

## DEĞİŞİK AYLARDAKİ İNSAN FÖTUSUNDA TİMUSUN HİSTOLOJİK YAPISININ IŞIK MİKROSKOBU SEVİYESİNDE İNCELENMESİ

Uzm. Bio. Safiye SAYAR\*, Dr. Refik SOYLU\*, Dr. Salim GÜNGÖR\*\*

\* S.Ü.T.F. Histoloji- Embriyoloji Bilim Dalı, \*\* S.Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalı

### ÖZET

4, 5 ve 6'ıncı aylara ait 5'er adet toplam 15 insan fötüsü kullanılarak Işık Mikroskopik Seviye de timus incelendi. Timus memeli dokular içinde en erken hücre olgunlaşmasını sağlayan, immun sistemin ilk organıdır. T lenfositlerin olgunlaşma yeridir ve muhtemelen bu olgunlaşma timus korteksinde başlanmaktadır. 6. aya ait fötuslarda Hassal korpüsküllerinin hacimlerinin artmış olması bu çalışmanın önemli farkıdır. Ayrıca B lenfositlerin (plasma hücrelerinin) varlığı, T lenfositlerin B lenfositleri uyarmasının yanı sıra timusun, humoral immun cevapta da önemli rolü olduğunu bir delili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Fötüs, timus, Hassal korpüskülü, T lenfositler

### SUMMARY

#### *A Light Microscopic Investigation of Human Fetal Thymus at Different Months*

Thymus of 4 months, 5 months and 6 months old fetus were investigated microscopically. For each months 5 fetal thymus used for this study. Thymus gland helps mammalian cells to undergo maturation and plays a primary role as the immune system. T lymphocytes matures here, possibly, in the cortex of the thymus. In this study progressive expansion of Hassal's Corpuscles was maximal at 6 th month compare to 4 th and 5 th month's thymuses. Additionally, the prence of B lymphocytes (plasma cells) even in 4 th month of total thymus indicates that stimulation of T lymphocytes and B lymphocytes in Thymus and humoral immune response in thymuses show the importance of thymus gland even in fetal development.

Key Words: Fetal, thymus, Hassal's corpuscles, T lymphocytes

### GİRİŞ

Timus, diğer organların aksine, doğum sırasında yeterince gelişmiş bir durumdadır ve puberte döneminde de gelişimi en yüksek düzeye ulaşır. Bundan sonra yaş ilerledikçe involsuyona uğrar. İntrauterin hayatta timus gelişimini tamamlamış olacağından bu çalışmada fötüs kullanılmıştır. Bu araştırma 4-5-6 aylık abort fötuslarda timusun histolojik olarak incelenmesi, kalitatif olarak hücre tipleri tayini amacıyla dayanmaktadır.

Lenfoid organların immun cevabın oluşmasında ve immun cevabı meydana getiren hücrelerin olgunlaşmasında rolü çok önemlidir. İmmun cevabı

meydana getiren hücrelerin, kemik iliğinden çıktktan sonra farklılaşarak olgunlaştığı organlara primer lenfoid organlar denir. İmmun cevabın meydana geldiği organlara ise sekonder lenfoid organlar denir. T lenfositler kemik iliğinden kan dolaşımına geçerek timusa girerler ve orada olgunlaşırlar. Bu değişim membran antijenleri ve mitojen maddelere karşı reaksiyon olarak gözlenir (1, 2).

Lenfositler: Timosit adı da verilir. Diğer yerlerdeki lenfositlerden gelişimleri bakımından farklıdır. Kemik iliğinden timusa (kortekse) göç eden indifferensiye hücreler büyük lenfoblastlara farklılaşırlar ve hızlı bir mitozla çoğaldıktan sonra T lenfosit

adını alırlar. Timusdaki mitotik aktivite dalak ve lenf düğümlerindekinden 3-5 kez daha fazladır. T lenfositler gecikmiş hipersensitve ve doku reddi reaksiyonlarında rol alırlar (B lenfositler ise plazma hücrelerine farklılanarak antikör sentezler) T lenfositler medulladaki kan damarları ile organı terk ederler ve diğer lenfoid organlarda (periferik veya sekonder lenfoid organlar) belirli yerlere yerleşirler.

