

T. C.
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Morfoloji Kürsüsü

33203

Prof. Dr. Yılmaz Senyolmak

Fare Embriyolarında
Karaciğer Hücrelerinin Gelişimi ve
Hemopoetik Hücrelerle İlişkileri

Histoloji - Embriyoloji
UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. Canan Saydam

Bornova - İzmir
1993

T.C. YÜCEKÖRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren
Prof.Dr.Saim FALAKALI, Prof.Dr.Yılmaz ŞENYILMAZ,
Prof.Dr.Gül YÜCE ve Müh.Dr.Halit UMAR'a teşekkürlerimi
sunarım.

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sahife

Giriş.....	1- 7
Gereç ve Yöntem.....	8- 9
Bulgular.....	10- 12
Tartışma.....	13- 23
Özet.....	24
Resimlerdeki	
Kısaltmalar.....	25
Resimler.....	26- 31
Kaynaklar.....	32- 37

G İ R İ Ő

Kan hücrelerinin yapımını hemopoetik retikulum hücreleri sağlar. Başlangıçta bunlar morfolojik olarak birbirlerinin tamamiyle aynı olmakla beraber çok yanlı hemopoetik potansiyel gösterir, çeşitli kan hücrelerine doğru farklılaşabilirler. Böylece aynı morfolojik karaktere sahip retikulum hücreleri, taşıdıkları genetik materyel bakımından farklı olabilirler veya değişik yerel koşulların etkisiyle başka başka yönlerde farklılaşmaya gidebilirler (1).

Kan hücreleri gelişmesinin erken dönemlerine ait ayrıntılar tamamiyle aydınlanmış değildir. Bu nedenle retikulum hücrelerinden farklılaşan ilk ana hücrelerin tanım ve belirlenmesi konusunda farklı teorileri sürülmüştür. Unitariyen veya monofiletik teoriye göre, ak ve al yuvarların kökeni ortak bir ana hücredir. Düalist veya difiletik teoriye göre ise, yalnız miyeloretiküler bağ dokusundan kırmızı kemik iliğinde oluşan miyeloid elemanların (eritrosit, granülosit ve trombosit) oluştuğu miyeloblast ile lenfosit ve monositlerin oluştuğu lenfoblast olmak üzere iki ana hücre bulunmaktadır. Polifiletik kurama göre, multipotansiyel olan tek ana hücreden tüm kan hücrelerinin her biri için ayrı ayrı unipotansiyel ana hücre oluşur. Şu halde monofiletik veya polifiletik hangi teoriye

göre olursa olsun tüm kan hücrelerinin ortak bir ana hücresi vardır. Bu hemositoblast veya multipotansiyel ana hücre olarak tanımlanabilir (1).

İlk hemopoesis, diğer memeli türlerinde olduğu gibi, farede de vitellus kesesinde görülür. Daha sonra fetal hayatta karaciğerde kan yapımını üzerine alır ve doğumdan önce en önemli hemopoetik organlar dalak ve kemik iliğidir (2,3).

Hemopoetik dokularda, çeşitli stromal hücrelerden ve ekstrasellüler matriksten oluşan mikrokuşatmanın (microenvironment), hemopoetik hücrelerin yerleşiminde, proliferasyonlarında ve multipotenslerin yitiminde önemli bir rol oynadıkları bilinmektedir (2,3).

Hemopoetik dokuların stroması, epiteliyal hücreler, retiküler hücreler, epiteliyo-retiküler hücreler, makrofajlar gibi çok sayıda farklı hücre tipleri içermektedir. Bu stromal hücreler çeşitli metabolik ve mekanik fonksiyonları gerçekleştirirler. Hemopoetik dokuları ve onların damarlarını destekleyip kuşatmakta, kan ve hemopoetik hücrelerin göçünü ayarlamaktadırlar. Ayrıca multipotansiyel ana hücrelerin çeşitli kan hücrelerine farklılaşmasını başlatan mikrokuşatma stromal hücreler tarafından desteklenmektedirler (4).

Retikulum hücreleri, endoteliyal hücreler, fibroblastlar ve makrofajlar gibi stromal hücreler özellikle kemik iliğinde etraflıca incelenmiştir. Örneğin des-

tek (retikulum) hücrelerin eritropoetik ve granülo-
poetik hücrelerin olgunlaşmasını kontrol ettikleri dü-
şünülmektedir (5,6).

Stromal ve hemopoetik hücreler arasındaki etkileşmenin
doğası uzun ve kısa süreli hüморal faktörlere ve immuno-
globinler ve major histokompatibilite antijenleri gibi
bazı hücre yüzey bileşimlerine bağlıdır (4).

Kan hücreleri de bizzat, nötrofiller ve lenfosit-
ler gibi, stromal hücrelerle birlikte hemopoesiste dü-
zenleyici rol oynarlar. Bundan başka, makrofajlar gibi
bazı stromal hücrelerin kan hücrelerinden köken alıp
göç dönemleri vardır. Bu nedenle kan hücreleri ve onla-
rın türevleri ile stromal hücreler arasındaki farklı-
lıkların gösterilmesi güçtür (4).

Ekstrasellüler matriks, üzerinde hücrelerin çoğalıp
farklılaştığı ve göç ettiği doğal bir bileşim olarak
bir çok dokularda hücre sel davranışı etkilemektedir.

Ekstrasellüler matriksin hücre proliferasyonu
üzerindeki etkileri ilk defa Gospodorawicz ve ark. ta-
rafından kornea endotelial tabakasından alınmış ekstra-
sellüler matriksin endotelial hücre proliferasyonu
üzerindeki etkisi incelenmiş ve ekstrasellüler matrik-
sin endotelial hücrelerin serum büyüme faktörlerine
yanıtlarını arttırdığı gösterilmiştir (7,8).

Bundan sonra başka (1987) araştırmacılar da spesifik
bir ekstrasellüler matriks bileşimi olarak bilinen

thrombospondin'i endotelial hücre proliferasyonun otokrin regülatörü olarak tanımlamışlardır (9).

Ekstrasellüler matriksin farklılaşma süreçlerindeki rolü, Rojkind ve ark. larının karaciğer matriksinde sıçan hepatositlerinin diferansasyonu ve uzun süre canlılıklarını korumayı desteklediğini bildirmeleri (10) ve Wicha ve ark.larının meme epiteliyal hücrelerinin, meme ekstrasellüler matriks içinde kültüre edildiklerinde fenotiplerin farklılaştığını gözlemleri sonucunda gösterilmiştir (11).

Ekstrasellüler matriks bileşimleri, Dubaund ve ark (12) ve O'Shea ve Dixit'in (13) gelişen insan embriyosunda ve Lane ve Solursh'un denizkestanesi mezenkimal hücrelerinde gösterdikleri gibi embriyonik hücre göçleri için de önemlidir (14).

