

İNSAN FÖTUSUNDA TİMUSUN IŞIK MİKROSKOBİK SEVİYEDE ÇEŞİTLİ BOYALAR YAPILARAK HİSTOLOJİK YAPISININ İNCELENMESİ

Bio. Safiye SAYAR*, Dr. Aydan CANBİLEN*, Dr. Refik SOYLU*, Dr. Fatih DEMİRBAŞ**,
Dr. Selçuk DUMAN*, Dr. Mustafa BÜYÜKMUMCU***

* S.Ü.T.F.Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı, **Sağlık Müdürlüğü Sağlık Ocakları Şube Müdürlüğü
*** S.Ü.T.F. Anatomi Anabilim Dalı

ÖZET

İnsan fötusunda timusun ışık mikroskopik seviyede çeşitli boyalar yapılarak histolojik yapısının incelenmesi.

Histolojik olarak timus lenforetiküler bir yapıya sahiptir. Yeni doğanda nispeten büyük olan timus insanlarda iki, üç yaşına kadar büyümeye devam eder. Timus puberteye kadar bu büyüklüğünü korur. T lenfositlerin olgunlaşma yeridir.

Bu araştırma timusun histolojik yapısının incelenmesi amacıyla yapıldı.

Bu çalışmada toplam 15 adet, 4., 5., 6., aylık insan fötüslerinin timusu alındı.

Histolojik preparatlarda kemik iliği ana hücreleri, plazma hücreleri, mast hücreleri ve eosinofilik lökositlerin varlığı gözlemlendi.

Sonuç olarak sekresyon yapan hücrelerin yapısı görevlerinin tam olarak anlaşılabilmesi için ise immunohistokimyasal çalışmaların tekrar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Timus, insan, fetus.

GİRİŞ

İnsan timusu 2 lobdan oluşur ve bu loblar orta çizgi üzerinde birbirlerine bağ dokusu ile bağlanır. Dıştan yoğun bağ dokusu yapısındaki kapsül ile sınırlanmıştır. Lobu kuşatan kapsülden içeriye uzanan

SUMMARY

A Light Microscopic Investigation of Fetal Human Thymus with Different Stains.

Thymus has a lenforeticular structure. Thymus is bigger in newborn and goes on to grove until 2-3 years old. It keeps this size until puberty. Thymus is the maturation place of T lymphocytes.

This investigation was made to examine the histological structure of thymus.

In this investigation fifteen human fetus thymus were examined from fourth, fifth and sixth months.

In histological slides, the existence of bonemarrow stem cells, plasma cells, mast cells and eosinophil leucocytes were observed.

Nevertheless, to reveal the structure and function of secretion cells the immunohistochemical studies must be repeated.

Key Words: Thymus, human, fetus.

septumlar en iç bölüme kadar uzanmadığından lobüller bağ dokusu ile tam olarak birbirinden ayrılmamaktadır. Her lobcuk çevrede küçük lenfosit ihtiva eden korteks ile bu kısma nazaran daha az lenfosit ve çeşitli hücreleri bulunduran medüller sa-

hadan ibarettir. Korteks lenfositlerden oldukça zengindir. Bu hücreler yuvarlak, sınırları belirgin, büyük çekirdekli ve az sitoplazmalıdır. Timus kapillerleri penceresiz (nonfenestrated) endotel hücreleriyle çevrelenmiştir. Endotel hücreleri kalın bir bazal lamina üzerine yaslanmıştır. Endotel hücrelerinin ince uzantıları bazal laminayı geçip epitelyal retiküler hücrelerle ilişki kurarlar. Korteksteki damarlar epitelyal retiküler hücrelerden oluşmuş bir kılıf ile çevrelenerek kan - timus bariyerini (blood-thymus barrier) oluştururlar. Kan - timus bariyeri, perisitler, retiküler hücreler, retiküler hücrelerin bazal laminası, kapiller endoteli ve endotelin bazal laminasından oluşmuştur. Bu engel kanda dolaşan antijenlerin timus korteksine girişini önleyerek kortekste farklılaşmakta olan T lenfositlerini antijenlerin etkisinden korur. Medullada kan-timus bariyeri yoktur. Epitelyal retiküler hücre engeli beyindeki glia hücre engeline benzer. Medullada timusun tanınmasına yardımcı olan karakteristik yapı Hassal korpüsküleri bulunur. Hassal korpüskülü soğan zarına benzer şekilde konsantrik olarak yerleşmiş epitelyal retiküler hücre topluluğudur. Korteks medulla kavşağında ve septumlarda plazma hücreleri vardır. ayrıca kapsül ve septumlarda mast ve pas hücreleri bulunmaktadır (1,2,3).

