

# KANATLI KARACİĞERİNDEKİ PERİSİNÜZOİDAL HÜCRELERİN A VİTAMİNİ, LİPİD METABOLİZMASI, YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI İLE İLİŞKİSİ ÜZERİNDE IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK ÇALIŞMALAR

Studies at the level of light and electron microscopy the connection of perisinusoidal cells with Vitamin A, Lipid metabolisms and fatty liver syndrome in hens

Reşat Nuri AŞTI\*

**Summary :** The purpose of this study was to investigate at the level of light and electron microcopy the connection of perisinusoidal cells with Vitamin A, lipid metabolism and fatty liver syndrome in hens.

Forty adult Bobcock breed hens were used throughout the study.

Examination of control animals' liver tissue revealed few perisinusoidal cells carrying one or two small lipid droplets in their cytoplasm.

In the animals subcutaneously administrated with Vitamin A palmitat, it was determined that the number of perisinusoidal cells and of lipid droplets in the cytoplasm of these cells were increased lipid droplets in the epithelial cells had not changed.

In the third group animals fed with high energy rations, histopathological features of fatty liver syndrome were observed. Epithelial cells of the liver tissue filled with big and small lipid droplets. It was determined that the number of perisinusoidal cells and of lipid droplets of these cells had not changed. On the other hand characteristic histopathological findings of fatty liver syndrome were seen in the hepatic cells of hens fed with high energy rations and given Vitamin A palmitat. In addition, together with the increase in the number of lipid droplets enumeration of perisinusoidal cells have multiplied.

According to our findings. It was concluded that perisinusoidal cells of liver are related with Vitamin A metabolism. However these cells did not participate in the formation of fatty liver syndrome and lipid metabolism.

**Özet :** Bu araştırma, tavukların karaciğerindeki perisinusoidal hücrelerin Vitamin A, lipid metabolizması ve yağlı karaciğer hastalığı ile ilişkisini ışık ve elektronmikroskopik düzeylerde ortaya koymak amacıyla yapıldı.

Materyal olarak 40 adet 'Bobcock' ırkı tavuk kullanıldı.

Kontrol grubundaki tavuklarda, sitoplazmalarında bir iki adet lipid damlacığı taşıyan az sayıda perisinusoidal hücrelere rastlandı.

Subcutan yolla, Vitamin A palmitat verilen ikinci gruptaki tavukların karaciğer epitel hücrelerinde lipid damlacıkları miktarında bir artış olmadığı, buna karşılık perisinusoidal hücrelerin ve bunların sitoplazmasındaki lipid damlacıkları sayısının arttığı gözlemlendi.

Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslenen üçüncü gruptaki tavukların karaciğer epitel hücrelerinin irili ufaklı lipid damlacıkları ile dolu olduğu, perisinusoidal hücrelerin ve bunların sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının sayısında ise bir değişimin olmadığı saptandı.

Yüksek enerjili rasyonla beslendikten sonra Vitamin A verilen tavukların karaciğer epitel hücrelerinde, yağlı karaciğer hastalığına ait tüm bulgular görüldüğü gibi, perisinusoidal hücrelerin ve bunların sitoplazmasındaki lipid damlacıkları sayısının arttığı da gözlemlendi.

Bu bulgular ile perisinusoidal hücrelerin Vitamin A metabolizmasında rol oynadıkları, yağ metabolizması ve yağlı karaciğer hastalığının şekillenmesinde ise rolleri bulunmadığı sonucuna varıldı.

## Giriş

İlk defa Ito (6), insanların karaciğerinde yaptığı ışık mikroskopik çalışmada, sinuzoidlerin duvarında endotel ve Kupffer hücrelerinden başka, sitoplazmasında yağ damlacıkları bulunan bir diğer hücrenin varlığına değinmekte ve bu hücrelere "Ito hücreleri" veya yağ depolayan hücreler (fat storing cells) adını vermektedir.

Bronfenmajer ve arkadaşları (4), insanların karaciğerinde yaptıkları çalışmada, yağ depo eden hücrelerin varlığına değinmekte ve "Lipocyt" olarak tanımlandıkları bu hücrelerin yağ metabolizmasında rol oynadıklarından söz etmektedirler. Aterman (2), karaciğerdeki sinuzoidal hücrelerin tek tip hücre olduğunu, yağ depo eden hücrelerin ise bulunmadığını belirtmektedir.