Embriyogenesis esnasında kan dolaşımını kullanarak göç eden önemli iki örnek bilinmektedir :

1- Primordial germ hücreleri 2- Hemopoetik hücreler

Bu iki örnekte de kemotropik mekanizmalar işe karışmaktadır (15). Alıcı dönemlerdeki timuslar üzerinde yapılan deneylere dayanarak bir kemotropik hipotez ortaya atılmış ve daha sonra bir çok deneysel modellerle test edilmiştir (16).

Teste göre : Timusun ve kuşlarda B-lenfositlerin geliştiği yer olan Fabricius kesesinin stromal hücreleri gelişmenin belli bir zamanında çekiciliği olan kim-

yasal bir madde salgırlarlar. Kan damarlarının endote- line dayanarak organın her tarafına yayılan bu maddeye dolaşımdaki hemopoetik hücreler ilgi duyarlar, onun artan derecedeki konsantrasyonu boyunca göç ederek, da- marların duvarlarından geçerler ve sonunda bölünüp fark- lılaştıkları timus veya Fabricius kesesine yerleşirler. Kemotropik madde üretiminin epiteliyal ve hemopoetik hücreler arasındaki etkileşmeyle düzenlendiği ileri sürülmektedir. Bu görüşe göre, timik ve bursal taslak hemopoetik hücrelerce ekildikten sonra, daha fazla kemo- tropik madde üretmemekte, böylece içerdiği hemopoetik hücreler alıcı dönemdeki başka bir lenfoid organın artan çekiciliğine yanıt verebilmektedir. Bu hipotez gerek in vivo, gerek in vitro olarak gerçekleştirilen bir seri deneyler ile desteklenmiştir (17).

Ekstrasellüler matriks, solubl faktörler ve stro- mal hücreler hemopoetik mikrokuşatmanın esansiyel ele- mentleridir. Trentin ve Wolf'un in vivo çalışmalarında mikrokuşatmaya ait bazı bileşimlerin kemik iliğindeki granülositik predominans ve dalaktaki eritrositik predo- minanstan sorumlu olduklarına ait delil gösterilmiş - tir (18).

Hemopoesiste ekstrasellüler matriksin rolünü daha iyi açıklayabilmek için Peters ve ark. kemik iliğinden ekstre edilen bir kompleks ekstrasellüler matriks üzerinde ke- miricilere ait ilik hücrelerin kültüre edildikleri bir

sistem geliştirdiler ve kemik iliğinden türetilmiş ekstrasellüler matriksin adherent bir stromal hücre tabakasının hızlı oluşumunu sağladığı gibi (19), hemopoetik hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını da arttırdığını bildirmektedirler (20).

İlginç olan gerek stromal gerek parenkimal hücre- sel gelişme bu sistemde daha çok adherent (yapışık) olduğundan ilik ekstrasellüler matriks'in de güçlü bir sitoadhesif özelliği akla getirmektedir (19). Hemopoetik sitoadhezyon moleküllerin fonksiyonel rolleri henüz iyi bilinmemektedir. Şu ana kadar spesifik olarak hemopoetik hücreleri bağladığı bilinen üç sitoadhesif protein (fibronektin, trombospondin ve hemonektin) saptanmıştır. Peters ve ark. göre granülosit gelişimi için önemli bir matriks bileşimi olan hemonektin, hemopoesis ontogenisi boyunca gelişimsel olarak regüle edilmektedir. Araştırmacılara göre hemonektin, fare embriyoların gelişimsel devreleri ile granülosit gelişimini destekleyen dokularla koordine bir şekilde görülmektedir.

Hemonektin başka embriyolojik dokularda da görüldüğünden bu molekülün başka gelişimsel fonksiyonları olabileceği düşünülmektedir (19).

Ancak fötal hayattaki hemopoetik mikrokuşatmanın stromal bileşimi olarak hepatositlerin rolü hakkında çok az bilgimiz vardır. Sadece Medlock ve Hear bu noktayı etraflıca incelemişlerdir (21).

Bu çalışmanın amacı farede gebelik dönemi boyunca hepatositlerin gelişimini ve hemopoetik hücrelerle ilişkilerini irdelemektir.



G E R E Ç v e Y Ö N T E M

Araştırmalar 11. ve 19. günler arasındaki embriyolarda karaciğerin gelişimini ve hemopoetik hücrelerle ilişkisini incelemek amacıyla, östrus döneminde olduğu vajinal smear (bu dönemde alınmış smear'da hematoksilen ve eozin ile boyanmasıyla çekirdeksiz epitel hücreleri egemendir) ile saptanan 20 adet dişi fare ayrı ayrı kafeslere konarak bir gece süre ile birer erkek fareyle bir arada bırakıldılar. Ertesi sabah kopulasyonun olup olmadığını tesbit edebilmek için dişi farelerin smearlerinde servikal tıkaç ve spermium kontrolü yapıldı. Smearlerinde spermium görülen dişiler bekleme kafeslerine alındılar. Bunu izleyen ilk 24 saatin sonu gelişmenin birinci gününün bitimi olarak kabul edildi.

Gelişmelerinin 11., 12., 13., 15., 16., 17., ve 19. günlerine ulaşmış olan embriyoları elde edebilmek amacıyla bugünlerde ikişer fare eter ile bayıltıp karın boşlukları açıldı, uterus boynuzları çıkarıldı ve tesbih tanesi şeklinde dizilmiş embriyolar uterus duvarları açılarak % 10 nötral formalin içinde fikse edildi. Sonra yine tesbit solüsyonu içinde oldukları halde tek tek vertikal ve / veya horizontal kesilerek tesbit edildiler. Her gebe fareden ortalama 5-8 embriyo elde edildi, tüm olarak 30 embriyo üzerinde çalışıldı.

Alınan parçalar mikrodalga yönteminin, Umar H. tarafından geliştirilmiş modifikasyonuna göre sırasıyla fiksasyon, dehidratasyon, parafin banyosu ve gömme işlemlerine tabi tutuldular.

Ayrıca mikrodalga tekniği ile elde edilen kesitlerin hematoksilin ve eozin boyamaları, MW ışınlanması ile gerçekleştirildi (22).



B U L G U L A R

Gebeliğin 11. ve 19. günlerindeki fare embriyolarından elde edilen karaciğer doku kesitlerinin ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucunda saptadığımız bulgular kronolojik sıraya göre şöyledir :

Gebeliğin 11. gününde hepatositler hemopoetik hücrelerden soluk bir çekirdek içermelerinden ayrılırlar. Ayrıca hücre sınırları belirsiz olup, çekirdekleri de farklı büyüklüklerde ve düzensiz konturludurlar. Olgunlaşmamış hemopoetik hücreler yuvarlak olup, koyu çekirdekli ve dar sitoplazmalıdır. Aralarında çekirdekli eritrositler, az sitoplazmalı yuvarlak çekirdekli, koyu ve düzgün konturlu eritroid seriye ait hücreler ve eritroid hücrelere oranla daha büyük, sitoplazmaları granüllü ve konturları daha az düzgün olan miyeloid seriye ait hücreler bulunmaktadır. Ancak hemopoetik hücrelerle hepatositler arasında ayırım yapmak güç olmaktadır. Gebeliğin 11. gününde az sayıda hepatosit hemopoetik hücreler arasında dağılmıştır. Sinozoidal alanlar oldukça geniş olup henüz endotel ile kaplı değildir (Resim 1 ve 2).

