

ASEMPTOMATİK BİR WILSON HASTASININ KARACİĞERİNİN ELEKTRON MİKROSKOPİK ÖZELLİKLERİ⁺

Mukaddes EŞREFOĞLU*
Mukadder A.SELİMOĞLU **

Wilson hastalığı, otozomal resesif kalıtsal geçişli bir bakır metabolizması hastalığıdır. Semptomatik Wilson hastalığında bile ışık mikroskopik bulgular tanı için spesifik olmayabilir. Elektron mikroskopik olarak hepatositlerde spesifik bulgular saptanabilir. Çalışmamızda asemptomatik bir Wilson hastasının karaciğeri elektron mikroskopik düzeyde incelendi. Hepatosit sitoplazmasında irili ufaklı çok sayıda lipid damlaları izlendi. Sitoplazma ve nükleoplazma glikojenden zengindi. Mitokondrilerde belirgin pleomorfizm saptandı. Bazı mitokondrilerde kristalar çok sayıda, kalın ve yoğun, interkristal mesafeler dardı. Bazılarında ise kristalar seyrek ve ince, interkristal mesafeler genişti. Bazı mitokondrilerde krista yapısının tamamen ortadan kalktığı gözlemlendi. Agranüler endoplazma retikulumu tubullerinde yer yer genişlemeler saptandı. Sitoplazmada çok miktarda lizozomlar ve lipofusin granülleri izlendi. Kupffer hücrelerinde de çok miktarda lizozoma rastlandı. Wilson hastalığında hepatosit sitoplazmasında en belirgin değişikliklerin mitokondrilerde ve lizozomlarda ortaya çıktığı gözlemlendi. Elektron mikroskopik bulguların semptomların ortaya çıkmasından önce saptanabileceği düşünülerek elektron mikroskopik incelemenin hastalığın erken tanısında önemli rolü olabileceği kanısına varıldı .

Anahtar kelimeler: Wilson Hastalığı, Karaciğer, Elektron Mikroskopi

Electron Microscopic Findings Of An Asymptomatic Wilson's Disease Patient's Liver

Wilson's disease is a disorder of copper metabolism that is transmitted as an autosomal recessive trait. Light microscopic findings in symptomatic Wilson's disease may be normal. Electron microscopy may show characteristic changes in the hepatocytes. In the present study the liver of a patient with asymptomatic Wilson's disease was investigated. Many lipid droplets varying in size were observed within the hepatocyte cytoplasm. Nucleus and cytoplasm were rich in glycogen. Mitochondria showed marked pleomorphism. Cristae of some of the mitochondria were increased and dilated, intercrystal spaces were narrowed. Cristae of some of the mitochondria were decreased and thin, intercrystal spaces were enlarged. Cristae were absent in some of the mitochondria. Tubules of agranular endoplasmic reticulum were sometimes enlarged. Many lysosomes and lipofuscin pigment were observed within the cytoplasm. Many lysosomes were also observed within the cytoplasm of Kupffer's cells. The mitochondria and lysosomes displayed the most prominent changes. It is suggested that electron microscopy may be helpful in early diagnosis of Wilson's disease even in the asymptomatic stage of the disease.

Key words : Wilson's Disease, Liver, Electron Microscopy

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, MALATYA
**Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Pediatrik Gastroenteroloji Bilim Dalı,
ERZURUM

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Mukaddes Eşrefoğlu
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı
MALATYA

⁺Bu çalışma 4. Pediatrik Gastroenteroloji ve Beslenme Kongresinde sunulmuştur(10-13 Mayıs 2000- Bursa)

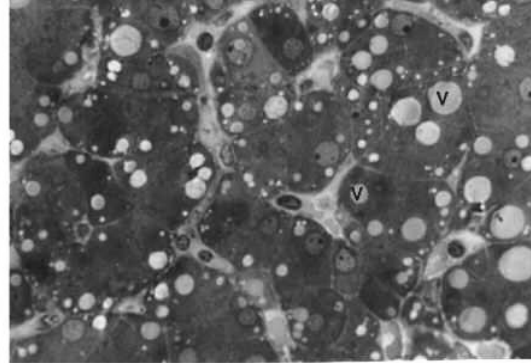
Wilson hastalığı, otozomal resesif kalıtsal geçişli bir bakır metabolizması hastalığıdır. Prevalansı 1:30000 olarak bilinmektedir.¹ Wilson hastalığına sebep olan metabolik bozukluğun ne olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Seruloplazmin kanda normal şartlarda bulunan ve serbest iyonik bakırın barsaklardan dokulara taşınmasını sağlayan bir proteindir. Seruloplazminin yetersiz olması sonucunda bakırın dokularda birikmesi son derece toksik etkiler oluşturur.¹⁻³ Tanı koyulduğunda bütün aile üyeleri seruloplazmin düzeyi ve idrarda 24 saatlik bakır atılımı yönünden araştırılmalıdır.