Timus embriyolojik olarak endodermal kökenli 3. ve 4. yutak ceplerinin ventralinden gelişir. 10. haftada tam olarak medullanın da oluşmasıyla timus gelişimini tamamlar (4).

Dolaşım sisteminin ilk taslakları çok erken bir dönemde, endoderm ile splanknoplöro arasında damar ve kan taslaklarının aynı anda belirmesiyle oluşurlar. Bu taslaklar insanda embriyo-dışı (Ekstra embriyoner) olarak vitellüs kesesinin göbek bağı yapacak kısımlarında belirir.

Kan hücreleri ve damarlar oluşuktan sonra embiyonal dolaşım başlar. Kanın oksijenden zenginleşmesi plasentada olur ve saf arteryel kan taşıyan tek damar vena umbilicalis'dir, diğer bütün damarlar karışık veya saf venöz kan taşırlar.

Fötüs'de üst ve alt bölümlerdeki dolaşım sı-

rasında bir ayırım yapılması gereklidir. Bu dönemde en fazla arteryel kana gereksinimi olan kısım üst taraftır. Bu bölgede başın ve beynin gelişmekte olması fazla kana ihtiyaç gösterir ve arteryel kanın bu bölünüşü de üst tarafın ve başın alt tarafa oranla ne için daha fazla gelişmiş olduğunu açıklar.

İnsan embriyosunda bütün arterler karışık kan taşırlar. Embriyo kendi vücut ısısını bizzat kendisi düzenleyemez, bu işi annesi yapar ve bundan dolayı da dokuların, doğumdan sonra olduğu gibi fazla oksijen gereksinimi yoktur. Karaciğerin gelişimi diğer organlarıkiyle kıyaslanacak olursa çok hızlıdır ve doğumda karın boşluğunun yarısını kapsar. Bu durum da fetal hayatta karaciğerin en büyük hemopoetik bir organ olmasıyla ilgilidir.

Gelişimin onuncu haftasında karaciğer ağırlığı ortalama, embriyo ağırlığının % 10'u kadardır. Bu içerdiği çok sayıdaki sinusoid'ler ile fetal hayattaki hemopoetik fonksiyonundan ileri gelmektedir. Karaciğer hücreleri ile sinusoid duvarları arasında büyük hücre toplulukları görülür. Buralarda eritrosit ve lökositler yapılmaktadır. İntra-uterin hayatın beşinci ayına doğru karaciğerdeki kan yapımı en yüksek düzeye ulaşır. Bundan sonra doğuma kadar gitkiçe azalarak devam eder. Doğumda karaciğerde birkaç kan adacığına rastlanır. Fakat karaciğerin hemopoetik yeteneği gizli (latent) olarak bütün yaşam süresince devam eder (5).

MATERYAL VE METOD

Materyal: 4., 5., 6. aylara ait abort fötüsler Konya doğumevinden temin edildi. Fötüslerin yaşı CRL (Crown-Rump Length) ölçümlerine göre belirlendi (6). Histolojik analizler için 15 adet fötüs kullanıldı.

Metod : Fötüsler açılarak timuslar alındı. % 10'luk formaldehit içerisine bırakıldı. Histolojik preparatların hazırlanması için 2 gün formaldehit içerisinde bekletildi. 12 saat çeşme suyunda yıkanan timuslara S. Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında ototeknikon aletinde takip işlemi yapıldı. S.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında 6 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, Hematoksilen -

Eosin (H-E), Periyodik Asit Schiff (PAS), Toluidin Mavisi ile boyandı. Ayrıca Fuelgen reaksiyonu uygulandıktan sonra H.E. ile boyandı. Kapatma işleminden sonra preparatlar S. Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim Dalı Laboratuvarında Nikon HFX - II Işık Mikroskobu ile incelendi. Resimler fotoğraf makinası aparatı olan Nikon HFX-II ve Olympus BH2 mikroskoplarında çekildi.

