



УНИВЕРЗИТЕТ У НИШУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



Марко Д. Јовић

**РАЗВОЈНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ
КРВНИХ И ЛИМФНИХ СУДОВА
ЈЕТРЕ ЕМБРИОНА И ФЕТУСА ЧОВЕКА –
ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО И
МОРФОМЕТРИЈСКО ИСТРАЖИВАЊЕ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ниш, 2018.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Marko D. Jović

**DEVELOPMENT CHARACTERISTICS OF
BLOOD AND LYMPH VESSELS OF
EMBRYONAL AND FETAL HUMAN LIVER
– AN IMMUNOHISTOCHEMICAL AND
MORPHOMETRIC STUDY**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2018

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:

Проф. др Иван Николић, редовни професор, Универзитет у Нишу,
Медицински факултет

Наслов:

Развојне карактеристике крвних и лимфних судова јетре ембриона
и фетуса човека – имунохистохемијско и морфометријско
истраживање

Резиме:

У литератури постоје малобројни и често контрадикторни подаци о развоју крвних и лимфних судова јетре човека. Постављен је циљ да се дефинише појава различитих типова крвних и лимфних судова и опише грађа њихових зидова у пренаталном развоју јетре човека. Материјал су чиниле јетре 5 ембриона и 25 фетуса различите гестационе старости, разврстане по триместрима. Пресеци су, поред класичне ХЕ методе, бојени имунохистохемијским методама за идентификацију ендотелних ћелија (*CD31*, *CD34*, *D2-40*, *LYVE-1*), глатких мишићних ћелија (α -глаткомишићни актин), перицита (*CD146*) и компонената екстрацелуларног матрикса (колагени I, III, IV и ламинин) крвних и лимфних судова и синаптофизина. Морфометријским истраживањем утврђене су вредности волуменске и нумеричке ареалне густине крвних и лимфних судова јетре, које су статистички обрађене. Резултати истраживања показују квалитативне и квантитативне промене у погледу заступљености различитих типова ћелија и компонената екстрацелуларног матрикса зидова крвних и лимфних судова у јетри током њеног пренаталног развоја. Доказани су различити фенотипови ендотелних ћелија синусоида, у односу на ендотел портних и колекторних венских и лимфних судова, утврђених на основу разлика у *CD34* и *LYVE-1* имунореактивности. Посебна пажња посвећује се разликовању перипортних синусоида и терминалних портних огранака, што представља новину у тумачењу развојних карактеристика крвних судова јетре човека.

Научна област:

Медицина

Научна
дисциплина:

Хистологија и ембриологија

Кључне речи:

Јетра, крвни судови, хумани ембрион и фетус, имунохистохемија

УДК:

611.018:[611.1::611..36-053.13

CERIF
класификација:

B 007, B 210, B 440

Тип лиценце
Креативне
заједнице:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	Prof. Dr. Ivan Nikolić, Full professor, University of Niš, Faculty of Medicine
Title:	Development characteristics of blood and lymph vessels of embryonal and fetal human liver – an immunohistochemical and morphometric study
Abstract:	<p>In the scientific literature, there are few, and often contradictory data of the development of blood and lymphatic vessels of the human liver. The goal was to define the appearance of different types of blood and lymph vessels and to describe the structure of their walls, in the prenatal development of the liver. The material consisted of livers of 5 embryos and 25 fetuses of different gestational age, sorted by trimesters. In addition to the classical HE method, tissue sections were stained with immunohistochemical methods for the identification of endothelial cells (CD31, CD34, D2-40, LYVE-1), smooth muscle cells (α-smooth muscle actin), pericytes (CD146) and extracellular matrix components (collagen I, III, IV, and laminin) of blood and lymph vessels and synaptophysin for nerves. By the morphometric analyses, it was determined the values of volume and numerical areal density of blood and lymph vessels of the liver. The results of the study show qualitative and quantitative changes regarding the representation of different types of cells and components of the extracellular matrix of the walls of the blood and lymph vessels in the liver during prenatal development. Different phenotypes of endothelial cells of sinusoids have been demonstrated in relation to endothelial of portal and collecting blood venous and lymph vessels, determined on the basis of differences in CD34 and LYVE-1 immunoreactivity. Special attention is dedicated to the distinction between periportal sinusoids and terminal portal venules, which is a novelty in the interpretation of the developmental characteristics of the blood vessels of the human liver.</p>
Scientific Field:	Medicine
Scientific Discipline:	Histology and embryology
Key Words:	Liver, blood vessels, human embryo and fetus, immunohistochemistry
UDC:	611.018:[611.1::611..36-053.13
CERIF Classification:	B 007, B 210, B 440
Creative Commons License Type:	CC BY-NC-ND

*Мојој породици,
Јулијани, Маји и Добривоју*

Неизмерно се захваљујем:

- ☞ ментору, учитељу и пријатељу, проф. др Ивану Николићу на великој и несебичној помоћи у избору теме и изради ове дисертације, на пренетим знањима, бескрајном ентузијазму, подрици и усмеравању,
- ☞ проф. др Маријоли Мојсиловић на драгоцену интелектуалну подрици у виду бројних и несебичних професионалних дискусија и савета,
- ☞ проф. др Јасмини Глигоријевић на узору, инспиративним погледима везаним за морфологију јетре у нормалним и патолошки измењеним стањима, на интелектуалним сугестијама и стрпљењу,
- ☞ доц. др Александру Петровићу на пријатељству, инспирацији и подстреку, као и на бројним стручним разговорима и саветима, техничким решењима у имунохистохемијским процедурама,
- ☞ проф. др Милошу Бајчетићу на научној сарадњи, срданости и предусретљивости,
- ☞ проф. др Вери Тодоровић, која је својом научном ерудицијом обезбедила сигурност тока овог истраживања, на бројним саветима и на великој логистичкој помоћи током извођења имунохистохемијског дела истраживања,
- ☞ доц. др Владимиру Петровићу на подрици, пријатељству и помоћи током израде хистолошких препарата и обраде података за морфометријску и статистичку анализу,
- ☞ колективу Катедре за хистологију и ембриологију, проф. др Горану Раденковићу и проф. др Горани Ранчић на разумевању и подрици, асистенту др Александри Величков на пријатељским саветима, подстреку и разумевању, госпођи Марини Ђорђевић на помоћи током обраде материјала за истраживање,
- ☞ асист. др Тијани Денчић на предусретљивости и помоћи током прикупљања материјала, и асист. др Милени Грандафиловић на подрици и помоћи током обраде података за морфометријску анализу,
- ☞ служби за постдипломске студије, посебно дипл. правнику Милицу Јовановић, на великој помоћи и предусретљивости током процеса пријаве докторске дисертације,
- ☞ дипл. инж. Милету Ранђеловићу на техничкој помоћи у обради микрофотографија и текста,
- ☞ најзад, а на првом месту, својој породици – Маји, Јулијани и Добривоју на огромној подрици.



☞ Посебно се захваљујем проф. др Верици Аврамовић на искреном пријатељству, на драгоценим знањима која ми је несебично пренела и што ме је са пуним поверењем и у бројним приликама саветима усмеравала, унапређујући мој рад и лично напредовање.

ЛИСТА СКРАЋЕНИЦА

<i>ACE</i>	– <i>angiotensin-converting enzyme</i>
БМ	– базална мембрана
<i>BMP</i>	– <i>bone morphogenetic protein</i>
<i>CCl4</i>	– угљентетрахлорид
<i>CD</i>	– <i>cluster of differentiation</i>
<i>CGRP</i>	– <i>calcitonin gene-related peptide</i>
СК	– цитокератин
<i>CRBP1</i>	– <i>cellular retinol binding protein 1</i>
<i>CX</i>	– <i>connexin</i>
ЕЦМ	– екстрацелуларни матрикса
<i>FGF</i>	– <i>fibroblast growth factor</i>
<i>GFAP</i>	– <i>glial fibrillary acidic protein</i>
<i>GLP</i>	– глукагону слични пептид
ГМЋ	– глатке мишићне ћелије
<i>HAM56</i>	– <i>macrophage marker monoclonal antibody</i>
ХЕ	– хематокслилин-еозин
<i>Hep Par</i>	– <i>hepatocyte specific antigen</i>
ХК	– хијалуронска киселина
<i>HSA</i>	– <i>hepatocyte specific antigen antibody</i>
ХСЋ	– перисинусоидне (хепатичне стелатне) ћелије
<i>ICAM-1</i>	– <i>intercellular adhesion molecule 1</i>
<i>IL</i>	– <i>interleukin</i>
<i>JAM</i>	– <i>junctional adhesion molecules</i>
<i>LEC-1</i>	– <i>liver endothelial cell type 1</i>
<i>LEC-2</i>	– <i>liver endothelial cell type 2</i>
<i>LFA-1</i>	– <i>lymphocyte function-associated antigen 1</i>
<i>L-SIGN</i>	– <i>liver/lymph node-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing integrin</i>
<i>LYVE-1</i>	– <i>lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor-1</i>
<i>MCAM</i>	– <i>melanoma cell adhesion molecule</i>
МНС	– <i>major histocompatibility complex</i>

<i>MUC1</i>	– <i>mucin 1</i>
<i>NA</i>	– нумеричка ареална густина
<i>NCAM</i>	– <i>neural cell adhesion molecule</i>
<i>N-CAM</i>	– <i>neural cell adhesion molecule</i>
<i>NGF</i>	– <i>nerve growth factor</i>
<i>NO</i>	– азот моноксид
<i>NSE</i>	– <i>neuron specific enolase</i>
<i>PDGF</i>	– <i>platelet-derived growth factor</i>
<i>PECAM</i>	– <i>platelet endothelial cell adhesion molecule</i>
<i>PECAM-1</i>	– <i>platelet endothelial cell adhesion molecule-1</i>
<i>Prox-1</i>	– <i>prospero homeobox protein 1</i>
<i>TGFα</i>	– <i>transforming growth factor</i>
<i>TGFβ</i>	– <i>transforming growth factor</i>
<i>TIFF</i>	– <i>tagged image file format</i>
<i>TRK-C</i>	– <i>tropomyosin receptor kinase C</i>
<i>UGT1A9</i>	– <i>UDP glucuronosyltransferase family 1 member A9</i>
<i>VAP1</i>	– <i>vascular adhesion protein 1</i>
<i>VAP-1</i>	– <i>vascular adhesion protein-1</i>
<i>VAP-1</i>	– <i>vascular adhesion protein-1</i>
<i>V-CAM</i>	– <i>vascular cell adhesion protein 1</i>
<i>VE-cadherin</i>	– <i>vascular endothelial cadherin</i>
<i>VEGF</i>	– <i>vascular endothelial growth factor</i>
<i>VEGFR2</i>	– <i>vascular endothelial growth factor receptor 2</i>
<i>vFW</i>	– <i>von Willebrand-ов фактор</i>
<i>VIP</i>	– <i>vasoactive intestinal peptide</i>
<i>α-SMA</i>	– <i>α-smooth muscle actin</i>

САДРЖАЈ

1. УВОД	19
1.1. ОСНОВНЕ МОРФОЛОШКЕ И ФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ ЧОВЕКА	19
1.1.1. Модели хистолошке организације јетре	19
1.1.2. Хистолошка грађа јетре	22
1.1.2.1. Хепатоцити	23
1.1.2.2. Холангиоцити.....	26
1.1.3. Строма јетре.....	27
1.1.4. Инервација јетре.....	28
1.1.5. Васкуларизација јетре.....	29
1.2. ХИСТОЛОШКЕ И ФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ	30
1.2.1. Интерлобуларне артерије	31
1.2.2. Интерлобуларне вене	33
1.2.3. Капилари	34
1.2.4. Синусоидни капилари.....	34
1.2.5. Одводни венски систем јетре.....	38
1.3. ХИСТОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЛИМФНОГ СУДОВНОГ СИСТЕМА ЈЕТРЕ.....	39
1.4. ОСНОВНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ РАЗВОЈА ЈЕТРЕ ЧОВЕКА	41
1.4.1. Микроскопске карактеристике пренаталног развоја јетре.....	41
1.4.1.1. Развој жучних путева у јетри.....	42
1.4.1.2. Развој хематопоезе у јетри	43
1.4.1.3. Развој инервације јетре.....	43
1.4.1.4. Развој Купферових и хепатичних стелатних ћелија.....	44
1.4.1.5. Развој компоненти екстрацелуларног матрикса у јетри	45
1.4.2. Развој крвних судова јетре	46
1.4.2.1. Имунохистохемијска специфичност синусоида јетре у развоју	49
1.4.3. Развој лимфних судова јетре.....	50
1.5. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКИ МАРКЕРИ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈУ КОМПОНЕНАТА ЗИДА КРВНИХ И ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ ЧОВЕКА	51
1.5.1. Маркери ендотела крвних судова	51
1.5.1.1. <i>CD31</i>	51
1.5.1.2. <i>CD34</i>	53

1.5.2. Маркери ендотела лимфних судова.....	54
1.5.2.1. <i>D2-40</i>	54
1.5.2.2. <i>LYVE-1</i>	54
1.5.3. Маркери перицита и ендотела крвних судова	55
1.5.3.1. <i>CD146</i>	55
1.5.4. Маркери глатких мишићних ћелија крвних и лимфних судова	56
1.5.4.1. Алфа-глаткомишићни актин	56
1.5.5. Маркери перисинуоидних ћелија и нервних влакана	57
1.5.5.1. Синаптофизин	57
1.5.6. Маркери компонената ЕЦМ	58
1.5.6.1. Колаген I	58
1.5.6.2. Колаген III	58
1.5.6.3. Колаген IV	59
1.5.6.4. Ламинин	60
2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА.....	61
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	63
3.1. МАТЕРИЈАЛ.....	63
3.2. МЕТОДЕ.....	65
3.2.1. Обрада ткивних узорака до микротомских парафинских пресека	65
3.2.2. Класично бојење хематоксилином и еозином	65
3.2.3. Имунохистохемијске методе.....	66
3.2.4. Дескриптивна и семиквантитативна микроморфолошка анализа.....	68
3.2.5. Морфометријске методе	69
3.2.6. Статистичке анализе	70
4. РЕЗУЛТАТИ.....	71
4.1. ХИСТОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ	71
4.1.1. Хистолошке карактеристике јетре у првом триместру	71
4.1.2. Хистолошке карактеристике јетре у другом триместру.....	73
4.1.3. Хистолошке карактеристике јетре у трећем триместру	73
4.2. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ	76
4.2.1. <i>CD31</i> Имунореактивност	76
4.2.1.1. Први триместар	76
4.2.1.2. Други триместар.....	76
4.2.1.3. Трећи триместар.....	79