Gebeliğin ilerlemesi ile birlikte hepatositlerin çekirdekleri yuvarlaklaşır ve büyüklükleri birbirine yakın hale gelir.

Gebeliğin 13. gününde bir alandaki hepatositlerin sayısı

artmıştır. Bu durum hemopoetik hücrelerin göçü sonucunda olabileceği gibi hepatositlerin bölünmesine de bağlı olabilir. Bundan dolayı hepatositler ve hemopoetik hücreler daha rahat ayırt edilirler. Damarların etrafı tamamen endotelize olmuş ve hepatositler daha çok damarlar etrafında kümelenmiştir (Resim 3).

Bu dönemde ayrıca karaciğeri saran 1-2 kat yassı mezotel hücrelerinden meydana gelen Glisson kapsülü seçilmektedir (Resim 4).

Gebeliğin 15. gününde artık soluk çekirdekleri ve 2-3 çekirdekçikleri ile hepatositler rahat seçilebilmektedir (Resim 5). Hepatositler gruplar halinde bulunurlar, ancak kordonsal yapılanma henüz görülmemektedir.

Gebeliğin 16. gününde hepatositlerin sınırları belirgin ve sayıca hemopoetik hücrelerden fazladır. Bu dönemde ilk kez portal alan ve safra kanalı görülebilmektedir. Ayrıca yer yer koyu yeşil bir pigmentasyon dikkat çekmektedir (safra) (Resim 6).

Gebeliğin 19. gününde artık hepatosit ve hemopoetik hücreler çok iyi ayrılmaktadır. Bir çok hemopoetik hücrenin önceki dönemlere göre daha küçük olduğu ve çekirdeklerinin koyulaştığı dikkat çekmektedir. Bu da bize matürasyonu göstermektedir. Buna karşın hepatositler önceki dönemlere göre daha büyük olup çekirdekçikler ve intrasitoplazmik vakuoller rahat seçilmektedir. Bu dönemde hepatositler o kadar büyür ki birim alanda sa-

yılları azalır (Resim 7).

Hemopoetik hücreler çoğunlukla eritroid seriye ait olup, az sayıda myeloid hücreler ve megakaryositler seçilmektedir (Resim 8).

Gebeliğin bu son dönemlerinde artık v.centralis tamamen endotelize olmuş ve etrafındaki hepatositler ışınsal şekilde dizilerek hepatic kordonları meydana getirmişlerdir.

Ayrıca v.centralis çevresindeki hepatositlerde yoğun vakualizasyon dikkat çekicidir (Resim 9).

Gebeliğin 19. gününde karaciğer dokusunda lobülasyona doğru bir gidiş gözlenmiştir (Resim 10).

T A R T I Ő M A

Fare vitellus kesesinde kan adacıkları gebeliğin 7. ve 8. günlerinde Őekillenmeye başlar ve embriyonal hemopoetik dokular sabit anjioblastlardan oluŐmaktadır. 9. günden 10. güne doğru serbest primitif eritroid hücrelerin sayısı artar ve endoteliyal hücrelerle çevrili vitellin damarların lümeninde lokalize olurlar (23,24). Mitotik indeks bize vitellus kesesi hemopoesisin gebeliğin 10. ve 11. gününde en aktif olduğu ve 12. günde vitellin damarlarda hemopoetik hücreler içinde en çok polikromatik çekirdekli olgun eritroblastların bulunduğunu göstermektedir. Vitellus kesesinden hücre gn artması ile birlikte hemopoetik hücreler embriyo içinde dolaŐmaya baŐlarlar ve ekstraembriyonal hemopoesis intraembriyoner definitif hemopoesisin başlaması ile birlikte sona yaklaŐmaktadır.

Karaciğer gebeliğin 10.5 gününde geliŐmeye başlar ve hemopoesis de 10.5 - 11. günde görülmektedir (25). Moor ve Johnson (26) fare vitellus kesesin'dan göç eden stem hücrelerin gebeliğin 10. ve 11. gününde karaciğerde görüldüğünü bildirmektedir.

10. ve 11. günlerde vitellin damarlar içinde proeritroblastların, yanında geç anjioblast ultrastrktrne sahip olgunlaşmamış hemopoetik hücreler bulunmaktadır. Geç anjioblastlar retiküler nukleolonemalı belirgin

çekirdekçikleri olan ve çekirdek zarında invajinasyonlar gösteren sabit hücrelerdir (24). Buna karşın proeritroblastlarda çekirdekçik granüler bir bileşimden oluşur ve çekirdek zarın invajinasyonları seyrek (24). 10. ve 11. günlerde vitellus kesesi ağısı yapılar içeren çekirdekçikleri olan olgunlaşmamış hücreler içerir, ancak bunlarda ne tubuler ne de lameller yapılar gözlenmiştir. Bu hemopoetik hücreler, geç anjioblastlar ve primitif proeritroblastlar arasında geçiş görünümü göstermekte, bağlayıcı (junctional) kompleksleri yoktur. Böylece gebeliğin bu dönemlerinde embriyo içinde serbestçe dolaşabilmektedir.

Karaciğer'de 11. günde, hepatik kordonlar içinde bu tip geçiş tipinde olgunlaşmamış hücreler içermektedir.

Bu olgunlaşmamış hemopoetik hücreler vitellus kesesinin'den karaciğer'e embriyonal hemopoesisin geçişinde önemli rol oynuyor ve definitif karaciğer eritropoesisi başlatıyor olabilir (27).

Vitellus kesesinin'de proeritroblastlar da dahil olgunlaşmamış hücreler 12. günde kaybolur, karaciğerde bu gibi olgunlaşmamış hücreler gebeliğin 15. gününde henüz görülebilirler (27).

Jones (28) terme yakın fare fetal karaciğerinde proeritroblastların da görülebileceğini ve hemopoetik stem hücre potansiyellerinde olan hücrelerin gebelik esnasında sayıların arttığını bildirmektedir (29).

Vitellus kesesi ve karaciğerde hemopoetik hücrelerin değişen görülme sıklığı ışık mikroskobu altında stereolojik metodlar kullanılarak büyük oranda incelenmiştir.