BULGULAR

Timus doğumdan hemen sonra vücut ağırlığına göre gelişmesinin en üst düzeyindedir. Puberteden sonra gerilemeye başlar.

Timusa fetal hayatta, karaciğerden dolaşıma geçen ana hücreler gelerek, yeni lenfosit yapımını sürdürür. Kemik iliği kaynak oluşturur. Timusdan dolaşıma geçen T lenfositleri özel yüzey antijeni olan hücreler olarak dikkati çeker. Ancak hücreler timusu terk edip kan dolaşımına girdiklerinde farklılıklarını henüz bitirmemiş tam olgunluğa erişmemiş hücrelerdir.

Timusu terk eden lenfositler kan yoluyla diğer lenfoid organların belli bölgelerinde yoğunlaşarak top-

lanırlar ve farklılıklarını tamamlar. T lenfositlerin toplandığı bu alanlar o organların timus dependent doku bölgelerini oluşturur. Lenf düğümlerinin parakortikal bölgesi, peyer plaklarının bazı bölümleri, dalakta arteriyel kılıf gibi yerler en iyi bilinen timus dependent alanlardır.

Bu çalışmada çeşitli boyalar yapılarak mikroskopta değişik aylara ait timuslar incelendi. Kan dolaşımı yoluyla timusa gelen kemik iliği ana hücrelerinin varlığı gözlemlendi. (Resim 1).

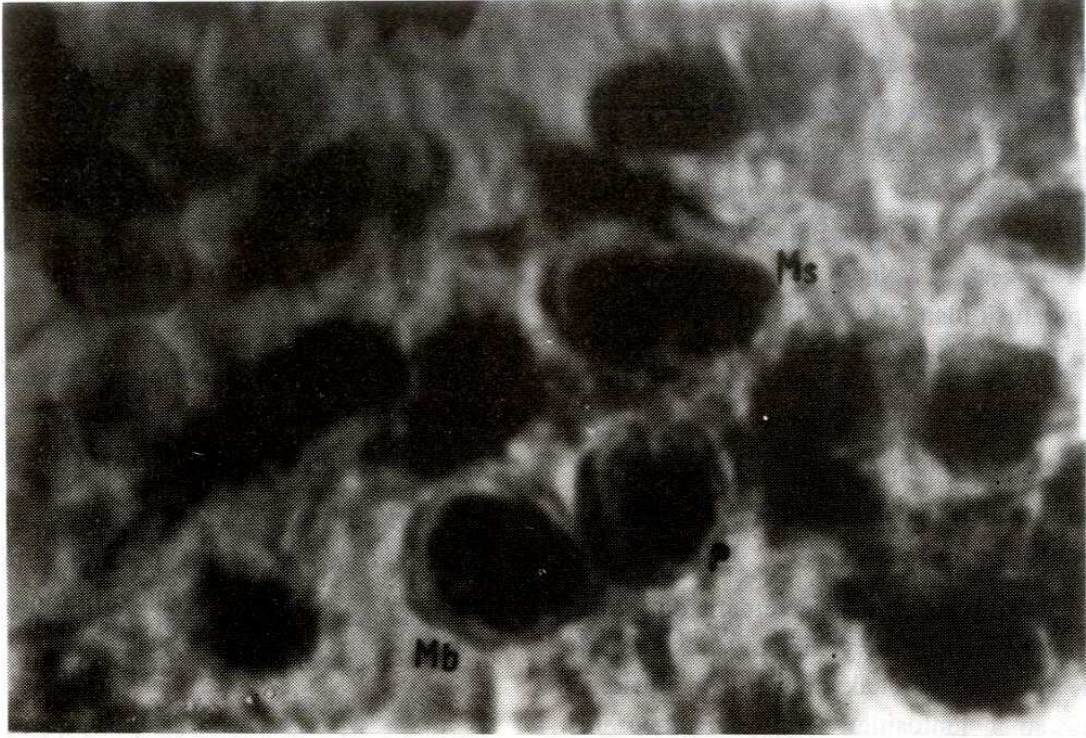
Ayrıca histolojik kesitlerde; kortikomedullar bölgede plazma hücrelerine, medullada eosinofilik lökositlere, septum ve trabeküllerde mast hücrelerine rastlandı. (Resim 2,3,4)

Medullada Hassal Korpüskülleri H.E ile parlak kırmızı renkte boyalı, olarak seçildi. Toluidin mavisi ile boyanan preparatlarda ise mavi olarak gözlemlendi. (Resim 5.)