4.2.2. <i>CD34</i> имунореактивност.....	79
4.2.2.1. Први триместар	79
4.2.2.2. Други триместар.....	83
4.2.2.3. Трећи триместар.....	85
4.2.3. <i>CD146</i> имунореактивност.....	90
4.2.3.1. Први триместар	90
4.2.3.2. Други триместар.....	93
4.2.3.3. Трећи триместар.....	97
4.2.4. α -глаткомишићни актин имунореактивност.....	100
4.2.4.1. Први триместар	100
4.2.4.2. Други триместар.....	104
4.2.4.3. Трећи триместар.....	107
4.2.5. Синапаптофизин имунореактивност	113
4.2.5.1. Први триместар	113
4.2.5.2. Други триместар.....	113
4.2.5.3. Трећи триместар.....	114
4.2.6. Колаген I имунореактивност	117
4.2.6.1. Први триместар	117
4.2.6.2. Други триместар.....	119
4.2.6.3. Трећи триместар.....	119
4.2.7. Колаген III имунореактивност	122
4.2.7.1. Први триместар	122
4.2.7.2. Други триместар.....	122
4.2.7.3. Трећи триместар.....	127
4.2.8. Колаген IV имунореактивност	127
4.2.8.1. Први триместар	127
4.2.8.2. Други триместар.....	127
4.2.8.3. Трећи триместар.....	130
4.2.9. Ламинин имунореактивност	131
4.2.9.1. Први триместар	131
4.2.9.2. Други триместар.....	131
4.2.9.3. Трећи триместар.....	131

4.3. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ	138
4.3.1. <i>D2-40</i> имунореактивност	138
4.3.1.1. Први триместар	138
4.3.1.2. Други триместар.....	138
4.3.1.3. Трећи триместар.....	140
4.3.2. <i>LYVE-1</i> имунореактивност	140
4.3.2.1. Први триместар	140
4.3.2.2. Други триместар.....	140
4.3.2.3. Трећи триместар.....	143
4.4. МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ	145
4.4.1. Морфометријске карактеристике портних простора јетре у развоју	145
4.4.2. Морфометријске карактеристике крвних судова јетре у развоју	145
4.4.3. Морфометријске карактеристике лимфних судова јетре у развоју.....	150
5. ДИСКУСИЈА.....	153
5.1. ИНТЕРЛОБУЛАРНИ КРВНИ СУДОВИ	153
5.2. СИНУСОИДИ	158
5.3. КОЛЕКТОРНИ ВЕНСКИ СУДОВИ – ЦЕНТРАЛНЕ, СУБЛОБУЛАРНЕ И САБИРНЕ ВЕНЕ	163
5.4. ЛИМФНИ СУДОВИ.....	166
5.5. ИНЕРВАЦИЈА	168
5.6. МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ	170
6. ЗАКЉУЧЦИ	173
7. ЛИТЕРАТУРА.....	177
БИОГРАФИЈА	201

1. УВОД

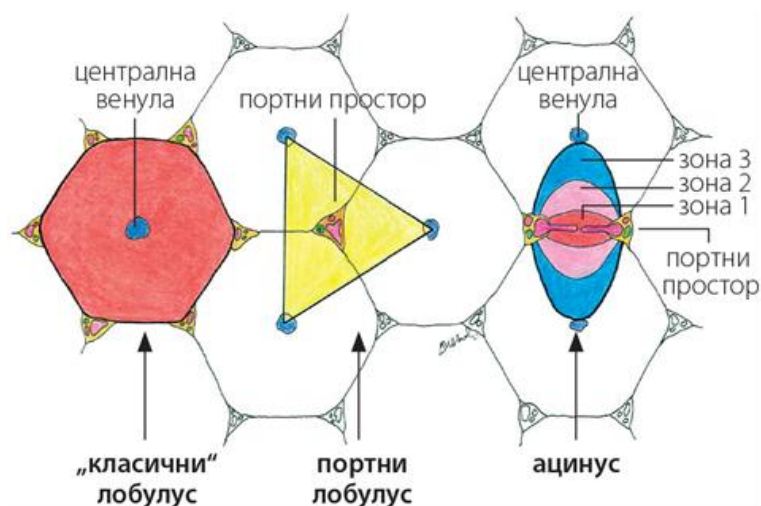
1.1. ОСНОВНЕ МОРФОЛОШКЕ И ФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ ЧОВЕКА

Јетра (*hepar*) јесте жлезда придодата гастроинтестиналном тракту, са егзокрином и ендокрином секрецијом. То је, уједно, и највећи паренхиматозни орган у телу човека. Обавијена је капсулом изграђеном од густог – фиброзног везивног ткива (слика 1.2.А).

1.1.1. Модели хистолошке организације јетре

На основу морфолошких и функционалних карактеристика јетре, њен паренхим се може сагледати кроз три модела грађе: лобулус јетре (класични лобулус), портни лобулус и ацинус јетре (слика 1.1).

Класични лобулус се једини од наведених модела распознаје под светлосним микроскопом, због чега се каже да је јетра лобулусне грађе (слика 1.2.Б). У њој се налази око милион лобулуса. Класични лобулус је облика неправилне петоугаоне или шестоугаоне призме (слика 1.2.В, слика 1.2., слика 1.3), дијаметра 2 x 0,7 mm. Лобулуси су међусобно ограничени танким интерлобуларним везивним ткивом (слика 1.2.Г), које је израженије на угловима лобулуса, где формира портне или Кирнанове просторе (слика 1.2.Д). Њихов садржај, поред растреситог или ирегуларног фиброзног везивног ткива, чине крвни судови – интерлобуларна артерија (интерлобуларни огранак артерије хепатике проприје), интерлобуларна вена (интерлобуларни огранак вене порте), интерлобуларни билијарни канал, лимфни судови и нервна влакна. Артерија, вена и дуктус интерлобуларис чине портну тријаду (слика 1.2.Д, слика 1.3). У центру лобулуса се налази вена централис, почетни крвни суд венског одводног система (слика 1.2.Ђ, Е, слика 1.3). Унутар лобулуса се налазе хепатоцити и синусоидни капилари (синусоиди) (слика 1.2.Ж). Хепатоцити су распоређени у хепатичне ламине. Ове једнослојне или двослојне ламине, које се местимично гранају, радијално су распоређене, од централне вене ка периферији (слика 1.2.Е). Хепатоцити око централне вене чине перичентралну граничну мембрану, а хепатоцити на периферији лобулуса, који контактирају са интерлобуларним везивом, формирају перипортну граничну мембрану.

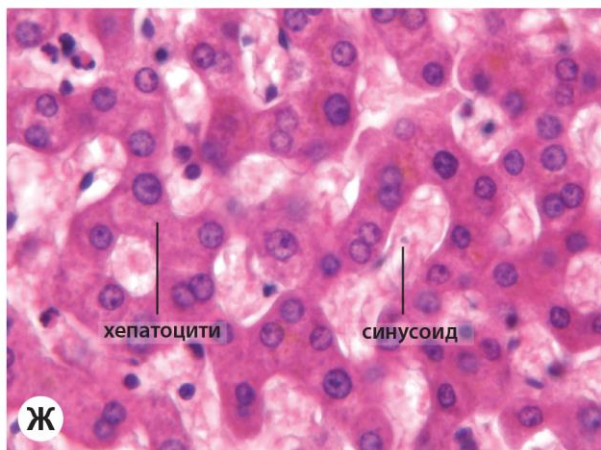
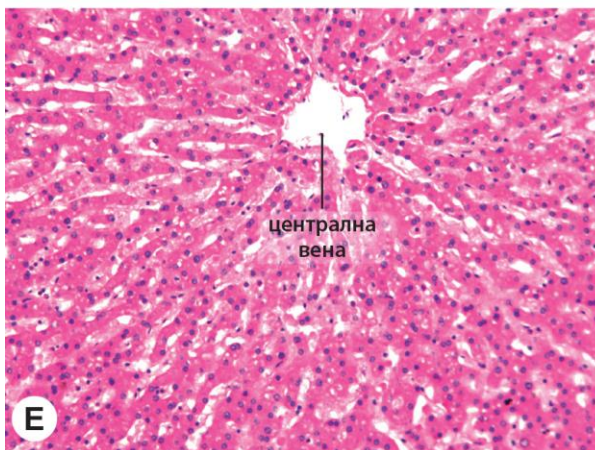
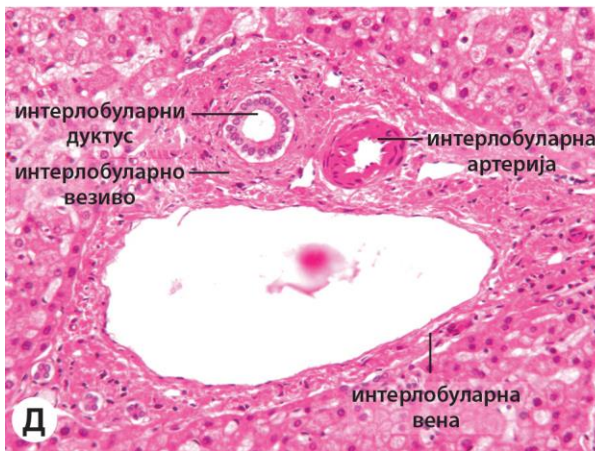
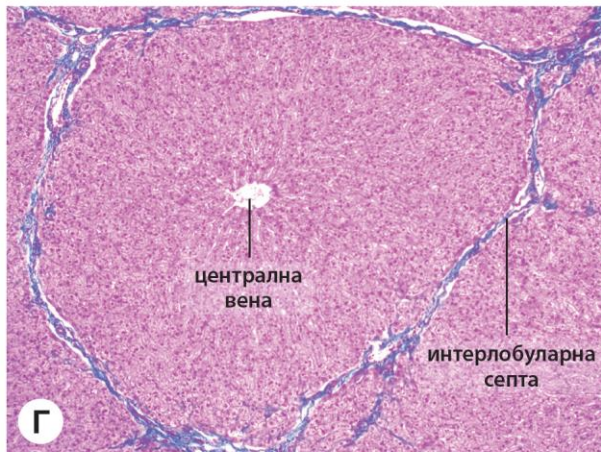
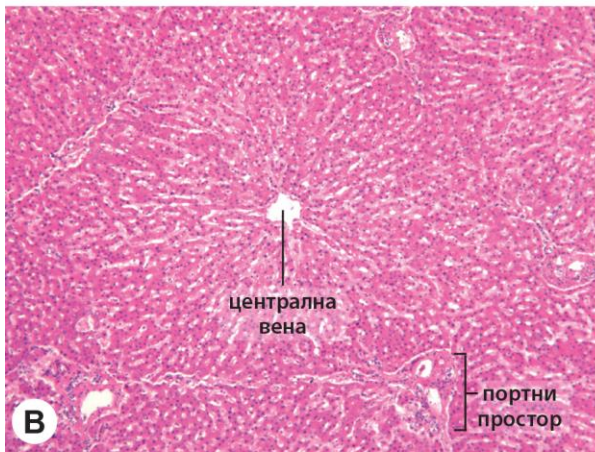
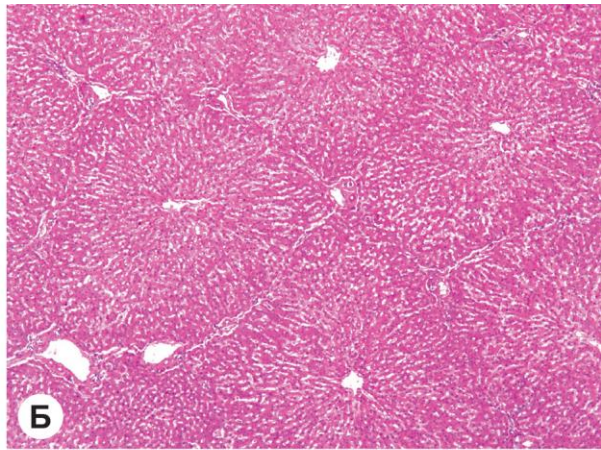
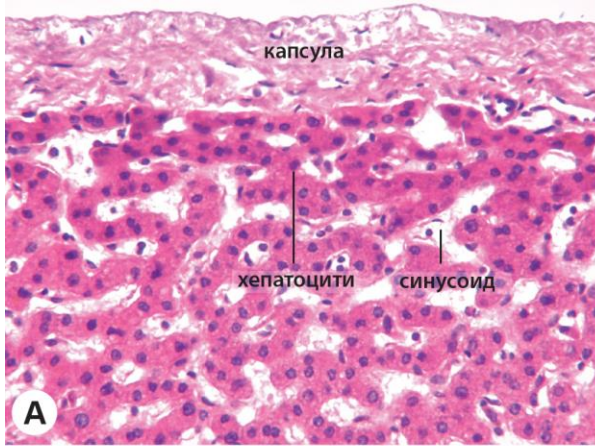


Слика 1.1. Морфофункционални модели грађе јетре (Лачковић и сар., 2014)

Обе граничне мембране представљају својеврстан зид хепатоцита, при чему је перичентрална мембрана перфорирана отворима преко којих крв из синусоида одлази до централне вене, док је перипортна гранична мембрана перфорирана отворима и код ње, са једне стране, у лобулула улазе терминалне гране интерлобуларних крвних судова, а са друге, из њега излазе најситнији жучни путеви (слика 1.4). Између ламина хепатоцита налазе се синусоидни капилари окружени узаним перисинусоидним просторима (слика 1.5) (Kiernan, 1833; Mall, 1906; Matsumoto и сар., 1979; Hay, 1991; Gumerova и сар., 2005; Ross, 2016).

Портни лобулула јетре је облика троугласте призме, у чијем се центру налази портни простор, док су на његовим угловима централне вене три суседна класична лобулула (слика 1.1). По оваквом моделу, жуч тече са периферије ка централно локализованом жучном каналу, док крв тече из центра лобулула ка његовој периферији (Jones и сар., 1977; Matsumoto и сар., 1979; Saxena и сар., 1999; Teutsch, 1999).

