

DENEYSEL ARAŞTIRMA:

İst.Tıp Fak. Mecmuası 61:4, 1998

HEPATEKTOMİ ORANI İLE REJENERASYON ARASINDAKİ İLİŞKİ

Seyhan ALTUN, Atilla ÖZALPAN*

ÖZET

Erişkin memeli karaciğer hücreleri çeşitli fonksiyonları yerine getirmek üzere farklılaştıkları için bölünmezler. Ancak, karaciğerin bir kısmı kesilerek çıkarıldığında (parsiyal hepatektomi), hücreler hızlı bir şekilde çoğalmaya başlayarak, karaciğerin rejenerasyonu sağlarlar. Farelerde % 35 oranında bir parsiyal hepatektomi sonucunda, rejenerasyonun üçüncü güne kadar hızlı bir şekilde meydana geldiği, ve yaklaşık % 40 oranına ulaştığı, üçüncü günden sonra ise, rejenerasyon hızının azaldığı daha önce tarafımızdan tesbit edilmiştir.

Bu çalışmada ise, hepatektomi oranının artırılması ile rejeneratif büyümenin nasıl etkileneceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada % 57 oranında parsiyal hepatektomi uygulanan farelerde (Mus musculus) farklı günlerdeki rejenerasyon yüzdeleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, parsiyal hepatektomi oranının rejenerasyon yüzdesi ile ilişkili olduğu ve bu ilişkinin rejenerasyon yüzdesinin parsiyal hepatektomi oranı ile paralel olarak artması şeklinde ortaya çıktığı saptanmıştır. Parsiyal hepatektomi oranının artması sonucunda rejenerasyonun birinci günde hızlı bir şekilde meydana geldiği ve yaklaşık % 76 oranına ulaştığı, bundan sonra ise, hızının azaldığı tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar, hepatektominin % 57 oranında uygulanması halinde, rejenerasyon olayının % 35 oranında uygulanmasına göre, daha hızlı ve daha yüksek oranda meydana geldiğini göstermektedirler.

Anahtar Kelimeler: Fare, karaciğer rejenerasyonu, hepatektomi oranı, rejenerasyon yüzdesi

SUMMARY

Relationship between the hepatectomy rate and regeneration. Liver cells of mature mammals cannot be divided since they are differentiated in order to carry out various functions. But when a part of the liver is cut out (partial hepatectomy), the hepatic cells begin to multiply rapidly so make the regeneration of the liver possible. It is determined previously by us, when 35 % hepatectomy was applied to the mice, regeneration occurs rapidly until the 3rd day, and reaches the regeneration percentage of 40 %. After the third day, regeneration rate becomes decreased.

The aim of this study is to determine how the regenerative growth will be affected by increasing the rate of the hepatectomy.

The regeneration percentage in the different days at which 57 % of partial hepatectomized mice was examined, and a positive correlation between the hepatectomy rate and the percentage of regeneration were observed. It is determined that increasing in the rate of the partial hepatectomy caused a rapidly increasing regeneration at the first day with a regeneration percentage to 76 % , and later the rate of regeneration decreased. These results show that the regeneration is faster and higher in 57 % of hepatectomy than in 35 %.

Key Words: Mouse, liver regeneration, hepatectomy rate, regeneration percentage.

GİRİŞ

Erişkin fare karaciğeri diğer memelilerde olduğu gibi, normal şartlar altında tamamen farklılaşmış hücrelerden oluşan ve organizmanın belli başlı görevlerini üstlenmiş olan bir organdır. Bu özelliklere sahip olmasından dolayı da karaciğer

hücrelerinde bölünme 1/1000 gibi gözardı edilecek kadar düşük düzeydedir. Ancak farelerin karaciğerlerinin bir kısmı kesilerek çıkarıldığında, yani bir parsiyal hepatektomi (PH) operasyonu uygulandığında, farklılaşmış olan karaciğer hücreleri

HEPATEKTOMİ ORANI İLE REJENERASYON ARASINDAKİ İLİŞKİ

bölünme özelliklerini geri kazanarak, tekrar çoğalmaya başlarlar. Karaciğerde görülen bu çoğalma karaciğerin operasyondan önceki boyutuna erişinceye kadar devam ettikten sonra durmaktadır.