**Plazma Hücresi:** Kortekste yoktur, medullada çok az sayıda ayrıca septum ve kapsül içinde bulunabilirler. Timusa medulladaki post-kapiller venüllerden girdiği kabul edilir.

**Mast Hücresi:** Septum ve kapsül içinde rastlanabilir.

**Pas Hücresi:** Granülleri ve lizozomları olan oval çekirdekli makrofaj özelliğindedir (3).

İmmunolojik olarak hücresele immunité, T lenfosit fonksiyonları ve doku uygunluk antijenleri olarak ele alındı. 1945 yılında Medavar'ın farelerde yaptığı doku aktarma deneyleri, bir türün bireyleri arasında dahi farklı doku antijenleri olduğunu göstermiştir. Doku atılım reaksiyonda rol oynayan bu antijenlere doku uygunluk antijenleri denir. Doku antijenleri insan ve hayvanların çekirdekli hücrelerinde bulunur. Örneğin, insan eritrositlerinde transplantasyon antijenleri yoktur. Bu antijenler gen kontrolünde olup Mendel yasalarına göre soydan soya geçerler. Doku antijenlerini kontrol eden gen bölgesi, farede 17 nolu kromozomun kısa kolu üzerindedir. Bu bölgede bulunan genlere büyük doku uygunluk kompleksi (Major Histocompatibility Complex MHC) genleri denir. Farede bu bölge genleri H-2 simgesi ile gösterilir. Bu bölge H-2K ve H-2D ile sınırlıdır (1, 2, 4, 5). Orjinal olarak transplantasyon reaksiyonlarında keşfedilmelerine rağmen, MHC molekülleri konağın vital biyolojik fonksiyonları için kullanılır. Hücre yüzey işaretleri olarak fonksiyonları, sitotoksik ve helper T lenfositlerine sinyal vermektedir. Moleküllerin her biri üç gen sınıfı ihtiva eder. Bunlar class I, II ve III'dür. Bütün çekirdekli hücreler class I molekülünü taşır (6). İnsan da aynı şekilde doku uygunluk antijenlerini kontrol eden büyük doku uygunluk kompleksi vardır. Bu genler 6 nolu kromozomun kısa kolu üzerinde bulunur. Bu bölge genleri HLA simgesi ile gösterilmiştir (Human Leukocyte kelimelerinin baş harfi olarak alınmıştır, A simgesi insan Lökositlerinde ilk tanımlanan lökosit antijenlerdir). İnsanda doku uygunluk antijenlerine kısaca HLA

antijenlerinde denir (1, 2, 4, 5).

Kemik iliğinde çok yönlü kudreti olan hematopoietik ana hücreler timusta farklılaşarak timozin denen hormonun etkisi altında immün yetenekli T hücrelerine dönüşür. Memelilerde B hücrelerinin farklılaşması için mikro-ortamı kemik iliği kendisi teşkil eder (5).

Timusda sentez edilen çeşitli hormon veya enzimler vardır. Bunlar timozin, timopoietin, timik humoral faktör gibi (Facteur Thymique Serique FTS) (2).

İlkel lenfoid doku ve B ve T lenfositlerin gerçekleştirdiği adaptif immün cevap en aşağı omurgalılarda bile vardır. İnsanda plasentayı geçebilen tek immunoglobulin Ig G'dir (5).

Embriyolojik gelişimde ilk sentez edilen immunoglobulin Ig M'dir. Embriyoda yüzeyinde Ig G taşıyan lenfosit sayısı fazladır. Yetişkinde ise bu tür lenfosit sayısı çok azdır (2, 5).

T hücre intrasellüler enfeksiyonların kontrolü ile ilgilidir. Her bir T hücre kendi ferdi antijen reseptörüne sahiptir. Bu reseptör antijeni tanır ve hafıza hücrelerini oluşturmak üzere klonal genişlemeye uğrarlar. T hücre, MHC'nin molekülleri ile beraber bulunan hücre yüzey antijenlerini tanır.

