

SIÇAN AKCİĞERLERİNİN MORFOGENEZİ: Işık Mikroskopik Bir Çalışma* Morphogenesis of rat lungs : A light microscopical investigation

Emel Koptagel¹, Serpil Ünver Saraydın², Celal Kaloğlu²

Özet: Fötal gelişim sırasında akciğerler, postnatal gaz değişimine hazırlık için hızlı bir farklılaşma dönemi geçirirler. Bu çalışmada farklılaşma dönemlerinde ortaya çıkan morfolojik değişiklikler 12, 14, 16, 18 ve 20 günlük fötal sıçanlarda ışık mikroskopik seviyede araştırılmıştır. Yüzde 10'luk tamponlanmış nötral formalin ve Bouin fiksatiflerinde bütün olarak tesbit edilen fütüsler, rutin protokolü takiben parafin içinde bloklanmıştır. Alınan kesitler Hematoksilen-Eosin, Mallory-Azan ve Van-Gieson ile boyanarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, sıçan embriolarında geniş plevral kavite içinde mezenşim ile çevrili az sayıda pulmoner bronş izlendi. Pulmoner bronşların yalancı çok katlı yüksek prizmatik epitel ile döşeli oldukları görüldü. Gelişimin 14. gününde yalancı çok katlı prizmatik silyalı epitel ile döşeli bronşlar etrafında yoğunlaşan mezenşimal halka dikkati çekmiştir. Bu periyotta akciğerlerin ilk kan damarları ortaya çıkmıştır. Prenatal 16. günde bronş ağacı dallanması artmış ve bronşlar geniş lümenli olarak izlenmiştir. İntrauterinal 18. günde akciğer loblarının segmentlerinin sayıca arttığı görülmüştür. Bu dönemde mezenşimal stroma içinde kan damar segmentlerindeki artış çok belirgindi. Prenatal 20. günde ise akciğerlerin erişkin dokuya benzer biçimde süngerimsi görünüm aldığı, terminal bronşiyol, solunum bronşiyolleri ve postnatal gaz değişimine hazırlık olarak çok sayıda terminal keselerin (primitif alveol) şekillendiği izlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sıçan akciğeri, Gelişim, Işık mikroskopu

Summary: The lungs, non-functional until birth, undergo a rapid differentiation during fetal development in order to be prepared for postnatal gas exchange. In this work, the morphological alterations occurring during these differentiation periods were investigated in 12-, 14-, 16-, 18- and 20-day old fetal rats at light microscopical level. Fetuses fixed as a whole in 10% buffered neutral formalin and Bouin fixatives were blocked in paraffin following routine protocol. The sections obtained were stained with Hematoxylin-Eosin, Mallory-Azan and Van Gieson and evaluated. As a result of the findings obtained, a few bronchi surrounded by mesenchyme within a wide pleural cavity were traced up in rat fetuses. It was observed that the pulmonary bronchi were lined with pseudostratified ciliated high columnar epithelium. On the 14th day of development, the mesenchymal ring becoming dense around the bronchi attracted attention. In this period, the first blood vessels of the lungs developed. On prenatal day 16, bronchial branching increased in number, and the bronchi were observed to have wide lumina. On intrauterinal day 18, it was noted that the segments of the lung lobes increased in number. In this period, the increase in the blood vessel segments of the mesenchymal stroma was very marked. On prenatal day 20, it was observed that the lungs attained a spongy appearance similar to that of adult tissue and the terminal bronchiole, respiratory bronchioles and abundant primitive alveoli were formed as a preparation for postnatal gas exchange.

Key Words: Rat lung, Development, Light microscopy

Morfogenez, değişik organların normal gelişimi sırasında epitelyal ve mezenşimal komponentler arasında etkileşime gereksinim duyar (1).

*IV. Karadeniz Tıp Günleri, 31 Mayıs-3 Haziran 1995, Trabzon Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi 58140 SİVAS Histoloji-Embriyoloji. Doç.Dr.¹, Araş.Gör.Dr. ².

