

Embriyonun Vasküler Gelişimi



Ahmet Çağrı Aykan¹, Banu Şahin Yıldız²

¹ Ahi Evren Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kardiyoloji Kliniği, Trabzon, Türkiye

² Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Dolaşım sistemi, kalp ve damarlardan oluşan gelişmiş bir sistemdir. Ekstraembriyonik mezodermden köken alan dolaşım sistemi embriyoda fonksiyona başlayan ilk sistemdir. Anjiyoplast formasyonu ve primitif plasental dolaşım intrauterin üçüncü hafta başında başlar. Plastisite, belli yetişkin kök hücrelerin farklı ve çeşitli hücre tiplerine dönebilmesidir. Hematopoietik kök hücreler beyin, kalp kası, iskelet kası ve karaciğer hücrelerine, kemik iliği stromal hücreleri kalp kası ve iskelet kası hücrelerine dönüşebilir. Arteriyel, venöz ya da kapiller olarak damarların tanımlanması remodeling süreciyle yakından ilişkilidir. Arterler Ephrin-B2 ve D114, venler Ephrin-B4 ve neuropilin-2 gibi belirteçler tarafından tanımlanmıştır. Bu genlerin kılavuzluğunda arter ve ven tanımlanması yapılabilir. Damar dallanması bu genler dışında, hemodinami ve kardiyak out-put düzenlenmesi ile oluşan bir fiziksel etkene ihtiyaç duymaktadır. Akım tarafından indüklenen plastisite, damar oluşumu için genetik ve epigenetik faktörler arasında hayati bağlıdır. Arteriyel venöz farklılaşma hemodinamik kuvvetler tarafından kontrol edilir. Sonuç olarak akım, arteriyel ağacın şekillenmesinde önemli derecede etkilidir ve arteriyel belirteçler olan Ephrin B2 ve Neuropilin 1'in aktivasyonunu regüle eder.

Anahtar Kelimeler: Embriyo; vasküler; gelişim

Embryonic Vascular Plasticity

ABSTRACT

The circulatory system is a complex system containing the heart and vessels. This system, originating from extraembryonic mesoderm, is the first functioning system of the embryo. The formation of the angioblast and primitive placental circulation starts at the beginning of the third week. Plasticity is defined as the ability of a mature cell to differentiate into different cell types. Haematopoietic stem cells can transform into neural, heart muscle, skeletal muscle and liver cells, while the bone marrow stromal cells can transform into heart and skeletal muscle cells. The identification of vessels as artery, venous or capillary is closely related to remodelling. Arteries express ephrin-B2 and D114, while veins express ephrin-B4 and neuropilin-2. With the guidance of these genes, the identification of arteries and veins has started. Besides genes, physical factors, including hemodynamic and cardiac output regulations, affect vessel branching. Flow-mediated vascular plasticity is a crucial link between the genetic and epigenetic factors. The arterial and venous differentiations are controlled by hemodynamic factors. In conclusion, blood flow is important for the formation of a vascular tree and activates arterial markers, including ephrin-B2 and neuropilin-1.

Key Words: Embryo; vascular; development

Dolaşım sistemi, embriyoda fonksiyona başlayan ilk sistem olup ekstra-embriyonik mezodermden kaynaklanan mezenşimal hücre topluluğundan farklılaşır^(1,2). Embriyo, üçüncü haftanın ortasına kadar çevre dokulardan difüzyonla beslenir. Üçüncü haftanın başında anjiyogenez formasyonu ve primitif plasental sirkülasyon başlar. Anjiyoplast olarak bilinen mezenşimal hücreler, izole anjiyojenik hücre kümelerini oluştururlar. Hücreler arasındaki yarıkların birleşmesiyle kan adacıkları içerisinde küçük kaviteler oluşur. Anjiyoplastlar endotelial hücreleri oluşturmak üzere düzleşir. Bunlar kavitelerin etrafını çevreleyerek primitif endoteliumu oluştururlar. Bu endotelial kavite çizgisi kısa süre içerisinde endotelial kanalları ağlarını oluşturmak üzere birleşir. Endotelial gelişme ve birleşme ile komşu bölgelerdeki damarlar arasında iletişim kurulur.