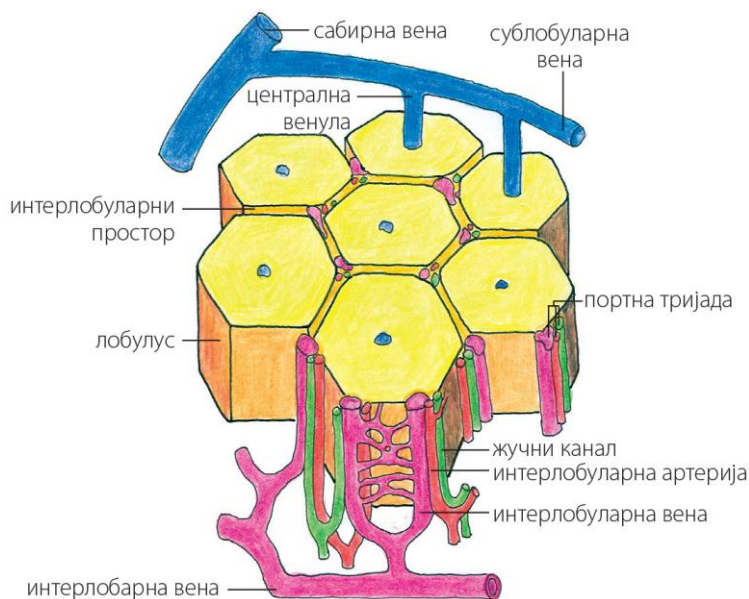
Слика 1.2. Хистолошка грађа јетре. А) Глисонова капсула јетре; Б) лобуларна грађа јетре; В) лобулула јетре; Г) интерлобуларно везиво ограничава лобулула; Д) портни простор јетре са елементима портне тријаде; Ђ) централна вена лобулула јетре; Е) од централне вене ка периферији лобулула пружају се Ремаркове гредице, које имају радијалан распоред; Ж) хепатоцити и синусоиди јетре.



Јетрин ацинус представља основну функционалну јединицу јетре, коју је први пут дефинисао Рапапорт. Јетрин ацинус има облик ромба или елипсе и простире се између централних венула два суседна класична лобулуса (слика 1.1). Осовина ацинуса повезује два најближа Кирнанова простора и пружа се под правим углом у односу на замишљену линију која повезује две суседне централне вене. Кроз осовину ацинуса простиру се оскудно интерлобуларно везиво и терминални огранци интерлобуларних крвних судова, пре свега терминалне портне венуле. Од њих се, под правим углом, одвајају кратке венуле, из којих се крв улива у синусоиде и тече ка централној вени. На основу удаљености од ацинусне осовине, хепатоцити унутар јетриног ацинуса се могу разврстати у три концентричне зоне – зону 1 (зону перманентне активности), зону 2 (интермедијарну зону) и зону 3 (зону перманентног мировања). Активност хепатоцита опада од прве ка трећој зони, с обзиром на то да хепатоцити прве зоне добијају крв са највећом концентрацијом кисеоника (из интерлобуларне артерије) и хранљивих материја апсорбованих у цревима (из интерлобуларне вене) (*Rappaport* и сар., 1954; *Rappaport*, 1958; *Lamers* и сар., 1989; *Kierszenbaum* и *Tress*, 2015).

1.1.2. Хистолошка грађа јетре

Јетра је јединствен орган чија се органоспецифичност заснива на јединственој архитектоници и узајамном односу њених паренхимских и стромалних компонената. Паренхим јетре чине хепатоцити и епителне ћелије билијарних путева (слика 1.4). Строму јетре чини везивно-ткивна капсула (слика 1.2.А), интерлобуларно везивно ткиво и интралобуларни екстрацелуларни матрикс. Кроз везивно ткиво јетре пролазе крвни и лимфни судови, жучни путеви и нервна влакна. Унутар лобулуса се налазе синусоидни капилари, са ендотелним, Купферовим и пит ћелијама, и перисинусоидни простори у којима су локализоване хепатичне стелатне ћелије (Нау, 1991; *Kierszenbaum* и *Tress*, 2015; *Ross*, 2016) (слика 1.4).

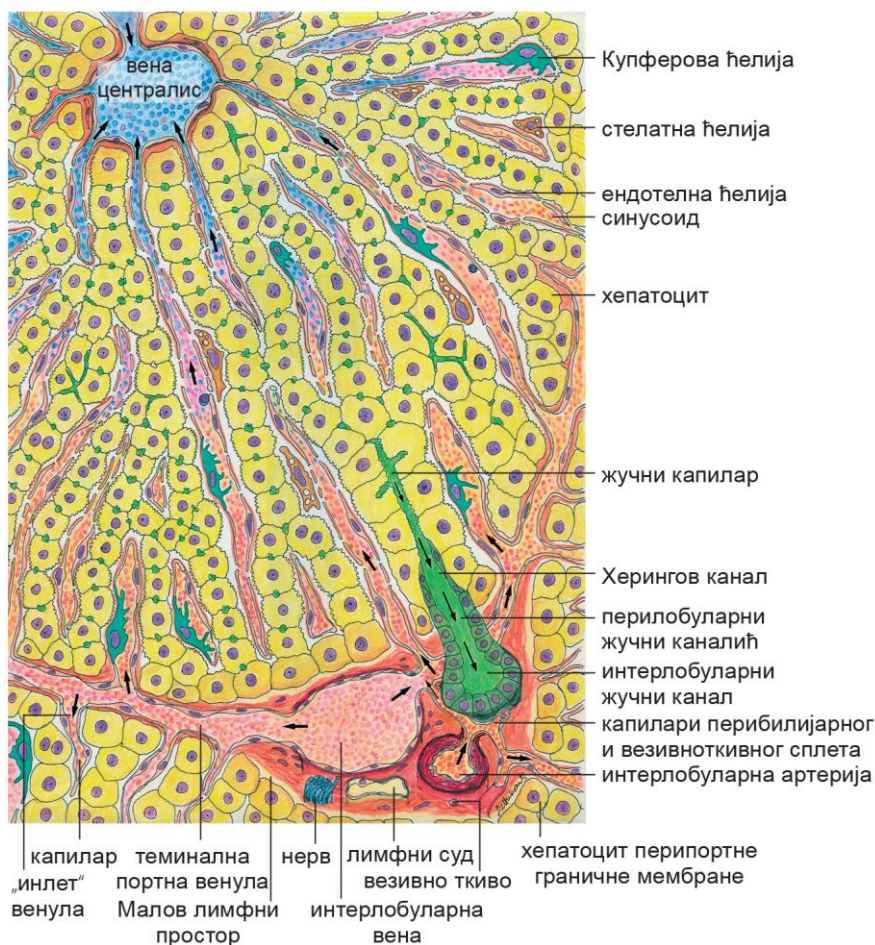


Слика 1.3. Лобуларна грађа и васкуларизација јетре

(Лачковић и сар., 2014)

1.1.2.1. Хепатоцити

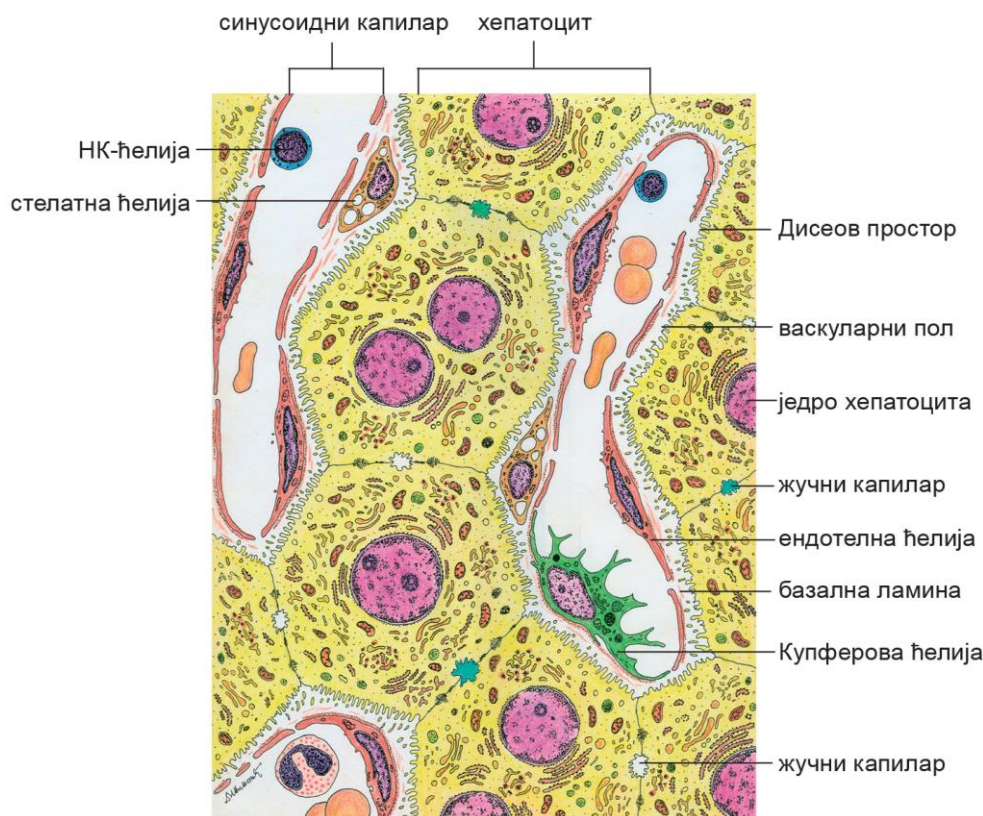
Хепатоцити су епителне ћелије многоугаоног или полиедричног облика (слика 1.2.Ж., слика 1.4, слика 1.5), просечне величине $30 \times 20 \mu m$, на које отпада око 85% од укупног броја свих популација ћелија јетре. Око 25% популације хепатоцита садрже два једра, док је већина једноједарних ћелија тетраплоидна. Једро хепатоцита је локализовано у централном делу ћелије, округлог облика, еухроматично са уочљивим једарцем. Хепатоцити су поларизоване ћелије, које поседују два јасно функционално и морфолошки одвојена пола – васкуларни и билијарни (слика 1.5). Васкуларни пол (заузима око 40% површине ћелијске мембране) јесте површина хепатоцита окренута према Дисеовом простору, односно синусоидном капилару. Одликује се присуством многобројних микровила, који многоструко повећавају површину цитоплазматске мембране хепатоцита. Страна која је окренута суседном хепатоциту представља билијарни пол. Он поседује две површине: централну или канилакуларну (заузима око 12% површине ћелијске мембране) и периферну или интерцелуларну, која се наставља на остаток плазмалеме (Krstić, 1984; Payushina, 2012; Ross, 2016) (слика 1.5).



Слика 1.4. Цртеж грађе јетре – део лобулуса и портни простор јетре

(Лачковић и сар., 2014)

Аналогно жлезданим епителима, васкуларни пол би одговарао базолатералном одељку ћелије, каналикуларна површина билијарног пола – апикалном одељку, а остатак плазмалеме – латералном одељку ћелије. Удубљена каналикуларна површина (која поседује многобројне микровиле) са идентичном површином суседног хепатоцита формира најситнији почетни део жучних путева, који се називају билијарни каналикули (холангиоле) или жучни капилари. Бочно од њих, хепатоцити су повезани чврстим међућелијским везама (*zonula occludens*, *nexus* и *macula adherens*), које онемогућавају пролаз жучи ван жучног капилара. На плазмалеме хепатоцита је карактеристично постојање липидних рафтова, богатих холестеролом и сфинголипидима, који су бочним деловима удружени са протеинима. Ови делови плазмалеме су веома важни у процеси-ма сигналне трансдукције, изградње међућелијских веза, организације цитоскелета, сортирања протеина у егзо- и ендоцитози, као и апоптозе. Цитоплазма хепатоцита је, на препаратима бојеним хематоксилин-еозином (ХЕ), ацидофилна због постојања



Слика 1.5. Цртеж грађе јетре – ултраструктурни изглед хепатоцита, синусоида и перисинусоидног простора (Лачковић и сар., 2014).

великог броја митохондрија и глатког ендоплазматског ретикулума, са местимичном појавом базофилних гранула које представљају агрегате гранулисаног ендоплазматског ретикулума. Осим ових органела у складу са високом метаболичком и синтезном активношћу хепатоцита, у цитоплазми хепатоцита се налазе и глатки ендоплазматски ретикулум, Голџијев комплекс, слободни рибозоми и пероксизоми (*Sell, 1998; Sell, 2001; Teutsch, 2005; Libbrecht и Roscams, 2006; Payushina, 2012; Ross, 2016*).

Хепатоците је веома лако препознати на ткивним исечцима бојеним ХЕ методом бојења. И поред тога, постоје маркери који омогућавају још прецизнију идентификацију хепатоцита, међу којима су: антитела на специфичне антигене хепатоцита (*HSA98* и *HSA133*) и на антигене *Hep Par 1*, *UGT1A9* и α -1 антитрипсин, цитокератине 8 и 18 (*CK8* и *CK18*) (*Chu и сар., 2003; Pitman и сар., 2004; Saad и сар., 2004; Chivu и сар., 2009; Draganova-Tacheva и сар., 2014; Lo и сар., 2014; Osada и сар., 2014*).

Хепатоцити су ћелије са егзокрином и ендокрином секрецијом. Егзокрином секрецијом се секретује жуч, која се посредством жучних канала коначно преноси у

дуоденум. Ендокриним путем хепатоцити секретују протеине крвне плазме (албумини, глобулини, фибриноген, протромбин, глобин акцелератори и фактори коагулације VII, IX и X), глукозу, липопротеине, масне киселине неопходне за синтезу триглицерида, холестерол и фосфолипиде. Многи од ових молекула учествују у процесу коагулације крви, уклањању лекова (сулфонамиди, пеницилин, ампицилин и многи други) и хормона (тироксин, естроген, кортизол, алдостерон) из циркулације, који се затим, путем жучи, избацују у спољашњу средину (Лачковић и сар., 2014; Ross и сар., 2016).

1.1.2.2. Холангиоцити

Холангиоцити – епителне ћелије жучних путева – чине 1% ћелијске популације јетре. Жуч, која се ствара у хепатоцитима, одлази из јетре интрахепатичним и екстрахепатичним жучним путевима (слика 1.4). Интрахепатични жучни путеви започињу билијарним капиларима. Њиховим спајањем настају интралобулузни билијарни каналићи или Херингови канали. Ови жучни путеви су дијаметра 15–100 μm . Дренажа жучи врши се ка портном простору јетре, тј. у смеру супротном току крви. На периферији лобулуса јетре, Херингови канали (дијаметра 100–300 μm) пробијају перипортну граничну мембрану и спајају се у перилобулузне билијарне каналиће, који су локализовани на самој периферији портног простора. Перилобулузни изводни каналићи се удружују формирајући интерлобулузне изводне канале (слика 1.2.Д, слика 1.4), који су локализовани у портном простору и чији је дијаметар 300–400 μm . Идући ка хилусу јетре, ови канали се међусобно спајају и формирају два изводна жучна канала, десни и леви канал јетре. Они напуштају јетру кроз јетрин хилус, где се спајају у заједнички хепатички дуктус и представљају почетне делове екстрахепатичних жучних путева. Заједнички хепатички дуктус (дијаметра изнад 800 μm) спаја се са цистичним дуктусом и том приликом настаје жучовод који одводи жуч у дуоденум. Са повећањем калибра жучних путева, у њиховом зиду долази до пораста количине везивног ткива, па највећи путеви, поред мукозе, поседују субмукозу, мишићни слој и адвентицију (Ludwig, 1987; Benedetti и сар., 1996; Ekataksin, 1997; Masyuk и сар., 2003; Roskams и сар., 2004; Strazzabosco и Fabris, 2008).