Makrofajların yüzeyindeki class MHC II ile antijeni gören T helper hücreler, makrofajı aktiflemek ve intrasellüler parazitleri öldürmek için gama interferon salarlar. Sitotoksik T hücreler viral olarak enfekte hücreler üzerindeki antijen artı, class MHC, I'i tanır. Bu enfekte hücreler, virus replike olmadan öldürülürler. Sitotoksik T hücreler çevredeki hücreleri viral geçişe karşı resistan kılan gama interferonu da salarlar (6).

B lenfositlere tamamen benzer şekilde T lenfositler antijen ile kombinasyon yoluyla seçilirler ve aktive edilir, klonal proliferasyonla genişler ve hafıza hücresi ile birlikte T helper ve sitotoksik T efektörleri vermek üzere olgunlaşırlar. Böylece T ve B lenfositler birlikte çeşitli mekanizmalarla özellik kazanılmış immunité sağlarlar. Çoğu vakada, doğuştan immünitenin etkinlik sınırını genişletmek üzere çalışırlar ve birinci enfeksiyon bizi aynı mikroorganizma ile sonraki karşılaşmalarımıza hazırlama avantajı sunar (6).

Hücresele immünitenin iki kolu vardır. Kazanılmış immün cevaplar ile intrasellüler enfeksiyonlara

karşı savaşma da iki farklı tipte T lenfosit meydana gelir. Bunlar T helper ve sitotoksik T hücreleridir. T hücre alt gruplar ise CD4 (T4) ve L3 T4, helper T hücrelerinin işaretleridir, MHC II ile ilişkilidir. Sitolitik T hücrelerdeki CD8 (T8) ve Ly2 molekülleri MHC I ile ilişkilidir (6).

## MATERYAL ve METOD

Konya Doğumevinden ve S.Ü. Tıp Fakültesi Kadın-Doğum servisinden otopsi için Patoloji Laboratuvarına gönderilen abort fötuslar kullanıldı. Fötusların yaşı Barcroft (1946) tarafından formüle edilen metot ile tayin edildi. Bu formül:

Fetal age:  $2.45 \times \text{CRL} + 27.7$ 'dir. CRL: Baş kuyruk uzunluğu (Crownrump Length) (7).

4-5 ve 6 aylık fötuslardan 5'er tane olmak üzere toplam 15 tane temin edildi. S.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na getirilen fötuslar açılarak timusları alındı. Alınan timuslar % 10 formalin içerisinde tesbit edildi ve ototeknikon ile takip işlemi yapıldı. Parafin ile bloklandı ve 6 mikrometre (mikron) kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen - Eosin, Periyodik Asit Schiff, Methy Green Pyronin ve Toluidin mavisi ile boyandı. Entellan ile kapatılarak Işık Mikroskobu ile incelendi.

## BULGULAR

Timus, makroskobik olarak sternum altında, göğüs boşluğunun alt kısmında yer aldığı görüldü. Ventralinde sternum, dorsalinde trakea ile yakından geçen A. carotis communis vardı. İnce zarif bir kapsül ile sarıldığı ve bunun altında organın lobcuklara ayrıldığı gözlemlendi, rengi kırmızımsı gri ve çok yumuşaktı.

Mikroskobik olarak fötusların timusları çeşitli boyalar yapılarak ışık mikroskobik seviyesinde incelendi.

Hematoksilen-Eosin (H.E) ile boyanmış preparatlarda organı saran ince bir kapsül ve bu kapsülden organın içine giren septumlar vardı. Septumlar organı lobcuklara ayırmıştı. Her lobcuk çevrede küçük lenfosit ihtiva eden korteks ile bu kısma nazaran daha az sayıda küçük lenfosit ve çeşitli hücreleri bulunduran medullar sahadan ibaret olduğu gözlemlendi. Medullada büyük lenfositler, çok sayıda Hassal Korpüskülleri görüldü. Hassal Korpüskülleri parlak kırmızı renkte seçildi. Merkezdeki hücreler poligonal şekilli ve periferdeki hücrelerden daha büyüktü.