Plastisite, belli yetişkin kök hücrelerin farklı ve çeşitli hücre tiplerine dönebilmesidir⁽³⁾. Hematopoietik kök hücreler beyin, kalp kası, iskelet kası ve karaciğer hücrelerine, kemik iliği stromal hücreleri kalp kası ve iskelet kası hücrelerine dönüşebilir. Diferansiyasyon (kemik iliğinde henüz hematopoietik seriye yönelmemiş pluripotent kök hücrenin daha az diferan-

Yazışma Adresi

Ahmet Çağrı Aykan

E-posta: ahmetaykan@yahoo.com

Geliş Tarihi: 01.11.2013

Kabul Tarihi: 04.11.2013

@Telif Hakkı 2016 Koşuyolu Heart Journal metnine www.kosuyoluheartjournal.com web adresinden ulaşılabilir.

siye durumdan değişik tipte hücre tiplerine dönüşmesi), transdiferansiyasyon (hematopoietik kök hücreye farklılaşma sonrası DNA'daki konformasyonel değişikliklerle diğer hücrelere dönüşme) ve füzyon (miyoblastlar ile fibroblastların in vitro füzyonu ile fibroblast çekirdeğinde kasa özgü mRNA ekspresyonu saptanması) gibi kök hücre plastisite mekanizmaları tanımlanmıştır.⁽³⁾

ARTERİYEL VE VENÖZ FARKLILAŞMA

Dolaşım sistemi kalp ve damarlardan oluşan gelişmiş bir sistemdir. Arteriyel, venöz ya da kapiller olarak damarların tanımlanması remodeling süreciyle yakından ilişkilidir. Arterler Ephrin-B2 ve D114, venler Ephrin-B4 ve neuropilin-2 gibi belirteçler tarafından tanımlanmıştır⁽⁴⁻⁸⁾. Ephrin reseptör tirozin kinazlar ve bunların membrana bağlı ephrin ligandları hücreler arası ilişkide hayati önem arz eder. Ephrin-B2 ligandı embriyonik anjiyogenezin en erken safhasında arteriyel endotel için moleküler bir belirteçken Ephrin-B4 venöz endotel için belirteçtir^(1,2). Embriyonal dönemde bu genlerin arter ve venlerin devamlılığının sağlanmasında önemli olduğu düşünülmektedir^(1,2). Bu genlerin kılavuzluğunda arter ve ven tanımlanması yapılabilir. Bu genlerin olmaması yolk kesesinde vasküler remodelingi etkilemektedir^(1,4,5,9). Tanımlanan genlerin dışında kardiyak aktivite değişiklikleri de yolk kesesinin vasküler aktivitesini etkilemektedir. Sonuç olarak damar dallanması bu genler dışında, hemodinami ve kardiyak out-put düzenlenmesi ile oluşan bir fiziksel etken ihtiyacı duymaktadır. Akım tarafından indüklenen plastisite, damar oluşumu için genetik ve epigenetik faktörler arasında hayati bağlıdır.

TIE2 embriyonik venlerde güçlü bir şekilde eksprese edilen arterlerin çoğunda oldukça zayıf bir şekilde bulunmuştur. Gelişimin erken safhalarında (embriyonik yaşamın ilk 7 günü) hem arteriyel hem de venöz bıldırcın endotel hücreleri tavuk arter ve venlerinin ikisini de kolonize edebilmektedir⁽¹⁰⁾. Arteriyel ve venöz spesifik genlerin ekspresyonu damar idantitesine bağlı olarak nakledilen endotel hücrelerinin bulunduğu noktada değişmektedir. Fakat bu plastisite gelişimin sonraki basamaklarında kademeli olarak kaybolmaktadır. Embriyonik 11. günden sonra arter greftleri sadece arterleri endotelize eden endotel ile kaplanırken ven greftleri genel olarak konakçı venini kolonize etmektedir. Damar duvarındaki sinyaller en azından endotel hücre kimliğini parsiyel olarak regüle etmektedir. Geç dönem embriyolarında (embriyonik 11. günden sonra) arteriyel endotel hücreleri, damar duvarından ayrıldığında konağın hem arter hem de venini kolonize etmektedir. Bundan sorumlu parakrin sinyal yolağı halen gösterilememiştir; ama nöronal gelişimle ilgili olduğu düşünülmektedir. Çünkü arterlerin fonksiyonel inervasyonu tam da bu aşamada başlamaktadır^(11,12).

