

**SIĞIRLARDA FASCIOLA HEPATICA'DAN İLERİ GELEN KARACİĞER
FİBROSİSİNDE BAZI MİKROSKOPİK GÖZLEMLER**

**Some microscopic investigations in fibrosis of bovine livers infected by fasciola
hepatica**

İ. Enver Ozan*

Harun Özer**

Summary: *The purpose of this study was to obtain some microscopic investigations in fibrosis of bovine livers infected by fasciola Hepatica. Totally 28 livers of which 22 with fascioliosis and 6 normal livers were examined. In the livers with fascioliosis, it was seen that the fibrous tissue increased between lobules in the portal areas. In this tissue, the collagenic fibrae were found abundantly. In the livers with fascioliosis, bile canaliculi were dilated, the number of hematocytes were decreased but diameters of their nuclei were bigger than those of normal livers hepatocytes. A large number of polyploidy nuclei were seen in infected hepatocytes of livers.*

Özet *Bu çalışmada amaç, siğir karaciğerinde Fasciola hepatica'dan ileri gelen fibrosis durumunda bazı mikroskopik değişiklikleri gözlemektir. Bu amaç için 22 fasciolalı ve 6 normal olmak üzere 28 karaciğer incelenmiştir. Fasciolalı karaciğerlerde fibröz dokunun arttığı, bu doku içinde kollagen ipliklerin çoğaldığı ve safra kanallarının genişlediği görülmüştür. Böyle karaciğerlerde hepatositlerin sayıca azalmalarına karşın çekirdek çaplarının büyüdüğü ve ayrıca hepatosit çekirdeklerinde poliploidi durumunun fazlalığı gözlenmiştir.*

Giriş

Deneyssel olarak siroz oluşturulmuş karaciğerlerde bir çok çalışmalar yapılmıştır. Rojkind (8), taze insan karaciğerinin 1500 gram ağırlığında olduğunu ve böyle bir karaciğerdeki kollagen miktarının ortalama 8.25 gram kadar geldiğini bildirmektedir. Siroz durumunda karaciğer ağırlığının 500 gram azalmasına rağmen kollagen miktarının 15 grama kadar çıktığını yani hastalık durumunda stroma/ pa-

* Yrd.Doç.Dr., F.Ü. Vet.Fak. Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı.

** Yrd.Doç.Dr. F.Ü. Vet.Fak. Patoloji Anabilim Dalı.

ranşim oranının stroma'nın lehine bir artış gösterdiğini ifade etmektedir.

Shimamura ve ark., (12), N.N'.- diasetilbenzidine enjekte ederek rat karaciğerlerinde meydana gelen yapısal değişiklikleri incelemiş, makroskopik olarak karaciğerlerin kıvamında bir azalma ve dışında beyaz lekeler görüldüğünü, mikroskopik olarak ise; 1. haftaya doğru portal sahaya komşu hepatositlerin değişik çekirdek ölçüsü gösterdiklerini ve sayıca azaldıklarını, bu sahalarda hepatositlerin mitotik figürlerine rastlandığını, fibroblastların proliferasyonunu, bazı karaciğer hücrelerinin bazofilik stoplazma ihtiva ettiklerini ve safra kanallarının genişlediğini not etmişlerdir. Bazı hepatositlerin 3. haftaya doğru çok çekirdekli hücrelere dönüşmüş olduklarını, 8. haftaya doğru ise bir portal sahadan diğerine uzanan kalın fibröz bantın görüldüğünü bildirmişler ve bu bantın içinde bazısı çift çekirdekli, diğerleri nekrotik değişiklikler gösteren sıkışmış hepatositlerden söz etmişlerdir.

Değertekin ve ark. (1) colin ve ethionin yetersizliği ihtiva eden diyetlerle beslenmiş sıçanların karaciğerlerinde açık stoplazmalı ve vakoullu hepatositleri tespit etmişler, bu değişikliklerin 48 veya 72 saat sonra irreversible olduğunu kaydetmişlerdir.