Dıştaki hücreler ise yassı şekildeydi. Ayrıca plasma hücrelerine raslandı (Resim 1).

Toluidin Mavisi ile boyanan preparatlarda mast hücreleri kapsül ve septumlarda fazla sayıda ve erguvan renginde boyanmış granülleri vardı (Resim 2).

Periodic Acid Schiff: (PAS) Korteks ve Medullada seyrek olarak septumlarda PAS hücrelerine raslandı. PAS hücreleri oval veya yuvarlak koyu boyanan çekirdekleri ve sitoplazmada granülleri vardı.

Methyl Green Pyronin: Medullada pironinofil hücreler diğer sahalara nazaran fazla idi. Bu hücrelerin çekirdekleri metil yeşili boyasını alıp yeşil-mavi rengiyle seçildi. Korteks-medulla geçiş sahasında plasma hücreleri görüldü. Az sayıda Hassal korpüskülü çevresinde plazma hücreleri vardı. Mast hücreleri metil yeşilini almış soluk mavi çekirdekleri vardı. Sitoplazmalarındaki granüller turuncu boyanıp metakromazi göstermekteydi.

Aylar arasında timusun histolojik yapısı, görünüşü ve hücre taşınması yönünden çok büyük farklılıklara rastlanmadı. Ancak 6. aya ait fötus timuslarında Hassal korpüsküllerinin hacimleri daha genişlemiş olarak seçildi (Resim 3-4).

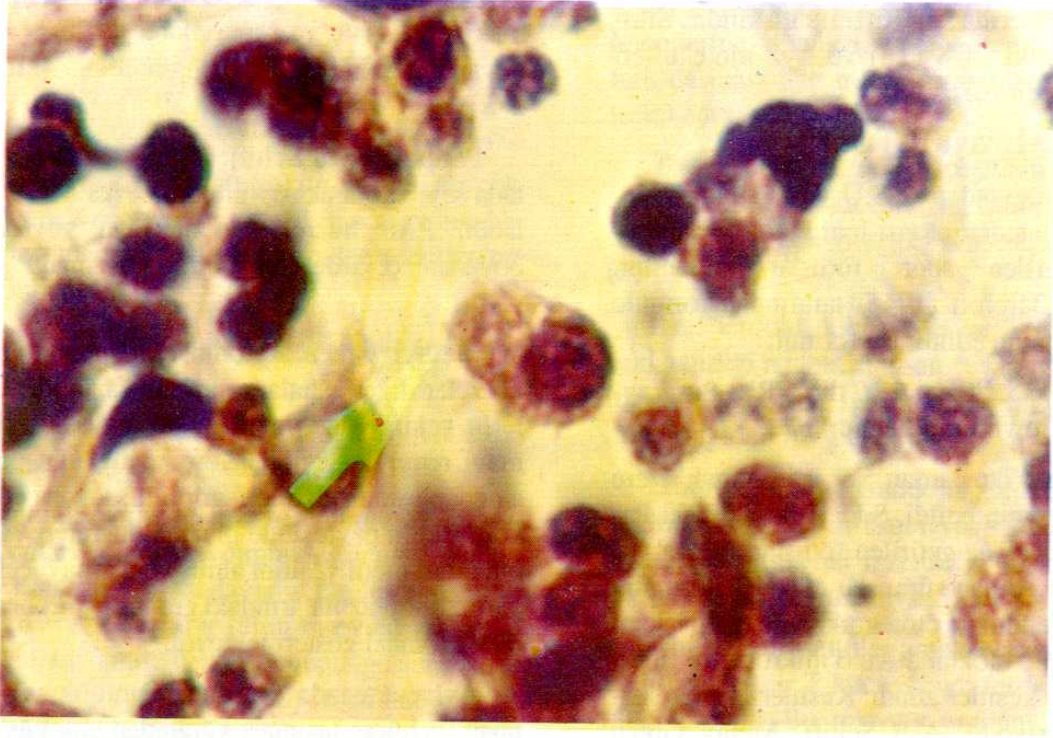
Fötus timuslarının hepsinde çok miktarda eosinofil granülositler görüldü.