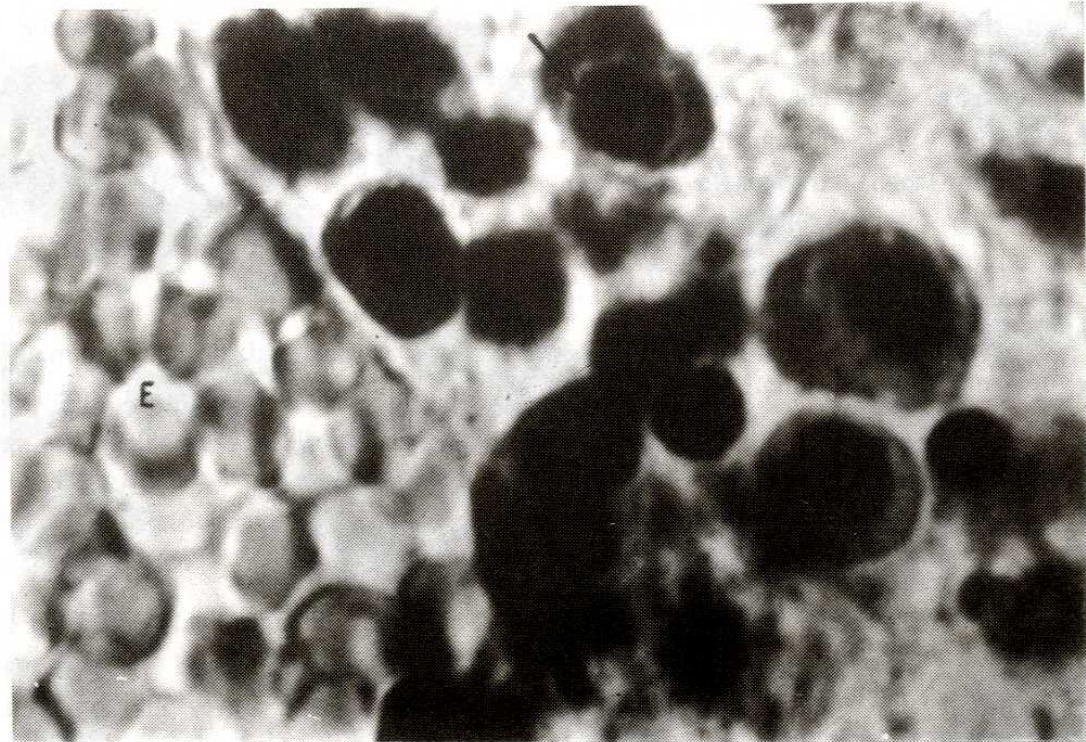
Mast hücresi granülleri bu boya ile metakromazi gösterdiğinden erguvan renginde seçildi. Granüller aynı zamanda PAS pozitifdir.