Waldrop ve Punchler (13) normal karaciğerlerde bazal membran sadece safra kanalları ve kan damarları etrafında mevcut olduğunu, sirotik karaciğerlerde ise basal membran benzeri materyalin septumlarından lopçuk içine uzandığını belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar fibrotik ve sirotik lezyonlarda elastik ipliklerin görülmediğini bildirmişlerdir.

Jubb, Kennedy (3) ve Pamukçu (6), fasciolosis'te parazit larvalarının açtığı tünellerin bir scatrix dokusu ile dolduğunu, bu dokunun lenfosit ve eozinofillerden oldukça zengin olduğunu, hafif infestasyonlar neticesi teşekkül eden scatrix dokusunun sonradan kaybolduğunu, şiddetli durumlarda ise bu nedbe dokusunun birbirleri ile birleşerek karaciğer fibrosisine sebep olduğunu, ayrıca parazitin safra kanallarına geçmesiyle bu kanallarda genişlemeler meydana getirdiğini, ilerlemiş durumlarda safra kanalları etrafında şiddetli bir granülasyon dokusunun oluştuğunu ve bu dokunun giderek klasifikasyona uğradığını bildirmekte idirler.

Leffurt ve ark. (5), *invivo* ve *invitro* deneylerde normal karaciğerlerde hepatositlerin proliferasyonunun arttığını, fakat hangi faktörlerin nasıl çalıştıklarının, proliferatif ve değişme safhaları arasındaki mo-

leküler ve hücresele bağıntıların ne olduğunun henüz bilinmediğini belirtmektedir.

Sağlam (11), eskiden tropokollagen moleküllerinin sadece fibroblastlar, kondroblastlar ve osteoblastlar tarafından yapıldığını sanıldığını, bugün ise bu maddenin odontoblastlar, düz kas telleri, retikulum hücreleri, schwann hücreleri örtü ve bez epitel hücreleri gibi bir çok hücre türleri yanında karaciğer epitel hücreleri tarafından da sentezlendiğinin ortaya çıkarıldığını bildirmektedir.

Bu çalışma sığır karaciğerinde Fasciola hepatica tarafından meydana getirilen fibrosis durumunda bazı mikroskopik değişiklikleri incelemek, bilhassa hepatositlerin durumları hakkında fikir edinebilmek amacıyla yapılmıştır.

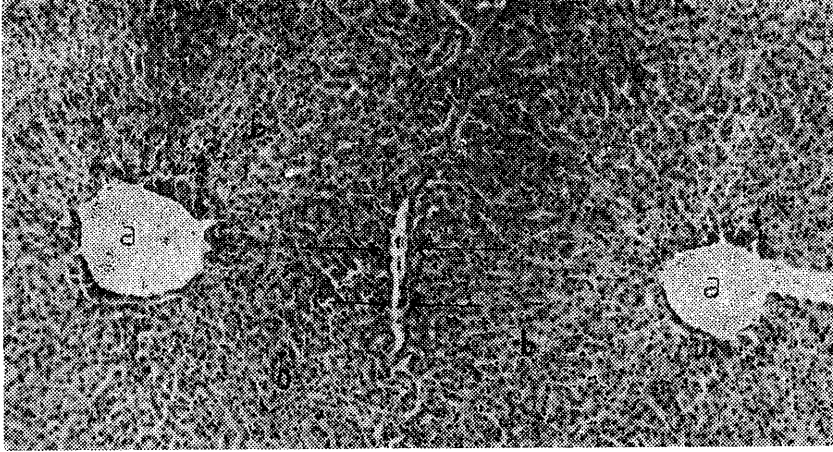
Materyal ve Metot

Bu çalışmada Elazığ Et ve Balık Kurumu'ndan temin edilen 22 fasciolalı ve 6 sağlam sığır karaciğeri kullanıldı. Sol loblardan alınan parçalar % 10'luk formalinde tesbit edildi. Mikrotomda 5—6 mikronluk kesitler alındı. Hazırlanan preparatlar Crossmann'ın triple boyası, Hematoksilin-Eosin ve Van Gieson boyaları ile boyandı. Ayrıca ortalama hepatosit çapı ve çekirdeklerinin çapı mikroskoba uyarlanan mikrometre yardımıyla ölçüldü. Birim kareye düşen ortalama hepatosit sayısı tesbit edildi.