Medulla da geniş çaplı venüllere sık sık rastlandı. Medullar sahalarda bazen birbiriyle irtibatlı olarak görüldü.

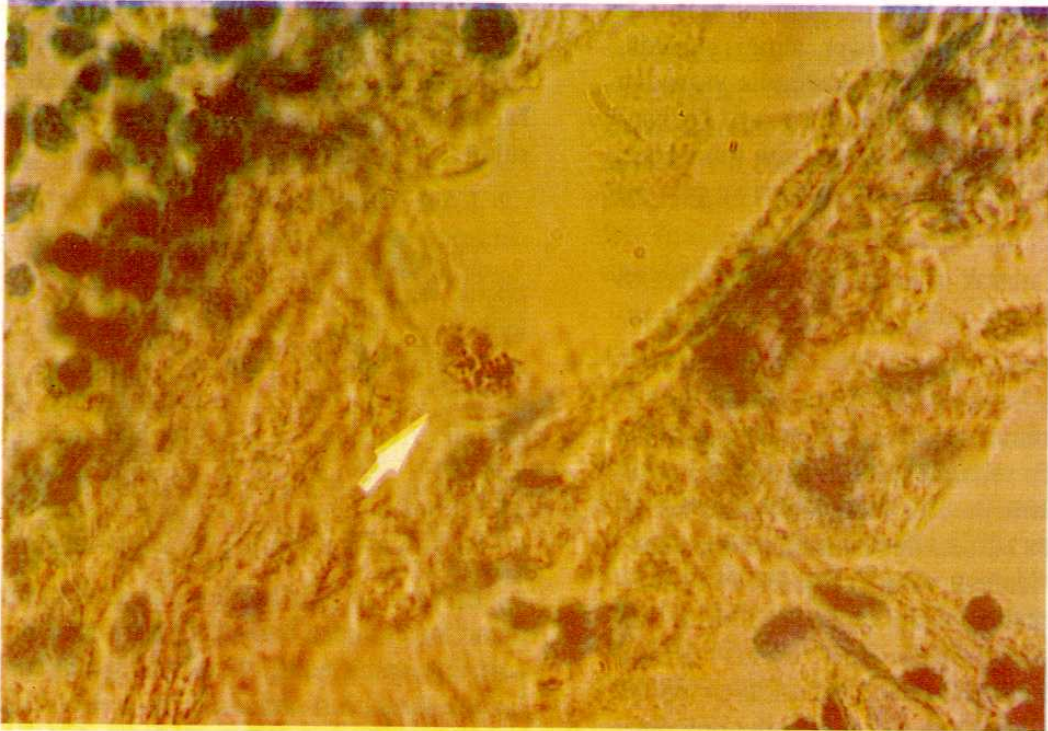
## TARTIŞMA

Timus büyük bir lenfoid organ olup, çoğunluğu küçük lenfosit olmakla beraber çeşitli büyüklükte lenfositler ihtiva eder. Birçok hayvan türünde ön mediastinumun üst kısmına yerleşmiştir. Kobay ve tavukta boyun bölgesi derisinin altında lokalize olmuştur. Avusturalya keselilerinde (marsupial), koyunda bir servikal bir de toraksik olmak üzere iki adet timus bulunur. Ayrıca fare ve sıçanlarda hassal korpüskülünün bulunmadığı açıklanmıştır (8).