Холангиоцити су епителне ћелије које облажу канале билијарног стабла (слика 1.4). Њихова величина се мења сразмерно повећању билијарног канала. На апикалном полу холангиоцита се уочавају многобројни микровили, као и усамљена примарна

цилија која има сензорну функцију, а игра и важну улогу у регулацији фундаменталних биолошких процеса у ћелији, као што су диференцијација, пролиферација и секреција (Masyuk и сар., 2003). Многобројне, апикално и латерално локализоване, везикуле указују да је рецептор-зависна ендоцитоза активни процес у холангиоцитима. Поред тога, ове ћелије су активно укључене у продукцију жучи. Сматра се да је код људи 40% жучи дукталног порекла. Секреторне функције углавном имају холангиоцити у интерлобуларним и главним изводним жучним каналима. Холангиоцити локализовани у мањим изводним каналима се одликују другачијим биолошким особинама, као што су пластичност (могућност да се фенотипски мењају), реактивност (могућност да учествују у инфламаторним реакцијама) и могућност да делују као прогениторне ћелије (у случају оштећења јетре) (Sell, 2001). Имајући у виду да холангиоцити садрже рецепторе за више цитокина, хемокина и фактора раста, омогућена је екстензивна комуникација између холангиоцита и хепатоцита, стелатних и ендотелних ћелија, а уз помоћ перибилијарног васкуларног плексуса. Посебно треба напоменути да преко перибилијарног васкуларног плексуса билијарни епител ресорбује многе супстанце, које ће путем жучи доспети до хепатоцита, што представља директни пут комуникације између холангиоцита и хепатоцита (Gaudio и сар., 1996; Crawford и сар., 1998; Libbrecht и сар., 2002).

Идентификација холангиоцита, имунохистохемијским методама, врши се уз помоћ антитела на следеће антигене: цитокератин 7 и 19 (CK7, CK19), MUC1 и епителни мембрански антиген (Kim, 2004; Shibuya, 2011; Kumagai, 2016).

1.1.3. Строма јетре

Строму јетре чини Глисонова капсула, везивно ткиво портних простора и септи (слика 1.2), као и танка везивно-ткивна влакна смештена у Дисеевим просторима. Глисонова капсула је локализована испод перитонеума, грађена је од густог фиброзног везивног ткива, у коме су присутни малобројни крвни судови, лимфатици и нерви (слика 1.2.А). У пределу хилуса јетре, везиво капсуле улази у јетру, спајајући се са густим ирегуларним фиброзним везивним ткивом строме које прати веће крвне и лимфне судове, жучне канале и нервна влакна. Широке траке овог везива деле јетру на четири лобуса (десни, леви, четвртасти и репати), а мањи огранци растреситог везивног ткива, интерлобуларно везиво, ограничавају јетрине лобулусе (слика 1.2.Б, В, Г). Најтананије компоненте строме, мрежа ретикуларних и колаген влакана, заједно са основном супстанцом, налазе се унутар лобулуса, у перисинусоидном простору и у зиду синус-

соидних капилара. Ова мрежа ретикуларних влакана пружа потпору паренхиму јетре и омогућава нормално функционисање синусоида (*Hughes и Stamatoglou, 1987; Martinez-Hernandez и Amenta, 1993; Kierszenhenbaum и сар., 2002; Лачковић и сар., 2014*).

Везивно ткиво строме јетре се састоји од ћелија и екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ). У ћелије строме спадају везивно-ткивне ћелије (фибробласти, фиброцити, мастоцити, макрофаги). С обзиром на то да кроз везиво пролазе крвни и лимфни судови, ћелије које изграђују крвне и лимфне судове и синусоидне капиларе (ендотелне ћелије, Купферове ћелије, перицити и глатке мишићне ћелије (ГМЋ) и пит ћелије) и перисинусоидне ћелије (хепатичне стелатне ћелије) такође спадају у ћелије строме (*Hahn и сар., 1980; Clement и сар., 1985; Hughes и Stamatoglou, 1987; Sudhakaran и сар., 1997; Mao и сар., 2015*). Ове ћелије ће бити описане у даљем тексту.

Главне компоненте ЕЦМ у јетри су колаген I, колаген III и колаген IV, а поред њих су у значајној мери заступљени матриксни гликопротеини, фибронектин, ламинин и протеогликан-хепаран сулфат. Колаген I је најзаступљенији у капсули јетре, портним просторима, као и у Дисеовом простору. Колаген III је присутан у строми јетре. Колаген IV и ламинин су заступљени у базалним мембранама интерлобуларних крвних судова и билијарних канала, око нервних влакана, као и у малим депозитима у Дисеовим просторима (*Klaus и Kuhl, 1985; Martinez-Hernandez и сар., 1991; Martinez-Hernandez и Amenta, 1993; Martinez-Hernandez и Amenta, 1993*; Gressner и Weiskirchen, 2006; Ramos и Moreno, 2006; Gumerova, 2007; Lee и сар., 2008; Lee и сар., 2011*).

1.1.4. Инервација јетре

Инервација јетре је двострука, преко хепатичног плексуса који садржи симпатичка (адренергичка) и парасимпатичка (холинергичка) нервна влакна. Влакна хепатичног плексуса долазе из целијачног плексуса и из левих и десних завршних грана вагуса. Нервна влакна хепатичног плексуса улазе у јетру кроз њен хилус, одакле прате огранке хепатичне артерије и портне вене. Симпатичка нервна влакна формирају периваскуларни плексус око крвних судова. Гране периваскуларног плексуса се пружају у лобулу, дајући терминалне огранке који допиру до перисинусоидалних ћелија и хепатоцита (*Bioulac-Sage и сар., 1990; Nobin и сар., 1978*). Парасимпатичка влакна хепатичног плексуса инервишу екстрахепатичне и интрахепатичне гране хепатичне артерије и вене, као и портне вене. Поред тога, мањи број нервних влакана инервише

хепатоците, ендотелне ћелије синусоида и централних вена (*Amenta* и сар., 1981; *Lautt*, 1980). Нервна влакна у јетри учествују у регулацији метаболизма масти и угљених хидрата, васкуларне контракције и дилатације, контроли протока крви кроз портне судове, функције билијарног стабла, тј. у контроли хомеостатских механизма (*Terada* и *Nakanuma*, 1993; *LeSage* и сар., 1999; *Roskams* и сар., 2004; *Terada*, 2015).

1.1.5. Васкуларизација јетре

Јетру васкуларизују два крвна суда – хепатична артерија и портна вена. Хепатичном артеријом у њу доспева 20%, а преко портне вене 80% крви.

Хепатична артерија је једини нутритивни крвни суд јетре. Она представља завршну грану заједничке хепатичне артерије, која се непосредно, по пролазу кроз хилус јетре, дели на своје интрахепатичне завршне гране: леву и десну. Ове гране носе оксигенисану крв преко интерлобарних, а затим и интерлобуларних артерија које се налазе у портним каналима (слика 1.3., слика 1.4). Гране интерлобуларних артерија превасходно васкуларизују строму и компоненте портног простора јетре преко огранака или сплетова, а то су: 1) терминалне хепатичне артериоле, које васкуларизују везивно ткиво портног простора, као и нервна влакна, 2) перибилијарни плексус, који васкуларизује жучне каналиће, 3) перипортни плексус, који носи крв до терминалних портних венула и 4) ваза вазорум, који васкуларизују инлет и интерлобуларне вене. Мањи део крви, преко артериосинусоидне комуникације, одлази у синусоиде (*Burkel*, 1970; *Blanc-Brunat* и сар., 1989; *Cho* и *Lunderquist*, 1983; Лачковић и сар., 2014).

Из два сплета терминалних хепатичних артериола, перипортног и перибилијарног, крв се највећим делом улива у терминалне портне венуле, па индиректно, преко портног крвотока, доспева у синусоиде. Тип микроциркулације где се капилари уливају у вене, а вене у капиларе (синусоиде), означава се као венски портни систем. Уз помоћ овог система се повећава концентрација кисеоника унутар лобулуса (*Vollmar* и *Menger*, 2009).

Портна вена је функционални крвни суд којим се крв из капилара алиментарног тракта, слезине и панкреаса допрема у јетру. Ова крв је сиромашна кисеоником, а богата нутритивним и другим апсорбованим супстанцама. У јетри се врши њихов метаболизам, корисне супстанце се акумулирају, а токсичне се неутралишу и елиминирају. Портна вена настаје иза врата панкреаса, спајањем горње мезентеричне и спле-

ничне вене. Приликом проласка кроз порту јетре, ова вена се дели на леву и десну завршну грану. Цистична вена се улива у почетни део десне гране портне вене, која васкуларизује десни лобус јетре. Лева грана портне вене својим латералним и медијалним гранама васкуларизује леви, репати и четвртасти хепатични лобус. Функционална циркулација се наставља интрахепатичним гранама портне вене – интерлобарним венама, а затим интерлобуларним венама које се налазе у портним просторима. На тачно одређеним дистанцама интерлобуларне вене дају кратке перпендикуларне гране, „инлет“ или интралобуларне венуле. Ове венуле пролазе кроз отворе на перипортној граничној мембрани, а крв из њих се улива у јетрине синусоиде, а затим у централну вену (почетну хепатичну венулу). Након тога, ток крви се наставља кроз интеркалатне или сублобуларне вене, а потом кроз колекторне вене (хепатичне вене) одлази у доњу шупљу вену (*Olds* и *Stafford*, 1930; *Saxena* и сар., 1999; *Ekataksin* и *Wake*, 1997).

1.2. ХИСТОЛОШКЕ И ФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ

У грађи крвних судова учествују три врсте диферентованих ћелија: ендотелне, ГМЋ, фибробласти, остале ћелије везивног ткива (мастоцити, макрофаги) и екстрацелуларни матрикс. Правилна организација ћелија (број и узајамни однос) и врста продукованог ЕЦМ-а успостављају морфолошки препознатљиве структуре на основу којих се крвни судови категоришу на артерије и вене. Артерије и вене представљају део циркулације, који се назива макроциркулација. Макроциркулацију у јетри чине интерлобарне и интерлобуларне артерије, интерлобарне и интерлобуларне вене, као и сублобуларне и колекторне вене. Њихов зид граде три структурно и морфолошки различита слоја: унутрашњи (*tunica interna s. intima*), средишњи (*tunica media*) и спољашњи (*tunica adventitia s. externa*) (*Elias* и *Petty*, 1953; Мојсиловић, 2004, *Ross*, 2016).

Микроциркулацију у јетри, пак, чине интрахепатични судови дијаметра мањег од 300 μm , а у њих спадају: терминалне хепатичне артериоле, капиларни сплетови, терминалне портне венуле, „инлет“ венуле, синусоидни капилари, терминалне хепатичне венуле (или централне вене) и лимфатици.

Микроциркулација јетре је од велике важности за функцију целокупног организма. Сврха микроциркулације је да допреми крв до паренхимских ћелија, где ће се обавити размена гасова и хранљивих материја, да служи као улазно место за леукоците

приликом инфламаторних процеса у јетри, али је и одговорна за уклањање токсичних супстанци и антигена из крвотока. С обзиром на то, сложене функције јетре, као што су метаболичка и биосинтетска, у великој мери зависе од адекватне микроциркулације. Проучавање микроциркулације јетре је такође важно за разумевање очувања перфузије јетре након трансплантације (*Guarrera и Karim, 2008; Monbaliu и Brassil, 2010*).

1.2.1. Интерлобуларне артерије

Интерлобуларне артерије су артерије средњег и мањег калибра, са постепеним прелазом у артериоле. У зависности од величине портног канала, тј. са његовим грањањем, тип артерије се мења. У највећим портним просторима, интерлобуларне артерије припадају малим артеријама мишићног типа (слика 1.2.Д), док су у најмањим портним просторима интерлобуларне артерије грађене као артериоле. Зид интерлобуларних артерија чине туника интима, туника медија и туника адвентиција (*Burkel, 1970; Ross, 2016*).

Туника интима интерлобуларних артерија изграђена је од ендотела, субендотелног везивног ткива и унутрашње еластичне мембране (*lamina elastica interna*), која се код артериола губи.

Ендотел чини један слој плочастих полигоналних ендотелних ћелија, издужених у правцу тока крви, дијаметра $0,5 \times 10 \times 50 \mu m$, који раздваја крв од везивног ткива интима. Ендотелне ћелије интима се путем специјализованих мембранских контаката, миоендотелних спојева, додирују са глатким мишићним ћелијама медије. Значајна карактеристика ендотелних ћелија је њихова поларизованост, која се огледа у постојању три различита одељка ћелије – апикални, који је у непосредном контакту са крвљу, латерални, преко кога су ендотелне ћелије међусобно повезане оклудентним, адхерентним и комуникантним везама, и базални, којим су повезане са базалном мембраном. Поларизованост ћелије има важну улогу како у процесима ембриогенезе, тако и у адултном организму, у процесима размене материја. У зонули адхеренс у уском интерцелуларном простору, између две ендотелне ћелије се налази васкуларни ендотелни кадхерин (*vascular endothelial cadherin, VE-cadherin*, означен као *CD144*). *CD144* учествује у трансендотелној миграцији леукоцита и туморских ћелија заједно са *CD31* молекулом. Поред тога, на ендотелној ћелији се експримирају оклудини, клаудини, *JAM* молекули (*junctional adhesion molecules*) и конексини. Још један важан адхезиони

протеин који се експримира између ендотелних ћелија, али и на глатким мишићним ћелијама изван адхерентног споја, јесте ендоглин (*CD146*). На ендотелним ћелијама се експримира и ендотелин-1, важан вазоконстриктор крвних судова, али и промотер пролиферације ГМЋ. Ендотелне ћелије поседују рецепторе за васкуларне ендотелне факторе раста (*vascular endothelial growth factor, VEGF*): *VEGF-1* и *VEGF-2*, који су укључени у ангиогенезу, али и рецепторе за *Notch4*, који је главни инхибитор ангиогенезе. Поред органела смештених у перинуклеарном одељку ћелије, у цитоплазми ендотелних ћелија се налазе равномерно заступљена Вајбел-Паладова телашца испуњена *von Willebrand*-овим фактором (*vFW*), који има прохемостазно дејство, *P*-селектином, хистамином, ендотелином-1, синтазом азот монооксида (*NO*- синтаза), калцитонински-генским пептидом (*calcitonin gene-related peptide, CGRP*) и интерлеукином-8 (*IL-8*). С обзиром на то да се Вајбел-Паладова телашца налазе искључиво у ендотелним ћелијама, њихово присуство може послужити за идентификацију ендотелних ћелија. Број ових телашаца у ендотелним ћелијама се смањује са смањењем величине крвног суда (*Yamamoto 1985; McCuskey, 1994; Ekataksin, 1995; Kan и Madoff, 2008; Arid, 2008; Arid, 2012*).

