

**RATLARDA, BAĞLANMIŞ SAFRA KANALI EPİTEL  
HÜCRELERİ ÜZERİNE PROSTAGLANDİN E<sub>2</sub>'NİN ETKİSİ\***  
**Effect of prostaglandin E<sub>2</sub> on epithelial cells of ligated bile duct in the rat**

Saim Özdamar<sup>1</sup>, Erdoğan Gürsoy<sup>2</sup>, Tülin Baykal<sup>2</sup>, Hülya Çetin<sup>3</sup>

**Özet:** Bu çalışmada, safra kanalının bağlanmasından sonra, safra kanalı epiteli hücrelerinde oluşan hasar üzerine eksojen prostaglandin E<sub>2</sub>'nin (PGE<sub>2</sub>) etkisini araştırmak istedik. Bu amaçla sıçanlar üç gruba ayrıldı. Kontrol serisini oluşturan hayvanlar sadece yalancı operasyona maruz kaldılar. Deney gruplarını oluşturan Grup I ve II'deki hayvanların safra kanalları duodenuma yakın bölgeden bağlandı. Grup II'deki hayvanlara, safra kanalının bağlanmasından 24 saat sonra kuyruk venlerinden 2µg/kg PGE<sub>2</sub> enjekte edildi. Yedi gün sonra bütün hayvanlar öldürüldü, safra kanallarından biyopsiler alındı ve elektron mikroskopta incelendi. Bağlanmadan sonra epitel hücrelerindeki değişiklikler (a) bol miktarda sitoplazmik vakuolün görülmesi; (b) anormal nuklear heterokromatin; (c) bozulmuş bazal yüzey katlantıları ve (d) azalmış mikrovilluslardır. Bu histolojik değişiklikler duktusun bağlanmasından 24 saat sonra 2µg/kg PGE<sub>2</sub> verilmesiyle engellenmiştir. Bu sonuç, ana safra kanalı üzerine PGE<sub>2</sub>'nin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ana safra kanalı, Ligasyon, prostaglandin E<sub>2</sub>

Akut ve kronik kolelittlerin gelişiminde primer etyolojik faktörü safra taşlarının oluşturduğu bilinmektedir (1). Ana safra kanalının distalinde

\*XII. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, 11-15 Eylül 1995, Antalya.

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ  
Histoloji. Y.Doç.Dr.<sup>1</sup>, Araş.Gör.Dr.<sup>2</sup>.  
Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi SİVAS  
Histoloji.Prof.Dr.<sup>3</sup>.

Geliş tarihi: 31 Ocak 1997

**Summary:** In this study, we aimed at determining the effect of exogenous prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) on epithelial cell injury of ligated bile duct in the rat. The animals were divided into three groups. Control group animals had undergone sham operation. The common bile ducts of animals in experimental groups I and II were ligated. In group II, animals received PGE<sub>2</sub> 2µg/kg body weight via tail vein 24 hours after the ligation. After seven days, all the animals were sacrificed and bile duct biopsies examined with electron microscope. In group I, the histological changes in the epithelial cells of bile duct after ligation included (a) appearance of abundant cytoplasmic vacuoles; (b) abnormal nuclear heterochromatin; (c) disordered basal face folding; and (d) lesser microvilli. Occurrence of these histological changes were prevented by PGE<sub>2</sub> administration 24 hours after the ligation. This result demonstrates a protective effect of PGE<sub>2</sub> on common bile duct injury.

**Key Words:** Common bile duct, Ligation, Prostaglandin E<sub>2</sub>

yerleşim gösteren taş, maling süreç (2) ya da bakteriyel enfeksiyona bağlı obstrüksiyonu sonucunda intra ve ekstra hepatik tüm safra yollarında genişleme ve epitelyal hasar muhtemel bir beklentidir. Ardından ilerleyici sarılık ve kolenjit atakları sonucu primer biliyer siroz ve hepatik abse gibi ağır komplikasyonlar gelişebilir. İntrahepatik safra kanalları üzerine obstrüksiyonun etkilerini inceleyen çalışmaların bulunmasına rağmen ekstrahepatik safra kanalı mukozası üzerine histolojik yönden benzer çalışmalar yeterli değildir. Gastrointestinal mukozası üzerinde yapılan

çalışmalarda, belirli tahriş edici maddelere karşı prostaglandinlerin koruyucu bir etkiye sahip oldukları gösterilmiş ve bu etkiye "cytoprotection" adı verilmiştir (3,4). Daha sonra prostaglandinlerin sitoprotektif etkileri pankreas (5-8) ve karaciğer (9,10) üzerinde yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir.