Epitelyal retikülositlerin, korteks ve periferinde damarlar boyunca uzandığı ve lobülün dış kenarını çevirdiği tesbit edildi. Epitelyal retikülositler sitoplazmik uzantıları aracılığı ile birbirlerine desmosomlarla bağlanırlar. Damar çevresinde tam bir ağ yapısı öreerek antijenik materyalin timus içine geçişi-



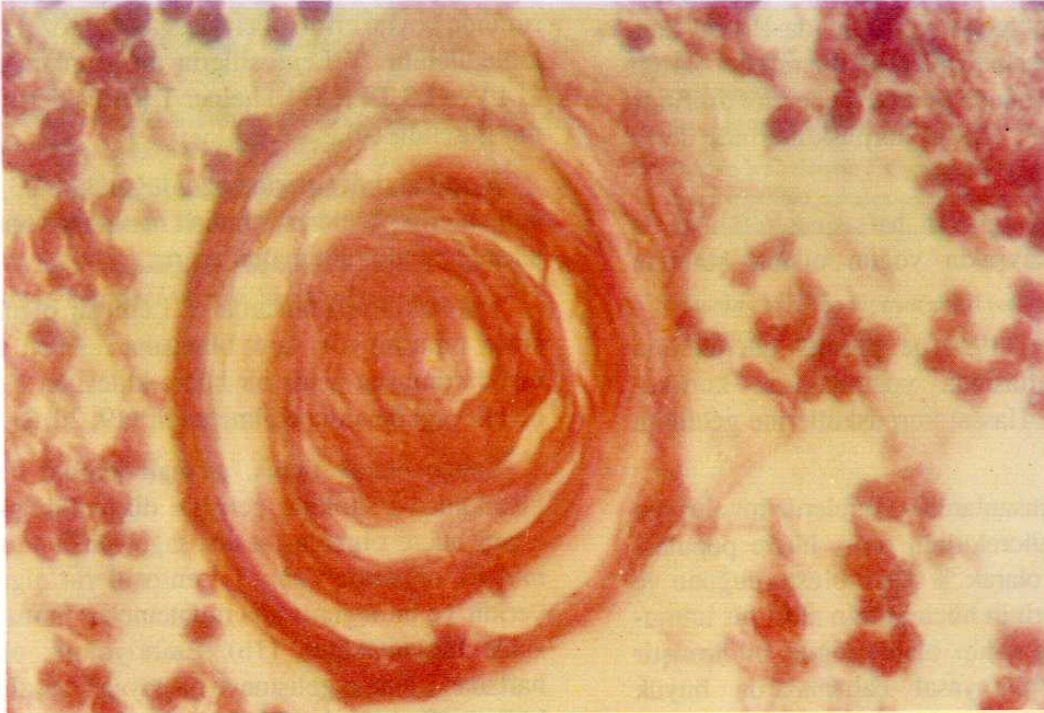
Resim 1. Plasma Hücresi (4 aylık fötusta), H.E, X 100



Resim 2. Septumda Mast Hücresi (6 aylık fötusta), Toluidin Mavisi, X100



Resim 3. Hassal Korpüskülü (5 aylık fötusta), H.E, 100



Resim 4. Hassal Korpüskülü (6 aylık fötusta), H.E, X40

mini güçleştirir (timus kan bariyeri). Epitelyal retikülositler timusun retiküler yapısını meydana getirirler (3).

H.E boyası ile parlak kırmızı renkte görülen Hassal korpüskülleri medulla yer alır. Histolojik olarak hassal korpüsküllerinin gebeliğin ilerlemesi ile birlikte hacimce arttığı gözlemlendi. Bunun yanısıra medulla da eosinofil granülositlerin varlığı dikkat çekmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar bu bulguları desteklemektedir (9, 10, 11). Uzun bir zamandan beri Hassal korpüsküller, etkinliğini kaybetmiş endodermal hücreler yığını olarak düşünülmekteydi. Fakat son bulgular bunun böyle olmadığını, Hassal korpüsküllerinin aktif sekret yapabilen hücreler topluluğu olduğunu göstermiştir. Hassal korpüskülleri belirli bir hayat siklusuna sahiptir. Korpüsküllerin yeniden şekillenmesi, hayat siklusuna bağlı olarak yeniden oluşması sekresyonun varlığı ve involusyon boyunca hacimce farklılıklar gösterir. Hassal Korpüskülleri timosit matürasyonu ve ölü T Hücrelerini bünyesinde bulundurur ve eosinofil granülositlerin bir popülasyonunu içerirler (9, 10, 12, 13, 14).