Vitellus kesesi eritropoesisin son ürünleri çekirdekli küçük eritroblastlar olup, vitellus kesesi eritropoesisin son ürünleri ile embriyonal karaciğerdeki ortokromatik eritroblastlar arasında bir çok yapısal farklılıklar bulunmaktadır. Gerek insan gerek kedi vitellus keselerinde primitif eritroblastlara ait farklı şekiller bildirilmiştir ve fare vitellus kesesinde piknotik eritroblastların çekirdek ve sitoplazmaları ile bir çok benzer karakteristikler gösterirler (30,31). Gebeliğin 12. gününden itibaren, vitellus kesesi küçük eritroblastların çekirdekleri, nuklear kromatin yoğunlaşması ile daralma ve deformasyon göstermekte ve sitoplazmalarında bir çok fagolizozomlar görünmektedir. Definitif eritropoesis de eritroid matürasyonun gelişimsel sırası, ribozomların ve mitokondriaların sayısında azalmayı içermektedir. Hücre organelleri fagositikdir. Son bir çalışmada sıçan kemik iliğinde eritroid matürasyon esnasında mitokondriaların eliminasyonu ve çekirdek parçalanması ile başlayan otofagositosis, otofajiden sorumlu tutulmaktadır (32). Definitif eritropoesiste rezidüel cisimcikler eritroblastlar tarafından salınıyor olabilir. Vitellus kesesinin pri-

mitif küçük eritroblastların görünümündeki varyasyon sitoplazmalarında gerek çekirdek gerek birikmiş rezidüel cisimciklerin parçalanmasındaki yetersizliğe bağlı olabilir (33).

Farede fötal karaciğer hemopoesisi gebeliğin 12. gününde başlar (21) ve 16. güne kadar fetusun en önemli hemopoetik organıdır (21). Asano ve ark. hepatositler ile hemopoetik hücreler arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla farenin 13. ve 19. gebelik günleri arasındaki fötal karaciğeri incelediler (34). Araştırmacılara göre bu dönemde gelişen hepatositlerdeki morfolojik değişiklikler 4 devreye ayrılabilir.

1. devre : 13. gebelik günü, hepatosit ve genellikle olgunlaşmamış eritroblast olmak üzere hemopoetik hücrelerle birlikte rozet formasyonu ile karakterizedir (34). Medlock ve Haar (21) prehepatositlerin hücre uzantıları ile üç boyutlu bir ağ oluşturarak hemopoetik hücre popülasyonunu desteklediklerini tarif etmişlerdir. Asano H. ve ark. ayrıca retiküler şekilli bir hepatosit ile eritropoetik hücreler arasında sıkı bir bağlantı gözlemişlerdir (34).

Resim 1,2 ve 3 de görüldüğü gibi bizim çalışmamızda da erken gebelik dönemlerinde (11. ve 13. günlerde) hepatositlerin sınırları ve çekirdek konturlarının belirsiz olduğu gözlenmiştir.

2. devre : 14. - 15. gebelik günlerinde hepatositler

kalitatif ve kantitatif değişiklikleri ile karakterizedir. Bu devrede hücre organelleri belirgin olarak gelişir, ancak eritroblastların rozet formasyonu görülmemiştir (34). Asano ve ark. 15. gebelik gününde komşu hepatositleri arasındaki sıkı temaslar zonula occludens, zonula adherens ve bir desmosom'dan oluşan bağlayıcı komplekslere doğru geliştiğini gözlemişlerdir (34). Artık hepatositlerle hemopoetik hücreler önceki günlerdeki kadar yakın değildirler (34).

Medlock ve Hear (21) safra kanalikülleri 17. günde gözlemlerken, Asano ve ark. ilk defa 14. günde saptamışlardır (34). Bizim çalışmamızda safra kanalikülleri ilk kez 16. günde dikkat çekmiştir.

Asano ve ark. ayrıca 1. ve 2. devrelerde aktif olarak fagosit eden hepatositler bildirmektedirler (34).

3. devre : 16. - 17. gebelik günleri, glikojen depolanmasının başlaması ile karakterizedir. Ayrıca pürüklü endoplazmik retikulum, golgi aygıtı ve mitokondrialarda ileri gelişme hepatositlerde bir sentetik aktiviteyi düşündürmektedir (34). Araştırmacılara göre hepatik kordonlar ve sinozoidler bu devrede şekillenir (34). Bir çok hemopoetik hücre hepatositlerden ayrı yerleşir, fagositik aktiviteli hepatositler belirgin olarak azalır (34).

4. devre : 18. - 19. gebelik günleri, sitoplazmada büyük miktarda glikojen birikimi ile karakterizedir. Disse aralığı ile birlikte sinozoidlelerin şekillenmesi iler-

ler ve özellikle olgunlaşmamış şekilliler daha fazla olmak üzere hemopoetik popülasyon bu devrede sayıca azalır (34). Asano ve ark. bu bulguları bizim bulgularımız ile uygunluk göstermektedir. Bu devrede erken gebelik günlerine ait resim 1 ve 2 ile son gebelik günlerine ait resim 7 ve 8 karşılaştırıldığında hepatosit/hemopoetik hücre oranının gebeliğin ilerlemesi ile birlikte hepatositlerin lehine değiştiği açıkça görülmektedir. Fagositik hepatositler artık görülmezler (34).

Fötal dönemde bir bioşimik fabrika gibi fonksiyon gören karaciğer genellikle plasentadan gelen kan ile doludur. Bu nedenle fötal sıçan karaciğeri daha çok hemopoetik doku olarak fonksiyon görür. Olgunlaşmamış hepatositler mikrokuşatmaya tesir ederler. Hemopoetik hücrelerle birlikte rozet oluşturan olgunlaşmamış hücrelerin, kemik iliğinde eritropoetik ve granülopoetik hücrelerin olgunlaşmasını kontrol eden destek (retikulum) hücrelerindeki benzer rol oynuyor olabilir (5,6).

İlik stroması bilindiği gibi gerek makrofaj, retikulum hücresi, fibroblast ve endotelial hücrelere ait hücresel elementler, gerek yağ hücresi ve kollajen, fibronektin, laminin, proteoglikan ve başka bilinmeyen bileşimler gibi ekstrasellüler matriksi içermektedir. Endotelial hücrelerin diğer hümmoral ve sellüler elementlerle birlikte insan hemopoetik hücrelerin büyüme

modülasyonunda aktif bir rol oynarlar (35). Retrovirüs ile enfekte fibroblastlar daha fazla miktarda hemopoetik büyüme faktörleri üretirler (36).

Ekstrasellüler matrikste kollajen depolanması uzun süreli hemopoesisi destekleyen fonksiyonel stromal mikrokuşatmanın etkisi için gereklidir (37). Bu nedenle kemik iliğinde çeşitli stromal elementler hemopoetik kuşatmayı oluştururlar. Ancak karaciğerde stromal elementler sınırlıdır. Özellikle karaciğer hemopoesisi ilk döneminde hemopoetik stromal hücrelerin tek adayı hepatositlerdir ve ekstrasellüler matriksin bileşimleri çok zor gözlenmiştir.

Olgunlaşmamış hepatositlerin hemopoetik hücrelerle yakın bağlantıları şeklindeki bulgular humoral faktörlerle ve / veya birbirleri ile direkt de temas kurarak hemopoetik hücrelerin diferansiyasyonunu regüle ettiklerini düşündürmektedir.