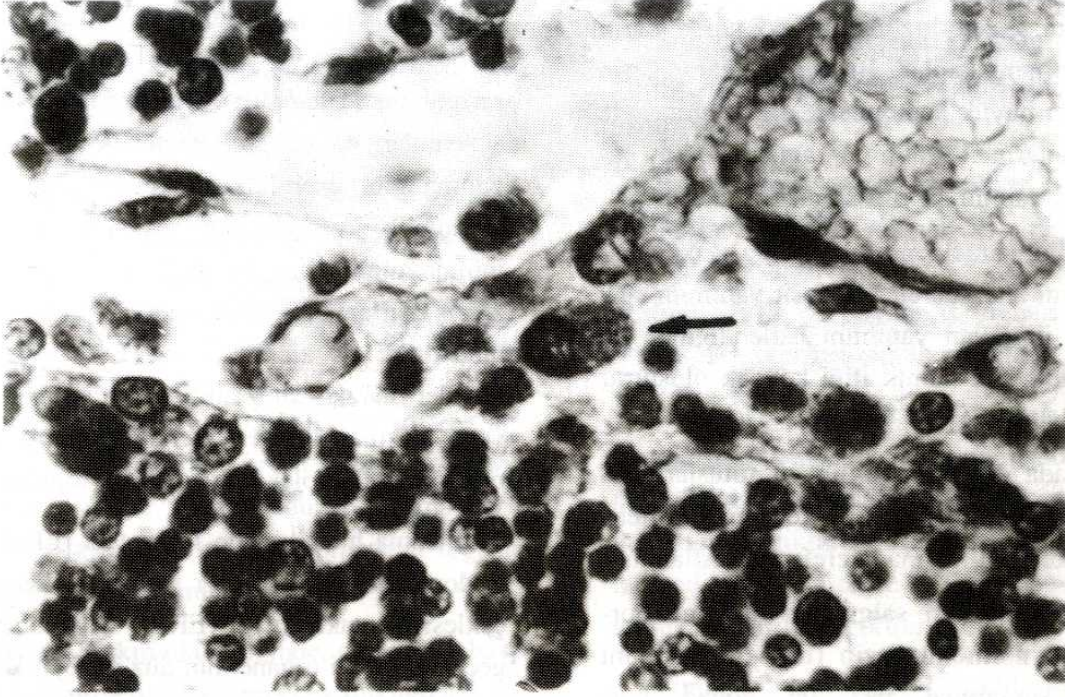
Resim 1. Medullada Megakaryosit (M) Plazma hücresi (P) Feulgen reaksiyonu + H.E. F.M.B. X 500
4 aylık fötusta



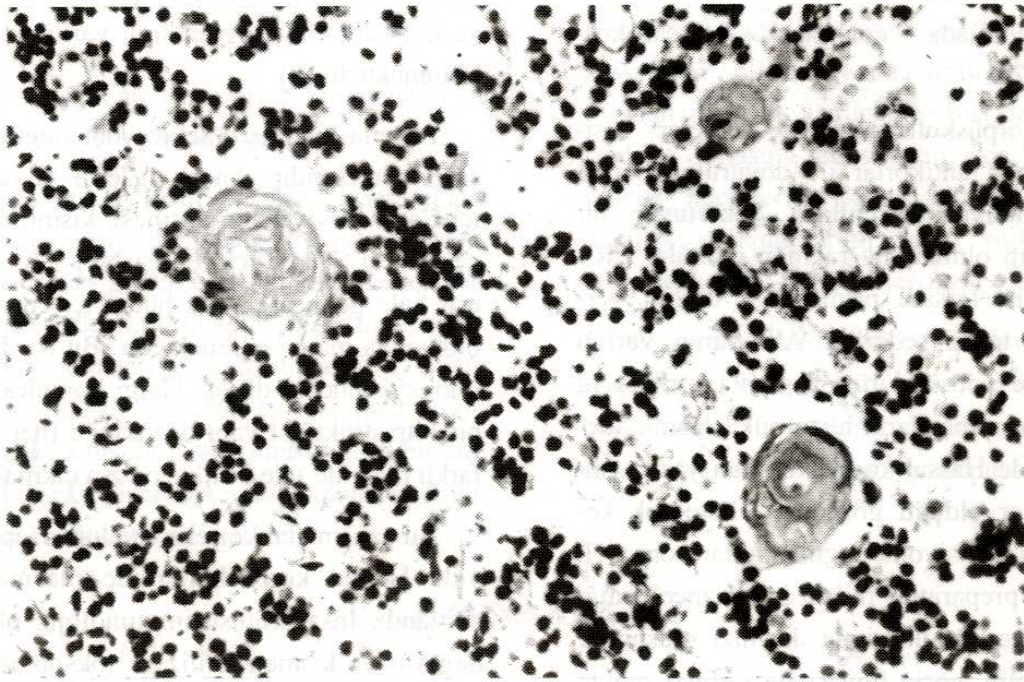
Resim 2. Mast hücresi (Ms), Plazma hücresi (P) ve Megakaryoblast (Mb) Toluidin mavisi FMB X 500
5 aylık fötusta



Resim 3. Medullada damar çevresinde plazma hücreleri. Plazma hücresinin çekirdeği etrafındaki halo (Golgi kompleksi) okla gösterildi. E:Eritrosit . Toluidin mavisi, FMB X 500, 4 aylık fötusta



Resim 4. Septumda plazma hücresi (okla gösterildi), PAS FMB X 250, 5 aylık fötusta



Resim 5. Medullada Hassal korpüskülleri, Toluidin mavisi FMB X 250, 4 aylık fötusta

TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğerin gelişimi diğer organlarla kıyaslanacak olursa çok hızlıdır ve doğumda karın boşluğunun yarısını kaplar. Bu durum karaciğerin fetal hayatta en büyük hemopoetik organ olmasıyla ilgilidir. İntrauterin hayatın 5. ayına doğru karaciğerdeki kan yapımı en yüksek düzeye ulaşır (5).