B hücre fenotipinin gösterilmesi ile timusta spesifik bir B lenfosit popülasyonunun varlığı ortaya çıkarıldı (15).

Bu çalışmada; en fazla medullada olmak üzere, kortiko-medullar bölgede ve az sayıda Hassal korpüsküllerinin çevresinde plazma hücrelerin varlığı görüldü. İnsan timusunda Ig üreten hücreler üzerinde yapılan araştırmalar, Hassal korpüsküllerinde de Ig varlığını gösterdi (10, 14).

B lenfositler gebeliğin 15. haftasındaki fötuslarda kortiko-medulla kavşakta yoğun olarak bulundu (15).

Nitekim Henry (1990)'de plazma hücrelerinin gebeliğin 20. haftasında yoğunlaşarak kortiko-medullar bölgeden Hassal korpüsküllerine geldiğini beyan etti (13).

Henry (1990), insanlarda ve farelerde involusyon boyunca plazma hücrelerinin timik hücre popülasyonunun yaklaşık olarak % 2'sini oluşturduğunu ve hassal korpüsküllerinin hücrelerinin aktif bir immunolojik fonksiyona sahip olabileceğini bildirmiştir (13). Immunohistokimyasal çalışmalarda büyük Ig'lerin varlığı, timik parenkimde Ig üretimi ve sekresyon yapması immun cevabın düzenlenmesi ve ol-

gunlaşmasında fizyolojik olarak önemli olduğu iddia edilmektedir (10, 14). İnsan timusunda IgM, IgG, IgA gösterilmesine rağmen IgD gösterilememiştir. Fakat bir başka araştırmacı insan timus medullasında IgM ve IgD göstermiştir (16). Sirkülasyonda çok az dolaşan IgE temel olarak tip I aşırı duyarlılık reaksiyonlarında rol oynayan mast hücrelerinin yüzeyinde bulunur. İnsan timuslarındaki IgE ise sadece mast hücrelerinde vardır (13). Bu çalışmada fötus timuslarında mast hücre granülleri toluidin mavisi ile metakromazi gösterdiği için erguvan renkte görülmektedir.

Son yıllarda T lenfositlerin gelişim ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Timus, T Lenfositlerin farklılaşması için gerekli olan humoral ve sellüler faktörleri sağlayan esas anatamik sahalar taşımaktadır (5, 17).

Fötal timosit fenotipi doğum sonrası timosit fenotipi ile aynıdır (16).

İnsan fötal timuslarında antijen kazanmış T lenfositlerin gösterildiği, zaman yönünden karaciğer ve kemik iliğinden öncedir (16, 18).

MHC T lenfositlerin uygun hedef hücrenin (viral enfeksiyon gibi) yüzeyindeki antijenlerle temas kurmasını sağlar (16).

T Lenfositlerin alt gruplarının tesbitinde ve uyarımında koyun eritrositleriyle spontan rozet oluşumu kullanılabilir. T Lenfositlerin alt grupları ise CD4 (T4 ) ve L3 T4 (CD4 ) helper T lenfositlerin varlığının işaretidir (6).

Kortikal timositlerin çoğunluğunda CD3 ve CD5 antijenlerin görülmesi, timosit matürasyonunun kortekste başladığı ihtimalini artırır.

\*Yapılan araştırmalarda, T Lenfosit olgunlaşmasında timusun rolü açık olmasına rağmen aynı zamanda timusun geniş bir hücre kitlesinin ölüm yeri olabileceği de iddia edilmektedir (19, 20, 21, 22).