Semptomatik Wilson hastalığında bile ışık mikroskopik bulgular tanı için spesifik olmayabilir. Ancak, Wilson hastalığı için elektron mikroskopik olarak hepatositlerde spesifik bulgular saptanabilir.⁴ Bu çalışmada presemptomatik dönemdeki bir Wilson hastasının karaciğerini elektron mikroskopik olarak inceledik.

OLGU SUNUMU

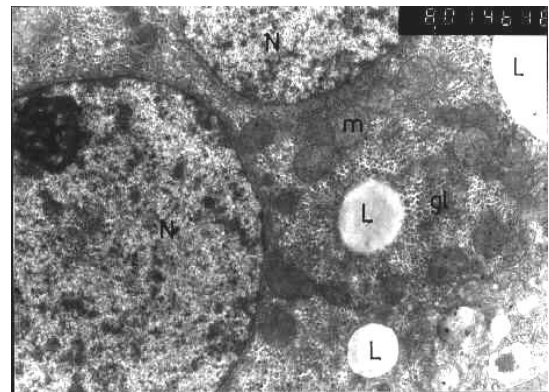
Oniki yaşındaki çocukları nörolojik tutulumlu Wilson hastalığı nedeni ile exitus olan aile hastalık yönünden araştırıldı. Anne, baba ve dört çocuğun serum AST, ALT ve seruloplazmin değerleri araştırıldı. Çocuklardan birinde tarama sırasında yüksek AST ve ALT değerleri saptandı(sırası ile 65 IU ve 95 IU). Seruloplazmin değeri 5mg/dl olarak saptanan beş yaşındaki erkek çocuktan alınan karaciğer biyopsi örneği Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında elektron mikroskopik inceleme için hazırlandı ve değerlendirildi. Biyokimya Anabilim Dalında dokü bakır değeri 860mikrogram/gram kuru ağırlık olarak saptandı. Alınan karaciğer örneği elektron mikroskopik inceleme için önce 0.2 M tamponlu gluteraldehit ile, daha sonra 0.2 M tamponlu OsO4 ile fikse edildi. Asetonla dehidrate edilerek Araldite CY212'ye gömüldü. Bloklardan elde edilen yarı ince kesitler metilen mavisi ile boyanarak Olympus BH-2 fotomikroskopta, ince kesitler ise uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Jeol 100-SX elektron mikroskopta incelenerek fotoğraflandı.

Yarı ince kesitlerde hepatosit sitoplazmasında irili ufaklı çok sayıda vakuoller izlendi. Bunun dışında karaciğerde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 1).



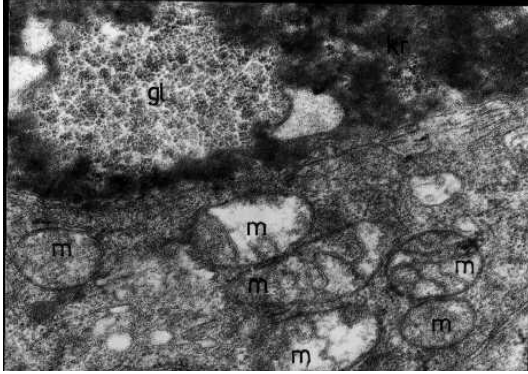
Şekil 1. Hepatositlerin sitoplazmalarında çok miktarda irili ufaklı vakuoller izlenmekte (v). Metilen mavisix40.

Elektron mikroskopik düzeyde dikkati çeken ilk özellik hepatositlerin sitoplazmalarında ışık mikroskopik olarak da izlenen vakuoler yapıların varlığı idi. İrili ufaklı çok sayıda bu yapıların lipid damlaları olduğu düşünüldü. Hepatositlerin çoğunda ökromatik nükleus ve belirgin nükleolusa rastlandı. Bu özellikleri ile nükleus ve nükleolus normaldi (Şekil 2). Ancak yer yer bazı nükleuslarda kromatin yoğunlaşmıştı ve yoğun glikojen birikimi bulunmaktaydı (Şekil 3).