Функције ендотелних ћелија су синтеза цитокина, простагландина, ангиотензин-конвертујућег ензима (*angiotensin-converting enzyme, ACE*), фактора раста (хематопоетски, фибробластни фактор раста (*fibroblast growth factor, FGF*), тромбоцитни фактор раста (*platelet-derived growth factor, PDGF*)) и инхибитора раста (туморски фактор раста бета (*tumor growth factor- β , TGF- β*) и хепарин), као и фактора за регулацију вазомоторног тонуса – ендотелина и ендотелин-релаксирајућих фактора, чиме ендотелне ћелије утичу на брзину протока крви (*Arid, 2007; Arid, 2007* ; Arid, 2009*).

Простор између базалне мембране ендотела и тунике медије чини **субендотелно ткиво**. Оно је изграђено од макрофага, ГМЋ, нежних колагених и еластичних влакана, микрофибрила постављених паралелно са луменом, протеогликана и основне супстанце.

Туника медија интерлобуларне артерије се састоји од спирално распоређених ГМЋ, колагених (нарочито типа III) и еластичних влакана и протеогликана. Број ГМЋ се смањује сразмерно смањењу крвног суда, па се код интралобуларних артериола налази један до пет слојева ових ћелија. ГМЋ су издуженог или вретенастог облика, дужине до 100 μm , окружене ламином екстерном. ГМЋ су међусобно повезане комуникантним спојевима, што се може потврдити експресијом конексина *CX40* и *CX45*. Оне су оријентисане циркуларно, па приликом њихове контракције долази до

вазоконстрикције крвног суда. Постоје две фенотипски различите ГМЋ, контрактилне и синтетске. Цитоплазма контрактилних ГМЋ је испуњена актинским и миозинским филаментима, док се код синтетских ГМЋ налазе добро развијени гранулисани ендоплазматски ретикулум и Голџи комплекс. У ембриогенези, ГМЋ приливерису и синтетишу компоненте ЕЦМ, док се у адултном периоду ове ћелије диферентују у контрактилне ГМЋ. Промене у фенотипу ГМЋ односе се и на експресију молекула на њиховој површини. У вези са тим, ембрионалне ГМЋ експримирају интегрине $\alpha 2\beta 1$, које везују колаген, као и $\alpha 3\beta 1$ и $\alpha 5\beta 1$ интегрине, који везују фибронектин. У адултном организму, ГМЋ не експримирају ове молекуле, док се код инфламације и лезија крвних судова многе ГМЋ враћају у ембрионални фенотип (McCuskey, 1996; Bobryshev и сар., 2015; Ross, 2016; Wang и сар., 2018).

Туника адвентиција интерлобуларне артерије се састоји од растреситог везивног ткива. Ово ткиво је изграђено од ћелија (фибробласта, макрофага, мастоцита, адипоцита), колагених и еластичних влакана и основне супстанце. Фибробласти су издуженог облика, са централно постављеним једром и базофилне цитоплазме. Њихова улога се огледа у синтези компонената екстрацелуларног матрикса. У адвентицији се још налазе и мањи крвни судови и нерви. Дебљина овог слоја се разликује у зависности од величине крвног суда, док је његову спољашњу границу тешко разликовати од околног везивног ткива (Лачковић и сар., 2014).

Гране хепатичних артерија које се уливају у синусоиде поседују прекапиларни сфинктер, кога граде високе ендотелне ћелије и ГМЋ. У њима је притисак крви 30–40 пута већи него у синусоидима.

1.2.2. Интерлобуларне вене

Након проласка кроз порту јетре, портна вена се грана на интерлобарне крвне судове. Гране портне вене чији је дијаметар већи од 400 μm се називају кондукторне вене. Хистолошке карактеристике великих кондукторних вена су сличне осталим великим венама. Сразмерно гранању портног канала, тип вене се мења, од средњих ка малим.

Мање гране кондукторних вена су интерлобуларне вене (слика 1.2.Д). Зид интерлобуларних вена је сличан грађи зида артеријских крвних судова, али је тањи, док је лумен доста шири у односу на артеријске крвне судове. Туника интима интерлобуларних вена се састоји од ендотела и танког субендотелног слоја, док унутрашња

еластична мембрана недостаје. Туника медија интерлобуларне вене је релативно слабо развијена и састоји се од 2 до 3 слоја глатких мишићних ћелија. Код интерлобуларних вена, адвентиција, која представља најшири део венског зида, без оштре границе се наставља на периваскуларно везиво. Адвентиција је грађена од растреситог везивног ткива, кога чине фибробласти, ретке ГМЋ, колаген, еластична влакна и основна супстанца, мањи крвни судови и нерви (*Matsumoto* и сар., 1979; *Ekataksin* и *Wake*, 1997; *Saxena* и сар., 1999; *Fasel*, 2008; *Vollmar*, 2009).

Терминалне портне венуле су најмање гране портне вене, дијаметра 280 μm или мање. То су ендотелне тубе окружене танким слојем глатких мишићних ћелија. Терминалне портне венуле полазе из портног простора, као гране интерлобуларне вене, пружајући се, кроз интерлобуларне везивно-ткивне септе, ка суседном портном простору. Оне се пружају дуж осовине јетриног ацинуса. Ендотелне ћелије терминалних портних венула су вретенастог облика, са кратким микровилима на апикалној плазмалемии. На одређеним растојањима, од терминалних портних венула се одвајају кратке гране, „инлет“ венуле, које пробијају перипортну граничну мембрану и улазе у лобулу. Ендотелне ћелије „инлет“ венула су глатке и дебље у односу на ендотел терминалних портних венула. Оне садрже велику количину актинских филамената. Ендотел „инлет“ венула заједно са суседним стелатним ћелијама функционише као сфинктер, који контролише проток крви до синусоида. Ови терминални сегменти немају мишићни омотач (*Cho* и *Lunderquist*, 1983; *McCuskey*, 1994; *Ekataksin* и *Wake*, 1997; *Ross*, 2016).

1.2.3. Капилари

Капилари који се налазе у портном каналу припадају капиларима континуираног типа. Они су изграђени од ендотелних ћелија, без интерцелуларних пукотина и фенестри, које налажу на базалну ламину. Испод базалне ламине налази се велики број перицита. Ове ћелије поседују бројне цитоплазматске продужетке, који обавијају крвни суд. Перицити имају способност контракције и могу да утичу на регулацију протока крви кроз крвни суд (*Ross*, 2016).

1.2.4. Синусоидни капилари

Богату интралобуларну васкуларну мрежу чине синусоиди (слика 1.2.Ж) који се међусобно анастомозирају и конвергирају ка централној вени (слика 1.2.Ђ). Синусоиди

јетре су јединствени и специфични капилари јетре који формирају структурну и функционалну хетерогену мрежу и представљају главно место регулације протока крви и метаболичких промена у јетри. Они имају кривудава ток, сакуларног су или тубуларног облика, са дијаметром од $7 \mu m$ у перипорталном делу до $15\text{--}20 \mu m$ у перипорталном делу лобулуса јетре. Главни синусоиди, дужине око $250 \mu m$, пружају се између хепатоцитних гредица, а међусобно комуницирају попречним „*interconnecting*“ синусоидима (интерсинусоидним анастомозама). Крв из синусоида тече ка централној (центролобуларној) вени, а проток крви је контролисан уз помоћ сфинктера на улазним или излазним синусоидима. Вазоактивне супстанце, као што су *NO*, *CO*, *H₂S*, делују на сфинктере у случају смањеног протока крви, што у кратком року омогућава јетри повратак у стање хомеостазе (Cardier и Barbera-Guillem, 1997; Braet и Wisse, 2002; Arimoto и сар., 2010; Dardenne и сар., 2013).

Синусоиди су изграђени од четири типа ћелија, и то ендотелних, Купферових, хепатичних стелатних и пит ћелија (слика 1.4., слика 1.5).

Ендотел синусоида јетре је дисконтинуиран, без базалне ламине, нарочито у зони 2 ацинуса. Ендотелне ћелије поседују веће отворе и мање овалне отворе – фенестре, које изграђују ситаста поља са 30–60 пора у групи, дијаметра 170 nm , заузимајући око 10% површине ендотела. Дијаметар фенестри се смањује, а њихов број повећава од перипорталне ка центрилобуларној зони. Фенестре служе као ендотелни филтер, регулишући пролаз већих супстанци, као што су хиломикрони. Оне омогућавају размену великих протеина између крви и плазме у Дисеовом простору, регулишу баланс масти у крви, као и испоруку ретиноида до хепатоцита и стелатних ћелија. Синусоидне ендотелне ћелије у цитоплазми поседују мноштво ендоцитозних везикула и вакуола, што је у корелацији са добро развијеном ендоцитозном активношћу. Оне имају способност презентације антигена Т лимфоцитима, тако што на својој површини експримирају молекуле I и II класе главног комплекса хистокompatибилности (*major histocompatibility complex*, *MHC*). На ендотелним ћелијама синусоида се експримирају маркери ендотелних ћелија у различитим периодима развоја, као и на различитим локализацијама у лобулусу. Маркери уз помоћ којих се може идентификовати ендотел синусоида су: васкуларни адхезиони протеин-1 (*vascular adhesion protein-1*, *VAP-1*), CD31, CD34, CD105 и CD146 антиген. Поред њих, и маркери ендотелних ћелија лимфатика, као што су хијалуронски рецептор ендотела лимфатика-1 (*Lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor-1*, *LYVE-1*) и *D2-40*, експримирају се на ендотелним ћелијама синусоида (Barbera-Guillem и

сар., 1986; Menger и Vollmar, 2000; Braet и сар., 2001; Carreira и сар., 2001; Salmi и сар., 2005; Elvevold и сар., 2005; Elvevold и сар., 2008; Lalor и сар., 2013).

Ендотелне ћелије синусоида јетре показују хетерогеност. Дијаметар отвора се смањује, а њихов број повећава од перипортне до центрилобуларне зоне. Ендотелне ћелије експримирају CD34 антиген у перипортном, а CD105 у перицентралном региону лобулуса адултне јетре (Braet и сар., 2002; Elvevold и сар., 2008).

Купферове ћелије су специјализовани ткивни макрофаги, који настају из стем ћелија коштане сржи или из моноцита периферне крви (слика 1.5). Оне учествују у изградњи зида синусоида и у директном су контакту са ендотелним ћелијама. Купферове ћелије су звездастог облика. Многобројним цитоплазматским продужецима остварују контакт са ендотелним ћелијама синусоида. Поред цитоплазматских продужетака, садрже и микровиле, филоподије и ламелоподије, које им дају карактеристичан изглед. У цитоплазми Купферових ћелија се уочавају многобројне пиноцитозне везикуле и вакуоле, као и обиље лизозома, што је специфична карактеристика свих макрофага. Њихова улога се огледа у пиноцитози и фагоцитози, тј. уклањању токсичних или страних супстанци из портне крви, али и у уклањању остарелих еритроцита. Купферове ћелије учествују и у презентацији антигена, секрецији вазо-активних супстанци, проинфламаторних цитокина ($TNF-\alpha$ и $TNF-\beta$), који учествују у имунолошкој одбрани домаћина, као и у патофизиолошким процесима код хемијских оштећења или код инфекција јетре (Wisse, 1977; Burt и сар., 1993).

Купферове ћелије експримирају многобројне антигене, који служе и за имунохистохемијску идентификацију ових ћелија. Најшире употребљена антитела за антигене на Купферовим ћелијама су *ED1*, *ED2*, *His19*, *Leu M1*, *Leu M3*, *Leu M5*, *Mac387*, *KP1*, *ICAM-1*, *LFA-1*, *CR1*, *CR3*, *CR4*, *CD68* (Hardonk и сар., 1989; Sugihara и сар., 1990; Ukai и сар., 1988; Bardadin и сар., 1991; Ahmed и сар., 1991; Volpes и сар., 1991; Mathew и сар., 1992).

Дисеов или перисинусоидни простор представља простор између ламина хепатоцита и зида синусоида (слика 1.5). Уочава се само на електронском микроскопу. У перисинусоидним просторима се врши двосмерна размена молекула кроз крвну плазму, која испуњава овај простор. Овај простор, поред крвне плазме, испуњавају хепатичне стелатне ћелије, ретикуларна и фина колагена влакна, гликопротеини и протеоглици (Лачковић и сар., 2014).

Хепатичне стелатне ћелије (Ито ћелије, липоцити, ћелије које складиште масти, парасинусоидалне ћелије и перисинусоидалне ћелије) (*Hepatic stellate cell nomenclature*, 1996) локализоване су у перисинусоидном простору, између базолатералне површине хепатоцита и адлуминалне стране ендотелних ћелија синусоида (слика 1.5). Оне представљају једну трећину стромалних ћелија јетре. Сматра се да су више перицентрално локализоване (најзаступљеније су у трећој зони ацинуса јетре), као и да су у директној вези са нервним завршецима. Једна стелатна ћелија окружује више од два суседна синусоида. Стелатна ћелија је разгранатог облика. На страни окренутој хепатоцитима, стелатна ћелија поседује многобројне продужетке, уз помоћ којих остварује физички контакт са хепатоцитима. Оваква веза омогућава интерцелуларни транспорт солубилних медијатора и цитокина. Хепатичне стелатне ћелије имају контрактилну способност, јер у цитоплазми садрже дезмин и α -глаткомишићни актин. Ове ћелије су бројније у перицентралној зони лобулуса јетре, где имају улогу посткапиларних сфинктера. Карактеристика ових ћелија су цитоплазматске накупине липида, у коме се налази витамин А (ретиноид). Накупине липида се могу наћи у капима које су окружене мембраном (везикуле типа I) и у капима које немају мембрану (везикуле типа II). Веза између ова два типа везикула још увек није позната. Приликом активације, хепатичне стелатне ћелије губе накупине витамина А и задобијају морфолошке и фенотипске карактеристике миофибробласта (*Giampieri и сар.*, 1981; *Jezequel и сар.*, 1984; *Wake*, 1995; *Ueno и сар.*, 1997).