Fötal hayatta, karaciğerden dolaşıma geçerek timusa gelen yeni ana hücreler lenfosit yapımını sürdürür. Kemik iliği kan yapımını üstlendiğinde de timus lenfositleri için kemik iliği kaynak oluşturur ve bu hayat boyu sürer (7).

Bu çalışmada 4,5 ve 6, aylık ait fötusların timuslarından elde edilen histolojik kesitlerde korteks ve medullada kemik iliği ana hücrelerine rastlandı.

Hipofiz ön lobundan salgılanan büyüme hormonu ve tiroid hormonu bezin (timus) gelişimini kamçılarken, suprarenal bez ile gonad hormonlarının ise ters etki göstermesi, bu hormonların şu veya bu şekilde timusda morfofonksiyonel değişimlere sebep olması timusun iç salgı fonksiyonunun olabileceğini düşündürmüştür (8).

Timusu diğer lenfoid organlardan ayıran önemli özelliklerinden birisi de Hassal korpüsküllerinin bulunmasıdır. Medullada çok sayıda Hassal korpüskülleri görüldü.

Hassal korpüsküllerindeki hücreler sitokeratinlere karşı antikorlar ile doyurulup derive edildiğinde epitelyal kökenlidir. Sekretuar bir fonksiyona sahip olmalarına rağmen granüler ER'a sahip değildirler, tersine primer Ig'i üretim yerlerinden birini temsil ederler. Albuminin varlığı pasif bir uptake'i düşündürür. Bununla birlikte Ig içeren hücrelerin bazıları histolojik olarak değerlendirildiğinde Hassal korpüskülünün yaşam süresi boyunca var olduğu görülür(9). Histolojik kesitlerde Feulgen reaksiyonu uygulandıktan sonra, H. E. ile boyanan preparatlar mikroskopla incelendiği zaman Hassal korpüsküllerinde, kırmızı oluşumlar gözlemlendi. Albumin, eosin boyası ile kırmızı renkte boyandığından dolayı bu oluşumlar muhtemelen albumindi (10).

Vücudun immun sistemi 2 temel ögeden B lenfositleri ve T lenfositlerinden oluşur. B hücreleri, immunoglobulinler (Ig) olarak da bilinen dolaşıma katılan, humoral antikorların sentezlerinden sorumludur. T hücreleri, graft reddi, hipersensitivite reaksiyonları ve malign hücreler ile virüslere karşı savunma gibi önemli bir takım hücre aracılıklı immunolojik olaylara katılırlar. Tüm immunoglobulinler, en az 2 ağır (H) ve 2 hafif (L) zincir taşırlar. Tüm hafif zincirler kappa ve lambda tipindedirler. L zincirleri ve H zincirleri ayrı moleküller olarak sentez edilirler ve ardından B hücresi veya plazma hücreleri içerisinde tümü glikoprotein olan olgun Ig molekülleri şeklinde toplanırlar (11).

Plazma hücrelerinde Ig sentezi rER'a (ribozomal Endoplazmik Retikulum) yapışık polizomlarda gerçekleşir ve takiben Ig, rER'un sisternal boşluklarına geçerek, Golgi organelinin düz yüzeyle keselerine taşınır. Plazma hücreleri Ig'i, hücre dışına vermeden önce depolama ya da yoğunlaştırma işlemlerine tabii tutarlar. Salgılanmadan önce, salgı maddelerinin depolandığı sekretuar hücrelerde hücre dışına salgı atılımının eksositozla olduğu; hücre dışı Ca ++ iyonlarına, enerjiye, sitoplazmadaki siklik nükleotid seviyeleri değişimlerine ve çoğunlukla da sitokalsin ve kolşisine duyarlı yapıların varlığına bağlı olduğu bilinmektedir (8).