Olgunlaşmamış hepatositler ayrıca fagositik aktiviteleri ile hemopoetik hücre popülasyonunun kontrolünde de yer alabilirler. Bu fonksiyon çeşitli epitelial hücreler de dahil olmak üzere bir çok tip hücre tarafından gerçekleştirilen (asli görev dışında) fagositosis ile katagorize edilebilir (38). Fagositik aktivite doğuma doğru Kupfer hücreleri tarafından kademe olarak devir alınıyor olabilir.

Karaciğer hemopoesisi yaklaşık doğumdan sonraki 2.haftaya kadar devam eder (39). Hemopoetik hücreleri

karaciğerde kalmaya sağlayan mekanizma henüz bilinmemektedir. Eritroblastlar arasında intersellüler köprüler gözlenmiştir (34). Köprünün, telofazdaki iki kardeş hücre arasındaki intermediate (ara- orta) cisimciği şeklindeki son bir bağlantı, halkaya benzer görünümde olması muhtemeldir. Ancak köprü orta cisimciğindeki yoğun mikrotubullerin görülmemesi nedeniyle ayrılır. Köprünün ultrasütrüktürü memelilerde bilinen ve mikrotubuller olmayan tek intersellüler köprünün görüldüğü spermatogenetik hücrelerdekine benzer (40,41). Asano ve ark.'ın gözlemleri, somatik hücrelerdeki intersellüler köprüler üzerine olan ilk gözlem olabilir. Fawcett (40) benzer şekilde farklılaşmaları boyunca protoplazmik devamlılıklarını koruyan germ hücrelerine ait bir topluluk oluşturan bir tek spermatogonium öncüllerinin oluşturduğunu ileri sürmektedir. Bu düzenleme çok sayıda germ hücrelerin senkronizasyonundan sorumlu olabilir. Bazı eritroblast popülasyonları, spermatogoniumdakine benzer senkronize hücre bölünmesi örnekleri gösteriyor olabilir (34).

Kemik iliği oluşmadan önce embriyonik karaciğer en önemli hemopoetik organdır. Yetişkin karaciğerinde sabit makrofajların, Kupfer hücrelerin varlığı iyi bilinmektedir ve bu hücreler sıçan hepatik sinozoidlerinde embriyonik yaşam sürecinde de bulunurlar (42). Karaciğer filizi, fare embriyosunda 10. ve 11. günlerde görülür (4,12).

Önceki araştırmalar, 11. günde ki fare embriyolarının peritoneal kaviteleri içinde ve muhtemelen karaciğer filizi görünmeden önce ekstraembriyonik coelom içinde makrofaj öncülleri göstermiştir (43,44). İnsan karaciğerinde, hepatik hemopoëziş başında serbest non-hepatik elementlerin % 69'u gibi büyük oranda makrofajlar vardır. Mamafih, fötal karaciğer makrofajların ultrastrüktürü ve ortaya çıkma zamanı şimdiye kadar incelenmemiştir. Sasaki K.'nin bir kalitatif ve sitometrik bir çalışmasında fare karaciğer hemopoësişlerinin başlangıcında makrofajlar da dahil serbest mononükleer hücrelerin sitometrisi ve ultrastrüktürü üzerine odaklaşmıştır (45). Sonuçlar daha önce gözlenmiş vitellus kesesi makrofaj öncülleri ile karşılaştırılmıştır. Araştırmacıya göre 11 günlük embriyonun primordial karaciğeri hemen kalbin caudalinde ve serbest yüzeyin üzerinde tek sıralı peritoneal mesotelial hücreler ile döşelidir. Karaciğer primitif hepatik kordonlar gevşek anastomoze hücre şeritleri ve sinuzoidler bunların aralarında bulunur. Tek sıralı endotelial hücrelerle sıralı sinozoidler geniş olup çapları 50- 100 100 mikron arasındadır. Sinozoidler içinde görülen hücrelerin büyük çoğunluğu farklılaşmamış değişik evrelerinde bulunan primitif eritroblastlardır.

Ayrıca çeşitli inklüzyon ve vakuoller içeren iki çeşit serbest mononükleer hücre tipi sinozoidler içinde görülmüştür. Bunların birinci şekli sirküler veya elip-

tik şekilli, kısa ekseni 9-19 mikron, uzun ekseni 13 mikron olup sinuzoiddeki hemopoetik hücreden daha büyüktür. Hücre yüzeyinde bir çok ince projeksiyonlar görülür. Çekirdek (soluk boyalı) eksantrik pozisyonda olup oval veya böbrek şekillidir. İnklüzyonlar yuvarlak şekilli ve yaklaşık 6 mikron büyüklüğündedir. İnklüzyonlar fagosite eritroidlerin parçalanması ile oluşan fagosomlardır. Bu nedenle birinci şekilli mononükleer hücreler olgunlaşmamış makrofaj olarak tanımlanabilir. Sinozoidler içindeki ikinci şekil mononükleer hücrelerin bir çok sitoplazmik projeksiyonları ve çok sayıda iri vakuolleri vardır (45).

Rabinowich ve ark. fare fötal karaciğeri üzerinde yaptıkları bir çalışmada (46) 14 günlük fare fötal karaciğeri'nde gerek T, gerek B hücre fonksiyonları gösterebilme yeteneğinde hücrelerin bulunduğu saptanmıştır. Öyle görünüyor ki karaciğer, timusa bağımlı bir süreç içinde T hücre serisine gelişebilme yeteneğinde olan hücreler içermektedir.

Özellikle kombine immun yetmezlik olgularında olmak üzere transplantasyon için lenfhemopoetik stem hücrelerin kaynağı olarak fötal karaciğeri kullanılabilme olasılığı nedeniyle bu hücreler değişik tipte immunolojik fonksiyonların tekrar inkişafı potansiyellerin kapsamlı analizini gerekli kılmaktadır. Bu görüşten hareketle 14 günlük fötal karaciğer kültürlerinde

veya 16-17 günlük f3tal karaciğerinde 3retilen h3crelerin g3sterilmesi, B h3crelerin f3tal karaciğerden geliştiklerini kuşkusuz g3stermektedir. Ayrıca f3tal karaciğer k3lt3rlerinde B h3cre mitojenlerine (dekstran sulfat ve lipopolisakkarit) karşı bir yanıt ve letal dozla irridiasyona tabi tutulmuş alıcılara f3tal karaciğer h3crelerin transferinden sonra spesifik antikorların 3retimini 3lç3m3 g3zlenmiştir. Daha sonraları f3tal karaciğerden deri ve h3crelerin T h3cre fonksiyonu taşıdıklarına dair işaretler bildirilmiştir (47).