Biz bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan bir tıkanıklığın sıçan ana safra kanalı epitel hücrelerinde meydana getirebileceği hasarları ve bu hasarlara karşı prostaglandin E<sub>2</sub>'nin koruyucu bir etkisinin bulunup bulunmadığını araştırmak istedik.

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışmada, ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen erişkin, her iki cinsten 26 sıçan kullanıldı. Bu sıçanlardan altı tanesi kontrol, on tanesi I. deney grubu ve on tanesi II. deney grubu için ayrıldı.

Çalışma öncesi kontrol ve deney grubundaki hayvanlar 24 saat aç bırakıldı. Açlık süresi sonunda kontrol grubu hayvanların karın kesileri yapıp kapatıldı. Eter anestezisi altında I. ve II. deney grubu hayvanların karın kesileri yapılarak abdomenleri açıldı ve ana safra kanalı dikkatlice açığa çıkarılarak ipek ile duodenuma birleştiği yere yakın bölgeden bağlandı. Sonra abdomen kapatılarak hayvanlar kafeslerine yerleştirildi ve deney süresince safra kanalı bağlantısı çözümedi.

Ana safra kanalının bağlanmasından 24 saat sonra II. deney grubundaki sıçanların kuyruk venlerinden tek doz 2 µg/kg PGE<sub>2</sub> enjekte edildi. PGE<sub>2</sub> enjeksiyonundan yedi gün sonra, kontrol ve deney grubu hayvanların abdomenleri tekrar açıldı. Ana safra kanalından büyüklüğü 1mm<sup>3</sup>'ü geçmeyen doku örnekleri alındı. Doku parçaları gluteraldehid ve pH'ı 7.3 olan, fosfat tamponlu %1'lik osmium tetroksit ile tespit edildi. Artan alkol serilerinde dehidrate edildikten sonra, dokular araldit gömme materyali içine bloklandı. LKB-V ultra mikrotomu ile alınan 300-700 °A'luk kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat çift kontrast boyamadan sonra JEOL 100 C elektron mikroskobunda incelendi.

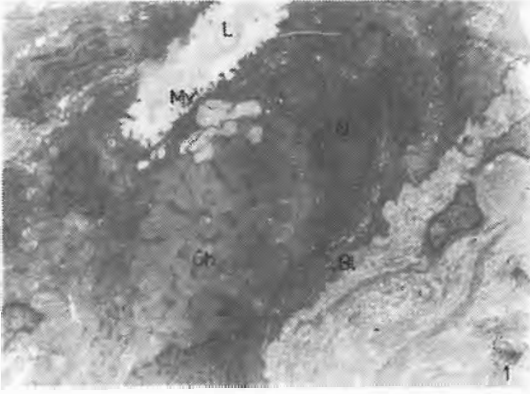
## **BULGULAR**

**Kontrol grubu:** Kontrol grubundaki sıçanların ana safra kanalı, bazal lamina üzerine oturmuş tek katlı prizmatik mikrovilluslu epitel hücrelerine sahiptir. Epitel hücrelerinin heterokromatin yapılı nukleusları oval şekillidir, çentikli bir yapı göstermektedir ve hücrelerin bazal bölgelerine yakın yerleşmişlerdir. Hücrelerin bazal yüzeylerinde bazal laminaya uzanan bazal katlantılar yer almaktadır. Hücreler arasında da sıvı transport yolu olan ve lateral bölgeleri kapalı olan intersellüler aralıklar bulunmaktadır. Epitel hücreleri arasında yer yer goblet hücrelerine de rastlanılmaktadır (Şekil 1,2).