Идентификација хепатичних стелатних ћелија се врши уз помоћ следећих антигена: дезмина, нестина, рилина, глијалног фибриларног киселог протеина, синптофизина, β 3-интегрин, *CRBP-1*, *N-CAM*, *V-CAM*, као и алфа-глаткомишићног актина (у случају активације) (*Kiassov и сар.*, 1995; *Ramadori и Saile*, 2002; *Sato и сар.*, 2003; *Samata и Boehm*, 2005; *Guyot и сар.*, 2006; *Kubota и сар.*, 2007; *Lo и Wu*, 2008; *Villeneuve и сар.*, 2009).

Пит ћелије, или ћелије природне убице (НК ћелије) у јетри, локализоване су у близини Купферових ћелија, у лумену синусоида (слика 1.5). Оне представљају велике лимфоците, који су преко псеудоподија везани за зид синусоида. Пит ћелије су поларизоване ћелије, које се крећу механизмом амебоидне ћелијске миграције. С тим у вези, на почетном делу ћелије се налази предња ивица, иза које следи тело ћелије, а на задњем крају ћелије се налази цитоплазматска протрузија – уропод. Поларизованост леукоцита је важан услов за ћелијску миграцију, активацију и апоптозу у урођеном и

адаптивном имуном одговору. У цитоплазми ћелије се виде многобројне грануле, које се на светлосном микроскопу виде као јамице (енгл. *pit*), по чему је ћелија добила име. За разлику од осталих НК ћелија које експримирају пан-Т-ћелијски маркер, *OX-19*, пит ћелије експримирају антиген *OX-8* и асијалоганглиозиде ганглиотетрасилцерамид, *asialo-GM1*. Активност пит ћелија је значајно већа у односу на НК ћелије. Оне имају улогу у контроли раста и диференцијације ћелија јетре, као и у убијању туморских измењених и вирусом инфицираних хепатоцита (*Vicente-Manzanares, 2004; Friedl и Weigelin, 2008; Sánchez-Madrid и Serrador, 2009; Burkhardt, 2013; Nourshargh и Alon, 2014; Hind и сар., 2016*).

1.2.5. Одводни венски систем јетре

Крв напушта лобулус јетре отичући кроз синусоиде у централну вену. Крв, затим, одлази преко сублобуларне и хепатичне вене а у доњу шупљу вену.

Централне вене добијају назив по њиховој централној позицији у класичном лобулусу јетре (слика 1.1, слика 1.2.В, Г, Ђ, Е, слика 1.3). Међутим, по анатомској номенклатури оне имају назив терминалне хепатичне венуле, иако представљају почетне хепатичне венуле. Централну вену изграђује једнослојан плочасти епител који налаже на континуирану базалну ламину, око које се налазе спирално оријентисана везивно-ткивна влакна и дисконтинуирано распоређени перицити. Ови крвни судови не поседују тунику медију (*Elias, 1949; Fasel, 2008; Ross, 2016*).

Сублобуларна вена је изграђена од ендотела који налаже на базалну ламину, испод кога се налази слој колагених и еластичних везивно-ткивних влакана у коме су присутни перицити и по која глатка мишићна ћелија (слика 1.3). Она је сличне грађе као и претходна, с том разликом што је у њеном зиду израженији слој колагених и еластичних влакана (*McCuskey, 1994; Ross, 2016*).

Спајањем више сублобуларних вена настаје сабирна (колекторна) вена (слика 1.3). Њен зид има трослојну организацију, садржи тунику интиму, медију и адвен-тицију. Она је сличног дијаметра и грађе као и интерлобуларна вена. Међутим, сабирна вена је лако уочљива на попречном пресеку јетре, јер увек путује сама кроз јетрин паренхим, у односу на интерлобуларну вену која је део тријаде у портном простору јетре (*Ekataksin и Wake, 1997; Saxena, 1999*).

1.3. ХИСТОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЛИМФНОГ СУДОВНОГ СИСТЕМА ЈЕТРЕ

Лимфни систем јетре игра важну улогу у хомеостази овог органа, сакупљајући вишак интерстицијалне течности и протеине који се путем лимфних судова враћају у крв. У јетри се ствара једна трећина од укупног дотока лимфе у торакални дуктус (*duktus thoracicus*). Лимфни васкуларни систем се састоји од неконтракtilне иницијалне лимфне мреже, која је тубулосакуларног типа, и колекторних лимфних судова. Лимфа се у јетри најпре сакупља у перисинусоидним просторима (Дисеов простор), одакле отиче у Малоове лимфне просторе локализоване између перипортне хепатичне граничне мембране и везивног ткива портних простора. Из ових простора лимфа отиче у лимфне судове везивног ткива портних простора. У односу на локализацију, лимфни судови јетре формирају три сплета: периартеријски, перипортни и капсуларни, који се уливају у торакални дуктус (Лачковић и сар., 2014; Ross, 2016).

Лимфни капилари су неправилног облика. На попречном пресеку могу имати изглед тубулуса или сакулуса. Лимфне капиларе граде екстремно танке ендотелне ћелије, које не поседују фенестре, нити налажу на базалну мембрану. Оне поседују многе ламелоподије, како на аблументској, тако и на адлументској страни, што доприноси неправилном изгледу капилара. Карактеристично је да се у цитоплазми ових ћелија запажају плазмалемалне везикуле. Постојање великог броја везикула указује на значајну ендцитозну и трансцитозну активност ендотелних ћелија лимфних капилара. Још увек није познато да ли везикуле учествују у формирању лимфе и која је њихова функција. Поред везикула, у цитоплазми лимфних ендотелних ћелија присутни су бројни микрофиламенти, микротубули и интермедијарни филаменти, као и актински и миозински филаменти који им омогућавају контракцију. Контракција ендотелних ћелија одговорна је за раздвајање ендотелних ћелија и формирање интерцелуларних пукотина. Интерстицијална течност улази кроз интерцелуларне пукотине које се додатно отварају када интерстицијални притисак у ткиву расте, а затварају када се повећа притисак у лимфном капилару. На тај начин се регулише формирање лимфе. Пошто лимфни капилари не поседују базалну мембрану, они се могу разликовати од крвних капилара по томе што се имунохистохемијским методама не боје на колаген типа IV и ламинин. Ендотелне ћелије лимфних капилара су имунопозитивне на D2-40, фактор раста васкуларног ендотела (*Vascular endothelial growth factor, VEGF*), *Prox-1*, рецептор 1

ендотела лимфних судова (*Lymphatic Vessel Endothelial Receptor 1, LYVE-1*). Ове ендотелне ћелије се преко усидравајућих филамената везују за околна еластична влакна. Усидравајући филаменти спречавају колабирање лимфног капилара приликом повећања притиска у перилимфатичном ткиву током запаљења (*Banerji* и сар., 1999; *Xu* и сар., 2004; *Wrobel* 2005; *Gale* и сар., 2007; *Ohtani* и *Ohtani*, 2008; *Jurišić* и *Detmar*, 2009; *Ross*, 2016; *Semo*, 2016; *Tanaka* и *Iwakiri*, 2016).

Лимфни судови у портним просторима настају из мреже лимфних капилара. Они су на пресеку неправилног облика, често извијугани. Ови лимфни судови не поседују јасну триламинарну организацију. Зидови портних лимфних судова су изграђени од екстремно танких ендотелних ћелија чија једра проминирају у лумен суда, дисконтинуиране базалне ламине и дисконтинуираног слоја местимично груписаних глатких мишићних ћелија. Ендотел је континуираног типа, а са адлуменске стране на ендотелним ћелијама се уочавају многобројни цитоплазматски продужеци. У субендотелном везивном ткиву уочавају се колагена и еластична влакна, између којих се налазе ГМЋ. Оне изграђују јастучиће који заједно са ендотелним ћелијама проминирају у лумен лимфног суда. У свим лимфним судовима јетре су присутне многобројне валвуле које не дозвољавају да се лимфа врати уназад (*Banerji* и сар., 1999; *Xu* и сар., 2004; *Gale* и сар., 2007; *Ross*, 2016; *Semo*, 2016).

Сабирни (колекторни) лимфни судови хилусног портног простора настају од мреже лимфних судова портних простора. Карактеристике сабирних лимфних судова су постојање правилно распоређених залистака са триламинарном организацијом зида. Испод слоја ендотелних ћелија, сабирни лимфни судови поседују комплетну базалну ламину. Средишњи слој сабирних лимфних судова, туника медија, изграђен је од неколико циркуларно или спирално оријентисаних глатких мишићних ћелија које се континуирано пружају целом његовом дужином. Спољашњи слој, туника адвентиција, чини растресито везивно ткиво са амијелинским нервним влакнима која се пружају до средишњег слоја (*Banerji* и сар., 1999; *Xu* и сар., 2004; *Gale* и сар., 2007; *Ross*, 2016; *Semo*, 2016).

1.4. ОСНОВНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ РАЗВОЈА ЈЕТРЕ ЧОВЕКА

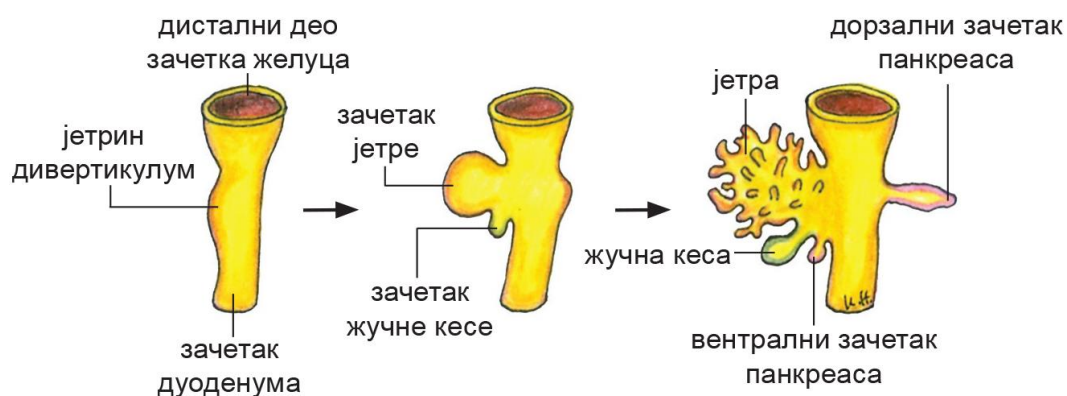
1.4.1. Микроскопске карактеристике пренаталног развоја јетре

Пренатални (ембрионални и фетусни) и постнатални развој јетре, као и организационо уклапање њеног паренхима, строме и хепатичне микроциркулације у морфофункционалну целину, представља веома дуготрајан развојни процес. У току њега долази до интеграције ендодермалних, мезодермалних и ектодермалних структура. Од ендодерма ће настати хепатоцити и епител жучних путева, тј. паренхим јетре, од мезодерма строма са везивно-ткивним, Купферовим и перисинусоидним (стелатним) ћелијама, као и васкулара, а од ектодерма нервна влакна (*Gouysse* и сар., 2002; *Zhao* и сар., 2005).

Јетра човека почиње да се развија у 4. недељи, између 24. и 26. дана, ембрионалног живота, из ендодермног хепатичног дивертикулума који израста на вентралној страни дисталног краја предњег црева, каудално од зачетка желуца, и ураста у околни мезенхим септума трансверзума. Хепатични дивертикулум се у истој недељи развића дели на кранијални и каудални део (пупољак). Од кранијалног дела настаће зачетак јетре, чије ће се ћелије диферентовати у хепатоците и ћелије епитела мањих интрахепатичних жучних путева. Каудални део даје зачетак жучне кесе, од кога ће се касније развити епител и жлезде жучне кесе, епител екстрахепатичних и већих интрахепатичних жучних путева. Ова два пупољка и даље остају у вези са вентралним зидом будућег дуоденума, преко петелке од које ће се формирати дуктус холедокус (*Gouysse* и сар., 2002; *Collardeau-Frachon* и сар., 2008; Николић и сар., 2018).

Контролни механизми током развоја јетре се одвијају уз учешће сигналних молекула: трансформишући фактор раста β (*transforming growth factor, TGF- β*), фибробластни фактор раста (*fibroblast growth factor, FGF*), *Wnt*, *Notch* и протеин морфогенезе костију (*bone morphogenetic protein, BMP*) (*Darlington*, 1999; *Peterson* и сар., 1999).

У петој недељи развоја, незрели хепатоцити настављају да се шире у околни мезенхим, ступајући у контакт са омфаломезентеричним и умбиликалним венама, чији огранци, заједно са аутохтоно формираним синусоидима, учествују у стварању циркулације јетре (*Gouysse* и сар., 2002; *Zhao* и сар., 2005). Омфаломезентеричне (вителинске) вене ће формирати еферентни венски систем јетре, док ће умбиликална бити главни доводни крвни суд у јетри. У овом периоду, хепатоцити формирају хепатичне



Слика 1.6. Развој јетре, жучне кесе и панкреаса у периоду од треће до пете недеље развоја (Николић и сар., 2018).

плоче које су изграђене од неколико слојева ћелија. Једнослојни ендотел облаже хепатичне плоче са спољашње стране, изграђујући широке синусоиде неправилног облика. Нешто касније, почетком фетусног периода, у јетри се могу уочити незрели портни простори који садрже само огранак портне вене и још увек необликоване централне вене. Средином фетусног периода, хепатоцити интензивно пролиферишу, доводећи до промена у васкуларно-паренхимском односу. Тако вишеслојне хепатичне плоче од петог месеца постају двослојне, а на рођењу су углавном једнослојне (*Spagnoli* и сар., 1998; *Duncan* и сар., 2003; *Collardeau-Frachon* и сар., 2008).

Развој хепатобласта је регулисан интеракцијом са мезенхималним ћелијама септума трансферзума. Они се диферентују у две групе ћелија, хепатоците и епителне ћелије жучних канала, у процесу који је регулисан *TGFβ*, *Notch*, *Wnt*, *BMP* и *FGF* транскрипционим факторима (*Darlington*, 1999; *Peterson* и сар., 1999; *Nava* и сар., 2005).

1.4.1.1. Развој жучних путева у јетри

Велики број истраживача спроводи испитивања о настанку интрахепатичних жучних путева, о чему постоје многе теорије. За сада је најприхватљивија теорија о постојању прогениторних ћелија јетре, које се, у зависности од услова микрооколине, диферентују у хепатоците или у епителне ћелије билијарних каналића (Николић, 1991). По другој теорији, сматра се да се интрахепатични жучни каналићи развијају из ћелија дуктусне плоче, која је настала диференцијацијом хепатичног дивертикулума. Дуктусна плоча је изграђена од једног или два слоја ћелија, локализованих на граници између паренхима и везивног ткива портног простора (одговара перипортној граничној мембрани).