Marion (12), Ivy ve Nesheim (8), Akkılıç ve Tan-yolaç (1) yaptıkları çalışmalarda, yüksek enerjili rasyonla besledikleri tavukların karaciğer epitel hücrelerindeki lipid damlacıklarının artarak karaciğer yağlanmasını şekillendirdiğinden söz etmektedirler.

Wake (17), Nakane (13), Kobayashi ve Takahishi (10)'nin ratlarda, Tatsumi ve Fujida (16)'nın tavuk embriyolarında, yüksek dozda Vitamin A vererek yaptıkları çalışmalarda, perisinusoidal hücrelerin sitoplazmasındaki lipid damlacıklarının sayısının arttığı, karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasındaki lipid damlacıkları miktarında ise değişme olmadığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada, kanatlıların Karaciğerindeki perisinusoidal hücrelerin Vitamin A, lipid metabolizması ve karaciğer yağlanması ile ilgileri ışık, elektronmikroskopik düzeylerde saptanmaya çalışılmıştır.

## Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak 40 adet "Bobcock" ırkı tavuk ve horoz kullanıldı. Bunlar 4 gruba ayrıldı.

Birinci grupta bulunan 10 adet hayvan kontrol grubu olarak kullanıldı.

İkinci gruptaki 10 adet hayvanın her birine 50.000 I.U/kg Vitamin A palmitat subcutan yolla verildi ve 7 gün sonra karaciğer örnekleri alındı.

\* Prof. Dr., S.Ü. Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, Konya

Üçüncü ve dördüncü grupta bulunan hayvanlar, Akkılıç ve Tanyolaç'ın (1) tavuklarda uyguladıkları 2850 k cal/kg metabolik enerji içeren yem ile 3 ay süreyle beslendiler. Bu sürenin bitiminde üçüncü grupta bulunan 10 hayvandan hemen, dördüncü grupta bulunan 10 hayvandan ise herbirine 50.000 I.U/kg Vitamin A palmitat subcutan yolla bir defada verildikten 7 gün sonra karaciğer örnekleri alındı.

Alınan materyaller aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu;

A- Işık mikroskopik incelemeler için : Her vakada karaciğerden alınan parçaların % 10 formol kalsiyum tespit solusyonunda tesbit edildi. Kriyostatta 15 mikron kalınlığında alınan kesitler, Sudan 3 (17), altın impregnationu (17) ve Sudan 3 + Altın impregnationu boyama metodları (14, 17) ile boyandı.

B- Elektronmikroskopik araştırmalar için : Her hayvandan alınan parçaların yarısı, Karnovsky (9) yöntemine göre tespit edilerek, Araldit M'de bloklandı. Alınan karaciğer parçalarının diğer yarısı ise elektronmikroskopta altın klorür reaksiyonunu (17) demostre etmek için kullanıldı. Bloklardan alınan kesitler Carl Zeiss EM 9S-2 model elektronmikroskopta incelendi.

### Bulgular

Kontrol grubuna ait ince kesitlerde, perisinuzoidal aralıkta (Disse aralığı) sitoplazmasında bir veya iki adet lipid damlacığı taşıyan perisinuzoidal hücelere rastlandı (Resim 1). Bu hücrelerin sinuzoidlerin lumeni ile direkt ilişkilerinin olmadığı görüldü.

Vitamin A verilen ikinci gruba ait ışık ve elektronmikroskopik kesitlerde, kontrol grubunda az sayıda görülen perisinuzoidal hücrelerin ve bu hücrelerdeki lipid damlacıkları sayısının artmış olduğu gözlemlendi (Resim 2). Bu lipid granüllerinin Sudan 3 ve altın klorüre karşı pozitif reaksiyon verdiği (Resim 3 oklar) ve altın klorür reaksi-

yonunun lipidlerin periferinde görüldüğü tesbit edildi (Resim 3). Karaciğer epitel hücrelerinin sitoplazmasında ise lipid infiltrasyonuna rastlanmadı.