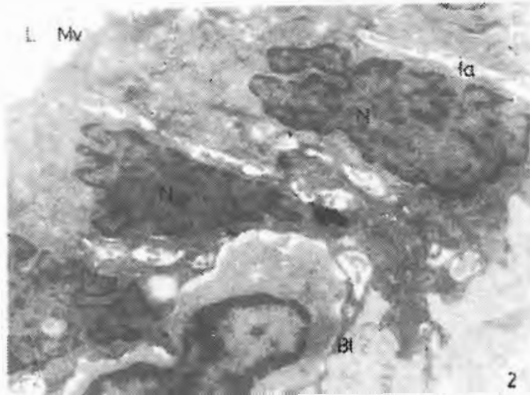
**I. Deney grubu:** Ana safra kanalının bağlanmasından yedi gün sonra incelenen I. deney grubuna ait sıçanların ana safra kanallarının epitel hücrelerinde histopatolojik bozuklukların olduğu gözlenmiştir. Epitel hücrelerinde görülen en göze çarpıcı değişiklik sitoplazmik vakuoller şeklinde görülen genişlemiş granuler endoplazmik retikulum sisternalarının varlığıdır (Şekil 3,4). Perinuklear bölgedeki sisternal genişlemeler oldukça büyüktür ve nukleus membranının büyük kısmını tutmuştur (Şekil 4). Luminal yüzeydeki mikrovilluslarda sayıca azalmanın dışında yapısal bir değişiklik gözlenmezken, hücrelerin bazal membran katlantıları hemen hemen tamamen ortadan kalkmıştır (Şekil 3). Epitelyal hücreler vasıtasıyla sıvı transport yolu olan intersellüler alanlar, sıvı transportunun yapılmadığı izlenimini verecek şekilde dar, kısmen kapalı alanlar şeklinde görülmektedir. Bazı hücrelerde nukleuslar oval yapılarını kaybetmiş ve heterokromatin yapısı bozulmuştur (Şekil 3,4).

**II. Deney grubu:** Ana safra kanalının bağlanmasından 24 saat sonra intravenöz olarak 2 µg/kg PGE<sub>2</sub> verilen hayvanların ana safra kanalı incelendiğinde, epitel hücrelerinin histolojik yapısının kontrol grubundakilerin yapısı ile benzer oldukları görülmüştür (Şekil 5). Prizmatik şekilli hücreler oval ve çentikli nukleuslara sahiptirler. Sitoplazmada vakuoller görülmemekte ancak yer yer

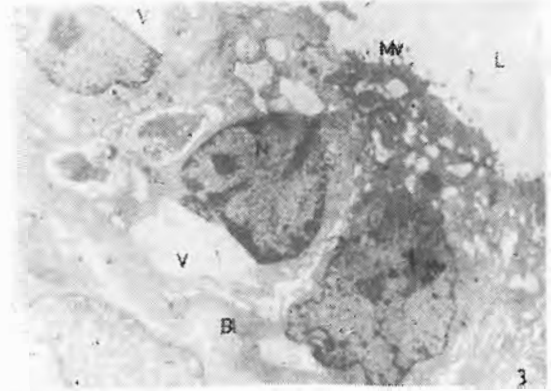
lipid damlacıklarına rastlanılmaktadır. Ayrıca epitelyal hücreler tarafından sıvı transportunun yapıldığını gösteren geniş intersellüler aralıklar görülmektedir (Şekil 6).



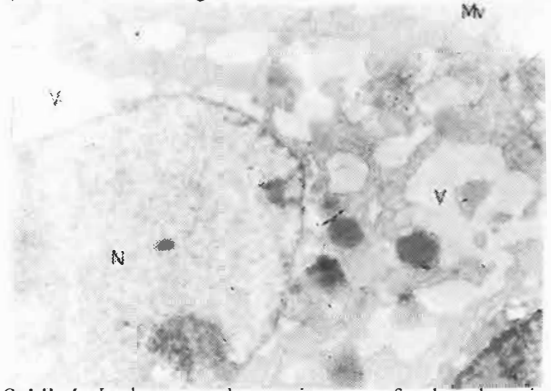
**Sekil 1.** Kontrol grubuna ait sıçanların safra kanalı mukozasının görünümü Nukleus (N), mikrovillus (Mv), lümen (L), bazal lamina (Bl) ve goblet hüresi (Gh). Elektronmikrograf: x4600.