Günümüze kadar sıçan karaciğerinin PH operasyonundan sonraki 3H-TdR alımı, labeling indeks, mitotik indeksi gibi bazı özellikleri incelenerek rejeneratif büyümenin detayları ortaya konmaya çalışılmıştır (2,3,8,9). Bunlardan başka rejeneratif büyümede bir eşik değerin var olduğu ve PH operasyonunda ancak eşik değerin üzerindeki bir oranda karaciğerin çıkarılması sonucunda rejenerasyon görülebileceği kaydedilmiştir (11,12). PH yapılan sıçanlarda meydana gelen rejenerasyon miktarının, sıçanın yaşı ile değiştiği ve aynı yaştaki sıçanlara farklı oranlarda PH yapılması sonucunda rejenerasyonun, çıkarılan karaciğer miktarı ile doğru orantılı olduğu da tesbit edilmiştir (2,3). Hatta % 90'lara ulaşan oranlarda PH operasyonları başarı ile uygulanabilmiştir (7).

Literatürde sıçanlarla yapılmış çok sayıda çalışma bulunmasına karşın, ona yakın bir genus olan farelerle ilgili çalışmalara daha az rastlanmaktadır. PH yapılan farelerdeki rejenerasyon ve meydana gelen sitolojik değişikliklerle (6,16,17), bazı kimyasal maddelerin etkileri (4,5) ile ilgili araştırmalar bulunmaktadır. Ayrıca rejenerasyonun çıkarılan karaciğer loplarının arttırılması ile arttığı ve 8 aylıktan daha yaşlı farelerde yavaşladığı da saptanmıştır (14). % 35'lik bir PH yapılması sonucunda rejenerasyonun, üçüncü güne kadar hızlı bir şekilde meydana geldiği ve daha sonraki günlerde hızının azaldığı ise, tarafımızdan kaydedilmiştir (1).

Bu çalışmada, farelerde hepatektomi oranının arttırılması ile rejeneratif büyümenin nasıl etkileneceğinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmada deney hayvanı olarak 2,5 aylık (20-25 gr) Balb/C ırkı, inbred erkek fareler

(Mus musculus) kullanılmıştır. Hayvanlar plastik kafesler içinde pellet fare yemi ve musluk suyu ile beslenerek yetiştirilmişlerdir.

Eter anestezisi altında farelerin karaciğerlerinin sol lateral ve medyan lobları çıkarılarak (10) % 57 'lik bir parsiyal hepatektomi operasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, hayvanların operasyondan önceki vücut ağırlıkları ile çıkarılan karaciğer miktarları da tartılmıştır.

Rejenerasyon yüzdelerini tesbit etmek için deneyler parsiyal hepatektomi operasyonundan sonraki birinci, ikinci, üçüncü, beşinci ve onuncu günleri kapsayan beş grup halinde yürütülmüştür.

Operasyona maruz kalan hayvanlar, yukarıda belirtilen günlerde vücut ağırlıkları tesbit edildikten sonra servikal dislokasyon ile öldürülmüş ve karaciğerlerinin tamamı çıkarılmıştır. Alınan bu karaciğerler tartılmışlardır.

Farelerin total karaciğer ağırlıkları Higgins ve Anderson (10)'un makalelerinden Altun (1) tarafından modifiye edilen aşağıdaki lineer denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\hat{y}=0,0783x-0,624\pm\frac{0,1293}{\sqrt{n}}$$

Denklemden x vücut ağırlığını, y total karaciğer ağırlığını ve n hayvan sayısını göstermektedir. Deneylerden elde edilen vücut ağırlıkları denklemden yerine konularak, total karaciğer miktarı tesbit edilmiş ve parsiyal hepatektomi esnasında alınan karaciğer miktarının bu değerlerden çıkarılması ile rejenerasyona bırakılan karaciğer ağırlığı bulunmuştur. Rejenerasyon sonucunda saptanan karaciğer miktarından, rejenerasyona bırakılan miktar çıkarılarak hepatic artış gram olarak tesbit edilmiş ve her güne ait rejenerasyon yüzdesi, Grisham (8)'in önerdiği kalan karaciğer yüzdesine göre hesaplanmıştır.