Sonuç olarak timus, memeli lenfoid dokuların histolojik ve sitolojik gelişimi düşünüldüğünde, en erken hücre olgunlaşmasını sağlayan immun sistemin ilk organıdır (23). T Lenfositlerin olgunlaşma yeridir ve bu olgunlaşma muhtemelen timus korteksinde başlamaktadır (16). Embriyolojik olarak 9. haftadan itibaren gelişmeye başlayan Hassal korpüskülleri 10. haftada gelişimini tamamlamaktadır. 6 aylık fötuslarda Hassal korpüskülün hacimce artmış

olması, bu çalışmada kullanılan fötüs timuslarında görülen en önemli bir farktır. Plasma hücrelerinin varlığı T lenfositlerin, B lenfositleri uyarması yanın-

da timusun humoral immun cevapta rol oynadığının bir delili olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Arda M. İmmunoloji (Bağışıklık bilimi). A.Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 1985: 180-181.
2. Gülmezoğlu E. Bağışıklığın temelleri H.Ü. Yayınları A/16 1983: 26, 45, 46, 78.
3. Paker Ş. Histoloji. Uludağ Üniversitesi 1990: 384.
4. Bilgehan H. Temel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi. İzmir: Bilgehan Basımevi, 1987: 297-298.
5. Roitt IM. Temel immünoloji. Ankara: Güven Kitabevi Yayınları, 1978: 44, 47, 55, 75.
6. Roitt IM. Essential immunology. Oxford: Blackwell Scientifics, 1988: 25, 28, 117.
7. Barcroft J. Researches on pre-natal life. Vol. 1. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1946: 658.
8. Soylu R. Timus ve immünolojideki rolü. H.Ü. Eğitim Fakültesi Morfoloji Anabilim Dalı, Doktora tezi, 1969.
9. Blau JN, Jones RA, and Kennedy LA. Hassal's corpuscles. A measure of activity in the thymus during involution and reconstitution. Immunology 1968; 15: 561-570.
10. Senelar R, Escola MJ, Escola R, Serrou B, and Serre A. Relationship between Hassal's corpuscles and thymocytes fate in guinea-pig foetus. Biomedicine 1987; 24: 112-122.
11. Suzuki G, Kavase Y, Hirokawa K. tolerance induction in the organocultured thymus lobes. Eur J Immunol 1989; 19(9): 1525-30.
12. Henry L, and Anderson G. Immunoglobulin producing cell in the human thymus. Thymus 1988; 12: 77-87.
13. Henry L, Anderson G. Immunoglobulins in Hassal's corpuscles of the human thymus. J Anat 1990; 168: 185-97.
14. Tomasi TB, and Yurchak AM. The synthesis of secretory component by the human thymus. Journal of Immunology 1972; 108: 1132-35.
15. Isaacson PG, Norton AJ, and Addis BJ. The human thymus contains a novel population of B lymphocytes. Lancet 1987; 1488-1491.
16. Russell GJ, Bhan AK, Winter HS. The distribution of T and B lymphocyte population and MHC class II expression in human fetal and postnatal intestine. Pediatr Res 1990; 27 (3): 239-44.
17. Ceredig R. Differentiation potential of 14 day fetal mouse thymocytes in organ culture. Analysis of CD4/CD8 defined single-positive and double-negative cell. J Immunol 1988; 15: 141-2, 355-62.
18. Rusquet R, Maniey D, Logeais Y, Medrignac G, David JC. Differentiation of thymocytes during human ontogeny: Stage-specific DNA ligase in relation to terminal deoxynucleotidyl transferase, cell and surface antigen. Immunology 1987; 61(4): 509-14.
19. Campona D, Janossy G, Coustan-Smith E, Amlot PL, Tian WT, Wong L. The expression of T cell receptor-associated proteins during cell ontogeny in man. J Immunol 1989; 142(1): 57-66.
20. Kruisbeek AM, Sharow SO, and Singer A. Differences in the MHC-restricted self-recognition repertoire of intrathymic and extrathymic cytotoxic T lymphocyte precursors. J Immunol 1983; 130: 1027.
21. Pardoll DM, Fowlkes BJ, Lew AM, et al. Thymus dependent and thymus independent developmental pathways for peripheral T cell receptor-gamma delta-bearing lymphocytes. J Immunol 1988; 15: 140-12, 4091-6.
22. Roehm NL, Herron J, Cambier DD, et al. The Major Histocompatibility Complex-restricted antigen receptor on T cells: distribution on thymus and peripheral T cell. Cell 1984; 38: 577.
23. Manning MJ. The thymus gland (ed MD-kendall). London: Academic Press, 1981: 7.