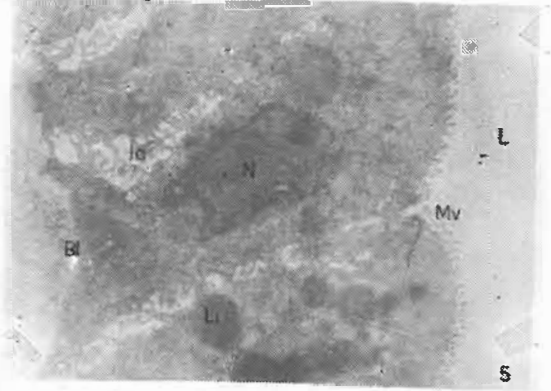
**Sekil 2.** Kontrol grubunun ana safra kanalında epitel hücreleri. Nukleus (N), mikrovillus (Mv), lümen (L), bazal lamina (Bl) ve intersellüler aralık (Ia). Elektronmikrograf: : x17500.



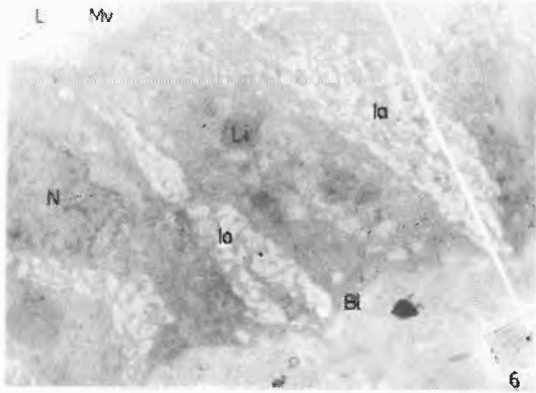
**Sekil 3.** Ana safra kanalının bağlandığı I. deney grubu sıçanlarda safra kanalı mukozasında vakuolleşmeler (V), nukleus (N), mikrovillus (Mv), lümen (L) ve bazal lamina (Bl). Elektronmikrograf: x4600.



**Sekil 4.** I. deney grubuna ait ana safra kanalı epitel hücrelerinde perinuklear alandaki büyük vakuolleşmeler (V), nukleus (N), mikrovillus (Mv) ve bazal lamina (Bl). Elektronmikrograf: x8500.



**Sekil 5.** PGE<sub>2</sub> uygulanmış II. deney grubu hayvanlarda epitel hücrelerinin görünümü. Nukleus (N), mikrovillus (Mv), lümen (L), lipid (Li), intersellüler aralık (Ia) ve bazal lamina (Bl). Elektronmikrograf: x4600.



Sekil 6. II. deney grubunda ana safra kanalı epitelindeki intersellüler aralıkta (Ia) genişlemeler ve sitoplazmada lipid (Li) birikimi. Nukleus (N), mikrovillus (Mv), lümen (L) ve bazal lamina (Bl). Elektronmikrograf: x4600.

## TARTIŞMA

İnsanda, safra kesesi, karaciğer tarafından salgılanan safranin depolanması ve konsantrasyon edilmesinde görev alır. Safra kesesi herhangi bir uyarı gelmeden safrayı bağırsağa göndermez. Uyarım, lipidlerin mideden ince bağırsağa geçmesi ile olur. Lipidler ince bağırsağa geçtiğinde, bağırsak mukozasından kolesistokinin salgılanır ve bu hormon kan yolu ile safra kesesine gelerek burada düz kasların kontraksiyonuna neden olur ve böylece safra atılımı gerçekleştirilir. Safra kesesi mukozası, safradan suyu ve iyonları reabsorbe eder. Epitel hücrelerinin bazolateral bölgelerindeki intersellüler alanlar gerildiğinde subepitelyal kapillerler genişletilir ve sıvı transportu gerçekleştirilir (11). Ratlarda ise safra kesesi bulunmadığından, safra kesesinin bütün görevlerini ana safra kanalı üstlenmektedir ve karaciğerde yapılan safra direkt olarak duodenuma gönderilmektedir.

