

Değişik Yaş Gruplarındaki Sıçan Karaciğer Dokusunda Bağ Dokusu Liflerinin Dağılımı

U. YURDAKUL, N. Lortlar UÇANKUŞ, S. ÖMEROĞLU, M.T. HATİPOĞLU

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Çalışmada, değişik yaş gruplarındaki sıçan karaciğer dokularında bağ dokusu liflerinin varlığı ve dağılımlarının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, yenidoğan, 3 günlük, 14 günlük, 1 aylık, 2 aylık ve 6 aylık (erişkin) Wistar albino tipi sıçanlardan alınan karaciğer dokularında kollagen, retiküler ve elastik liflerin varlığı ve dağılımları, Masson trikrom, Gomori'nin gümüşleme, Weigert'in elastik lif boyama yöntemleri uygulanarak ışık mikroskopik düzeyde incelenmeye çalışıldı. Yenidoğan grubundaki karaciğer dokusunda kollagen liflere rastlanmazken, diğer gruplarda kollagen liflerin , Glisson kapsülünde, v.centralis duvarında, portal aralığa ait oluşumların çevresinde yoğun olarak buldukları görüldü. Retiküler lifler ise, Glisson kapsülünde, v.centralis duvarında, parankim hücreleri arasında ,sinüzoid duvarlarında görüldü. Weigert'in elastik lif boyama yöntemi ile tüm yaş gruplarındaki kesitlerde elastik liflere rastlanılmadı.

Anahtar Sözcükler: Karaciğer, bağ dokusu lifleri, yaş

Distribution of Connective Tissue Fibres in Glisson's Capsule and Portal Space of Rat Liver

SUMMARY

In this study we aimed that demonstration and distribution of connective tissue fibres localization in tissues of rat liver. Determination and distribution of collagen, reticular and elastic fibres were histologically determined in liver tissues of neonatal, 3-days old, 14-days old, 1-month old, 2 months old, 6-months old 6-months old Wistar albino rats by using Masson's trichrome, Gomori's silver impregnation and Weighert's elastic fibres techniques by light microscop. While there were no collagen fibres in neonatal group, collagen fibres were localized in Glisson's capsule, wall of central vein and around portal space of other groups. Reticular fibres were determined in Glisson's capsule, wall of central vein, between liver paranchyma cells (hepatocytes) and around sinuzoids. There were no elastic fibers in any groups of rat liver sections by using Weighert's staining technique.

Key Words: Liver, connective tissue fibres, age

GİRİŞ

Karaciğer, karın boşluğunda sağ üst tarafta, diyafragma ile sağ alt kostaların altında yerleşmiş, area nuda bölgesi dışında peritonla sarılı olarak bulunur. İç ve dış salgı yapar; vücudun en büyük bezidir. Periton örtüsünün altında karaciğeri tamamen saran, fibröz bağ dokudan yapılmış Glisson kapsülü sarar. Glisson kapsülünden içeri doğru uzanan Tip-I ve Tip-III kollagen lifler içeren bağ dokudan bölmeler karaciğeri lobüllere ayırır (1,2,3). Karaciğer lobülleri, ortalama 0,2x2 mm boyutlarında olup en küçük yapısal ve işlevsel birimleri oluştururlar. Bunlara klasik lobül (lobulus hepaticus) denir. lobüllerin

merkezinde yer alan v. centralislerin duvarında bulunan lifler, tip-I kollagen liflerdir (1,4,5)

Hepatositler, dar aralıklar bırakarak (perisinüzoidal aralık) ,sinüzoid tipi kapiller yapılarla birlikte v.centralisin çevresinde ışınsal olarak uzanan kordonlar yaparlar. Karaciğerde kollagen üretimiyle ilgili olarak yapılan çalışmalar; hepatositler, uydu hücreleri ve endotel hücrelerinin, normal insan karaciğerinde bulunan ekstrasellüler matriks bileşenlerinin üretiminde yer aldığını göstermektedir. Normalde tip-III ve Tip-IV kollagen sentez etmeyen hepatositler, fibroziste bu kollagenleri üretebilir duruma geçerler (6).

