, $p < 0.01$) (Şekil 2).

TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı çeşitli etyolojilere bağlı olarak gelişebilmektedir. Tedavisinde, tıkanmaya neden

olan patolojinin giderilmesine ek olarak, gelişebilecek önemli komplikasyonların da önlenmesi göz önünde bulundurulmalıdır. Tıkanma sarılığı nedeni ile ameliyat edilen hastalar da yine çeşitli komplikasyonlarla karşılaşmaya adaydırlar^[2-5]. Bu komplikasyonların azaltılabilmesi ve safra akışının tekrar sağlanabilmesi için çeşitli eksternal ve internal drenaj yöntemleri kullanılmaktadır.

Birçok çalışmada, tıkanma sarılığında safranın internal drenajının, eksternal drenaja göre daha üstün olduğu gösterilmiştir. Tıkanma sarılığı sonrası veya hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonu ile ilgili birçok çalışma vardır. Fakat hepatektomi ile birlikte eşzamanlı sarılığı gidermeye yönelik drenajın yapıldığı ve hepatic rejenerasyonu gösteren çalışma sayısı oldukça azdır^[9]. Saiki ve ark.^[8] sıçanlarda oluşturdukları obstrüktif ikteri takiben, önce eksternal drenaj veya internal drenaj yapmışlar ve bundan 1 hafta sonra hepatektomi yaparak karaciğer rejenerasyonunu değerlendirmişlerdir. Son yıllarda karaciğer cerrahisindeki gelişmeler, tıkanma sarılıklı karaciğer hiler karsinomu veya safra kesesi tümörü olan çoğu hastada hepatic rezeksiyonu mümkün kılmıştır. Dolayısıyla biz de çalış-

mamızda bu tür klinik uygulamalara paralel bir yöntemi tercih ettik. Literatüre uygun şekilde, özellikle 7. günde, internal drenajın eksternal drenaja göre daha fazla rejenerasyona zemin hazırladığı, buna karşılık eksternal drenaja kolesterol-lesitin veya safra tuzu eklenmesinin rejenerasyonu daha da artırdığı gözlenmiştir.

Karaciğer rejenerasyonu, karaciğer hasarı veya karaciğer rezeksiyonunu takiben gelişen önemli bir süreçtir. Karaciğerin rejenere olamadığı durumlarda morbidite ve mortalitenin arttığı bilinmektedir^[10]. Karaciğer rejenerasyonu; karaciğer ağırlığı, mitoz sayısı, DNA içeriği ve DNA sentez oranları, nükleer antijenlerin immunhistokimyasal yöntemlerle boyanması, gen ekspresyonu gibi doku testleriyle ya da serumda çeşitli spesifik enzimlerin ya da proliferasyon belirteçlerinin tespit edilmesiyle değerlendirilebilmektedir^[11]. Bu yöntemlerin her birinin avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Biz de çalışmamızda rejenerasyonu değerlendirmek amacı ile karaciğer ağırlık ölçümleri ile immunohistokimyasal yöntemlerden PCNA ve Ki-67'den faydalandık. PCNA ve Ki-67 ile yapılan rejenerasyon değerlendirmelerinde sonuçların birbirlerine paralel olduğu izlendi. Karaciğer ağırlıklarına bakıldığında 3. günde safra tuzunun internal drenaja oranla rejenerasyonu daha fazla artırıcı etkisinin, 7. günde internal drenaja kıyasla daha üstün olmadığı gözlemlendi. PCNA ve Ki-67 ölçümlerine bakıldığında, 3. günde kolesterol-lesitin verilen ED grubunda rejenerasyonun SF verilen ED grubu, İD grubu ve SKB grubuna göre yüksek değerler gösterdiği tespit edildi. ST verilen ED grubu da diğer gruplara oranla 3. günde yüksek rejenerasyona işaret eden değerler içerdiği halde, bu farklar istatistiksel anlamlı boyutlara ulaşmadı. Her ne kadar karaciğer ağırlıkları rejenerasyon hakkında genel bir bilgi veriyorsa da, immunohistokimyasal sonuçlar kadar özgül olmayacağı açıktır. Bununla birlikte, özellikle 7. günde İD grubunda hem karaciğer ağırlığı hem de PCNA ve Ki-67 değerleri yüksek bulunmuştur. Yine 7. günde ST verilen grupta karaciğer ağırlığı ile tespit edilemeyen rejenerasyon immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Sonuç olarak, spesifik rejenerasyon belirteçlerinden faydalanmadan tek başına karaciğer ağırlık değişikliklerine dayanarak yorum yapmak, özellikle erken dönemde ödem varlığı da göz önüne alınacak olursa, yanıltıcı olacaktır.