Geliş tarihi: 7 Şubat 1996

Akciğerler üzerine yapılan embriyolojik çalışmalarda solunum yolu epitelinin dallanma şeklinin mezenşim tarafından kontrol edilebildiği görülmektedir (2). Gelişimin erken bir basamağında, artan mezenşimal kütlelerin akciğer büyümesini ve farklılaşmasını arttırdığı da gösterilmiştir (3). Bu çalışmada memelilerde akciğer gelişimi sırasında mezenşim ile epitel

doku örtüsünün etkileşimleri sonucu birbiri ardı sıra görülen psödoglandüler, kanaliküler, sakküler ve alveoler periyodlarda morfolojide ortaya çıkan değişiklikleri incelemek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında üretilen Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır. Akciğer gelişimini incelemek amacı ile gebe bırakılan hayvanlardan eter anestezisi altında sezaryen ile alınan 12, 14, 16, 18 ve 20 günlük embriyo ve fötüsler bir bütün halinde %10'luk tamponlanmış nötral formalin ve Bouin fiksatiflerinde tespit edilmiştir. Rutin protokolü takiben parafine gömülen örneklerden alınan kesitler Hematoksilen-Eozin, Mallory-Azan, Van Gieson boya yöntemleri ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

BULGULAR

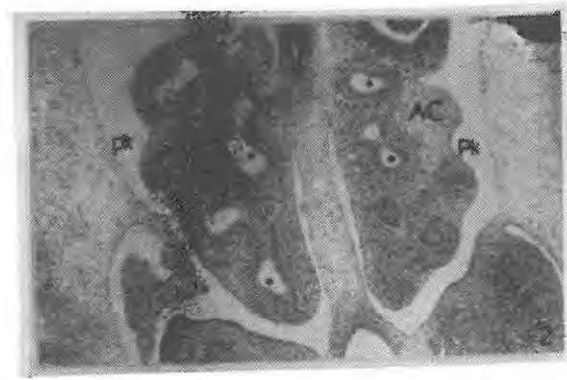
Sıçanlarda gebeliğin 12. gününde, sıçan akciğerleri geç bronşiyal tomurcuk evresinde idi. Gevşek az damarlı mezenseşimal hücresel stroma, esas ve lobar bronşlara ait az sayıda epitelyal tübül içermekteydi (Resim 1). Prenatal 14. günde yeni birkaç periferel solunum yolu oluşumu ile primitif bronşiyal ağaç 4-6 kadar dalı ile tanınabilir hale gelmiştir. Bu görünümüleri, akciğerlerin psödoglandüler konfigürasyon dönemine ulaştığını göstermektedir (Resim 2). Hücreden zengin mezenseşim tabakasının pulmoner bronşlar etrafında yoğunlaşarak bir halka yapısı oluşturduğu dikkati çekmiştir (Resim 3). Pulmoner bronşları döşeyen epitelin psödostratifiye yüksek prizmatik olduğu ve apikal yüzeylerinde ilk silyumların şekillendiği de



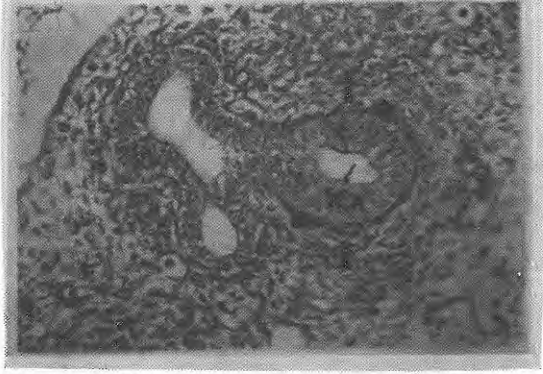
Resim 1. Prenatal 12 günlük sıçan embriyolarında trakea (tr) ve primitif plevral kavite (pk) içinde yerleşik geç bronşiyal tomurcuk evresindeki akciğerler (AC) Hematoksilen-Eosin 400X.

saptanmıştır (Resim 3). Epitel örtü ile temasta olan alanlarda ilk düz kas hücreleri ortaya çıkmıştır (Resim 3). Bir önceki döneme göre daha hücresel yapı kazanan mezenseşimal stromada, kan hücrelerinden fakir kapiller damarlar belirmiştir (Resim 3). Gelişimin 16. gününde yeni birkaç solunum yolu bölünmesi ile geniş lümenli pulmoner bronşların sayısı artmıştır (Resim 4). Prenatal 18. günde hızla gelişen akciğerlerde loplara kolaylıkla tanınabildiği, bronşiyal ağacın ardı ardına dikotomik bölünmelerle sayısının çok arttığı görülmüştür (Resim 5). Morfolojik görünümü ile akciğerlerin kanaliküler evrede olduğu belirlenen bu evrede akciğer hacminin arttığı ve akciğerleri saran visseral plevra ile göğüs duvarını döşeyen paryetal plevranın tek katlı yassı mezotelyum örtüsü ile belirgin olarak izlendiği görülmüştür (Resim 5). Plevral kavitenin gelişen ve büyüyen akciğerlerin bir sonucu olarak daraldığı izlenmiştir (Resim 6A). Aynı evrede mezenseşimal akciğer stromasında damarlanmanın arttığı da izlenmiştir (Resim 6B). Kan hücrelerinden zengin kapiller kan damarları tüm akciğer dokusu içinde yaygın bir ağ yapısı oluşturmuştur (Resim 6B).