Komşu karaciğer lobüllerinin birleştikleri köşelerde portal aralık, portal üçgen adını verdiğimiz aralıklar oluşur. Bu aralıkta, a. hepatica'nın bir dalı, v. porta'nın bir dalı, safra kanalları, lenf damarları ve sinirler bulunur. Safra kanalının epitel hücreleri, bazal membranlarını oluşturan tip IV kollajeni üretirler.

Karaciğer sinüzoidleri, lobül kenarından vena centralise doğru kan akımı olan özel kapillerlerdir. Karaciğer hücreleri ile sinüzoidler arasında dar bir aralık (Disse aralığı) bulunur. Sinüzoid duvarı kesintisiz bir duvar yapısı değildir. Sinüzoidlerde bol miktarda tip-IV kollajen bulunur (5).

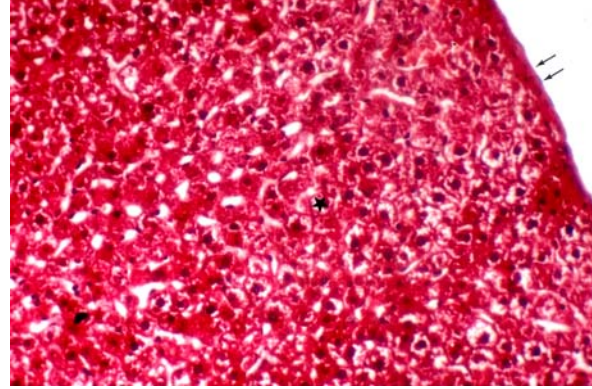
Disse aralığı, karaciğer parankim hücreleri ile sinüzoidler arasında yoğun madde geçişinin gerçekleştiği bir aralıktır. Madde geçişine uygun hücrelerarası matriks, kollajen lifleri ve retikulum liflerini içerir (7). Disse aralığında yağ depolayan hücreler (İto hücreleri) bulunur. Bu hücrelerde yağda eriyen A vitamini depolanır. İto hücreleri düşük miktarlarda tip-I, tip-III ve yüksek miktarda tip-IV kollajen salgırlar. Görüldüğü üzere yetişkin karaciğer dokusundaki bağ dokusu liflerinin dağılımına ilişkin pek çok klasik bilgi ve çalışma bulunmaktadır. Ancak değişik yaş gruplarındaki karaciğer dokusunda, bağ dokusu liflerinin varlığı ve dağılımları ile ilgili deneysel çalışmalar azdır. Bu nedenle çalışmada yenidoğan, 3 günlük, 14 günlük, 1 aylık, 2 aylık ve 6 aylık (yetişkin) dönemdeki karaciğer dokularında kollajen, retiküler ve elastik liflerin varlığı ve dağılımları histolojik olarak belirlenmeye çalışılmıştır. Bulgular, literatür verileriyle karşılıklı olarak değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

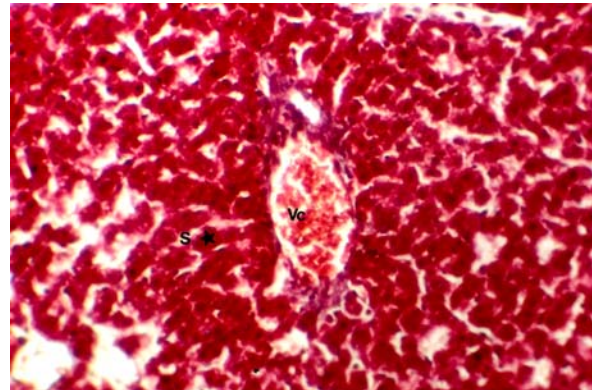
Çalışmada, 36 adet Wistar albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, yenidoğan, 3 günlük, 14 günlük, 1 aylık, 2 aylık ve 6 aylık olmak üzere 6 gruba ayrıldılar. Her bir gruptaki sıçanların karaciğer dokuları alınarak, %10'luk nötral formalinde 72 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra dokular, alışılagelmiş ışık mikroskop izleme yönteminden geçirildiler. Elde edilen paraffin bloklardan, 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere, kollajen lifleri göstermek amacıyla Masson trikrom, retiküler lifleri göstermek amacıyla Gomori'nin gümüşleme, elastik lifleri göstermek amacıyla Weigert'in elastik lif boyama yöntemleri uygulandı.