Yükek enerjili rasyonla 3 ay beslenen, üçüncü gruptaki Vitamin A verilmemiş hayvanlara ait kesitler incelendiğinde : karaciğerde yağlı karaciğer sendromunun şekillenmiş olduğu (Resim 4) ve karaciğer epitel hücrelerinin Sudan 3'le pozitif reaksiyon veren irili ufaklı lipid damlacıkları ile dolu olduğu saptandı (Resim 5). Karaciğer epitel hücrelerindeki bu lipidlerin altın klorüre karşı reaksiyon vermediği tesbit edildi (Resim 6). Perisinuzoidal hücrelerin sayısında herhangi bir artış olmadığı gibi, bu hücrelerin sitoplazmasında lipid depolanması da görülmüdü.

Yüksek enerjili rasyonla beslendikten sonra Vitamin A verilen dördüncü gruptaki hayvanlara ait kesitlerde, karaciğer epitel hücrelerinde yukarıda belirtilen şekilde lipid depolanması görüldüğü gibi (Resim 7), perisinuzoidal aralığa yerleşmiş hücrelerde de vitaminin verilmesiyle birlikte Sudan 3 ve altın klorür boyamalarına karşı pozitif reaksiyon veren lipidlerin depolanmaya başladığı gözlemlendi (Resim 7). Bu gruptaki perisinuzoidal hücrelerin sayısının kontrol grubuna göre daha fazla, ikinci gruba göre ise daha az sayıda olduğu dikkati çekti.

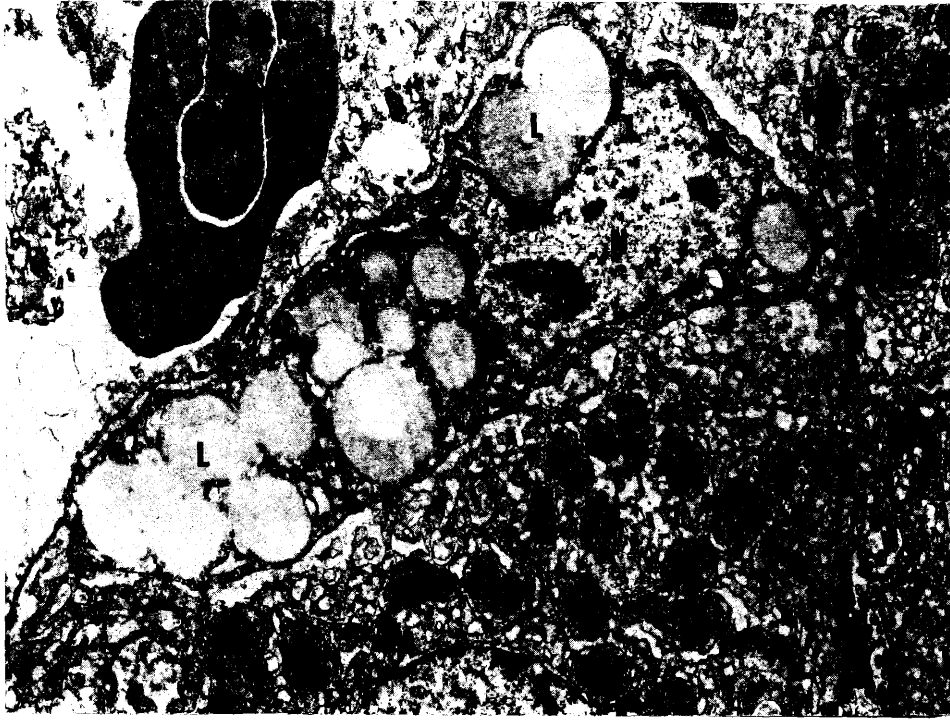
### Tartışma ve Sonuç

İlk defa Ito (6), insan karaciğerindeki sinuzoidlerin duvarında, sitoplazmasında yağ damlacıkları bulunan perisinuzoidal hücrelerin varlığından söz etmiştir. Bu çalışmadan sonra bu hücrelerin varlığını kabul eden bulgulara (4, 6, 11, 17) rastlandığı gibi, kabul etmeyen araştırmalar da (2) bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada kontrol grubuna ait ışık ve elektronmikroskopik kesitlerde, çeşitli araştırmacıların (4, 6, 7, 10, 17) memelilerde, perisinuzoidal aralıkta bulunduğunu bildirdikleri hücelere tavuklarda da rastlandı.