Prenatal pulmoner gelişimin son evresi olan terminal kese evresi 20. günde ortaya çıkmıştır. Bu dönemde akciğerlerde postnatal gaz değişimine hazırlık olarak çok sayıda terminal bronşiyol ve terminal kesenin (primitif alveol) şekillendiği ve akciğerlerin süngerimsi bir görünüm kazandığı izlenmiştir (Resim 7). Solunum başlamadığı için kollabe durumda bulunan terminal keselerle birlikte vaskülarizasyonun belirgin olarak arttığı ve kapiller kan damarlarının epitelyal örtü ile yakın temasa geçtikleri görülmüştür (Resim 7).



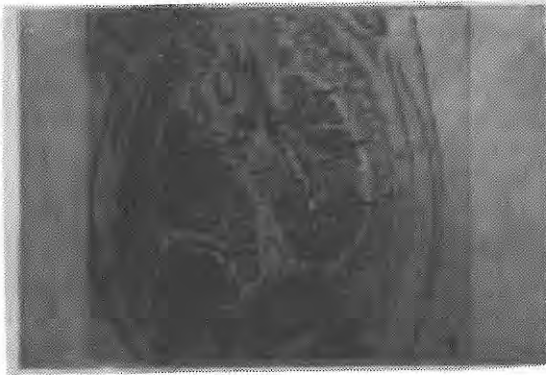
Resim 2. Prenatal 14 günlük sıçan fötüslerinde primitif plevral kavite (pk) içinde, 4-8 dallı primitif bronşiyal ağaç yapısı (*), akciğerler (AC), trakea (tr) Hematoksilen-Eosin 800X.



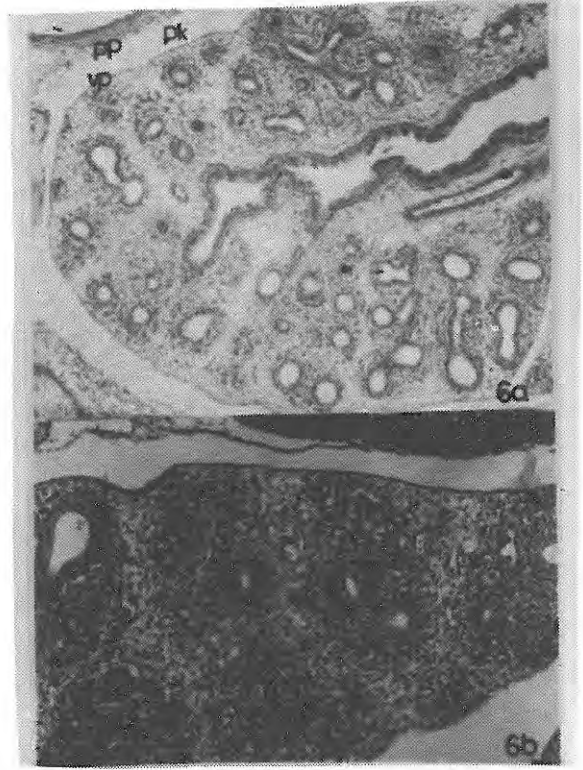
Resim 3. 14 günlük sıçan fötüslerinde yalancı çok katlı silyalı epitel (YÇK) ile döşeli bronşlar ve bronşlar etrafında yoğunlaşan mezenşimal halka (i) ve bronş epitelini ile temas eden bölgelerde ilk düz kas hücreleri (dk) ve ilk kan damarları (*) Mallory-Azan 1600X.