Wang ve ark.^[12] yaptıkları çalışmada, subtotal hepatektomi yapılan sıçanlara enteral olarak veri-

len fosfolipidlerin, bakteriyel translokasyonu azalttığını, intestinal mukozaya ve enterosit protein içeriğindeki azalmayı engellediğini göstermişlerdir. İntestinal mukozanın septik patojenlere karşı etkili bir bariyer fonksiyonu vardır. Fosfolipidler ise hem bir enerji kaynağı olarak, hem de intestinal mukozanın hücre membranları ve organellerinin yapısına katıldıkları için intestinal bariyerden sorumludurlar^[12]. Ursodeoksikolik asit (UDKA), bir trihidroksi safra tuzu olan kolattan daha az toksiktir. Bu özelliğiyle, klinikte de primer biliyer siroz, primer sklerozan kolanjit ve daha birçok kolestatik karaciğer hastalığında kullanılmaktadır. UDKA tedavisinin kolestatik objektif kriterlerinden olan serum bilirübin, alkalen fosfataz ve transaminazlarını düşürdüğü gösterilmiştir. UDKA, hafif ve orta dereceli karaciğer hastalıklarında kolaylıkla tolere edilebilmektedir. Fakat UDKA'nın karaciğer hasarını nasıl önlediği hala tam anlaşılmamıştır^[13]. Buna karşı çıkan bir çalışmada ise Fickert ve ark.^[14], UDKA'nın tıkanma sarılıklı farelerde, yaygın hepatosellüler nekroz yaptığını ve beklenmedik bir şekilde karaciğer hasarı oluşturarak mortaliteyi artırdığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda safra tuzu grubu ve kolesterol-lesitin grubunun, erken dönemdeki rejenerasyon avantajının, geç dönemde internal drenaja göre azalmış olmasını bu şekilde açıklamak olasıdır. Yedinci günlere bakıldığında ise, SF verilen eksternal drenaj grubundaki hepatik rejenerasyon oranlarının internal drenaj ve safra tuzu grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük değerler gösterdiği izlenmiştir. Diğer bir deyişle, internal drenajın rejenerasyon açısından üstünlüğü gözlenmekte ve safra tuzu eksternal drenaja katkıda bulunmaktadır. Iyomasa ve ark.^[6], tıkanma sarılıklı sıçanlarda, %70 hepatektomi sonrası yapılan eksternal biliyer drenajın karaciğer rejenerasyonunu önemli ölçüde baskıladığını göstermişlerdir. Yine Suzuki ve ark.^[7] tıkanma sarılıklı sıçanlarda internal biliyer drenajın, karaciğer rejenerasyonu açısından eksternal biliyer drenaja göre avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir grup ise, hepatik rejenerasyon açısından safranin enterohepatik dolaşımının tekrar sağlanmasının, biliyer dekompresyondan daha önemli olduğunu göstermişlerdir^[8]. Yapılan bir başka çalışmada, intestinal sistem içinde safra tuzu yokluğunun endotoksinlerin emilmesine izin verdiği ve ağız yoluyla verilen safra tuzlarının bu endotoksin absorpsiyonunu engellediği gösterilmiştir^[15]. Narain ve ark.^[16], biliyer kanalliküllerde yer alan safra tuzlarının hepato-

sitler üzerine hasar yapıcı etkisi olabildiğini ve bu hasarın lesitin tarafından engellendiğini göstermişlerdir.

Sonuç olarak; SF verilen eksternal drenaj grubu, hem erken dönemde ve hem de geç dönemde, hepatic rejenerasyon açısından diğer gruplara göre düşük değerler göstermiştir. Bu sonuç, internal drenajın üstün olduğunu gösteren daha önceki birçok çalışmayla aynı doğrultudadır. Kolesterol-lesitin ve safra tuzu verilen gruplarda ise özellikle erken dönemde rejenerasyon oranlarının daha yüksek değerlere ulaştığı hatta internal drenaja bile üstün hale geldiği saptanırken, geç dönemde internal drenaj grubunda rejenerasyon oranlarının daha yüksek olduğu fakat kolesterol-lesitin ve safra tuzu verilmesinin eksternal drenajı internal drenaj grubundaki rejenerasyon kapasitesine yaklaştırdığı saptanmıştır. Benzer şekilde, bazı araştırmacılar da safranin enterohepatik dolaşımının preoperatif olarak sağlanmasının karaciğer rejenerasyonu için önemli olabileceğini^[17] ve internal drenajda eksternal drenaja göre gecikmiş karaciğer rejenerasyonundan barsakta safranin yokluğunun sorumlu tutulabileceğini^[18] belirtmişlerdir.