BULGULAR

Yenidoğan, 3 günlük, 14 günlük, 1 aylık, 2 aylık ve 6 aylık (erişkin) sıçanlardan alınan karaciğer dokularında, kollajen liflerin varlığını ve dağılımını göstermek amacıyla Masson trikrom boyama yöntemi uygulandı ve kollajen lifler, parlak yeşil renkte ayırt edildi.



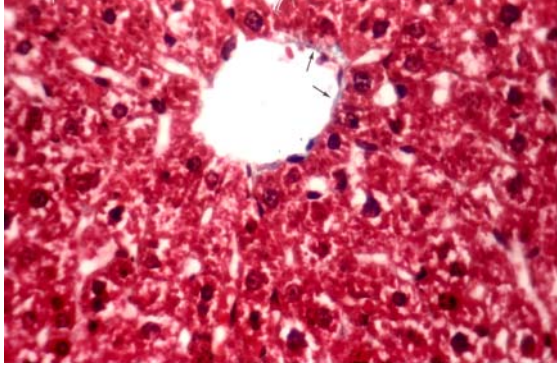
Resim 1. Yenidoğan sıçan karaciğer dokusu. Karaciğer parankim hücrelerini (*) ve sinüzoidleri kuşatan hepatik kapsül (Glisson kapsülü) (↑) görülmekte. Masson trikrom X 200



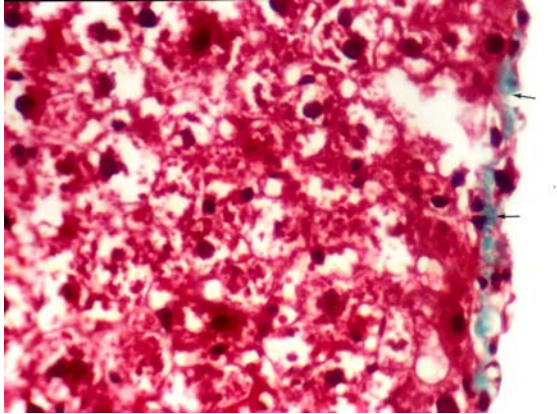
Resim 2. Yenidoğan sıçan karaciğer dokusu. V. centralis (Vc) ve çevresinde ışınlar tarzında düzenlenim gösteren hepatositler (*) ve aralarda sinüzoidler (S) izleniyor. Masson trikrom X 200

Yenidoğan sıçan karaciğer dokusunu çevreleyen hepatik kapsülde, v.centralis duvarında, karaciğer parankim hücreleri arasında, sinüzoid duvarlarında kollajen liflere raslanılmadı. (Resim 1,2) Kollajen lifler, 3 günlük grupta v.centralis duvarında ince, tek sıra halinde uzanırken, 14 günlük grupta 3 günlük gruba göre daha belirgin olarak v.centralis duvarında ve hepatik kapsülde dikkati çekti. 1 aylık grupta, v.centralis duvarında kesintisiz şekilde devam eden kollajen liflerin bulunduğu görüldü. 2 aylık grupta, v.centralise ait endotel tabakası altındaki kollajen liflerin birbirleriyle bağlantılar kuran, daha kalın lif demetleri oluşturduğu görüldü. 6 aylık grupta, kollajen lifler, erişkin karaciğer dokusu ile

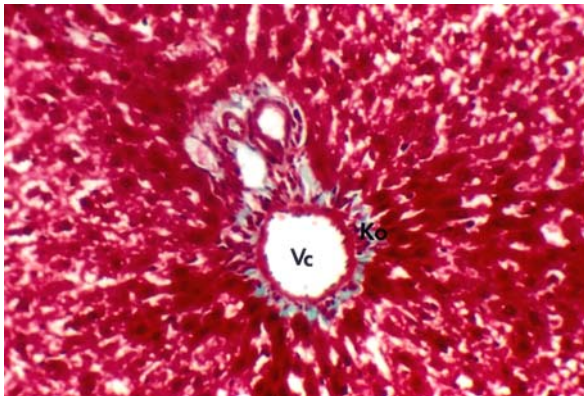
uyumlu olarak, Glisson kapsülü ve v. centralis duvarında belirgin bir kat halinde gözlemlendi. Kollagen lif demetlerinin kalınlığının yaşla orantılı olarak arttığı saptandı.