Safra kesesi rahatsızlıklarının patogeneğinde bir çok önemli faktör bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri safra taşları, safra yolları enfeksiyonu, kanal obstrüksiyonu ve kolesterol kristallerinin artmasıdır (1,12). Safra kanallarının safra taşları nedeniyle tıkanması, safra konsantrasyonunu arttırmakta ve safra kanallarında ve karaciğerde dejeneratif bozukluklara neden olabilmektedir (13). Ana safra kanalının safra taşları ile tıkanmasına benzer olarak, deneyimizde ana safra kanalını

bağladık. Deneysel obstrüksiyon sonucunda ana safra kanalı epitel hücrelerinde belirgin yapısal bozulmalar oluşmuştur. En belirgin değişiklik sitoplazmadaki granuler endoplazmik retikulum sisternalarındaki vakuol görünümü veren genişlemelerdir. Bu genişlemeler, özellikle perinuklear alanda oldukça büyük görülürken lümeneye yakın alanda küçük ve bol miktardadır. Bu bulgu, ana pankreatik duktusun epitelyal hücrelerinde benzer şekilde yapılan bir çalışmada (8) gözlenen vakuolleşmeler ile uygunluk göstermektedir. Ayrıca, I. deney grubundaki epitel hücrelerinin nukleuslarında da değişimler görülmüştür. Tıkanmaya bağlı olarak kanal iç basıncının artmış olmasına rağmen, intersellüler alanların dar ve kısmen kapalı bir görünümde olması, sıvı transportunun tam olarak yapılamadığı düşüncesini vermektedir ve bu durum epitel hücrelerinde sıvı absorpsiyonunun ve transportunun engellenmiş olduğunu açıklayabilir. Bu bulgular, tıkanıklığın safra kanalı üzerine yalnız başına hasar oluşturmadaki etkili olabileceğini göstermektedir.

Deneysel çalışmalarda, safra kesesi mukozası ve düz kas hücrelerinin PGE ve PGF ürettiği gösterilmiştir (9). Bu üretim, safra kesesi mukozasında hasar oluşturmada etkili olan maddelerin verilmesi ile önemli ölçüde yükselmiştir (14,15) ve bu yükselme, maddelerin etkisine karşı safra kesesinin bir koruyucu cevabı olarak kabul edilmiştir.

Prostaglandinlerin safra kesesi üzerine etkileri hakkında kesinleşmiş bilgilerin bulunmamasına rağmen, sağlıklı hayvanlarda safra kesesinin kontraksiyonunu artırdığı (14-16), sıvı absorpsiyonunu inhibe ettiği (9,15), intraluminal basıncı artırdığı, vasodilatasyon ve vasküler permeabilitede artış meydana getirdiği (9) belirtilmektedir. Safra kesesi üzerine prostaglandinler ile ilgili birkaç çalışmanın bulunmasına rağmen (13,14,16) histolojik açıdan inceleyen bir değerlendirmeye rastlayamadık. Bundan dolayı yeterli bir tartışmanın ve karşılaştırmanın yapılmasında zorluklar ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada biz, ana safra kanalında bağlanma sonucu oluşan epitelyal hasara karşı  $PGE_2$ 'nin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu

bulduk. Bu sitoprotektif etki, diğer dokular üzerinde PG'lerin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu gösteren çalışmaların (3,4) sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Bağlanmadan sonra safra kanalının epitel hücrelerinde gözlenen hasarlar  $PGE_2$  verilmiş II. deney grubundaki hayvanların epitellerinde gözlenmemiştir. Ayrıca II. deney grubunda epitel hücreleri arasındaki intersellüler alanlardaki genişlemeler, sıvı absorpsiyonunun yapıldığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu bulgu, PG'lerin sıvı absorpsiyonunu inhibe ettiği sonucunu bulan çalışmalar (14,15) ile çelişkili görülmektedir. Bu belki, çalışmalarda kullanılan  $PGE_2$  dozundaki değişikliklerden veya çalışma metodlarındaki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