Plazma hücreleri, sekresyonu regüle edilemeyen salgı hücreleridir. Ancak Ig'lerin sekresyonu, hücre içi Ca ++ seviyesinin düşmesi, kısmi Na+ / K+ dengelenmesi (Hücre içi ve dışı Na+ / K+ seviyelerinin eşit hale gelmesi), veya hücre içi enerji kaynağının blokajıyla inhibe edilmektedir. Bu iki durumda da Ig sekresyonundaki düşüş, Golgi kompleksinin belirgin bir ultrastrüktürel yapı bozukluğu (her iki olayda da farklı biçimde) ile birlikte ortaya çıkmaktadır (8).

Bu çalışmada; korteks, medulla, septum ve az sayıda Hassal korpüsküllerinde plazma hücrelerine rastlandı. İnsan fötusu immunolojik olarak yetersiz değildir ve kısmen sifiliz ve toksoplazmozis olmak üzere intrauterin enfeksiyonların bir çoğuna cevap verebilecek yetenektedirler (12).

İnsan timusunda Ig üreten hücreler üzerine yapılan çalışmalar Hassal korpüsküllerinde Ig'lerin sıklıkla var olduğunu gösterdi. Hassal korpüskülü hücrelerinde albumin gösterilebilmiştir. Bazı örneklerde izole hücrelerdedir. Ig'lerin varlığında farklılığa izin veren korpüsküler hücrelerde albumin konsantrasyonu ve dağılımı, kapalı olarak Ig G ve IgM oranını yansıtır. Bazen ve bazı yerlerde IgA'dan daha az orandadır(9). Fötus tarafından Ig üretiminin gestasyonun 12. ve 20. haftalarında başladığı belirtilmiştir (13).

Blau, Jones and Kendy, Gilhouse ve arkadaşları (14) Hassal korpüsküllerinde Ig'nin serumdan derive edildiğini kabul ettiler, fakat medullar plazma hücreleri ile IgG, IgM, IgA'nın salgılanmasının organa özgü bir işlem olabileceğini belirttiler.

IgM üretimi baskın olabildiğinde, otoimmün hastalığı olan vakalarda timik plazma çok miktardadır ve onlar timus içerisine antijenin direkt enjeksiyonu ile indüklenebilir (9). Timusun B lenfosit populasyonu Isaacson, Norton ve Addis (15) tarafından ileri bir şekilde karakterize edilmiştir.

Soylu (16), Işık ve Elektron Mikroskopik çalışmasında, timusda plazma hücrelerinin varlığını göstermiştir.

IgG, IgA ve IgA'nın sekreteruar komponenti de Hassal korpüskülünde gösterilmiştir (9).

IgA daha spesifiktir, aktiftir ve diğer Ig'lere oranla daha fazladır. Sekreteruar komponent timusun herhangi bir başka hücresinde gösterilemediği için Hassal korpüskülü hücrelerinde sentezlendiği düşünülmektedir. Korpüsküler hücrelerdeki IgA ile medulladaki IgA üreten hücreler ve IgA ile korpüsküler sekreteruar komponent arasındaki kuvvetli ilişki, timusun fetal hayatın geç döneminde sekreteruar IgA immunolojik sistemin bir parçası olduğunu göstermektedir.

Medullada IgG üreten hücreler vardır. Fakat genelde korpüsküllerdeki miktarlar daha azdır (9).

IgE sadece mast hücrelerinde bulunur, ancak Hassal korpüsküllerinde de IgM, IgA, IgG'den daha azdır (9).

Bu çalışmada; mast hücreleri kapsülde ve septumlarda Toluidin mavisi ile metakromazi gösterdiğinden erguvani olarak, damarlar çevresinde görüldü. PAS ile boyanmış preparatlarda ise mast hücresi PAS pozitif olarak seçildi.

Kappa ve lambda hafif zincirleri için pozitif boyanma ile Hassal korpüskülünün hücrelerinde gösterilebilmiştir. Lambda hafif zinciri kappaya göre daha büyük miktarlarda vardır. I. trimesterde Ig gözlenmedi. II. trimesterde Ig G ve Ig M bulundu, Ig A ve sekreteruar Ig A görülmedi (9).