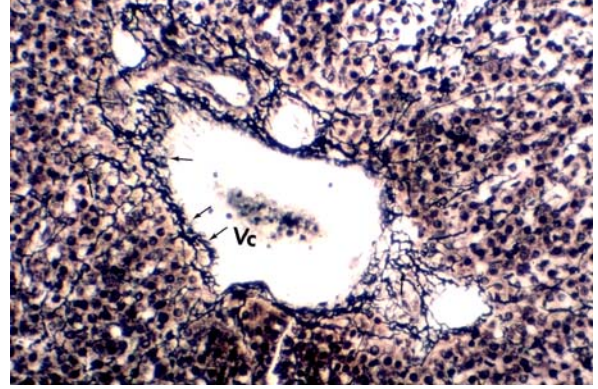
Resim 3. 3 günlük sıçan karaciğer dokusu. V. centralis (Vc) duvarında tek sıra, ince kollagen lifler (↑) görülmekte. Masson trikrom X 200



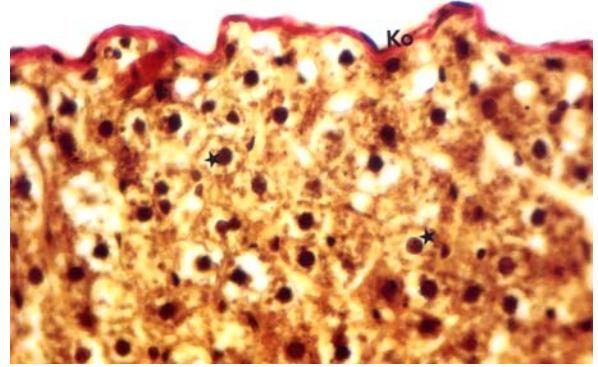
Resim 4. 14 günlük sıçan karaciğer dokusu. Karaciğer parankim hücreleri ve sinüzoidleri çevreleyen Glisson kapsülündeki ince kollagen lif demetleri (↑) görülmekte. Masson trikrom X 200



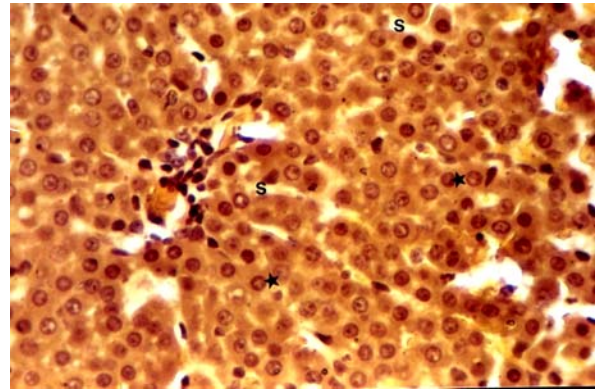
Resim 5. 1 aylık sıçan karaciğer dokusu. V. centralis (Vc) ve ona komşu damarların duvarındaki kollagen lifler (Ko) görülmekte. Masson trikrom X100



Resim 6. 14 günlük sıçan karaciğer dokusu. V. centralis (Vc) çevresinde ve parankim hücreleri arasındaki retiküler lifler (↑) görülmekte. Gümüşleme X 200



Resim 7. 3 günlük sıçan karaciğer dokusu. Karaciğer dokusunu çevreleyen hepatik kapsülde kollagen lifler (Ko) görülmekte, elastik lifler ayırt edilememekte. Karaciğer parankim hücreleri, yuvarlak çekirdekleriyle seçilmekte (*). Weigert's elastik boyası X 400



Resim 8. 2 aylık karaciğer dokusu. Karaciğer parankim hücreleri yuvarlak çekirdekleriyle seçilmekte (*). Ancak sinüzoid duvarlarında (S) elastik liflere rastlanılmadı. Weigert's elastik boyası X400.

Gomori'nin gümüşleme yöntemi ile, tüm yaş gruplarındaki ve erişkin sıçan karaciğer dokusundaki retiküler (tip-3 kollagen lifler) liflerin koyu siyah renkte, Glisson kapsülünde, v.centralis duvarında, karaciğer parankim hücreleri arasında birbirleriyle anastomoz yapan üç boyutlu bir ağ yapısı oluşturdukları görüldü. Retiküler lif yapısının da kollagen lifler gibi, bu oluşumlar çevresinde yaşla doğru orantılı olarak artan yoğunlukta olduğu dikkati çekti.