Elde edilen değerler, grupların ortalamaları ve standart hatası olarak verilmiş, karşılaştırmalarda regresyon analizi kullanılmıştır.

BULGULAR

Medyan ve sol lateral lobların çıkarılması ile gerçekleştirilen % 57'lik bir parsiyal hepatektomi operasyonu sonrasında, farelerin karaciğerlerinde meydana gelen rejenerasyonun günlere bağlı olarak değişimi, Tablo I ve Şekil 1'de gösterilmiştir. % 57 oranında parsiyal hepatektomi yapılan hayvanların vücutlarında 0,60 gr karaciğer kalırken, operasyondan bir gün sonra karaciğer ağırlıkları 1,06 gr'a ulaşmaktadır. Böylece 0,46 gr lık bir hepatik artış meydana gelmekte ve rejenerasyon yüzdesi 76,2 olmaktadır. Operasyondan sonra 0,55 gr karaciğer içeren ikinci grup hayvanların iki gün sonunda karaciğer ağırlıkları 1,00 gr'a erişmekte ve 0,45 gr lık hepatik artış ile rejenerasyon yüzdesi 81,1 olarak bulunmaktadır. Üçüncü gruptaki hayvanlarda ise, operasyondan somaki üç günün sonunda 0,52 gr hepatik artış meydana gelirken, karaciğer ağırlığı, 1,14 gr rejenerasyon yüzdesi de 85,3 olarak saptanmaktadır. Parsiyal hepatektomi operasyonundan sonra beşinci günde karaciğer ağırlığı 1,26 gr hepatik artış ise 0,62 gr dır. Bu gruptaki rejenerasyon yüzdesi 96,8 olmaktadır. Medyan ve sol lateral karaciğer loplari çıkarılan farelerin son grubu olan onuncu günde operasyondan soma 0,66 gr karaciğer kalırken, on gün sonunda karaciğer ağırlığı 1,36 gr' a ulaşmaktadır. Bu grupta on gün sonunda meydana gelen hepatik artış 0,69 gr rejenerasyon yüzdesi ise 104,9 olarak saptanmaktadır.

TARTIŞMA

% 57 oranında PH yapılması sonucunda farelerin karaciğerlerindeki rejeneratif büyüme hızı, birinci günde lineer bir şekilde ve aşırı hızlı olarak meydana gelmekte, bu günden sonra ise, hızı azalmakta ve yavaş yavaş bir plato oluşturarak onuncu günde tamamlanmaktadır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, %35 PH yaptığımız çalışmamızdaki sonuçlar (Tablo 2 , Şekil 1) ile karşılaştırıldığında, her iki PH oranına maruz kalan hayvanlarda da belirtilen

günlerdeki rejenerasyon yüzdeleri günlere göre artış göstermektedir. Tablo 2 ve Şekil 1'in incelenmesi sonucu, farklı PH oranlarına sahip olan gruplar arasında birinci günler açısından bir farklılığın bulunduğu ve rejenerasyonun sadece % 57 PH yapılan grupta tamamlandığı ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla rejenerasyon yüzdesinde meydana gelen artışın % 57 PH yapılan hayvanlarda, %35 PH yapılanlara oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. Rejenerasyon yüzdelerinde gözlenen bu farklılığın, regresyon analizi uygulanması ile anlamlı ($p < 0,001$) olduğu ve özellikle birinci gündeki ani artıştan kaynaklandığı tesbit edilmektedir.

Rejenerasyon hızı ile yaş arasındaki ilişkiyi inceleyen Straube ve Patt (14), CF 1 farelerinde karaciğerin 1, 2 veya 3 lobu çıkarıldığında, rejenerasyon hızının çıkarılan dokunun miktarı ile orantılı olduğunu, ancak 10 aylık yaşlı hayvanlarda bu hızın azaldığını kaydetmişlerdir. Balb/C farelerde %70'lik bir PH uygulanması sonucunda MI değerinin ikinci günde maksimuma ulaştıktan sonra hızla azaldığı da bir başka çalışma (15) ile ortaya konmuştur.