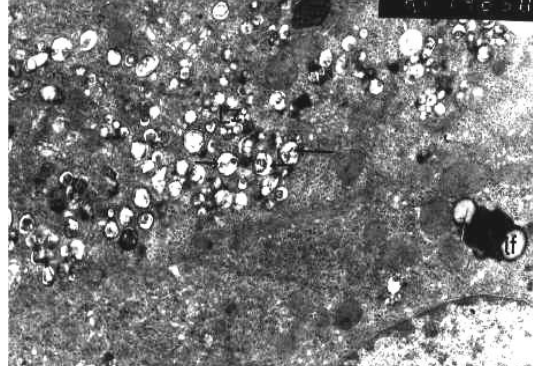


Şekil 2. Hepatositlerin sitoplazmalarında değişik büyüklüklerde lipid damlaları izlenmekte(L). Nükleus(N) ve nükleolus(nc) yapısı normal görünmektedir. Glikojenden(gl) zengin sitoplazmada çok miktarda mitokondri(m) bulunmakta. Uranil asetat-kurşun sitratx8.000.

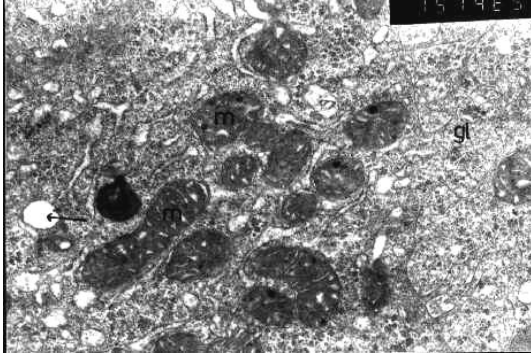
Asemptomatik Bir Wilson Hastasının Karaciğerinin Elektron Mikroskopik Özellikleri



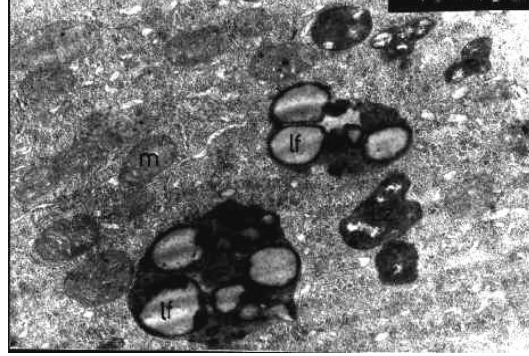
Şekil 3.Hepatositin nükleus kromatininde(nk) yoğunlaşma ve nükleust glikojen(gl) birikimi izlenmekte. Sitoplazmada bulunana mitokondrilerin(m) kristalların organizasyonu bozulmuş, bazı mitokondrilerde kristala kaybolmuş, bazılarında az sayıda ve ince izlenmekte. İnterkristal mesafele geniş görülmekte. Uranil asetat-kurşun sitratx45.000.



Şekil 7.Hepatosit sitoplazmasında lizozomların yer yer vakuoler, yer yer granüler özellik gösterdiği izlenmekte. Sitoplazmanın bazı bölümlerinde sıkıca biraraya gelerek gruplar oluşturan lizozomların bazılarında membran ile içerdiği elektron yoğun materyal arasında elektron az yoğun, şeffaf bir alan bulunmakta(oklar). Yoğun içerikli lizozomlara(Lz) ve lipidden zengin lipofuscin pigmentine(lf) rastlanmakta. Uranil asetat-kurşun sitratx8.000.



Şekil 5.Glikojenden zengin hepatosit sitoplazmasında yuvarlak, oval veya uzunca şekilli mitokondriler(m) izlenmekte. Bazı mitokondrilerin(m) kristallar kalınlaşmış, interkristal mesafeler yer yer daralmış. İntramitokondriyal granüller genellikle belirgin. Agranüller endoplazma retikulumu tubullerinde genişleme izlenmekte(ok). Yoğun içerikli bir lizozom(Lz) görülmekte. Uranil asetat-kurşun sitratx15.000.

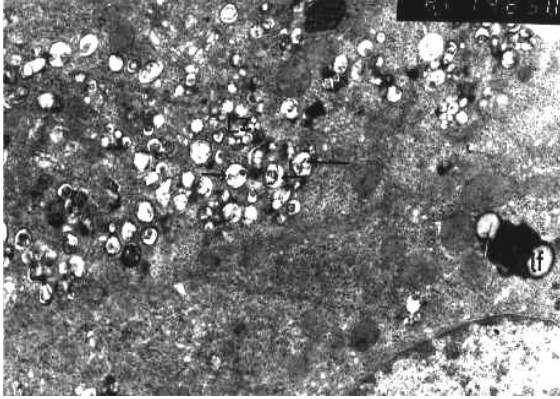


Şekil 6. Hepatosit sitoplazmasında çok miktarda sekonder lizozom(Lz) ve lipofuscin pigmenti(lf) izlenmekte. Mitokondri(m) kristalları kalınlaşmış, intermitokondriyal granüller genellikle belirgin. Uranil asetat-kurşun sitratx15.000