Bulgular

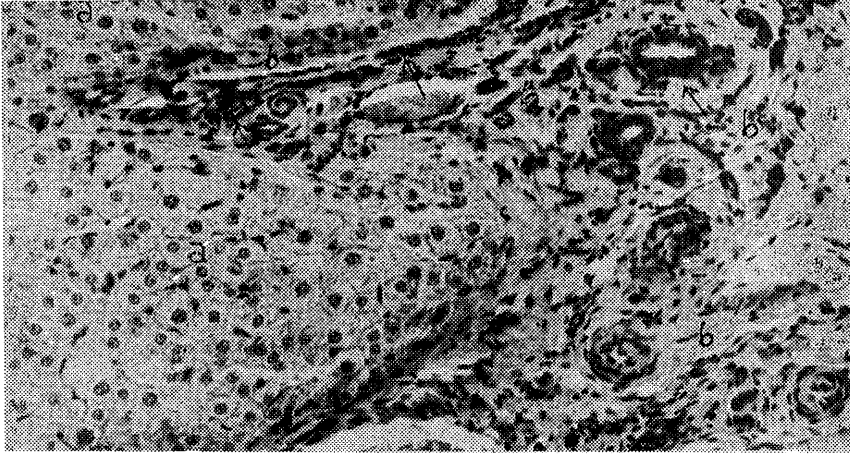
Makroskopik olarak karaciğerler koyu renkte, 1—3 mm çapında hemorajik odaklar ve çizgilerle kaplanmıştı. Bazen bu odaklar sarımsak renkte de görülebiliyordu. Visceral yüzlerinde safra kanalları beyaz ve sertleşmiş şekilde göze çarpıyordu. Kapsulları yer yer kabarık bir görünüşteydi.

Mikroskopik olarak normal karaciğerlerde lobcuklar arasında belirgin bir bağ doku gözlenmedi. Bağ doku yoğunluğu genellikle safra kanalları ve kan damarları etrafında göze çarpıyordu (Şekil 1). Fasciolalı karaciğerlerde lobcuklar arasında bilhassa portal sahada safra kanalları civarında oldukça yoğun bir bağ doku artışı mevcuttu. Bu dokuda kollagen iplikler ve fibroblast infiltrasyonu oldukça belirgindi. Bağ doku civarında sıkışmış hepatositler çoğunlukta idi (Şekil: 2—3). Bu karaciğerlerin hepatositlerinde dikkati çekecek ölçüde iri



Şekil 1. Normal karaciğerden bir görünüş, a) Vena centralis, b) lobcuk paranzimi, Oklar lobcukların sınırını gösteriyor (H.E., 2.5 x 10).

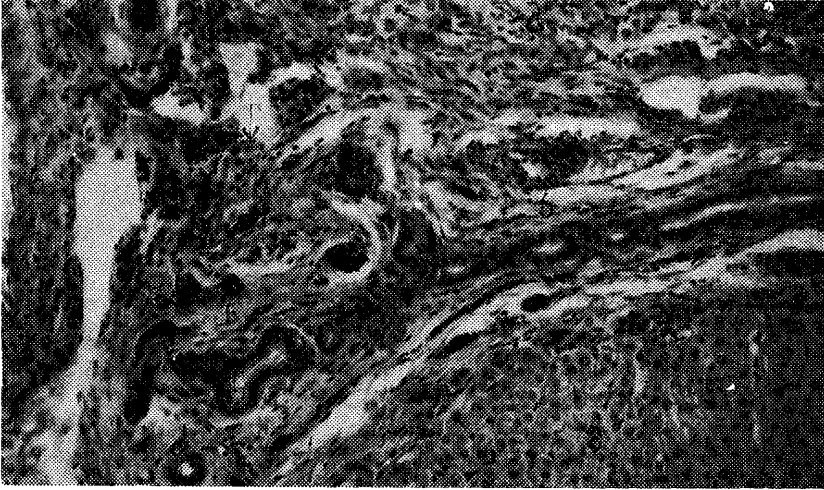
Figur 1. A view from normal liver. a) Vena centralis, b) Paranchym of lobuli, Arrows indicated the border of lobuli (H.E., 2.5x10).