Intravital time lapse görüntüleme metodu gelişim sürecinin bütün basamaklarını kesintisiz inceleme olanağı sunan önemli bir tekniktir. Çok fazla hücre siklusüne giren hücrelerde hücre bölünmesinin ve bu bölünme sürecinin hücrenin yaşam döngüsündeki öneminin anlaşılmasında uzun süreli time lapse görün-

tüleme yöntemi kullanılması önemli bilgiler sağlar. Hücrelerin bölünmesini, koloni oluşturmasını, migrasyonunu, hücreler arası bağlantıların oluşumu kesintisiz kayıt imkanı sunar. Bu video seansları birçok hücre siklusu ve haftalar boyu devam ettiği için bu videolarının izlenmesi hücrelerin dinamik doğası, bölünmesi, birbirleriyle olan ilişkilerini anlamamıza yardımcı olur.

İn vivo time lapse görüntüleme metodu kullanılarak yapılan çalışmalarda damar plastisitesinin hemodinamik olarak kontrol edildiği gösterilmiştir⁽¹³⁾. Akımın başlamasından önce arteriyel ya da venöz belirteç eksprese eden endotel hücrelerinin posterior-arteriyel ve anterior-venöz kutup olarak yerleşim gösterdiği gösterilmiştir. Kardiyak aktivitenin ve perfüzyonun başlamasından sonra 21. somit hizasında aortadan köken alan kapillerlerin akım aracılıklı birleşmesi sonucunda posterior arteriyel kupta vitelline arteri oluşur. Mütakip safalarda arter ağı genişler ve bazı ufak kapiller yan dallar arter ağından ayrılır. Ayrılan bu segmentler apopitoza uğramazlar ya da regrese olmazlar; bilakis venöz pleksus ile bağlantı kurarlar. Ayrılan bu damarlar arteriyel benliklerini kaybederek venöz markerler eksprese etmeye başlarlar. Detaylı yüksek çözünürlüklü intra vital görüntülemeyle ayrılan bu segmentlerin kanla dolu ve arteriyel sistemin distal ucuyla bağlantıda olduğu için basınçlı olduğu, primer ağın venlerine bağlanmadan önce arterin üzerinde büyüyerek genişlediği gösterilmiştir^(13,14). Bu ayrılan hücrelerin uç hücreleri yani filipodiaları yoktur ve onun yerine luminal basınç ile ilerler ve çevreleyen geniş çaplı damarlar tarafından oluşturulan strain alanları ile yönlendirilirler⁽¹⁵⁾. Arterlerdeki relatif olarak yüksek olan basınç, ayrılan segmentlerdeki genişlemenin arterlere doğru değil de basıncın daha az olduğu venlere doğru bağlanmasını sağlar. Arter segmentlerindeki benzer önleme, venöz seyiyeden başlayarak, intersegmental arterleri onlara bağlanmadan geçen, gövdedeki kardinal vene bağlanan, parakordal damarlarında da görülmektedir⁽¹⁶⁾.

Arteriyel ve venöz idantiteyi endotel hücrelerinin akım çevresini değiştirerek değiştirebiliriz. Vitelin arterini dışarıdan baskı uygulamak suretiyle oklude ederek akımı yönlendirecek olursak arteriyel sistemi venöz kanla perfüze etmiş oluruz ve bu da arterlerin venlere hem morfolojik hem de gen ekspresyonu yoluyla çevrilmesine neden olur. Aynı şekilde arteriyel kanla perfüze olan venler de arterleşir⁽¹³⁾. Akım ile regüle edilen damar idantitesinin akım sinyalinin fiziksel özelliği ile mi yoksa arteriyel ve venöz kandaki O₂ miktarı gibi kimyasal değişikliklerle mi kontrol edildiği açık değildir. Arterler ile venler arasında bariz bir basınç farklılığı olmakla birlikte bu farklılığı ölçen bir moleküler sinyal kaskadı bilinmemektedir ve de yetişkinlerle karşılaştırıldığında embriyoda bu fark çok düşüktür, 1-2 mmHg kadardır⁽⁸⁾. Bu yüzden arteriyel ve venöz profiller arasında bulunan bu farklılıkların tetiklediği genetik kaskadın embriyoda aynı şekilde uyarı çıkaramayacağı düşünülmektedir. Basınç profilleri direk olarak hissedilmese de endotel hücrelerinin ve sitoskeletonun plastik deformasyonu, aşırı gerginlik konsepti, relatif olarak düşük basınca sahip