Genellikle glikojenden zengin olan sitoplazmada (Şekil 2), iyi gelişmiş granüler ve agranüler endoplazma retikulumu, çok sayıda Golgi kompleksi, bol serbest ribozom, çok sayıda mitokondri yer almaktaydı (Şekil 4). Mitokondrilerde belirgin pleomorfizm saptandı. Mitokondriler yuvarlak, oval veya uzunca şekilliydiler. Bazı mitokondrilerde kristallar çok sayıda, kalın ve yoğun idi. Bu mitokondrilerde interkristal mesafeler daralmış idi (Şekil 4,5). İntramitokondriyal granüller yer yer belirgin izlendi (Şekil 5). Bazı mitokondrilerin kristalları az sayıda ve inceydi, interkristal mesafeler genişlemişti. Bazılarında kristallar kaybolmuştu (Şekil 3). Agranüler endoplazma retikulumu tubulleri

yer yer genişlemişti (Şekil 5). Sitoplazmada çok miktarda heterojen içerikli sekonder lizozoma rastlandı. Sekonder lizozomların yer yer vakuoler, yer yer granüler özellik gösterdiği izlendi (Şekil 6,7). Sitoplazmanın bazı bölümlerinde sıkıca biraraya gelerek gruplar oluşturan bu organellerin bazılarında membran ile içerdiği elektron yoğun materyal arasında elektron az yoğun, şeffaf bir alan bulunmaktaydı (Şekil 7).

Sekonder lizozomların çoğu lipidden zengindi (lipofuscin granülleri) (Şekil 6,7). Kupffer hücrelerinin de sitoplazmalarında hepatositlerin lizozomlarına benzer yoğunlukta materyal içeren çok sayıda sekonder lizozom izlendi.



Şekil 7. Hepatosit sitoplazmasında lizozomların yer yer vakuoler, yer yer granüler özellik gösterdiği izlenmektedir. Sitoplazmanın bazı bölümlerinde sıkıca biraraya gelerek gruplar oluşturan lizozomların bazılarında membran ile içerdiği elektron yoğun materyal arasında elektron az yoğun, şeffaf bir alan bulunmaktadır (oklar). Yoğun içerikli lizozomlara (Lz) ve lipidden zengin lipofusin pigmentine (lf) rastlanmaktadır. Uranil asetat-kurşun sitrabx8.000.

TARTIŞMA

Wilson hastalığında karaciğerde siroz gelişmeden önce ışık mikroskopik olarak steatoz en belirgin bulgudur. Nükleusda glikojen birikimine bağlı olarak 'boş nükleus' görünümü ortaya çıkar. Bu dönemde izlenen bulgular viral, otoimmün veya diğer sebeplerden dolayı oluşan kronik hepatit bulgularından ayırdedilemez. Bu nedenle ışık mikroskopik inceleme genellikle yetersiz kalır.^{2,4} Karaciğer örneğini incelediğimiz asemptomatik Wilson hastasında, ışık mikroskopik düzeyde karaciğerde, hepatosit sitoplazmasında yağ birikimi dışında patolojik bir bulguya rastlanmadı. Elektron mikroskopik düzeyde hepatosit sitoplazmasında en belirgin değişikliğin, sitoplazmada çok miktarda izlenen lipid damlaları dışında, mitokondri ve lizozomlarda ortaya çıktığı gözlemlendi. Wilson hastalığında mitokondrielerde belirgin pleomorfizm olduğu gösterilmiştir. Matriks dansitesinde artma veya azalma, kristallerin düzensiz organizasyonu, azalması, kaybolması veya artması, matriks granüllerinin kaybolması, matrikste elektron yoğun materyalin birikmesi gibi dejeneratif değişiklikler izlenebilir.^{2,5,6} Mitokondriyal değişikliklerin hastanın yaşından, karaciğer bakır konsantrasyonundan ve steatoz derecesinden bağımsız olarak geliştiği gösterilmiştir.^{5,6} Asemptomatik bir hastada saptadığımız benzer mitokondriyal değişiklikler nedeni ile mitokondrielerin bakır toksisitesinin önemli hedef organel-

leri olduğunu söyleyebiliriz. Sitoplazmada toksik bir madde olan bakırın birikimi ile bağlantılı olarak detoksifikasyonda görev alan agranüler endoplazma retikulumunu genişlemiş görmemiz de doğaldır.