Şekil 2. Fasciolalı karaciğerde, a) Paranzim, b) Stroma, oklar kollagen iplikler (Van Gieson. 3.3x20).

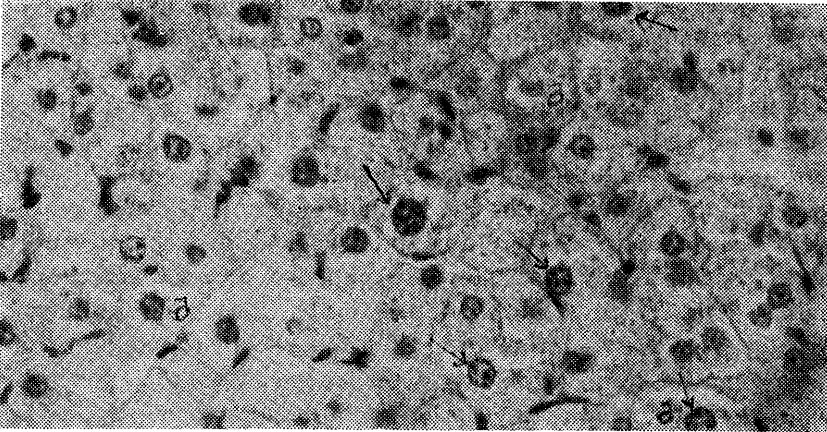
Figur 2. The liver with fasciola, a) Paranchym, b) Stroma, arrows indicated collagen fiber (Van Gieson. 3.3x20).

poliploidi çekirdekler oldukça fazla idi. Ayrıca açık stoplazma ihtiva etmekte idiler (Şekil :4).



Şekil 3. Fasciolalı karaciğerden bir kesit, a) Paraneşim, b) Stroma, c) Ductus biliferi, oklar fibroblast infiltrasyonunu gösteriyor. (H.E., 2.5x20).

Figur 3. A section from infected liver, a) Paranchym, b) Stroma, c) Ductus biliferi, d) blood vessels, Arrows. fibroblastic infiltration.



Şekil 4. Fasciolalı paraneşim, a) Açık stoplazmalı hepatositler. Oklar, Poliploidi çekirdekler (H.E., 3.3.x40).

Figur 4. A section infected paranchym. a) Hepatocytes with light cytoplasm. Arrows indicated polyploidy nüclei. (H.E., 3.3.x40).

Sağlam ve fasciolalı karaciğerlerde hepatositlerin bazı ölçümleri alındı. Bu ölçümlerden ortalama olarak şu sonuçlar elde edildi: Fasciolalı karaciğerlerde hepatositlerin ortalama çapları 17.68 ± 0.52 mikron, Çekirdek çapı 6.73 ± 0.29 mikron, sağlam kaaciğerlerde bu değerler 17.00 ± 0.61 mikron ve 5.82 ± 0.33 mikron olarak bulundu. Ayrıca her iki karaciğer preparatlarında birim kareye düşen hepatosit sayısı tesbit edildi. Bu amaçla preparatlardan iki bölgeden ölçümler alındı. Birinci bölge olarak vena centralis civarı, ikinci bölge olarak da portal saha civarı kullanıldı. Bu ölçümlere göre fasciola'lı karaciğerlerde birinci bölgede hepatosit sayısı ortalama olarak 23.05 ± 0.54 , ikinci bölgede ise 26.70 ± 0.50 adet, sağlam karaciğerlerde ise bu değerler birinci bölge için 30.5 ± 0.42 , ikinci bölge için 29.48 ± 0.31 adet bulundu.