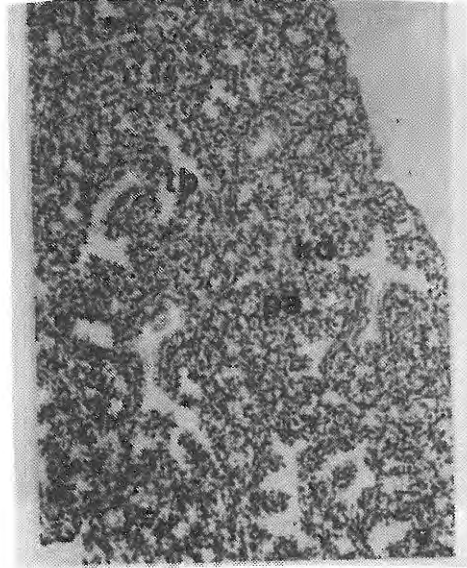
Resim 4. 16 günlük sıçan fötüslerinde primitif plevral kavite (pk) içinde gelişen akciğerler (AC), geniş lümenli intra-pulmoner bronşlar (*) Hematoksilen-Eosin 128X.



Resim 5. Prenatal 18 günlük sıçan fötüslerinde trake (tr), esas bronş (Eb), ileri derecede dallanmış bronş ağacı ve akciğer lopları (i) ve daralan plevral kavite (pk) Hematoksilen-Eosin 128X.



Resim 6. 18 günlük sıçan fötüslerine ait akciğer yapısı a) Bronş ağacının ileri derecede dallanması ve tek katlı mezotelyumla örtülü pariyetal (pp) ve visseral plevra (vp) arasında daralan plevral kavite (pk) Hematoksilen-Eosin 400X b) Akciğer stromasında kan hücrelerinden zengin bol kapiller (*) Van Gieson 800X.



Resim 7. 20 günlük sıçan fötüslerinde terminal bronşiyoller (tb), kan damarları (kd) ve kollabe durumda primitif alveoller (pa) Hematoksilen-Eosin 800X.

TARTIŞMA

Mezenşimin, epitel dokusunun büyüme ve fonksiyonu üzerine olan etkisi, embriyolardaki erken akciğer gelişiminde (2, 4) ve gelişimin daha ileri evrelerindeki epitel hücrelerinin surfaktan salgılayan hücrelere farklılaşmasında gösterilmiştir (5,6). Ancak Gross ve Walker Smith (7) mezenşim dokusunun kısmen uzaklaştırılmasının, hormondan arındırılmış kültür ortamı ile hazırlanmış organ kültürlerinde fetal akciğer maturasyonunu engellemediğini öne sürmüşlerdir. Hormonların yokluğunda ve akciğer mezenşiminin %75'i uzaklaştırıldığında fetal akciğerin bu devam eden maturasyonu; akciğer dokusunun kendisinin, fetal akciğer hücre farklılaşmasını etkileyebileceğini gösterebilir (7). Tek tabakalı hücre kültürlerinin tersine, organotipik kültürlerde 20 günlük fetal sıçan akciğer hücrelerinin farklılaşmasının, kültür ortamından hormonların uzaklaştırılması ile durdurulmadığı gösterilmiştir (8).

Memelilerde solunum sistemi gelişimi trakea ile başlar ve distale doğru gelişen bronş, bronşiyoller ve alveollerle devam eder. Gelişen sıçan akciğerinin primordiyal sisteminde gerek alveoler ve gerekse bronşiyolar epitel, dallanan tubuler sistemi döşeyen primordiyal epitel hücrelerinden orijin alırlar ve bu primordiyal epitel gelişimi çok erken dönemlerden itibaren mevcuttur (9).

Fötüslerdeki pulmoner nöroendokrin hücreler yüksek seviyelerde gastrin-releasing peptid (GRP veya memeli bombesini) sentezler. Bombesinin, organ kültürlerinde insan fetal akciğerinin büyümesini ve olgunlaşmasını indüklediği bulunmuştur (10). Strum ve ark. (11) Clara hücreleri tarafından üretilen bir proteine karşı antikor kullanarak yaptıkları çalışmada daha