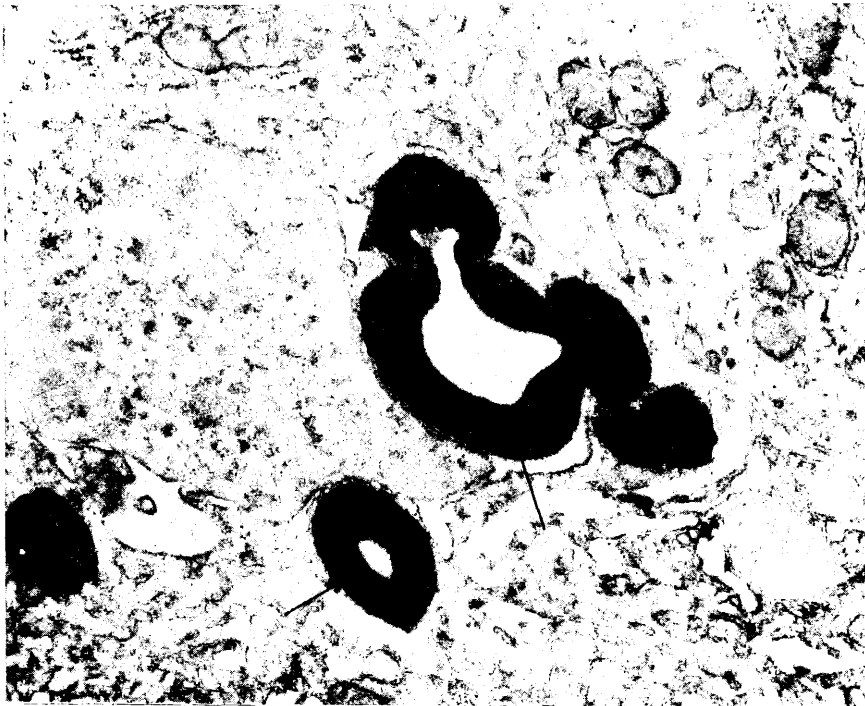
Resim 1 : Kontrol grubu. E) Endotel hücresi, F) Perisinuzoidal hücre, M) Mitochondrion, L) Lipid, D) Perisinuzoidal aralık., x 23750.

Figure 1 : Control group. E) Endothelial cell, F) Perisinuzoidal cell, M) Mitochondrion, L) Lipid, D) Perisinuzoidal space., x 23750.



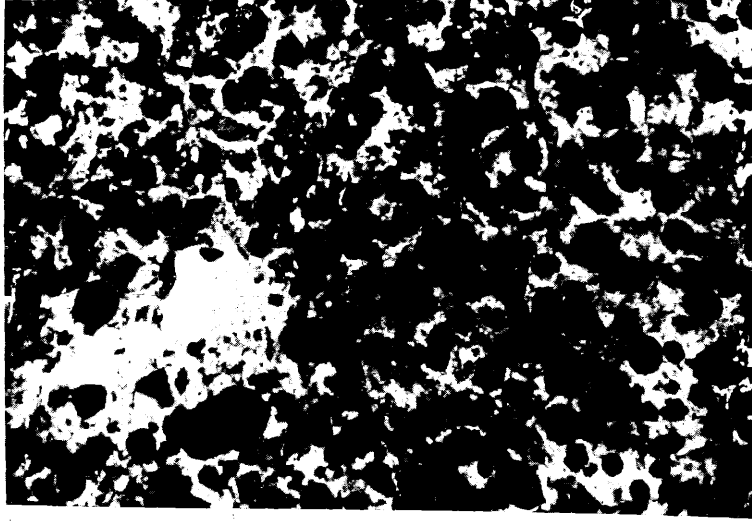
**Resim 2 :** Vitamin A verilmesinden 1 hafta sonraki durum;  
F) Perisinuzoidal hücre, P) Karaciğer epitel hücreleri, N) Nükleus, L) Lipid damlacıkları., x 11250.