Bucher (2) ile Bucher ve Swaffield (3) sıçan karaciğerlerini % 9'dan % 68'e kadar değişen oranlarda PH operasyonuna maruz bırakmaları sonucunda, hayvanların karaciğer DNA miktarlarında 22. saatte özellikle % 43'lük PH ye oranla % 68 'lik PH de keskin bir artış olduğunu saptamışlardır. Yine sıçanlarda % 70 olarak gerçekleştirilen PH operasyonu sonrasında karaciğerlerdeki DNA sentezinin 24 saatte en yüksek seviyeye ulaştığı da kaydedilmiştir (5). Sıçanlara % 90'lık bir PH yapan Gaub ve Iversen (7) labeling indeksin 36. saatte, mitotik indeksin ise 40. saatte bir pik gösterdiğini tesbit etmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında % 10-70 oranları arasında yapılan PH lerde operasyon esnasında çıkarılan parçanın büyüklüğü ile rejenerasyon yoğunluğu arasında pozitif bir ilişkinin var olduğunu ve bir eşik değerden bahsedilecekse bunun % 10'un altında olduğunu belirtmektedirler. % 45 lik PH

Tablo 1. %75 parsiyal hepatektomi yapılan farelerden deney ve hasaplamalar yolu ile elde edilen veriler (\pm SE)

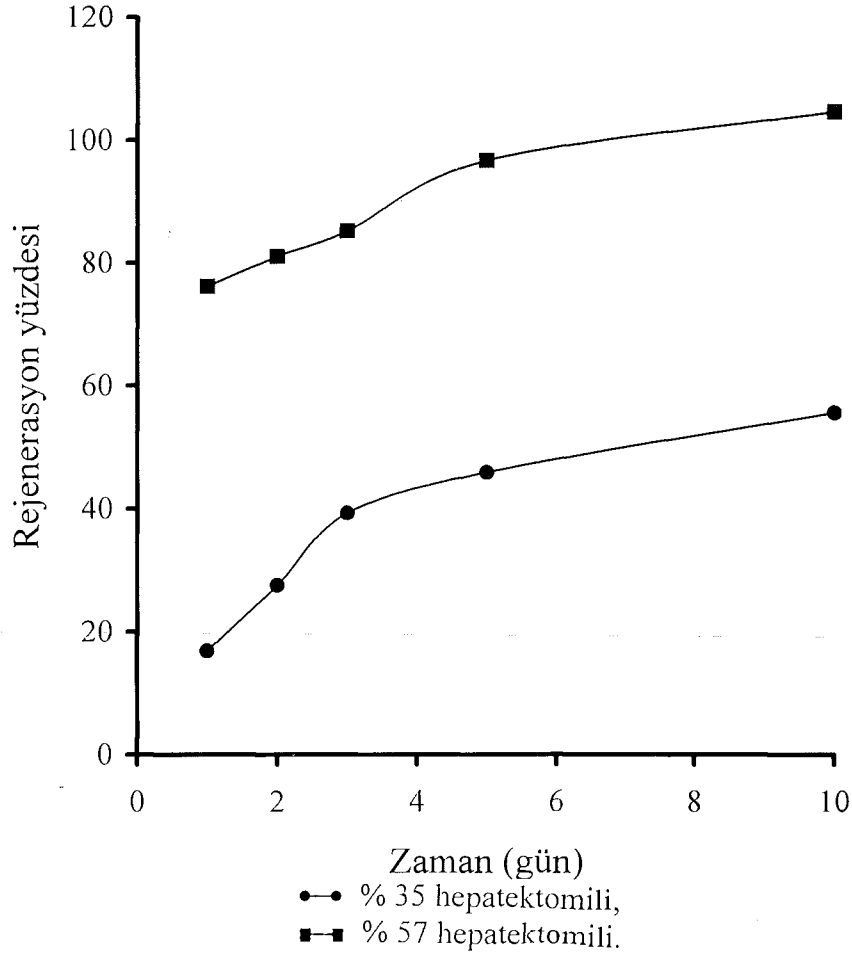
Hayvan Zaman Sayısı (gün)	Jenerasyondan Önce					Jenerasyondan Sonra					Rejenerasyon (%)
	Vücut ağırlığı (gr)	Karaciğer* ağırlığı (gr)	Karaciğerin vücut ağırlığına oranı (%)	Çıkanılan karaciğer (gr)	Kalan karaciğer (gr)	Vücut ağırlığı (gr)	Karaciğer ağırlığı (gr)	Hepatik artış (gr)	Karaciğerin vücut ağırlığına oranı (%)		
12 Kont.	24.30	1.45	5.93								
	± 0.35	± 0.05									
3 1	26.23	1.43	5.45	0.83	0.60	23.38	1.06	0.46	4.53	76.2	
	± 0.27	± 0.08		± 0.03	± 0.80	± 0.12	± 0.01	± 0.08			
7 2	24.37	1.28	5.27	0.73	0.55	22.79	1.00	0.45	4.39	81.1	
	± 0.25	± 0.05		± 0.04	± 0.06	± 0.61	± 0.06	± 0.09			
4 3	24.06	1.26	5.24	0.65	0.61	23.29	1.14	0.25	4.89	85.3	
	± 0.61	± 0.07		± 0.02	± 0.07	± 0.69	± 0.04	± 0.08			
6 5	24.40	1.29	5.27	0.64	0.64	21.60	1.26	0.62	5.87	96.8	
	± 0.73	± 0.05		± 0.02	± 0.06	± 0.15	± 0.08	± 0.10			
4 10	24.38	1.26	5.27	0.62	0.66	22.51	1.36	0.69	6.02	104.9	
	± 1.56	± 0.07		± 0.03	± 0.07	± 1.69	± 0.06	± 0.09			