Bu değerlere göre: Fasciola'lı ve sağlam karaciğerlerde hepatosit çapı bakımından önemli bir fark yoktu. Ancak çekirdek çapı bakımından fark göze çarpıyordu. Fasciolalı karaciğer hepatositlerinin çekirdekleri sağlam karaciğer hücresi çekirdeklerinden daha iri idi. Birim kareye düşen hepatosit sayısı bakımından her iki tür karaciğer arasında önemli bir fark bulunmadı. Fasciolalı karaciğerlerde hepatosit sayısı biraz daha azdı.

Tartışma ve Sonuç

İncelenen preparatlarda deneysel olarak siroz meydana getirilmiş hayvanlarda bildirilen bulgulara benzer bulgular gözlemlendi. Bazı araştırmacıların bildirdiklerine göre (8, 13), fibrosis durumunda karaciğerde stromanın paransime oranı, etkenlerin etkime sürelerine paralel olarak stroma lehine artış göstermektedir. Fasciolalı karaciğerlerde de aynı tablo ortaya çıkmaktadır. Lobcuklar arasında sağlam hayvanlarda görülmeyen fibröz doku hastalığın ilerlemesine paralel olarak artmaktadır. Fibröz dokuda kollagen ipliklerin mevcudiyeti tesbit edilmiştir. Fibroblast infiltrasyonu ileri derecededir. Safra kanalları genişlemiştir. Parenşimde ise mitoz hazırlığı içinde ve poliploidi çekirdeklere sahip hepatositler çoğunluktadır. Bu talbo fibrosise sebep olan hastalık durumlarında ve deneysel olarak çeşitli kimyasal maddeler enjekte edilmiş deney hayvanlarında da varlığını göstermektedir (2, 3, 6, 8, 12, 13).

Schimamura ve ark. (12), bildirdiklerine göre, N, N- Diacetylbenzidine enjekte edilerek siroz meydana getirilmiş ratlarda, başlangıç-

ta portal sahalara komşu hepatositlerin değişik çekirdek ölçüsü gösterdikleri, yer yer nekrotik sahalara rastlandığı, bazı hepatositlerin mitotik figürlere sahip oldukları, fibroblastların proliferasyonu ve bazı karaciğer hücrelerinin bazofilik stoplazma ihtiva ettikleri anlatılmaktadır. Aynı araştırmacılar daha sonraki haftalarda bazı hepatositlerin çok çekirdekli hücrelere dönüştüğünü, portal sahalara komşu olan karaciğer hücrelerinin boyutça küçük oldukları ve çoğunun bazofilik stoplazma ihtiva ettiklerini, daha sonra bir portal sahadan diğerine uzanan fibröz bantın kalınlaşıp belirginleştiğini, bant içinde bazısı çift çekirdekli bazısı nekrotik değişiklikler gösteren hepatositlerin mevcut olduğunu tesbit etmişlerdir. Yaptığımız gözlemlerde de bu bulgulara benzer bulgular elde ettik. Ancak hepatositlerde çok çekirdek yerine poliploidi çekirdeklere rastlanıldı. Portal sahaya yakın olan karaciğer hücrelerinin boyutça küçük olduğu bildirilmektedir (12). Ölçümlerimizde fasciolalı ve sağlam karaciğer hücrelerinin çap ölçümü bakımından farkları yoktu. Yalnız çekirdek çapı bakımından fark gözlemlendi. (tablo: 1).

Tablo 1. Fasciola'lı ve sağlam karaciğerlerde hepatositlere ait ortalama değerler (mikron olarak).

Olgu	Hepatosit sayısı		Hücre çapı	Çekirdek çapı
	1. Bölge	2. Bölge		
Fasciolalı	23.05±0.54	26.70±0.50	17.68±0.52	6.73±0.29
Sağlam	30.55±0.42	29.48±0.31	17.00±0.61	5.82±0.33

Karaciğer fibrogenesisini inceleyen Rojkind (8)'in görüşüne göre, eğer karaciğer kollagen miktarındaki net artış aktif fibrogenesisten dolayı ise, karaciğer sirozu ve fibrosisi ile ilgili bir takım soruları akla getirmektedir:

a) Karaciğer fibrosisini meydana getiren biyolojik ajanların eliminasyonu veya toksik etkinin geri alınması karaciğer fibrogenesisini durdurabilecek mi? Bu soruya insanlarda yapılan deneylerle cevap verilememiş, CC14 enjekte edilen ratlar üzerinde yapılan incelemelerde de kesin bir cevap bulunamamıştır (2).