Safra kesesinin PG'lere cevabının değişken olduğunu belirten (16) ve PG'lerin iltihaplanma üzerine etkilerinin farklı olabileceğini gösteren (9) çalışmalar ile bizim bulgularımız,  $PGE_2$ 'nin safra kesesi veya safra kanalları üzerine belirgin bir etkisinin olduğunu ve bu etkinin kesin sonuçlarının elde edilebilmesi için hem immün işaretleme ve scanning elektron mikroskopik tekniklerle bağlantı komplekslerindeki değişimlerin gösterilmesi hem de klinikte uygulanabilirliğinin belirlenmesi açısından ek çalışmaların da yapılmasının yararlı olabileceği düşüncesini vermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Roslyn JJ, DenBesten L, Thomson JE, Silverman BF. Role of lithogenic bile and cystic duct occlusion in the pathogenesis of acute cholecystitis. *Am J Surg* 1980; 140:126-130.
2. Eckstein RP, Bambach CP, Stiel D, et al. Fibrolamellar carcinoma as a cause of bile duct obstruction. *Pathology* 1988; 20:326-331.
3. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AS. Cytoprotection by prostaglandins in rats. *Gastroenterology* 1979; 77: 433-443.
4. Robert A: Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 1979; 77: 761-767.
5. Manabe T, Steer ML. Protective effects of  $PGE_2$  on diet-induced acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1980; 78: 777-781.
6. Olazabal A. Effect of prostaglandins  $E_2$  and  $I_2$  and of indomethacin on deoxycholic acid-induced damage to the rat bile-pancreatic duct. *Gastroenterology* 1983; 84: 928-934.
7. Martin DM, Someren AO, Nasrallah SM. The Effect of prostaglandin  $E_2$  on ethionine-induced pancreatitis in the rat. *Gastroenterology* 1981; 1: 736-741.
8. Coelle EF, Adham N, Elashoff J, et al. Effects of prostaglandin and indomethacin on diet-induced acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 1983; 85:1307-1312.
9. Kaminski DL, Deshpande YG, Qualy J, Thomas LA. The role of prostaglandins in feline experimental cholecystitis. *Surgery* 1985; 98: 760-768.
10. Masaki N, Ohta Y, Shirataki H, et al. Hepatocyte membrane stabilisation by prostaglandins  $E_1$  and  $E_2$ : favourable effects on rat liver injury. *Gastroenterology* 1992; 102: 572-576.
11. Bloom W, Fawcett DW. *A Textbook of Histology (11th ed)*. WB Saunders Co, Philadelphia. 1986, p 679.
12. Anderson MC, Hauman RL, Suriyapa C, et al. Pancreatic enzyme levels in bile of patients with extrahepatic tract disease. *Am J Surg* 1979; 137: 301-310.
13. Pomeranz IS, Davison JS, Kirk DR, Shaffer EA: The Effect of prosthetic gallstones on gallbladder histology contractility and bile composition (Abst). *Gastroenterology* 1984;86: 1211.
14. Thornell E, Jivegard L, Bukhave K, et al. Release of prostaglandin  $E_2$  into the gallbladder lumen in lysolecithin-induced cholecystitis (Abst). *Gastroenterology* 1983; 84: 1335.
15. Jivegard L, Thornell E, Svanvik J. Intraluminal prostaglandin  $E_2$  by activation of nerves reduced fluid absorption and contrasts the gallbladder (Abst). *Gastroenterology* 1985; 88: 1668.
16. Kotwall C, Clanachan AS, Baer HP, Scott GW. Contractile effects of prostaglandins (PGs) and related compounds on isolated human gallbladder (Abst). *Gastroenterology* 1983; 84: 1216.