küçük iletili solunum yollarını döşeyen salgı hücrelerinin daha geniş solunum yollarını döşeyen salgı hücrelerinden daha hızlı olgunlaştıklarını saptamışlardır. İnsan fötüsleri ile yapılan çalışmalarda akciğer stromasının önemli bir elemanı olan elastik liflerin ilk kez primitif bronşiyoller çevresinde 10. haftada (12), kan-hava bariyerinin ise 19. haftada (13) ortaya çıktığı gösterilmiştir. Sıçanla yaptığımız çalışmada ise ilk kan damarlarının 14. günde ortaya çıktığı (Resim 3), 18. günde ise kan damarlarının çoğaldığı (Resim 6B), prenatal 20. günde ise kan damarlarının, kollabe alveollerle yakın temasa geçerek kan-hava bariyerini oluşturduğunu gördük (Resim 7). Arden ve ark. (14) ise, fetal sıçanlarda tip IV kollajenin hızlı yıkımının geç fetal akciğer gelişiminin büyüme fazı sırasında ortaya çıktığını ve hem epitelyal hem de stromal hücrelerin kollajenolitik aktiviteye katıldıklarını saptamışlardır. Burri ve Moschopoulos (15) sıçan fetal akciğer gelişimi hakkında yeni yaklaşımları ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar gelişen akciğeri 4 zona ayırarak, Zon I'den loblar arasında bir süperfizyal manto ve gelecekteki asinusların şekillendiğini, Zon II'nin bir farklılaşma zonu olduğunu ve 19. gebelik gününde damarları ile birlikte gelecekteki iletili solunum yollarını içerdiği ve 21. günden sonra tüm olası gaz değişim alanlarını içerdiğini, Zon III ve IV'ün solunum ağacı elemanlarını ve vasküler elemanları içerdiğini ileri sürmüşlerdir (15).

Akciğer gelişimini sağlayan gerek mezenşimal-epitelyal etkileşim, gerek Clara hücre proteini ya da bombesin olsun akciğerler prenatal dönemde hızlı bir farklılaşma geçirirler, doğuma kadar fonksiyon görmezler ve doğum sonrası 2. yaşta erişkin formu kazanırlar. Bizim çalışmamızda da bu gelişime ait bulgularımız (Resim 1-7) literatürle uygunluk göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Sawyer RH, Fallon JF. Epithelial-mesenchymal interactions in development. Praeger, New York 1983, pp 15-25.
2. Spooner BS, Faubian JM. Collagen involvement in branching morphogenesis of embryonic lung and salivary gland. Dev Biol 1980; 77: 84-89.
3. Masters JRV. Epithelial-mesenchymal interaction during lung development: the effect of mesenchymal mass. Dev Biol 1976; 51: 98.
4. Alescio, T, MA Dani. The influence of mesenchymal on the epithelial glycogen and budding activity in mouse embryonic lung developing in vitro. Embryol Exp Morphol 1971; 5: 131-140.
5. Adamson IY, King GM. Sex differences in development of fetal rat lung. II. Quantitative morphology of epithelial-mesenchymal interactions. Lab Invest 1984, 50: 461-465.
6. Smith BT. Lung maturation in fetal rat; acceleration by injection of fibroblast-pneumocyte factor. Science 1979, 204: 1094-1098.
7. Gross, I, Walker Smith, GJ. Insulin delays the morphological maturation of fetal rat lung in vitro. Pediatr Res 1977; 11: 515-522.
8. Simpson, LL, Tanswell AK, Joneja MG. Epithelial cell differentiation in organotypic cultures of fetal rat lung. The Am J Anat 1985; 172: 31-40.
9. Otto-Verberne CJM, Ten Have-Opbroek AAW. Development of the pulmonary acinus in fetal rat lung: A study based on an antiserum recognizing surfactant associated proteins. Anat Embryol 1987, 175: 365-373.
10. Sunday ME, Hua J, Dai HB, et al. Bombesin increases fetal lung growth and maturation in utero and in organ culture. J Respir Cell Mol Biol 1990; 3: 199-205.
11. Strum JM, Singh G, Katyal SL, et al. Immunohistochemical localization of Clara cell protein by light and electron microscopy in conducting airways of fetal and neonatal hamster lung. Anat Rec 1990; 227: 77-86.
12. Nakamura Y, Fukuda S, Hashimoto T. Pulmonary elastic fibers in normal human development and in pathological conditions. Pediatr Pathol 1990; 10: 689-706.
13. Di Maio M, Gil J, Ciurea D, Kattan M. Structural maturation of the human fetal lung: a morphometric study of the development of air-blood barriers. Pediatr Res 1989; 26: 88-93.
14. Arden MS, Spearman MA, Adamson IY. Degradation of type IV collagen during the development of fetal rat lung. Am J Respir Cell Mol Biol 1993; 9: 99-105.
15. Burri PH, Moschopoulos M. Structural analysis of fetal rat lung development. Anat Rec 1992; 234 : 399-418.