Elastik lifleri göstermek için uygulanan Weigert's elastik lif boyama yöntemi ile elastik lifler kahverengi, kollagen lifler kırmızı, hücre çekirdekleri siyah kahverengi, diğer oluşumlar sarı renkte boyandılar. Bizim çalışmamızda, değişik yaş gruplarına ait sıçan karaciğer dokularında elastik liflere rastlanılmadı.

TARTIŞMA

Karaciğeri çevreleyen bağ dokudan kapsül ve bu kapsülün oluşturduğu lob ve lobülleri saran septalar, kollagen lifler içermektedir. Ayrıca Glisson kapsülü, v. centralis duvarı ve portal aralığa ait oluşumlarda da kollagen lifler vardır (1).

1988 yılında, Ohtani ve arkadaşları, insan ve sıçan karaciğerinin lif yapısı ile ilgili olarak yaptıkları çalışmalarda, normal insan karaciğerinde yaş doku ağırlığının bir gramında 12.4 mg kollagen lif bulunduğunu, buna karşılık sıçan karaciğerinin bir gramında ise 1.3 mg kollagen lif bulunduğunu saptamışlardır. Ayrıca insan Glisson kapsülündeki kollagen lif tabakasının (70-100 mm kalınlıkta), sıçan karaciğeri Glisson kapsülündeki (5 mm kalınlığından az) kollagen lif tabakasından daha kalın olduğu görülmüştür. İnsanda ve sıçanda Glisson kapsülünden, hepatik lobüllere uzanan kollagen liflerin yoğunluğunun arttığını, v. centralis ve sublobüler venlerin kollagen liflerden oluşmuş bir kılıf ile sarıldığını, Disse aralığında ise demetler halinde kollagen liflerin bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu liflerin sadece mekanik desteklik oluşturmadığını, hepatositler için de bir mikroçevre oluşturabileceğini savunmuşlardır (8).

Clement ve arkadaşları normal ve alkolik insan karaciğerinde tip- I, tip-III, tip-IV kollagen ve fibronektinin ışık ve elektron mikroskopunda indirekt immünperoksidad boyama yöntemiyle yerini saptamaya çalışmışlardır. Çalışmada normal karaciğerde,

kollagen lif demetlerinin birçoğu tip- III kollagen antikoları ile boyanırken; çok azı, tip-I kollagen antikoları ile tepkime vermiştir. Tip-IV kollagen antikoları ile boyanan bazal membranlar, sinüzoidlerde kesintili tutulum gösterirler. İntrasellüler düzeyde, hepatositlerin az miktarda tip-I kollagen ve endotel hücrelerinin de çok miktarda fibronektin, yine az miktarda tip-I, tip-III ve tip-IV kollagen içerdikleri gösterilmiştir. Alkoliklerde karaciğer dokusunda ise normal karaciğer dokusuna göre, tip- I, tip- III , tip-IV kollagen ve fibronektinin artmış miktarlarda olduğu görülmüştür. Fibroziste, yağ depolayan hücrelerde daha yoğun olarak tip-III, hepatositlerde ise tip-IV kollagenin varlığı gösterilmiştir. Bu çalışma; hepatositler, yağ depolayan hücreler ve endotel hücrelerinin normal insan karaciğerinde hücrelerarası madde üretiminde yer aldığını göstermektedir. Normalde tip-III ve tip-IV kollagen sentez etmeyen hepatositler ise fibroziste bu kollagenleri üretebilmektedirler (6). Fibrotik insan karaciğer dokusunda, portal damarların çevresinde az miktarda elastik liflere rastlanır (9). Çalışmamızda erişkin ve değişik yaş gruplarındaki sıçanlarda karaciğer dokusuna ait oluşumlarda, kollagen liflerin varlığı ve lokalizasyonları gösterilmiştir. Masson trikrom boyama yöntemi ile değişik yaş grupları ve yetişkin sıçan karaciğer dokusunu incelendiğinde, yenidoğan grubu dışındaki gruplarda kollagen liflerin Glisson kapsülünde, v.centralis duvarında, portal aralığa ait oluşumların çevresinde bulunduğu saptandı. Ancak, immunohistokimyasal yöntemler uygulanarak değişik yaş gruplarındaki sıçan karaciğer dokularında, yerleşim bölgelerine göre kollagen liflerin ayrımlanması yapılmamıştır.