Ö Z E T

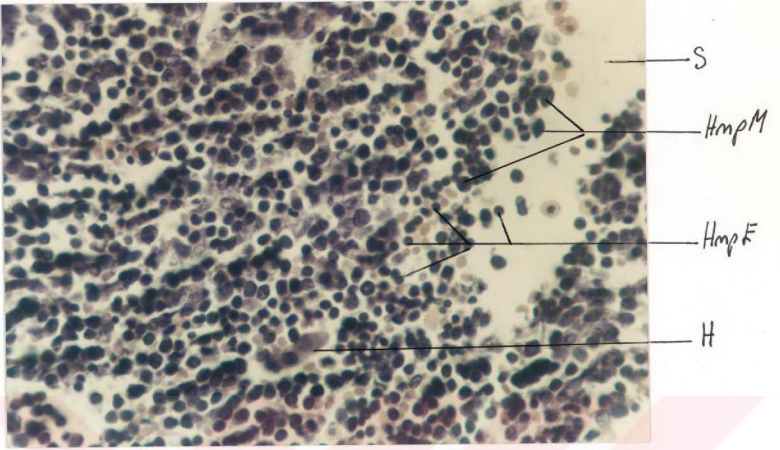
Gebeliğin 11.- 19. günlerindeki fare embriyolarından elde edilen karaciğer doku kesitleri ışık mikroskobu altında incelendiğinde saptanan en önemli bulgu hepatosit / hemopoetik hücre oranının gebeliğin ilerlemesi ile birlikte hepatosit lehine değişmesidir. Hemopoesisin başlangıcında hepatositler yapı ve yerleşim açısından hemopoetik organın stromal hücrelerine benzemektedirler.

Gözlemlerimiz ileri elektron mikroskobik ve immunohistolojik tekniklerin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

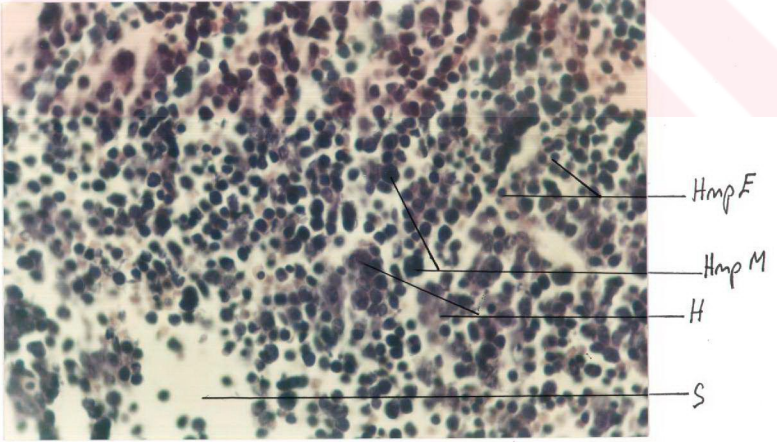
Resimlerdeki Kısaltmalar

- Hmp : Hemopoetik hücreler
HmpE : Eritroid seriye ait hemopoetik hücreler
HmpM : Myeloid seriye ait hemopoetik hücreler
H : Hepatosit
S : Sinuzoid
E : Endotel hücresi
M : Mezotel hücresi
P : Pigmentasyon
Sk : Safra kanal
Va : Vakuol
Mgk : Megakaryosit
Vc : Vena centralis

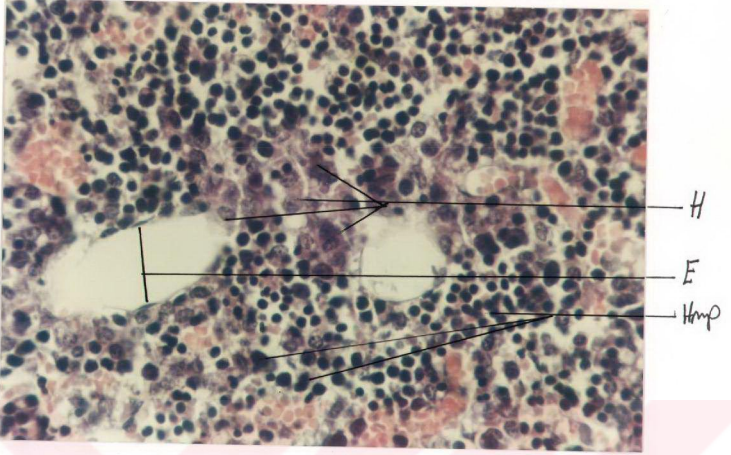
R E S İ M L E R



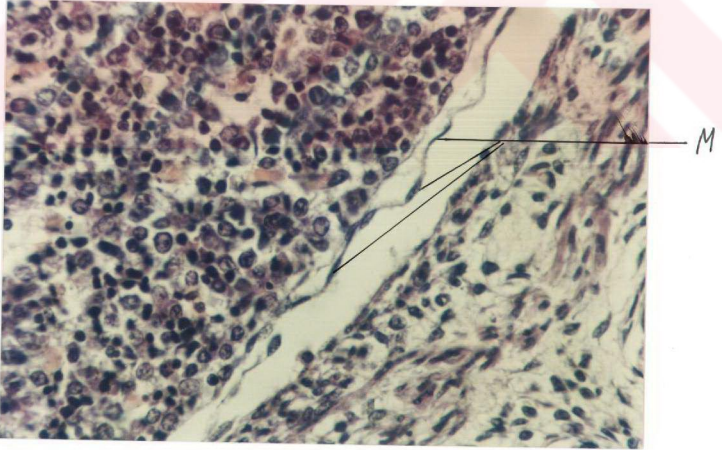
Resim 1 : 11 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya: Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 440 x



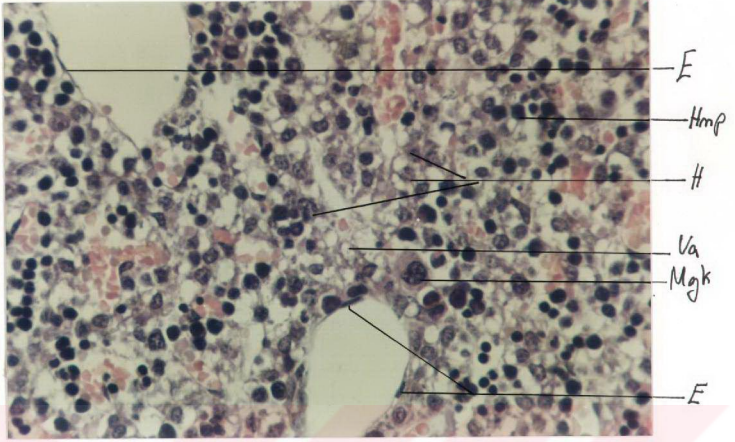
Resim 2 : 11 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 440 x