Timus ; T lenfositlerin farklılaşması için gerekli olan humoral ve sellüler faktörleri sağlayan esas anatomik ve histolojik sahalar taşımaktadır (17). Timus lenfoid dokuların histogenesisi boyunca lenfositik hale gelen immun sistemin ilk organıdır (18).

Matür T lenfositlerin gelişimi boyunca T hücrelerinin sınıflandırılma ya da rekstriksiyon spesifitesinin kazandırılması ve kendine özgü, reaksiyonun eliminasyonu timusta cereyan eder. Mekanizmaların tamirinde bu delillerin az anlaşılması olmasına rağmen, timusda T hücre gelişimi sadece hücrelerin yüksek bir oranda bölünmesi değil, aynı zamanda büyük bir miktarda intratimik hücre ölümü ile de karakterizedir (19,20,21,22).

Henry ve arkadaşları (9) Hassal korpüskülünde eosinofil lökositlerin populasyonunun varlığını beyan ettiler. Çalışmada; medullada çok sayıda eosinofil lökositlerin olduğu görüldü.

KAYNAKLAR

1. Kalaycı, Ş. Histoloji. Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1990: s. 388.
2. Ross, M. H., Reith, E.J. Histology: A text and atlas. Harper International Edition, 1985: 310-2.
3. Jungveira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. Temel Histoloji. Yener Aytakin, ed. İstanbul: Barış Kitabevi, 1993:317-8; 513.

4. Langman, J. Medical Embryology Human Development Normal and Abnormal. The Williams and Wilkins Componay Baltimore.1976: 266.
5. Kayalı, H. İnsan Embriyolojisi, İstanbul: Renk Ofset Matbaacılık, 1987; 106, 107, 141, 203.
6. Barcroft, J. Researches on Pre-Natal life. Vol 1. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1946.
7. Leeson, T. S. Leeson, C. R., Paparo, A. A. Text / Atlas of Histology. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1988.
8. Erkocak, A. Özel Histoloji. Ankara Üniversitesi: Ankara Basımevi, 1982:71.
9. Henry, L., and Anderson, G. Immunoglobulins in Hassal's corpuscles of the human thymus. J Anat, 1990: (168): 185-197.
10. Smith A., and Bruton, J. A color atlas of histological stainin Techniques. London: Wolfe Medical Publications, 1977.
11. Murray, R. K., Mayes, P. A., Granner, D. K., Rodwell, V. W. Harper'ın Biyokimyası, İstanbul: Barış Kitabevi, 1993:776-9, 145-8, 770 132-34, 616.
12. Henry, L., and Anderson, G. Immunoglobulin-producing cell in the human thymus. Thymus, 1988:(12) : 77-78.
13. Alford, C. A JR. Immunoglobulin determinations in the diagnosis of fetal infection. Pediatric Clinics of North America 1971; (18): 99-113.
14. Blau, J.N., Jones, R. A., and Kennedy, L. A. Hassal's corpuscles. a measure of activity in the thymus during involution and reconstitution. Immunology, 1968; (15) : 561-70.
15. Isaacson, P.G., Norton, A. J., and Addins, B. J. (1987) The human thymus contains a novel population of B lymphocytes. Lancet (14): 1488-91.
16. Soylu, R. Timus ve İmmunolojideki rolü Hacettepe Üniversitesi Doktora tezi, 1969.
17. Ceredig, R., LoWenthab, J. W., Nabholz, M. and Mc Donald, H.R. Expression of interleukin- 2 receptors as a differentiation marker on intrathymic stem cell. Nature, 1985; (314): 98.
18. Mannig, M. J. The Thymus Glandly London: Academic Press, 1981: 7.
19. Skinner, M., Marbrook, J. Effect of interleukin 2 on fetal thymocytes in organ cultures: Generation of Lymphokine - activated killer cells. Cell Immunol. 1988;(8112):1104-111.
20. Scollary, R., Simith, J., and Stauffer, V. Dynamics of early T cells: prothymocyte migration and proliferation in the adult mouse thymus. Emmunol Rev. 1986; (91) : 129.
21. Jorden, R. K., Robinson, J. H., Hopkinson, K., House, C., and Bently, A. C. Nature (London) , 1985; (314) : 454.
22. Mc Phee, D., Pye, J., and Shortman, K. Thymus. Thymus, 1979; (1) : 151.