Формирање билијарног система јетре почиње око шесте недеље, када ћелије дуктусне плоче почињу да мигрирају формирајући цевчице (тубе) под утицајем пролиферишућег мезенхима. У 11. недељи ове цевчице се спајају са луменом заједничког хепатичног дуктуса. У 12. и 13. недељи гестације врши се ремоделовање дуктусне плоче од хилусног портног простора ка периферији, када настају примитивни, а затим и дефинитивни дуктуси. Развој жучних путева се завршава до почетка четвртог месеца интраутериног развоја. Метаболизам билирубина, као и синтеза жучи, започињу између 9. и 11. недеље, а жуч почиње да се секретује од 22. недеље (*Benedetti и сар.*, 1996; *Strazzabosco*, 1997; *Duncan и сар.*, 1998; *Jung и сар.*, 1999; *Lemaigre и Zaret*, 2004; *Gordillo и сар.*, 2015).

Велики жучни канали урастају у јетру из бешичног дивертикулума, спајајући се са интрахепатичним билијарним каналима.

1.4.1.2. Развој хематопоезе у јетри

Хематопоеза у јетри се запажа од краја другог до осмог месеца развоја. Седишта хематопоезе се уочавају као гомилице округлих ћелија између синусоида и хепатоцита. Хематопоеза свих ћелијских лоза крви, а највише еритроидне, у јетри се одвија из хематопоеетских матичних ћелија, које колонизују јетру из жуманчане кесе и интраембрионалних локуса хематопоезе. Карактеристикама своје микросредине, јетра погодује развоју хематопоезе. Прве хематопоеетске прогениторне ћелије се могу уочити 30. дана развића. Веома брзо након тога, у јетри се могу идентификовати *CD34* и *anti-glycophorin A*, имунопозитивне ћелије, карактеристичне за еритропоетску линију; *CD10*, *CD19*, *CD20*, *CD43* и *CD75* имунореактивне ћелије, карактеристичне за лимфопоезу; *CD13*, *CD15*, *CD33* и *CD36*, карактеристичне за мијелопоезу и *CD17*, *CD42* и *CD61* имунопозитивне ћелије, карактеристичне за мегакариоцитопоезу. Строма јетре синтетише факторе раста, ћелијске адхезивне молекуле и компоненте екстрацелуларног матрикса које имају важну улогу у пружању потпоре расту и диференцијацији хематопоеетских ћелија (*Migliaccio и сар.*, 1986; *Timens и Kamps*, 1997; *Peterson и сар.*, 1999; *Tavian и Peault*, 2005).

1.4.1.3. Развој инервације јетре

Нервна влакна аутономног нервног система која улазе у хилус јетре су неуроектодермалног порекла. Почевши од 7. недеље гестације, у хилусу се уочавају нервна влакна. Такође, између 7. и 10. недеље гестације, неурофиламент – имунопози-

тивна телашца се могу уочити у паренхиму јетре, па се сматра да она настају од мезенхималних ћелија строге. Током развоја, имунопозитивна нервна телашца се губе, диферентујући се у нервна влакна, која се затим спајају са нервним влакнима из хилуса јетре (*Suda и Takakura, 2001; Berthoud, 2004; Delalande и сар., 2004; Tiniakos и сар., 2008; Terrada, 2014*).

1.4.1.4. Развој Купферових и хепатичних стелатних ћелија

Од мезодерма се, поред хематопоеетских ћелија, у јетри се развијају Купферове ћелије, хепатичне стелатне ћелије, везивно ткиво, као и крвни и лимфни судови.

Купферове ћелије настају од примитивних макрофага, који се развијају у жуманчаној кеси, а затим се диферентују у ембрионалне (фетусне) макрофаге који путем крви мигрирају у јетру 30. дана интраутериног развоја (*Naito и сар. 1997*). По другим ауторима, Купферове ћелије настају модификацијом ендотелних ћелија синусоидних капилара. Типичан имунофенотип ових ћелија се огледа у јакој имунопозитивности на *CD68* и *HAM56*, као и нешто слабијој имунореактивности на *CD14* моноклонско анти-тело (*Naito и сар. 1997*). Овакав фенотип се задржава и код макрофага у адултној јетри.

Хепатичне стелатне ћелије имају још увек неразјашњено порекло. Велики број студија је урађен са циљем да се установи порекло перисинусоидних (хепатичних стелатних) ћелија (ХСТ). Међутим, њихово порекло још увек није у потпуности расветљено. О постанку ових ћелија постоји више теорија. По теорији која је данас највише заступљена, хепатичне стелатне ћелије настају диференцијацијом мезодермалних ћелија септума трансферзума, под утицајем фактора микрооколине. По следећој теорији, ХСТ настају од заједничке прогениторне ендодермалне ћелије, од које настају и хепатобласти. Такође се сматра да ове ћелије могу настати миграцијом малог броја ћелија нервног гребена које су се одвојиле од дорзалног дела неуралне тубе, а нису одређене за стварање нервних ганглија, неуроендокриног ткива или нису биле под утицајем фактора микрооколине који усмеравају ћелије у правцу стварања мишића или костију. Неколико група истраживача сматра да одређен број нервних матичних ћелија које мигрирају у јетру, у време њене инервације, могу да се диферентују у ХСТ, под дејством фактора околине. Постоји и теорија која описује сличан процес који се дешава и код одраслих особа. По овој теорији, хематопоеетске мезенхималне матичне јетре (или ћелије коштане сржи), мигрирајући у перисинусоидни простор јетре у развоју, могу се

диферентовати у ХСЋ или хепатоците код одраслих. Фенотип ових ћелија је веома разнолик. Тако, ХСЋ показују имунореактивност многих маркера, као што су: дезмин, глијални кисели фибрилари протеин (*glial fibrillary acidic protein, GFAP*), рецептор неуротрофина (*Tropomyosin receptor kinase C, TRK-C*), адхезиони молекул нервних ћелија (*neural cell adhesion molecule, N-CAM*), синаптофизин, фактор раста неурона (*nerve growth factor, NGF*), α -глаткомишићни актин (*α -smooth muscle actin, α -SMA*), ламинин, колаген III, колаген IV (*Kiassov и сар., 1995; Ramadori и Saile, 2002; Sato и сар., 2003; Samama и Boehm, 2005; Guyot и сар., 2006; Kubota и сар., 2007; Lo и Wu, 2008; Loo и сар., 2008; Villeneuve и сар., 2009*).

1.4.1.5. Развој компоненти екстрацелуларног матрикса у јетри

Мало је радова везаних за пренатални развој компонента ЕЦМ-а везивног ткива јетре и углавном се своде на истраживања код мишева и пацова (*Baloch и сар., 1992; Carnegie и Cabaca, 1993; Rescan и сар., 1993; Quondamatteo и сар., 1999; Sanchez и сар., 2000; Kockaya и Akay, 2006*). Тако, и данас још увек нема довољно података о развоју ЕЦМ у јетри човека. Развој ЕЦМ се може анализирати током хепатогенезе која се дели у две фазе (*Rescan и сар., 1989; Martinez-Hernandez и Amenta, 1993*).

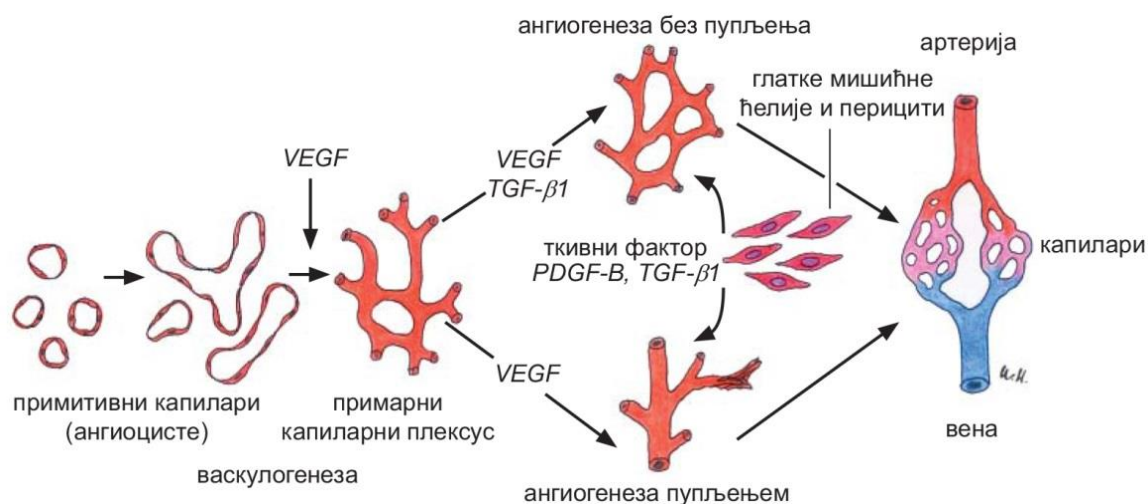
Прва фаза развоја ЕЦМ-а обухвата период од почетка формирања јетре до краја трећег месеца интраутериног развоја (*Koga, 1971*). У овој фази, јетра је обавијена танком капсулом прекривеном мезотелом, одвојеном од капсуле континуалном мембраном, у којој су идентификовани колаген тип I, IV, фибронектин и ламинин. Паренхим јетре се састоји од вишеслојних и неправилно оријентисаних трака хепатоцита, одвојених од синусоида јетре континуираним ендотелом, и БМ, која има скоро исти састав компоненти ЕЦМ-а као и базална мембрана мезотела. Током гестације, епителне ћелије дукталне плоче почињу да мигрирају у мезенхим септума трансферзума. Линеарна експресија колагена типа IV и ламинина је присутна на месту где се додирују дуктална плоча и мезенхим, мигрирајуће ћелије и мезенхим и новоформирани хилусни жучни каналићи и мезенхим. У оскудном везивном ткиву строме јетре, у овом периоду, може се уочити значајна експресија колагена тип I, III, IV, фибронектина и ламинина (*Barioz и сар., 1988; Terada и Nakanuma, 1994; Gimenez и сар., 1995; Quondamatteo и сар., 1999; Gersdorff и сар., 2005; Hallman и сар., 2005; Fridman, 2008; Мак и сар., 2013*).

Друга фаза развоја ЕЦМ-а, траје од 12. недеље интраутериног развоја до неонаталног периода (*Martinez-Hernandez и Amenta, 1993*). Фенотип ЕЦМ у капсули и у везивном ткиву портних простора је идентичан претходној фази. У портним просторима видљиви су мали жучни канали, окружени танким слојем ЕЦМ-а, који садржи ламинин и колаген тип IV. У епителним ћелијама жучних канала су уочљиве велике количине интрацелуларног ламинина и колагена типа IV. У перисинусоидним просторима може се идентификовати колаген тип I, IV, фибронектин и ламинин, при чему се на крају овог периода садржај ламинина смањује. Компоненте ЕЦМ у јетри током њеног развоја стварају хепатоцити, ендотелне ћелије, фибробласти и хепатичне стелатне ћелије (*Martinez-Hernandez и Amenta, 1993; Kuondamatteo и сар., 1999; Pöschl и сар., 2004; Roskams, 2006; Wells, 2008; Shoulders и Raines, 2009*).

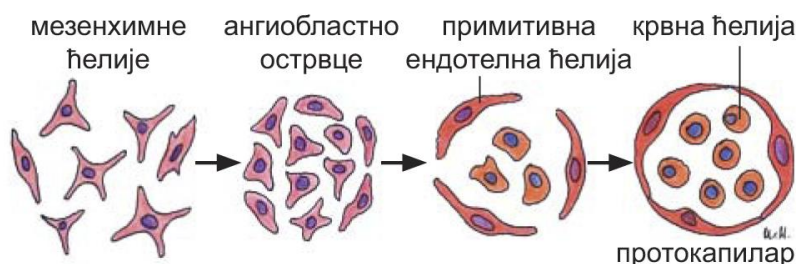
У постнаталном периоду живота, процес диференцијације структура и ћелија јетре се наставља и траје до десете године живота.

1.4.2. Развој крвних судова јетре

Развој јетре умногоме зависи од развоја њених крвних судова (њиховог међусобног односа, густине и морфологије). Смањењем густине васкуларне мреже у јетри отежава се њен нормални развој, због смањене перфузије. Са друге стране, и повећање броја крвних судова, такође, води ка неадекватном развоју јетре и појави неуобичајених анормалија у овом органу (*Enzan и сар., 1997; Oberlin и сар., 2002; Cleaver и Dor, 2012*).



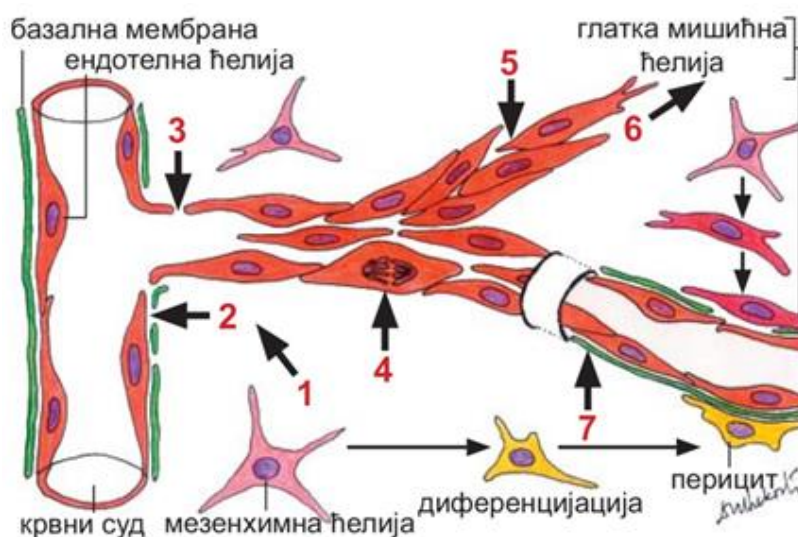
Слика 1.7. Формирање примитивне васкуларне мреже (Николић и сар., 2018)



Слика 1.8. Васкулогенеза (Николић и сар., 2018)

Васкулатура јетре иницијално настаје као примитивно васкуларно корито из кога се, током развоја, формира сложена мрежа крвних судова (слика 1.7). Континуирани процес васкулогенезе се карактерише формирањем аутохтоног васкуларног плексуса у мезенхим септума трансферзума. Овај процес је праћен ремоделовањем, променом дијаметра лумена и дебљине зида крвних судова, дегенерацијом појединих крвних судова, као и доградњом постојећих и формирањем нових крвних судова, ангиогенезом (*Langille, 1993*) (слика 1.8., слика 1.9). Развој циркулације је резултат динамичких збивања која захватају артеријски и венски систем у развоју јетре.