**Figure 2 :** One week after vitamin A administration.  
F) Perisinusoidal cell, P) Hepatocyte, N) Nucleus, L) Lipid droplets., x 11250.



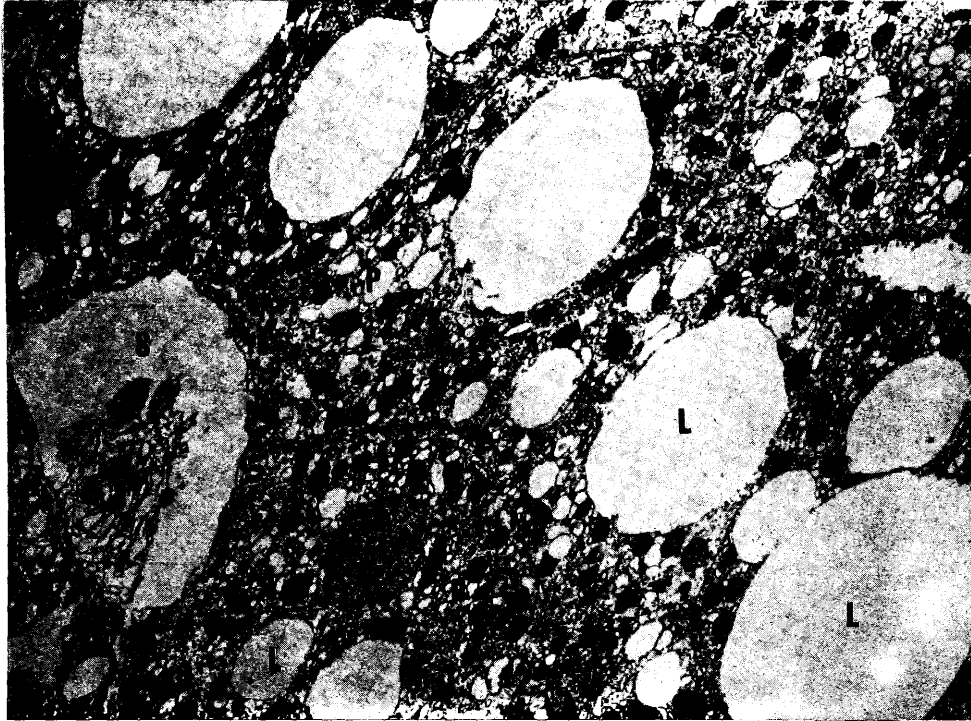
**Resim 3 :** Vitamin A verilmesinden 1 hafta sonraki durum; Perisinuzoidal hücrelerde altın klorür pozitif lipid damlacıkları (OKlar). Altın klorür., x 19950.

**Figure 3 :** One week after vitamin administration. Gold chloride positive lipid droplets in the perisinusoidal cells (Arrows). Gold chloride., x 19950.



**Resim 4 :** Yüksek enerjili rasyonla üç ay beslendikten sonraki durum; Karaciğer epitel hücrelerinin lipid damlacıkları ile dolu olduğu görülmekte. Sudan 3., x 480.

**Figure 4 :** Microscopic appearance of the liver after fed 3 months with high energy rations. Lipid accumulation were seen in the hepatic epithelial cells., x Sudan 3., x 480.



**Resim 5 :** Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslenen gruba alt ince kesit ; P) Karaciğer epitel hücreleri, L) Lipidler, S) Sinuzoid., x 3600.

**Figure 5 :** Microscopic appearance of the liver after fed 3 months with high energy rations. P) Hepatocyte, L) Lipids, S) Sinusoids., x 3600.