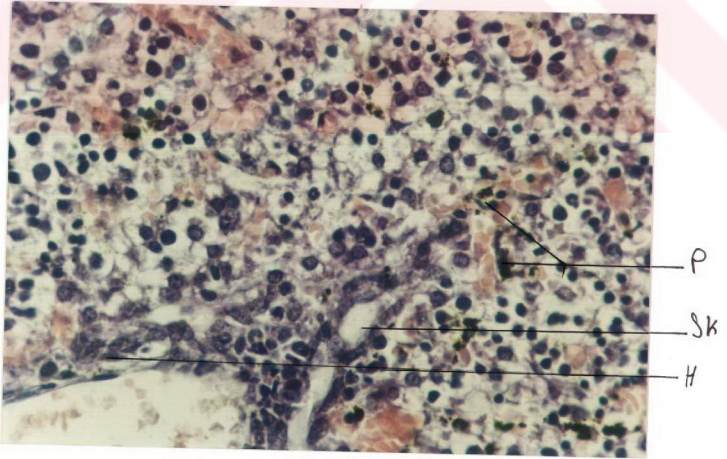
Resim 3 : 13 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : hematoksilin ve Eozin
Büyütme : 440 x



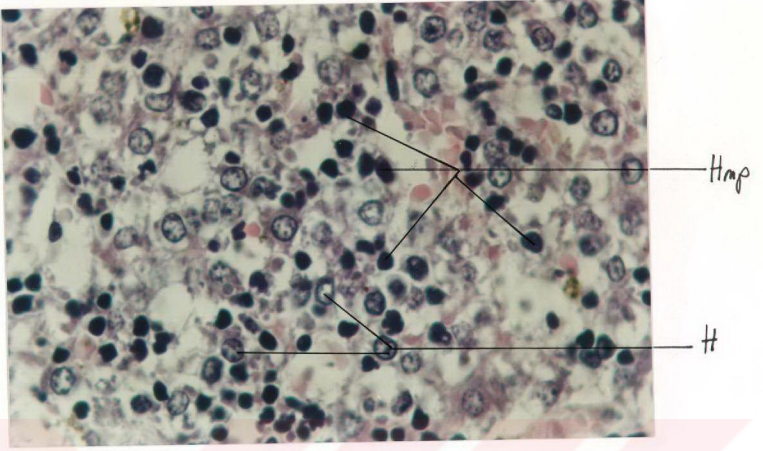
Resim 4 : 13 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilin ve Eosin
Büyütme : 440 x



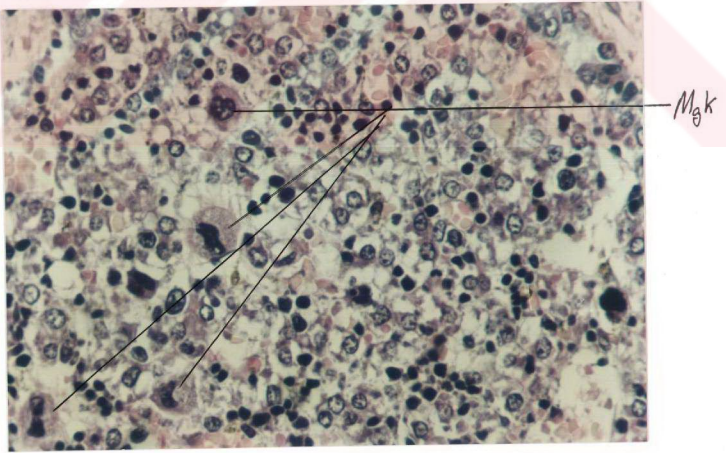
Resim 5 : 15 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eosin
Büyütme : 440 x



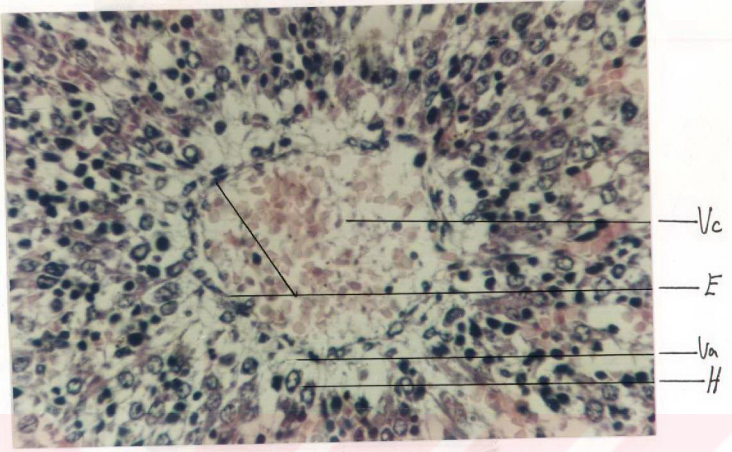
Resim 6 : 16 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 440 x



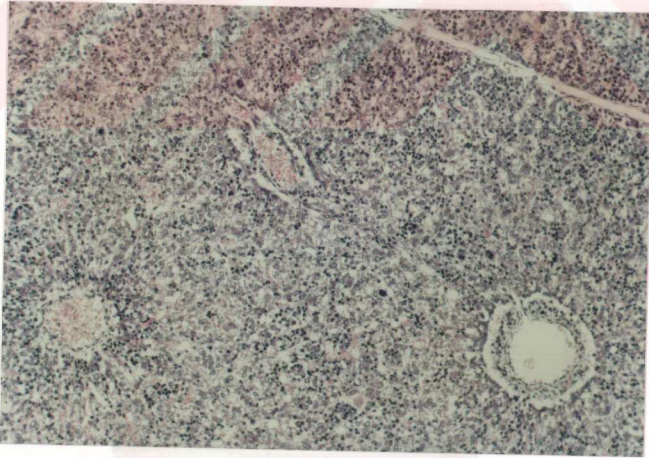
Resim 7 : 19 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 693 x



Resim 8 : 19 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 440 x



Resim 9 : 19 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 440 x



Resim 10 : 19 günlük fare embriyosuna ait karaciğer doku kesiti, Boya : Hematoksilen ve Eozin
Büyütme : 11 x

K A Y N A K L A R

- 1- Erkoçak A. : Genel Histoloji, 3. baskı, Ankara Üniversitesi basımevi- 1980, s. 193-4
- 2- Wolf NS : Clin. Haemat. 8, 469, 1979.
- 3- Tavassoli M : Exp. Haematol., 3, 213, 1975.
- 2 ve 3 no'lu kaynaklar (Asano H. ve ark. : The Hemopoetic Microenvironment in the Fetal Liver of Mice : Relationship between Developing Hepatosites and erythroblasts, J. Electron. Microsc., 36, 1/2, 15-25,1987) den alınmıştır.
- 4- Weiss L, Sakai H : The hematopoetik Stroma, Am.J.Anatomy, 170 : 447-463, 1984.
- 5- Curry J.D., Trentin JJ and Wolf NS : J.Exp.Med. 125, 703, 1967.
- 6- Chen LT and Weiss L : Blood 46, 389, 1975.
- 5 ve 6 no'lu kaynaklar Asano ve ark.ların yukarıdaki çalışmalarından alınmıştır.
- 7- Gospodarowicz D : Extracelular matrix and control of proliferation of vascular endothelial cells, J.Clin. Invest. 65 : 13551, 1980.
- 8- Gospodarowicz D, Delagado D, Vlodaysky I : Penmissive effect of the extracellular matrix on cell proliferation in vitro Proc. Natl. Acad. Sci USA 77 :4094, 1980.
- 9- Majack RA, Cook SC, Bernstein P : Control of smooth muscle cell growth by components of the extracellular matrix : Autocrine role for trombospondin, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 83: 9050, 1986.