Tip-I kollagen, sinüzoidal duvar boyunca, karaciğer kapsülünde, portal stromada ve Disse aralığında saptanmıştır. Kollagen liflerin dallanma noktalarında yoğun olarak bulunan kollagen liflerin, tip-I kollagen lifler olduğu gösterilmiştir. Tip-IV kollagen, duktal, nöral ve vasküler yapılara ait tüm bazal membranlarda bulunmaktadır. Ek olarak tip-IV kollagenin küçük, farklı, devamsız birikintileri sinüzoidin tüm uzunluğu boyunca izlenmiştir. Lamininin ve tip-IV kollagenin, sinüzoidal duvar dışında, tüm bazal membranlarda dağılmış olduğu saptanmıştır (10).

Bir başka çalışmada Gomori'nin retiküler lif boyaması yöntemiyle, hepatosellüler kanserlerde karaciğer dokusundaki retiküler liflerin arttığı

izlenmiştir(11). Retiküler lifler, Tip-III kollagen liflerdir ve ışık mikroskopunda gümüşleme yöntemiyle siyah renkte izlenirler. Diğer doku ve organlarda olduğu gibi karaciğerde de yapısal destek ve elastikiyeti sağlamak amacıyla bulunurlar. Çalışmamızda Gomori'nin gümüşleme yöntemiyle değişik yaş grupları ve yetişkin sıçan karaciğer dokusunu incelediğimizde, retiküler liflerin yoğun olarak Glisson kapsülünde, v. centralis duvarında ve karaciğer parankim hücreleri ile sinüzoidlerin çevresinde bulduklarını ve v. centralis çevresinde birbirleriyle anastomozlaşan üç boyutlu bir ağ yapısı oluşturduklarını saptadık.

Yoshikova ve arkadaşları, konjenital hepatik fibrozis olgularında periportal bölgelerle ve v. centralis bölgelerinin bağ dokusu ile birleştiğini göstermişlerdir. Portal aralıkta, safra kanalı ve damarların etrafında, lobül çevresindeki dallanma noktalarında, v. centralisin çevresinde, sinüzoidlerin duvarında tip-I kollagen liflerin varlığı gösterilmiştir. Portal aralıkta v. centraliste, sinüzoidler çevresinde üç boyutlu kollagen lif ağı izlenmiş, tip-IV kollagenin, sinüzoidlerin dış duvarında yoğunlaştığı görülmüştür. Tip-III kollagenin, bazı periportal bölgelerde immünreaktivite gösterdiği saptanmıştır (5).

Sato ve arkadaşları, 2000 yılında insan sirotik karaciğerindeki lif sistemini histolojik, immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemler kullanarak göstermişlerdir. Tip-III kollagen lifler, sadece portal fibrozis bölgelerinde değil aynı zamanda sinüzoid duvarında da saptanmıştır. Ama elastik sistem lifleri sinüzoid duvarında, Disse aralığında izlenmemiştir. Elastik sistem lifleri oksitalan, elaunin lifleri içerir. Elastik lifler, hem akut hem de kronik hepatitlerde portal damarların çevresinde az miktarda izlenmiştir. Anormal oksitalan lifleri, dalga benzeri miyofibril yığınları gibi görülür ve düzensiz yerleşimleri

vardır. Anormal elaunin lifleri ise çok miktarda spiral kollagenler arasında serpiştirilmiş olarak bulunur. Bu da büyük olasılıkla oksitalan liflerin elastogenezis yolunda dejenere olduklarını gösterir. Böylece fibrotik karaciğerde normal elaunin ve elastik liflerin sentezlenmediği veya sentezlenen bu liflerin oranının dejenere oksitalan liflerin etkisiyle az olduğu düşünülmüştür (12).