*Lineer denklemden hesaplanmıştır.

Tablo 2. %75 parsiyal hepatektomi yapılan farelerden deney ve hesaplamalar yolu ile elde edilen veriler (\pm SE)

Hayvan Sayısı	Zaman (gün)	Jenerasyondan Önce				Jenerasyondan Sonra				Rejenerasyon (%)		
		Vücut ağırlığı (gr)	Karaciğer* ağırlığı (gr)	Karaciğerin vücut ağırlığına oranı (%)	Çıkarılan karaciğer (gr)	Kalan karaciğer (gr)	Vücut ağırlığı (gr)	Karaciğer ağırlığı (gr)	Hepatik artış (gr)		Karaciğerin vücut ağırlığına oranı (%)	
18	Kont.	25.05 \pm 0.83	1.38 \pm 0.03	5.49								
18	1	23.45 \pm 0.53	1.21 \pm 0.03	5.17	0.32 \pm 0.01	0.89 \pm 0.03	21.48 \pm 0.53	1.04 \pm 0.05	0.15 \pm 0.06	4.84	16.9	
9	2	23.08 \pm 0.56	1.18 \pm 0.04	5.13	0.33 \pm 0.02	0.85 \pm 0.05	21.26 \pm 0.59	1.09 \pm 0.03	0.24 \pm 0.06	5.12	27.6	
16	3	23.45 \pm 0.39	1.21 \pm 0.03	5.17	0.40 \pm 0.02	0.81 \pm 0.04	22.87 \pm 0.45	1.13 \pm 0.04	0.32 \pm 0.05	4.93	39.3	
14	5	22.59 \pm 0.79	1.15 \pm 0.04	5.07	0.36 \pm 0.02	0.78 \pm 0.04	21.99 \pm 0.74	1.14 \pm 0.07	0.36 \pm 0.08	5.19	46.0	
12	10	22.93 \pm 0.66	1.17 \pm 0.04	5.11	0.36 \pm 0.02	0.81 \pm 0.04	22.31 \pm 0.66	1.26 \pm 0.05	0.45 \pm 0.07	5.63	55.7	

*Lineer denklemden hesaplanmıştır.



Şekil 1. Ph' lı hayvanlarda rejenerasyon yüzdesi.

sonucu sıçanların karaciğer hücrelerinin DNA sentezi hızını gösteren 3H-TdR alımının 24. saatte, mitotik indeksin ise, 36. saatte maksimuma ulaştığı da Rokicki ve Rokicki (13) tarafından verilmektedir. MacDonald ve ark. (11,12) yaptıkları çalışmada DNA sentezinde anlamlı bir cevap elde edebilmek için PH operasyonunda sıçan karaciğerinde % 9 ila 12 arasındaki bir eşik miktarın çıkarılmasını ve tek bir operasyon ile bu miktarın aşılması gerektiğini vurgulamaktadırlar. Eşik değer

aşıldıktan sonra üç misli, % 50 ve hatta % 50'yi geçen operasyonlar uygulandığında ise, rejeneratif cevabın yedi misli bile artmasının mümkün olduğunu belirtmektedirler.