Hücreye dışardan giren zararlı maddeler veya hücre içinde oluşan artık ürünler lizozomlar tarafından ortadan kaldırılır.⁷ Karaciğerde biriken bakır lizozomların membranları ile sınırlanarak zararsızlaştırılmaya çalışılır. Çalışmamızda lizozomlar içinde elektron yoğun materyale sıklıkla rastladık. Bazı lizozomlarda bu yoğun materyal ile lizozom membranı arasında elektron az yoğun bir alan bulunmaktaydı. Kanımızca hücreye giren bakır miktarı ile bağlantılı olarak lizozomlarda biriken bakır miktarı da artmaktadır. Bakır birikimi lizozomların morfolojisini bozmaktadır. Wilson hastalığında lizozomlarda genişleme ve lizozom morfolojisinde bozulma gösterilmiştir. Artmış bakır lizozomal frajiliteyi artırır, membranın yağ asidi kompozisyonunu bozar, membran akışkanlığını azaltır ve lizozomal pH'ı artırır.⁸ Sitoplazmada artmış bakırla birlikte lipid de lizozomlar tarafından ortadan kaldırılmaya çalışılır. Bu nedenle Wilson hastalığında sekonder lizozomlar içinde lipid damllarına rastlanır.^{2,9} Biz de lipidden zengin lipofusin pigmentini hepatosit sitoplazmasında izledik. Wilson hastalığında spesifik lizozomal değişikliklerin ortaya çıkması bu hastalığın basit bir seruloplazmin sentez bozukluğu olmayıp, bakırın safradan atılamaması ile birlikte lizozomal bir hastalık olduğu şeklinde yorumlanmıştır.¹⁰ Çalışmamızda Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında da elektron yoğun materyal içeren çok miktarda sekonder lizozoma rastladık. Yüksek fagositoz yeteneğine sahip bu hücrelerin sitoplazmalarında bakır içeren lizozomların izlenmesi doğaldır. Nitekim Wilson hastalığında Kupffer hücrelerinin sitoplazmasında da bakır izlenir.²

Semptomatik Wilson hastalarında bile ışık mikroskopik bulgular tanı için spesifik olmayabilir. Elektron mikroskopik olarak hepatositlerde spesifik patolojik bulgular saptanabilir.⁴ Çalışmamızda asemptomatik bir Wilson hastasında hastalığın tanısı için yol gösterecek spesifik bulgular saptandı. Bu nedenle elektron mikros-

Asemptomatik Bir Wilson Hastasının Karaciğerinin Elektron Mikroskopik Özellikleri

kopik incelemenin hastalığın erken tanısında önemli rolü olabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Roy CC, Silverman A, Alagille D. Inborn errors of metabolism. In: Roy CC, Silverman A, Alagille D, (eds). Pediatric Clinical Gastroenterology. 4th ed. St Louis: Mosby 1994:813-876.
2. PP Anthony. Metabolic disorders. In: Mc Gee JOD, Isaacson PG, Wright NA, (eds). Oxford Textbook of Pathology. 1st ed. Oxford :Oxford University Press 1992: 1318,1363.
3. Schilsky ML, Quintana N, Volenberg I. et. al. Spontaneous cholangiofibrosis in Long-Evans rats: a rodent model for Wilson's disease. Lab Animal Sci 1998; 48(2):156-61.
4. Enat R, Lichtig C, Segman S, et al. Ultrastructural pathology with normal light microscopy of liver in Wilson's disease. A case report. Isr J Med Sci. 1979;15(6):487-6.
5. Sternlieb I, Quintana N, Volenberg I et al. An array of mitochondrial alterations in the hepatocytes of Long-Evans Cinnoman rats. Hepatology 1995;22(6):1782-7.
6. Sternlieb I. Fraternal concordance of types of abnormal hepatocellular mitochondria in Wilson's disease. Hepatology 1992;16(2):728-32.
7. Fawcett DW. Concise Histology; 1st ed. New York : Chapman and Hall. 1997:9.
8. Myers BM, Prendegast FG, Holman R et al. Alterations in hepatocytes lysosomes in experimental hepatic copper overload in rats. Gastroenterology 1993;105(6):1814-23.
9. Hayashi H, Sternlieb I: Lipolysosomes in human hepatocytes. Ultrastructural and cytochemical studies of patients with Wilson's disease. Lab. Invest 1975; 33(1):1-7).
10. Chapoy P, Perrimond H, Dor AM. et al. Wilson disease. A clinical and pathological study of 6 cases. Sem Hop 1979 55(9-10): 458-64.