Porto ve arkadaşları, insan karaciğerinin elastik lif dağılımını Habeş maymunu ve farelerle karşılaştıran çalışmalarında, insan ve Habeş maymununda karaciğerdeki elastik liflerin ince ve sayı olarak az olduğu, farelerde ise elastik liflerin daha kalın ve sayıca fazla olduğu görülmüş, her üç grupta da elastik liflerin portal alan ve hepatik venlerde yerleşim gösterdiği saptanmıştır (13). Çalışmamızda değişik yaş gruplarındaki karaciğer dokusuna ait elastik lifleri gösterebilmek için Weigert'in elastik lif boyama yöntemini kullandık. Bu boyama yöntemi ile elastik lifler kahverengi, kollagen lifler kırmızı, hücre çekirdekleri siyahtan kahverengiye değişen renkte, diğer oluşumlar sarı renkte boyanmaktadır. Ancak çalışmamızda tüm yaş gruplarında Glisson kapsülünde, v. centralis çevresinde, parankim hücreleri ve sinüzoid duvarlarında elastik liflere rastlanmadı.

Sonuç olarak; karaciğer dokusundaki kollagen lif dağılımının ve düzenleniminin yaşa, normal ya da patolojik koşullara göre değişiklik gösterdiği söylenebilir. Ancak bu çalışmanın devamında her bir gruptaki kollagen lif dağılımının çok sayıdaki kesitte değerlendirilmesi, istatistiksel bir yorum yapılması ve kollagen liflerin alt tiplerinin immünohistokimyasal olarak ayrılması planlanmalıdır.

Yazışma Adresi: Dr. Ulviye YURDAKUL, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Dekanlık 4. Kat, Beşevler 06500, ANKARA
e-posta:doctornese@yahoo.com

KAYNAKLAR

1. Aktümsek, A.: Anatomi ve Fiziyojoloji, 2. Baskı, 366-370, Nobel Yayınları, İstanbul, 2004
2. Birvar K., Dergün Ç.:Topoğrafik Anatomi, 1. Baskı, 185-190, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 1989
3. Blackburne L. H., Antev J., Moore C.: Anatomi (Çev.), 3. Baskı, 242-246, Palme Yayıncılık, Ankara (2001)
4. Hatiboğlu M.T.: Anatomi ve Fiziyojoloji, 14. Baskı, 32-36, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2004
5. Yoshikawa H., Fukuda T., Oyamada T., Yoshikawa T.: Congenital Hepatic Fibrosis in a Newborn Calf, Vet. Pathol., 39, 143-145, 2002
6. Clement B., Grimaud J. A., Champion J. P., Deugner Y., Guillouzo A.: Cell Types Involved in Collagen and Fibronectin Production in Normal and Fibrotic Human Liver, Hepatology, 6, 225-234, 1986

7. Junquera L. C., Carneiro J., Kelley R.O.: Temel Histoloji, (Çev.), 93-102, 307-319, Barış Kitabevi, Ankara, 1998
8. Ohtani O : Three-Dimensional Organization of the Collagen Fibrillar Framework of the Human and Rat Livers, Arch. Histol. Cytol., 51, 473-488, 1988
9. Porto L. C., Chevallier M., Guerret S., Hartmann D. J., Grimaud J. A.: Elastin in Alcoholic Liver Disease. An Immunohistochemical and Immunoelectron Microscopic Study, Pathol. Res. Pract., 186, 668-679,1990
10. Hernandez A.M.:The Hepatic Extracellular Matrix, Electron Immunohistochemical Studies in Normal Rat Liver. Laboratory Investigation, 51, 57-74 (1984)
11. Bergman S., Graeme-Cook F., Pitman M.B: The Usefulness of the Reticulin Stain in the Differential Diagnosis of Liver Noduleson Fine Needle Aspiration Biopsy Cell Block Preparations, Mod Pathol, 10, 1258-1264, 1997
12. Sato M., Kakubari M.,Kawamura M., Sugimoto J., Matsumoto K., Ishii T.: The Decrease in Total Collagen Fibers in the Liver by Hepatocyte Growth factor after Formation of Cirrhosis Induced by Thioacetamide, Biochemical Pharmacology, 59, 681-690, 2000
13. Porto L.C., Chevallier M., Peyrol S., Guerret S., Grimaud J. A.:Elastin in Human; Baboon and Mouse Liver: An Immunohistochemical and Immunoelectron Microscopic Study, Anat. Rec., 228, 392-404, 1990.