Farklı genus, tür ve farklı hepatektomi oranlarını içeren tüm bu çalışmada rejenerasyonun operasyondan sonraki 22-36. saatler civarında en yüksek oranda gerçekleştiği ortaya çıkmaktadır. Elde ettiğimiz bu çalışmalar bizim sonuçlarımız ile kalitatif bakımdan uyum göstermektedir.

Sonuç olarak farelerde de rejenerasyonun, hepatektomi esnasında çıkarılan parçanın büyüklüğü ile doğru orantılı olduğu, hepatektominin % 57 oranında uygulanması halinde, rejenerasyon olayının, % 35 oranında uygulanmasına göre, daha hızlı ve daha yüksek oranda meydana geldiği, ve % 57 oranında bir PH yapılması sonucunda onuncu günde rejenerasyonun tamamlandığı tesbit edilmiştir.

Bu araştırma, İ.Ü. Fen Fakültesi Radyoloji ve Sağlık Fiziği Araştırma ve Uygulama Merkezi tarafından desteklenmiştir. Proje no: RSM-9

KAYNAKLAR

1. Altun, S.: Normal rejeneratif ve tümöral büyümeler arasındaki kinetik ilişkiler. *Tr J Of Biology*, 20: 153 (1996).
2. Bucher, N.L.R.: Regeneration of mammalian liver. *Int. Rev. Cytol.*, 15: 245 (1963).
3. Bucher, N.L.R., Swaffield, M.N.: The rate of incorporation of labeled thymidine into the deoxyribonucleic acid of regenerating rat liver in relation to the amount of liver excised. *Cancer Res.* 24: 1611 (1964).
4. Chernozemski, N., Warwick, G.R: Liver regeneration and induction of hepatomas in B6AF1 mice by urethan. *Cancer Res*, 30: 2685 (1970).
5. Digernes, V., Bronstad, G., Sand, T.-E., Christoffersen, T.: The proliferative response of rat liver parenchymal cells after partial hepatectomy. *Cell Tissue Kinet.*, 15:521 (1982).
6. Gans, J.H., Korson, R.: Liver nuclear DNA synthesis in mice following carbon tetrachloride administration or partial hepatectomy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 175:237 (1984).
7. Gaub, J., Iversen, J.: Rat liver regeneration after 90 % partial hepatectomy. *Hepatology*, 4:902 (1984).
8. Grisham, J.W.: Inhibitory effect of tritiated thymidine on regeneration of the liver in the young rat. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 105:555 (1960).
9. Grisham, J.W.: A morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and celi proliferation in regenerating rat liver; Autoradiography with thymidine-H3. *Cancer Res.*, 22:842 (1962).
10. Higgins, G.M., Anderson, R.M.: Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch. Pathol.*, 12:186 (1931).
11. MacDonald, R.A., Rogers, A.E., Pechet, G.: Regeneration of the liver; Relation of regenerative response to size of partial hepatectomy. *Lab Invest.*, 11:544 (1962).
12. MacDonald, R.A., Rogers, A.E., Pechet, G.S.: Growth and regeneration of the liver. *Am. N. Y. Acad. Sci.*, 111:70 (1963).
13. Rokicki, M., Rokicki, W.: Liver regeneration in rats after complete and partial occlusion of the portal blood influx. *Res. Exp. Med.*, 193:305 (1993).
14. Straube, R.L., Patt, H.M.: Regeneration following partial hepatectomy as a function of age in the mouse. *Fed. Proc.*, 20:286 (1961).
15. Yoshimura, S., Kamada, N.: Effect of cyclosporin A on liver regeneration following partial hepatectomy in the mouse. *Transplantation Proc.*, 21:911 (1989).
16. Yokoyama, H.O., Wilson, M.E., Tsuboi, K.K., Stowell, R.E.: Regeneration of mouse liver after partial hepatectomy. *Cancer Res.*, 13:80 (1953).
17. Wilson, M.E., Stowell, R.E., Yokoyama, H.O., Tsuboi, K.K.: Cytological changes in regenerating mouse liver. *Cancer Res.*, 13:86 (1953).