embriyoda dahi arteriyel ve venöz akım tarafından uyarılan değişiklikleri mantıklı olarak açıklamaktadır.⁽¹⁷⁾

Embriyoda erken dönemlerde ana damarlara aortadan köken alarak büyümekte, somitler arasında dorsal olarak büyüyerek intersomitik damarları oluşturmakta, bu ise daha sonra lateral olarak kaudal ve kranial bölgelere dallanmakta ve dorsolateral anastomoz eden damarları oluşturmaktadır⁽¹⁸⁾. Bu safhada intersomitik damarlar aortaya bağlıdırlar ve aortadan köken almaktadırlar. Takip eden safhalar boyunca kardinal venden köken alan sekonder tomurcuklar paralel olarak büyürler ve intersegmenter somitik arterlere yakın olarak seyrederek. Nadir olarak bu sekonder tomurcuklar intersomitik arterler ile birleşirler ve aorta ile bağının kopmasına neden olarak intersegmental damarın toplardamara dönüşmesine sebep olurlar. Sonuç olarak intersomitik arterdeki akım yönü tersine döner⁽¹⁶⁾. Bu olayın doğası tam olarak anlaşılmamakla birlikte muhtemelen bu birleşme rastlantısaldır ve lokal perfüzyonun dengelenmesi sağlamak amacıyla ilişkilidir; yani lokal basınç profilleriyle ilişkilidir. Bu damarlar başlangıçta arter olmakla birlikte remodeling sürecindeki plastisite fonksiyonel vasküler devrelerin oluşumu için önem arz etmektedir.

Yolk kesesindeki pleksus, arteriovenöz diferansiyasyonu ve dallanma morfolojisi akım öncülüdür ve yüksek derecede endotel hücre plastisitesi bağımlıdır. Perfüze olan vasküler ağlarda arteriyel ve venöz spesifik genlerin ekspresyonu damar duvar remodelingini düzenleyen lokal hemodinamik etkenlere bağlıdır.

Vasküler gelişim aşamasında genleri mutasyona uğratılmış bir çok fare embriyonik dolaşımdaki yetersizliğe bağlı olarak ölmektedir. Dolaşım başladıktan hemen sonra yolk kesesinde birbirine cis-cis formunda bağlanan bir posterior arteriyel ve bir anterior venöz kutup oluşur. Matür yolk kesesi damarlarının birleşmiş ve eşleşmiş arteriyel venöz paternlerini oluşturmak için küçük çaplı arterler selektif olarak büyüyen arteriyel ağaçtan ayrılırlar ve venöz sisteme bağlanırlar; normal ven büyümesi için bu endotelial plastisite gereklidir. Arteriyel venöz farklılaşma hemodinamik kuvvetler tarafından kontrol edilir. Ephrin B2 ve neurophilin 1 gibi arteriyel belirteçler ile in situ hibridizasyon ve akım manipülasyonu yöntemi ile bu durum gösterilebilir⁽¹³⁾. Bu iki genin mRNA'sının ekspresyonu genetik olarak belirlenememekle beraber plastisite ve akım aracılığıyla regüle edilir. Gelişen yolk kesesinde Ephrin B2 veya Ephrin B4'ün in vivo uygulanması herhangi bir morfolojik etki göstermezken; Ephrin B2 ve Ephrin B4'ün yaşlı embriyonun allantoisine uygulanması hızlı bir şekilde arteriovenöz şant formasyonu ile sonuçlanmıştır.