b) Karaciğer sirozunu meydana getiren sebep ortadan kaldırılsa kollagen fazlalığı ortadan kalkar mı? veya kendi kendine devam eder mi soruları mevcuttur. Perez-Tamaya'ya göre (7), bütün insan sirozu tiplerinde ve hayvan siroz tiplerinde muhtemelen bir geri dönüş mevcuttur. Fakat mekanizması henüz açıklanamamıştır.

c) Karaciğer sirozunun ilerlemesi esnasında belli bir sürede başlayan mekanizma değiştirilebilir mi? veya fazla kollagen ortadan kaldırılabılır mi? Karaciğer kollageninin ilaçla tedavisi amacıyla bir çok çalışma yapılmıştır. Fakat kesin bir sonuç alınamamıştır. Bununla beraber Colchicine tedavisinin insanlar ve hayvanlar için ümit verici sonuçlar verdiği bildirilmiştir (4, 9, 10).

Sonuç olarak karaciğer fibrosisinde stromanın artması yanında hepatositlerin bazı değişiklikler gösterdiği ortaya çıkmaktadır. Son zamanlarda hepatositlerin tropokollagen sentezledikleri de göz önüne alınırsa, fibrosiste artan kollagen miktarında hepatositlerin de rol alabileceği düşünülmektedir. Fibrosiste hepatositlerin durumunu daha iyi inceleyebilmek ve bir çok soruya cevap verebilmek için moleküler düzeyde bir incelemenin yararlı olacağı kanısındayız.

Kaynaklar

1. **Değertekin, H., Akdemir, K.** (1980) *Light and electron microscopic studies fo diet-induced hepatic changes in mice.* Acta anat, 125, 174-179.
2. **Ehrinpreis, M.N., Giambone, M.A., Rojkind, M.** (1980) *Liver proline oxidase activity and collagen synthesis in rast with cirrhosis induced by CCl₄.* Biochem. Biophys. Acta, 629, 184-193.
3. **Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C.** (1970) "*Pathology of Domestic Animals*" Academic press. inc. New York.
4. **Kershenobich, D., Urbie, M., Suarez, G.L., Mata, J.M., Perez-Tamaya, R., Rojkind, M.** (1979) *Treatment of cirrhosis with colchicine. A double-blind randomized trial.* Gastroenteroloji, 77, 532-536.
5. **Leffert, H.L., Koch, K.S.** (1982) *Hepatocyte regeneration, replication, and differentiation.* The liver biology and Pathobiology 601-614.
6. **Pamukçu, M.** (a968) "*Veteriner Patoloji*", cilt 1, A.Ü. Basımevi.
7. **Perez-Tamayo, R.** (1979) *Cirrhosis of the liver.* Pathol Ann. 14, 183-213.
8. **Rojkind, M.** (1975) *The Liver Biology and Pathobiology.* Raven Press New York.
9. **Rojkind, M., Kershenobich, D.** (1975) *Effect of colchine on colbgen, albumin, and transferrine synthesis by cirrotic rat liver slices,* Biöchim. Biophys. Acta, 378, 415-423.
10. **Rojkind, M., Urbie, M., Kersgenobich, D.** (1973) *Colchicine and the treatment of liver cirrhosis,* Lancet 1, 38-39.
11. **Sağlam, M.** (1987) "*Genel Histoloji*" 3. baskı Emel Matbaacılık Sanayii, Ankara.
12. **Shimamura, T., Hayase, K., Wang, J.C.W., Cotton, J., Savioca, J.** (1979) *Structural alterations of the liver induced by N.N-Diacetilbenzidine* Arc. Pathol. Lab. Med., 103, 327-330.
13. **Waldrop, F.S., Puchter, H.** (1982) *Light microscopic distiction of collagen in hepatic cirrhosis,* Histochemistry, 74, 487-491.