Vitamin A verilen ikinci gruba ait kesitlerde, perisinuzoidal hücrelerin ve bu hücrelerdeki lipid damlacıklarının sayısının Vitamin A'ya bağlı olarak arttığı gözlemlendiğinden dolayı, Wake (17), Kobayashi ve Takahashi'nin (10) ratlarda; Hirosawa ve Yamada'nın (5) farelerde; Rubin ve ark. (15)'nin hipervitaminozis A'lı insan-

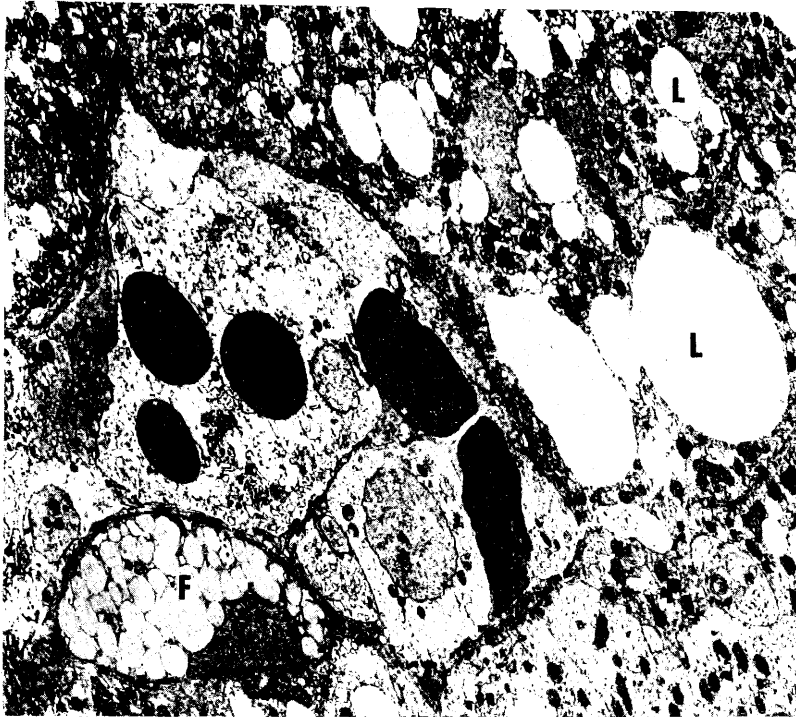
larda bildirdiği gibi Vitamin A'nın perisinuzoidal hücrelerde Vitamin A esterleri şeklinde depo edildiği görüşünün doğru olduğu kanısına varıldı.

Yüksek enerjili rasyonla beslenen ve Vitamin A verilmeyen üçüncü gruptaki hayvanların karaciğerinde, yüksek enerji düzeyine bağlı olarak şekillendiği çeşitli



**Resim 6 :** Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslenen gruba alt ince kesit; Karaciğer epitel hücrelerindeki lipidlerin altın klorüre negatif reaksiyon verdiği görülmekte. L) Lipidler, P) Karaciğer epitel hücresi, N) Nucleus. Altın klorür., x 9000.

**Figure 6 :** Microscopic appearance of the liver after fed 3 months with high energy rations. Gold chloride negative reaction were seen in lipids of the paranchymal cell. L) Lipids, P) Hepatocyte, N) Nucleus. Gold Chloride., x 9000.



**Resim 7 :** Yüksek enerjili rasyonla 3 ay beslendikten sonra vitamin A verilen hayvanlara alt ince kesit; F) Perisinuzoidal hücrelerde lipid depolanması görülmekte, P) Karaciğer epitel hücreleri, L) Lipid, S) Sinuzoid., x 3780.

**Figure 7 :** Microscopic appearance of the liver after fed 3 months with high energy rations and administered with vitamin A. F) Lipid accumulation were seen in the perisinusoidal cells, P) Hepatocyte, L) Lipid, S) Sinuzoid., x 3780.