Sonuç olarak akım, arteriyel ağacın şekillenmesinde önemli derecede etkilidir ve arteriyel belirteçler olan Ephrin B2 ve Neurophilin 1'in aktivasyonunu regüle eder.

KAYNAKLAR

1. Adams RH, Wilkinson GA, Weiss C, Diella F, Gale NW, Deutsch U, et al. Roles of ephrinB ligands and EphB receptors in cardiovascular development demarcation of arterial venous domains, vascular morphogenesis, and sprouting angiogenesis. *Genes Dev* 1999;13:295-306.
2. Akimoto S, Mitsumata M, Sasaguri T, Yoshida Y. Laminar shear stress inhibits vascular endothelial cell proliferation by inducing cyclin-dependent kinase inhibitor p21(Sdi1/Cip1/Waf). *Circ Res* 2000;86:185-90.
3. Bartling B, Tostlebe H, Darmer D, Holtz J, Silber RE, Morawietz H. Shear stress-dependent expression of apoptosis-regulating genes in endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;278:740-6.
4. Wang HU, Chen ZF, Anderson DJ. Molecular distinction and angiogenic interaction between embryonic arteries and veins revealed by ephrin-B2 and its receptor Eph-B4. *Cell* 1998;93:741-53.
5. Duarte A, Hirashima M, Benedito R, Trindade A, Diniz P, Bekman E, et al. Dose-sensitive requirements of Mouse Dll4 in artery development. *Genes Dev* 2004;18:2474-8.
6. Gale NW, Dominguez MG, Noguera I, Pan L, Hughes V, Valenzuela DM, et al. Haplo insufficiency of δ -like 4 ligand results in embryonic lethality due to major defects in arterial and vascular development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:15949-54.
7. Shutter JR, Scully S, Fan W, Richards WG, Kitajewski J, Deblandre GA, et al. Dll4, a novel Notch ligand expressed in arterial endothelium. *Genes Dev* 2000;14:1313-8.
8. Herzog Y, Kalcheim C, Kahane N, Reshef R, Neufeld G. Differential expression of neuropilin-2 in arteries and veins. *Mech Dev* 2001;109:115-9.
9. Krebs LT, Xue Y, Norton CR, Shutter JR, Maguire M, Sunberg JP, et al. Notch signaling is essential for vascular morphogenesis in mice. *Genes Dev* 2000;14:1343-52.
10. Moyon D, Pardanaud L, Yuan L, Breant C, Eichmann A. Plasticity of endothelial cells during arterial-venous differentiation in the avian embryo. *Development* 2001;128:3359-70.
11. Rouwet EV, Tintu AN, Schellings MW, van Bilsen M, Lutgens E, Hofstra L, et al. Hypoxia induces aortic hypertrophic growth, left ventricular dysfunction, and sympathetic hyperinnervation of peripheral arteries in the chick embryo. *Circulation* 2002;105:2791-6.
12. Ruijtenbeek K, le Noble FA, Janssen GM, Kessels CG, Fazzi GE, Blanco CE, et al. Chronic hypoxia stimulates periaortic sympathetic nerve development in chicken embryo. *Circulation* 2000;102:2892-7.
13. le Noble F, Moyon D, Pardanaud L, Yuan L, Djonov V, Matthijssen R, et al. Flow regulates arterial-venous differentiation in the chick embryo yolk sac. *Development* 2004;131:361-75.
14. le Noble F, Fleury V, Pries A, Corvol P, Eichman A, Reneman RS. Control of arterial branching morphogenesis in embryogenesis: go with the flow. *Cardiovascular Res* 2005;65:619-28.
15. Nguyen TH, Eichmann A, le Noble F, Fleury V. Dynamics of vascular branching morphogenesis: the effect of blood and tissue flow. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 2006;73:061907.
16. Jackson ZS, Gotlieb AI, Langille BL. Wall tissue remodeling regulates longitudinal tension in arteries. *Circ Res* 2002;90:918-25.
17. Ingber DE. Tensegrity: the architectural basis of mechanotransduction. *Annu Rev Physiol* 1997;59:575-99.
18. Lawson MD, Wienstein BM. In vivo imaging of embryonic vascular development using transgenic zebrafish. *Dev Biol* 2002;248:307-18.