Bu çalışmanın sonuçları, klinik uygulamada, internal drenajın eksternal drenaja tercih edilmesi gerektiğini ve eksternal drenajın zorunlu olduğu durumlarda ağız yoluyla safra tuzları veya yapay safra ile rejenerasyonun hızlandırılabilceğini düşündürmektedir. Ancak, rejenerasyon üzerine safra tuzları ve safranin diğer bileşenlerinin etkisinin, özellikle hücre düzeyinde ve in vitro koşullarda, detaylı olarak çalışılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Martin M, Braasch JW. Strictures and benign obstructive disorders of the bile ducts. In Shackelford's Surgery of the alimentary tract, edited by Zuidema GD. W. B. Saunders Company.1996, Fourth edition, vol.3, chapter 20. pp: 308-319.
- Pain JA, Cahill CJ, Bailey ME. Perioperative complications in obstructive jaundice: therapeutic considerations. Brit. J. Surg., 1985, 72:942-945.
- Blamey SL, Fearon KCH, Gilmour DH ve ark. Prediction of risk in biliary surgery. Brit. J. Surg., 1983, 70:535-538.
- Cahill CJ. Prevention of postoperative renal failure in patients with obstructive jaundice-role of bile salts. Brit. J. Surg., 1983, 70:590-595.
- Pelligrini AC, Allegra P, Bongard FS, Lawrance WW. Risk of biliary surgery in patients with hyperbilirubinaemia. Am. J. Surg., 1987, 154:111-117.
- Iyomosa S, Terasaki M, Kuruki H, Nimura Y, Shionoya S, Kojima K, Yoshida S. Decrease in regeneration capacity of rat liver after external biliary drainage. Eur Surg Res 1992;24:265-272.
- Suzuki H, Iyomasa S, Nimura Y, Yoshida S. Internal biliary drainage, unlike external drainage, does not suppress the regeneration of cholestatic rat liver after partial hepatectomy. Hepatology 1994;20(5):1318-1322.
- Saiki S, Chijiwa K, Komura M, Yamaguchi K. Preoperative internal biliary drainage is superior to external biliary drainage in liver regeneration and function after hepatectomy in obstructive jaundiced rats. Ann Surg 1999; 230(5):665-662.
- Haubrich WS, Kalsner MH, Roth JLA, Schaffner F. Anatomy and physiology of the biliary tract. Editör: J.E. Berk, Bockus Gastroenterology, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1985 s: 3457-69.
- Urade M, Izumi R, Kitagawa H. Inhibition of 5-Lipoxygenase promotes the regeneration of the liver after partial hepatectomy in normal and icteric rats. Hepatology 1996; 23(3):544-548.
- Assy N, Minuk GY. Liver regeneration: methods for monitoring and their applications. Review. Journal of Hepatology.1997; 26:945-952.
- Wang XD, Andersson R, Soltesz V, Wang WQ. Phospholipids prevent enteric bacterial translocation in the early stage of experimental acute liver failure in the rat. Scand J Gastroenterol 1994; 29:1117-1121.
- Paumgartner G, Beuers U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. Hepatology 2002; 36(3):525-531
- Fickert P, Zollner G, Fuchsichler A, Stumptner C. Ursodeoxycholic acid feeding aggravates liver injury in bile duct ligated rats. A 1-3. 102nd annual meeting of the American Gastroenterological Association, 20-23, May, 2001, Atlanta, USA. (Abstract).
- Bailey ME. Endotoxin, bile salts and renal function in obstructive jaundice. Brit. J. Surg., 1976, 63:774-778.
- Narain PK, DeMaria EJ, Heuman DM. Lecithin protects against plasma membrane disruption by bile salts. J Surg Res 1998; 78:131-136.
- Mizuta A, Chijiwa K, Saiki S, Kuroki S, Nakamura TM. Differences in biliary lipid excretion after major hepatectomy in obstructive jaundiced rats with preoperative internal, external or no biliary drainage. Eur Surg Res 2002;34:291-9
- Ueda J, Chijiwa K, nakano K, Zhao G, Tanaka M. Lack of intestinal bile results in delayed liver regeneration of normal rat liver after hepatectomy accompanied by impaired cyclin E-associated kinase activity. Surgery 2002;131:564-73

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Araştırma Fonu'nun desteğiyle gerçekleştirilmiştir.

KATKIDA BULUNANLAR

Çalışmanın düşünülmesi ve planlanması:
Dr. Cumhuri YEĞEN, Dr. Berrak YEĞEN

Verilerin elde edilmesi:

Dr. B. Serdar AKSOY, Berna K. OKTAR,
Dr. Dilara SAVCI, Dr. Çiğdem ÇELİKEL ATAİZİ

Verilerin analizi ve yorumlanması:

Dr. Berrak Ç. YEĞEN, Dr. Serdar AKSOY

Yazının kaleme alınması:

Dr. Asım CİNGİ, Dr. Cumhuri YEĞEN

İstatistik değerlendirme:

Dr. Berak Ç. YEĞEN, Dr. Berna K. OKTAR

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. Cumhuri YEĞEN
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı / İstanbul