araştırmacılar (1, 3) tarafından da bildirilen yağlı karaciğer hastalığı tablosu bu çalışmada da gözlemlendi. Perisinuzoidal hücrelerin ve bunların sitoplazmalarındaki lipid damlacıklarının sayısında ise bir değişim izlenemedi. Buna karşılık, yüksek enerjili rasyonla besledikten sonra Vitamin A verilen dördüncü gruptaki hayvanlarda, karaciğer epitel hücrelerinde yağlı karaciğer hastalığına ait tüm bulgular görüldüğü gibi, perisinuzoidal hücrelerin sitoplazmasında lipidlerin depolanmaya başladığı da saptandı. Bulgular sonucunda, tavuklarda yağlı karaciğer hastalığının şekillenmesinde karaciğer epitel hücrelerinin rol oynadıkları, buna karşılık perisinuzoidal hücrelerin et-

kisi olmadığında tesbit edildi. Lipid depolanmasına bağlı olan bu hastalıkta karaciğer epitel hücrelerinde lipidler depolanırken, perisinuzoidal hücrelerde lipidlerin depolanmaması, bu hücrelerin yağ metabolizmasında ve yağların depolanmasında rol oynamadıklarını gösterdi. Bundan dolayı, Bronfenmajer ve arkadaşlarının (4), bu hücrelerin yağ metabolizmasında rol oynadıkları görüşü uygular bulunmadı.

Bu bulgular ile Vitamin A'nın tavuk karaciğerinde perisinuzoidal hücrelerde depo edildiği, ancak yağ metabolizması ve yağlı karaciğer hastalığının şekillenmesinde bu hücrelerin bir rolü olmadığı sonucuna varıldı.

### Kaynaklar

1. Akkılıç, M. ve Tanyolaç, A. (1974). Kafeste beslenen tavuk rasyonlarındaki enerji düzeyinin karaciğer yağlanması üzerine etkisi. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 21, 3-4, 370-389.
2. Aterman, K. (1963). The structure of the liver sinusoids and the Sinusoidal cells in liver. Morphology. Biochemistry. Physiology, C. Rouiller (ed), Newyork, Academic press. Inc., Vol. 1.
3. Blair, R., Whitehead, W.C. (1974). An assesment of the factors associated with fatty liver and kidney syndrome in broilers. Abstr. XV world's poultry congress. New Orleans, August. 11-16.
4. Bronfenmajer, S., Schaffner, F., Popper, H. (1966). Fat storing cells (Lipocytes) in human liver. Arch Path., 82, 447-453.
5. Hirosawa, K. and Yamada, E. (1973). The localisation of the Vitamin A in the mouse liver as revealed by electron microscop radioautography. J. Electron. Micros., 22, 337.
6. Ito, T. (1951). Cytological studies on stellate cells of Kupffer and fat storing cells in the capillary wall of the human liver. Acta. anat. Nippon., 26, 2.
7. Ito, T., Shibasaki, S. (1968). Electron microscopic study on the hepatic sinusoidal wall and the fat storing cell in the normal human liver. Arch. Histol. Jap., 29, 137-192.
8. Ivy, C.A. and Nesheim, M.C. (1973). Factor influencing the liver fat content of laying hens. Poultry Sci., 52, 281-291.
9. Karnovsky, M.J. (1965). A formaldehyd- glutaraldehyd fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. cell. Biol., 27, 137-138.
10. Kobayashi, K. and Takahashi, Y. (1971). Effect of the administration of large doses of vitamin A on the fine structure of rat liver with special reference to changes in the fats storing cell. Arch. Histol. Jap., 33, 5, 421-443.
11. Kusumoto, Y. and Fujito, T. (1977). Vitamin A uptake cells distributed in liver and other organs of the rat. Arch. Histol. Jap., 40, 2, 121-136.
12. Marion, J.E. (1968). An evaluation for processing of layers housed in cages and on the floor. Poultry Sci., 47, 1250-1254.
13. Nakane, P.K. (1963). Ito's "fat storing cell" of the mouse liver. The Anat. Record., 145, 265-266.
14. Romeis, B. (1968). Mikroskopische Technik. R. Oldenburg Verlag, München-wien.
15. Rubin, E., Flarman, L.A., Degnan, T. and Diaz, J. (1970). Hepatic injury in chronic hypervitaminosis A. Am. J. Dis. Child., 119, 132-138.
16. Tatsumi, H. and Fujita, H. (1983). Fine structural aspect of the development of Ito cells (Vitamin A uptake cells) in chick embryo livers. Arch. Histol. Jap., 46, 691-700.
17. Wake, K. (1971). "Sternzellen" in the liver : Perisinusoidal cells with special reference to storage of Vitamin A. Am. J. Anat., 132, 429-462.