- 10- Rojkind M et al : Connective tissue biomatrix : Its isolation and utilization for long- term cultures of normal rat hepatocytes, J.Cell Biol., 87:255,1980.
- 11- Wicha MS et al : Extracellular matrix promotes mammary epithelial growth and differentiation in vitro Proc. Natr. Acad. Sci. USA 79: 3213, 1982.
- 12- Duband JL et al: Cell adhesion and migration in the early vertebrate embryo: location and possible rol of the putative fibronectin receptor complex J Cell Biol 102 : 160, 1986.
- 13- O'Shea KS, Dixit VM : Unique distribution of the extracellular matrix component thrombospondin in the developing mouse embryo J Cell Biol, 107:2737,1988.
- 14- Soloursh M, Lane MC : Extracellular matrix triggers a directed cell migratory response in sea urchin primary mesenchimal cells Dev. Biol. 130:397, 1988.
- 15- Le Douarin MD : Cell migrations in embryos, Cell 82(2), 353-360, 1984.
- 16- Le Douarin MD : Ontogeny of haemopoetic organs studied in avian embryos interspecific chimeras. In differantiation of normal and neoplastic hemopoetic cells. Cold Spring Harbor Symposium Cold Spring Harbor, New York pp 5-31 (yukarıdaki kaynaktan alınmıştır).
- 17- Joteraeau et al: Lymphoid stem cells homing in early thymic primordium of the avian embryo,Eur, J, Immunol. 10, 620-7, 1980.

- 18- Wolf NS, Trentin JJ : Hemopoetic colony studies V.
Effects of hemopoetic organ stroma on differantiation
of pluripotent stem cells J Exp.Med. 127-205, 1968.
- 19- Peters C et al : Total expression of hemonectin :
An extracellular matrix hemopoetic cytoadhesion
molecule, Blood 75(2), 357-364, 1990.
- 20- Camphell A et al : Extracellular matrix promotes
the growth and differantiation of murine hematopoetic
cells in vitro J.Clin. Invest. 75: 2085, 1985.
- 21- Medlock ES and Hear JL: Anat Rec., 207, 31, 1983
(Asano ve ark., yukarıdaki çalışmalarından alınmıştır).
- 22- Umar H., Pabuçcuoğlu H.U., Ince Ü., Falakalı S.:
Mikro Elektromagnetik Dalgaların Histotekniğe
Uygulanması, Ege Ü.Tıp Fak.Dergisi 28,4,1773-1780,1989.
- 23- Haar JL and Ackermann GA: A phase and electron
microscopic study of vasculogenesis and eritropoesis
in the Yolk sac of the mouse Anatomical Record 170,
199-224, 1971.
- 24- Sasaki K and Kendall MD: The morphology of the
hemopoetic cells of the yolk sac in mice with
particular reference to nucleolar changes Journal
of Anatomy 140, 278-295, 1985.
- 25- Rijkind RA, Chui D and Epler H : An ultrastructural
study of early morphogenetic events during the
establishment of fetal hepatic erythropoesis
J.Cell Biol. 40, 343-365, 1969.

- 26- Moore MA and Johnson GR : Hemopoetic stem cells during embryonic development and growth in stem cells of renewing cell populations (ed AB Caire PK, Lala and DG.Osmond) pp 323-330, New York, Academic press (Sasaki K ve Matsumura G'nin 33 no'lu çalışmalarından alınmıştır.
- 27- Sorenson GD: An electron microscopic study of hematopoiesis in the liver of the fetal rabbit Am.J. Anatomy 106, 27-40, 1960.
- 28- Jones RD: Ultrastructural analysis of hepatic hematopoiesis in the foetal mouse Journal of Anatomy 107, 301-314, 1970.
- 29- Silini G : Studies on the hemopoetic stem cells of mouse foetal liver, Journal of Embryology and experimental Morphology 17, 303-318, 1967.
- 30- Fukuda T: Fetal hemopoiesis I Electron microscopic studies of human Yolk sac hemopoiesis Virchows Archiv B, 14, 197-213, 1973.
- 31- Tiedemann K : On the yolk sac of the cat II Erythropoetic phases, ultrastructure of aging primitive erythroblasts and blood vessels, Cell and Tissue Research 183, 71-89, 1977.
- 32- Haynes MJ, Tricet G ve Verwilghen RL: Autophagy of mitochondria in rat bone marrow eritroid cells. Relation to nuclear extrusion Cell and Tissue Research 239, 235-9, 1985.

- 33- Sasaki K ve Matsumara G: Hemopoetic cells of Yolk sac and liver in the mouse embryo: a light and electron microscopical study Journal of Anatomy 148, 87-97, 1986.
- 34- Asano H., Kabayashi M ve Hoshino T: The hemopoetic microenvirement in the foetal liver of mice : Relationship between developing hepatocyts and erythroblasts Journal of Electron Microscopy 36, 1/2, 15-25, 1987.
- 35- Ascensao JI, Vercellati GM, Jacob HS ve Zandjani EI: Blood, 63, 553, 1984.
- 36- Kourry MJ ve Prognell IB: Nature 299,638, 1982.
- 37- zuckermann KS, et al: J Clin. Investig. 75,970, 1985.
- 38- Kobayashi M et Hoshino T: Arch. Histol.Jpn.46, 479, 1983.
- 39- Grossi CE et al: J Immunol 135, 2303, 1985.
- 40- Fawcett PW : Exp.Cell Res. 8, 174, 1961.
- 41- DYMM ve Fawcett DW: Biol. Repro. 4,195, 1971.
- 35- 41 no'lu kaynaklar 34 no'lu kaynaktan alınmıştır.
- 42- Carr I, Daems WT: The macrophage. A bird's eye view: New York Planum Press, 1980, 1-13, Morphology.
- 43- Sasaki K. ve Matsumara G : A semithin light microscopic study of peritoneal cells of the mouse embryo, Arch. Histol. Cytol.51: 277-83, 1988.
- 44- Sasaki K ve Matsumura G : Mononuclear cells in the extraembryonic and intraembryonic coelom of the mouse embryo : A semithin light microscopic cytometry Arch.Histol.Cytol. 52: 421-6, 1989.

- 45- Sasaki K : Two forms of mononuclear cells in sinusoids at the beginning of hepatic hemopoiesis of the mouse embryo : A qualitative and cytometric study. Acta Anatomica 139: 97-103, 1990.
- 46- Rabinowich H et al : T cell progenitors in the mouse fetal liver Transplantation 15,1, 40-47, 1982.
- 47- Stutman O : Intrathymic and extrathymic T cell maturation Immunol. Rev. 42: 138, 1978.