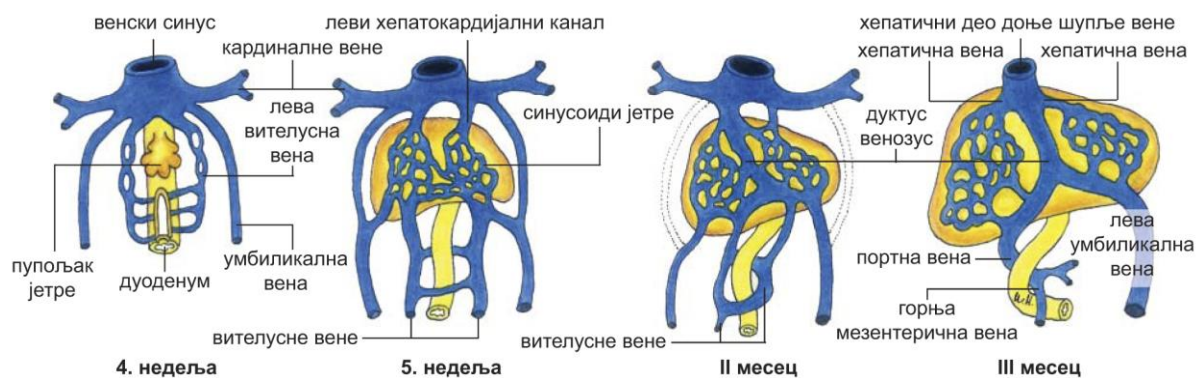
Развиће крвних судова почиње 17. дана, а завршава се постнатално око 10. године живота. Сви крвни судови у хуманом ембриону се у почетку развијају на исти начин. Најпре настају протокапилари изграђени од ангиобласта (који се врло брзо ди-



Слика 1.9. Ангиогенеза – 1-активација, 2-протеолиза ЕЦМ, 3-раздвајање ендотелних ћелија, 4-пролиферација ендотелних ћелија, 5-миграција ендотелних ћелија, 6-раст ендотелних трака, 7-инхибиција раста и стварање лумена (Николић и сар., 2018).

ферентују у ендотелне ћелије) и базалне мембране. Затим долази до ширења и задебљавања ових „примитивних капилара“ на рачун диференцијације околних мезенхимских ћелија у периците и ГМЋ. Под утицајем обима протока крви и крвног притиска, крвни судови ће се модификовати у артерије или вене (Muench и сар., 1994; Мојсиловић, 2004; Николић, 2018).

Циркулација јетре се развија на основи ремоделовања вителусних и умбиликалних артерија и вена (слика 1.10). Из капиларне мреже жуманчане кесе развиће се десна и лева вителусна вена. Растући зачетак јетре у петој недељи развоја ступа у контакт са вителусним венама, које улазећи у њега формирају синусоиде. Вителусне вене представљају значајне доводне венске судове јетре. Крајем пете недеље, синусоиди јетре се међусобно спајају, притом учествујући у изградњи левог и десног хепатокардијалног канала, што указује да вителусне вене учествују и у изградњи одводних хепатичних вена. Нешто касније, у трећем месецу развоја, настаће венозни канал (*ductus venosus Arantii*), такође из синусоида јетре. У том периоду, лева вителусна вена подлеже инволуцији, док ће се од десне развити и портни систем, део доње шупље и горња мезентерична вена. У образовање синусоида јетре укључене су и лева и десна умбиликална вена, које настају гранањем умбиликалне вене пупчане врпце, по уласку у ембрион. Током трећег месеца развоја, десна умбиликална вена подлеже инволуцији, док се лева спаја са дуктус венозусом и преко њега са десним хепатокардијалним каналом, који носи оксигенисану крв до срца. По рођењу, лева умбиликална вена ће облитерисати у обли лигамент јетре, а облитерацијом венозног канала ће остати венозни лигамент. Убрзо, по формирању венске циркулације, успоставља се и артеријска циркулација. Од вителусних и умбиликалних артерија развијају се горња и доња ме-



Слика 1.10. Девати вителусних и умбиликалних вена у периоду од четврте недеље до трећег месеца развоја (Николић и сар., 2018).

зентерична артерија, као и целијачне артерије, које ће дати гране за јетру, желудац и слезину (Николић, 1991; *Duncan S*, 2003; *Collardeau-Frachon S* и *Scoazec Y*, 2008). У доступној литератури, нема података о грађи интерлобуларних артерија и вена у одређеним периодима развоја јетре.

1.4.2.1. Имунохистохемијска специфичност синусоида јетре у развоју

Развој микроваскулатуре у јетри још увек није у потпуности разјашњен. Ембриолошке студије су показале да се капилари јетре највероватније развијају на основи аутохтоно формираних капилара септума трансверзума – мезенхимске формације која се налази у близини хепатичног дивертикулума (*Duncan S*, 2003; *Collardeau-Frachon S* и *Scoazec Y*, 2008). Процес формирања синусоида јетре почиње у 5. недељи гестације, када тракице хепатобласта хепатичног дивертикулума постепено почињу да окружују ембрионалне крвне судове септум трансверзума (*Enzan* и сар., 1983; *Wisse* и сар., 1985; *Couvelard* и сар., 1996; *Duncan S*, 2003; *Collardeau-Frachon* и *Scoazec*, 2008). Ови капилари су обложени континуираним слојем ендотела и поседују базалну ламину. Око 17. недеље развоја интрахепатични капилари се трансформишу и почињу да личе на синусоидне капиларе адултне јетре. На њима се уочава фенестровани ендотел, а изостаје организована базална ламина (*Braet* и *Wisse*, 2002). Од 17. недеље развоја, ендотелне ћелије хепатичних синусоида трајно стичу карактеристичан фенотип који се разликује од фенотипа осталих ендотелних ћелија крвних судова јетре. Тако, синусоиди јетре представљају јединствене капиларе, чије ендотелне ћелије, за разлику од других капилара људског организма, поседују фенестре без дијафрагме, не леже на базалној ламини и имају специфичан имунохистохемијски профил (*Arimoto J* и сар., 2010).

Показано је да синусоидне ендотелне ћелије у развоју експримирају већи број специфичних антигена: васкуларни адхезиони протеин-1 (*Vascular adhesion protein 1, VAP1*), стабилин 1 и 2, интерцелуларни адхезиони молекули 3 – интегрин, специфичан за јетру и лимфни чвор (*Liver/lymph node-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing integrin, L-SIGN*), и рилин. Експресија адхезионог молекула тромбоцита за ендотелне ћелије (*Platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM*), *von Willebrand* фактора и једног од најпоузданијих маркера ендотелних ћелија крвних судова, трансмембранског сиаломуцина (*CD34*), мањег је интензитета (*Lalor* и сар., 2006; *Nonaka* и сар., 2007; *Si-Tayeb* и сар., 2010).

У студији коју су објавили *Couvelard* и сар., испитивањем развића капиларне мреже у јетри, установљено је да су од 5. до 7. недеље гестације капиларни судови септум трансверзума и интрахепатични синусоиди позитивни на *PECAM-1* и *CD34* антиген. Експресија ова два антигена у 8. и 9. недељи развића се задржава у ендотелним ћелијама портних крвних судова, док у синусоидима јетре показује хетерогеност. Од 10. недеље гестације па надаље, експресија *PECAM-1* и *CD34* уочљива је само на портним крвним судовима, док скоро у потпуности нестаје на ендотелним ћелијама синусоида јетре (*Couvelard* и сар., 1996). Одсуство *CD34* позитивности на ендотелним ћелијама јетриних синусоида такође је потврђено и у истраживањима других аутора (*Couvelard* и сар., 1993; *Daneker* и сар., 1998). Повећана експресија *CD34* антигена на ендотелним ћелијама хепатичних синусоида удружена је углавном са капиларизацијом током хроничних инфламаторних болести јетре и у хепатоцелуларном карциному (*Amarapurkar* и сар., 2007; *Zeng* и сар., 2010; Глигоријевић и сар., 2010).

Крвни судови обезбеђују индуктивне факторе и факторе раста за пролиферацију хепатоцита и стварање хепатичних плоча, али и формирају специјализоване микроанатомске домене „васкуларне нише“, тј. гомилице прогениторних ћелија, које се налазе у непосредној близини крвних судова. Ове васкуларне нише се задржавају и код одраслих особа, када представљају изворе различитих ендогених адултних популација матичних ћелија које су неопходне за ткивну хомеостазу и регенерацију (*Kopp* и сар., 2005; *Nikolova* и сар., 2007; *Butler* и сар., 2010; *Cleaver* и *Dor*, 2012).

1.4.3. Развој лимфних судова јетре

Развој лимфних судова јетре још увек није сасвим разјашњен, а претпоставке до којих се дошло углавном су засноване на експерименталним радовима на ембрионима и фетусима сисара. На основу истраживања на ембрионима сисара, уназад скоро 100 година, усвојене су две теорије о формирању лимфних судова (*Semo* и сар., 2016). Према такозваној „центрифугалној теорији“ *Sabin*-а сматра се да примитивна лимфна кеса настаје од ендотелних ћелија пупољка кардиналне вене, одакле лимфатичке ендотелне ћелије мигрирају према периферији. Друга је „центрипетална теорија“ *George Huntington*-а и *Charles McCure*-а, по којој лимфни судови настају у одређеним регионима мезенхима, у којима се групице мезенхимских ћелија трансформишу у ендотелне ћелије лимфних судова (*Semo* и сар., 2016).

Идентификација лимфних ендотелних ћелија могућа је захваљујући примени специфичних ендотелних маркера. На површини ових ћелија експримира се више маркера: *Prospero homeobox protein 1 (Prox-1)*, *D2-40*, рецептор 1 на ендотелу лимфатика (*Lymphatic vessel endothelial receptor 1, LYVE-1*), фактор раста васкуларног ендотела (*Vascular endothelial growth factor, VEGF*), плакоглобин и интегрин алфа-9. *Prox-1* је специфични маркер субпопулације ендотелних ћелија од којих настаје лимфни систем сисара. Сисари којима недостаје *Prox-1* молекула немају развијен лимфни систем, док им се процеси васкулогенезе и ангиогенезе нормално одвијају, што указује да је овај молекула искључиво везан за лимфангиогенезу. Плакоглобин или гама-катенин је члан фамилије протеина катенина и улази у састав дезмосома и адхерентних међућелијских веза, а његова је функција да повезује цитоплазматски део кадхерина са актинским цитоскелетом ћелија. Он се експримира како на васкуларним тако и на лимфатичним ендотелним ћелијама. За разлику од плакоглобина, интегрин алфа-9 се експримира искључиво на ендотелним ћелијама лимфних судова, а његова улога је у повезивању ћелија са протеинима екстрацелуларног матрикса, остеопонтином и тенасцином. Поред *D2-40*, *LYVE-1* је један од најпоузданијих маркера за лимфне судове и лимфангиогенезу (*Banerji* и сар., 1999; *Prevo* и сар., 2001; *Petrova* и сар., 2002; *Jackson*, 2003; *Xu* и сар., 2004; *Wrobel* и сар., 2005; *Gale* и сар., 2007; *Ohtani* и *Ohtani*, 2008; *Jurišić* и *Detmar*, 2009; *Ross*, 2016; *Semo*, 2016; *Tanaka* и *Iwakiri*, 2016).

1.5. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКИ МАРКЕРИ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈУ КОМПОНЕНАТА ЗИДА КРВНИХ И ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ ЧОВЕКА

За идентификацију структурних компоненти зида крвних и лимфних судова – ендотела, базалних мембрана, перицита, глатких мишићних ћелија и компонента ЕЦМ-а, најпоузданије је доказати њихове имуноспецифичне маркере.

1.5.1. Маркери ендотела крвних судова

1.5.1.1. *CD31*

Тромбоцитни ендотелни ћелијски адхеzioni молекула-1 (*Platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1, CD31*) члан је суперфамилије имуноглобулина молекуласке масе 130 килодалтона. Поред тога што се експримира на базалним и латералним

површинама ендотелних ћелија, експримира се и на мембрани тромбоцита, моноцита, појединих Т ћелијских субтипова (*Newman* и сар., 1999; *Jackson*, 2001; *Jackson*, 2003). Састоји се од 6 екстрацелуларних имуноглобулинских, једног трансмембранског и једног цитоплазматског домена. Ген који кодира синтезу овог молекула се налази на хромозому *17q23* (*Gumina* и сар., 1996). *CD31* показује склоност ка хомофилном везивању на латералним странама ендотелних ћелија, а експерименталним студијама је доказано да су хетерофилни лиганди овог молекула и интегрин $\alpha_v\beta_3$, гликозаминогликани и *CD38* присутан на површини лимфоцита, као и *CD177/PR3* комплекс присутан на површини неутрофила (*Sun* и сар., 1996; *Sun* и сар., 1998; *Kuckleburg* и сар., 2013).

CD31 је укључен у велики број биолошких процеса као што су трансмиграција леукоцита, миграција ћелија, ангиогенеза, ћелијска сигнализација, ћелијска адхезија и активација интегрина (*Jackson*, 2003). Ендотелне ћелије нарочито показују високу експресију молекула *CD31*, па је код њих доказано присуство око милион ових молекула на ћелијској мембрани. Код ендотелних ћелија *CD31* је значајан у формирању и стабилизацији латералних међућелијских спојева, модулацији миграције ендотелних ћелија и трансмиграције леукоцита између ендотелних ћелија, као и у ангиогенези (*Privratsky* и сар., 2014). Имајући у виду наведене функције молекула *CD31*, намеће се закључак да је његова експресија на ендотелним ћелијама кључна за одржавање нормалне структуре васкуларне баријере.

Недавне студије су показале да *CD31* такође има механосензорну функцију на ендотелним ћелијама и омогућава им да се адекватно прилагоде хемодинамском притиску у крвном суду. Овај комплекс, поред *CD31*, обухвата и *VEGF* (*vascular endothelial growth factor*) и *VEGFR2* (*vascular endothelial growth factor receptor 2*). Његова улога се огледа у модулацији сигналних путева код инфламације, модулацији цитоскелетне архитектуре и ћелијско-екстрацелуларно-матриксних интеракција. Нарочито је битна његова функција у стимулацији ендотелних ћелија да секретују азот-моксид, који доводи до вазодилатације крвних судова (*Fennie* и сар., 1995; *Collins* и сар., 2012; *Feaver* и сар., 2010).

Новија истраживања указују на улогу *CD31* молекула у ћелијском преживљавању. *Noble* и сарадници (1999) показали су да *PECAM-1/PECAM-1* хомофилна интеракција између моноцита и ендотелних ћелија редукује интензитет апоптозе ендотелних ћелија након депривације серума, што их је навело на закључак да *PECAM-1* хомофилне интеракције активирају сигнални пут у ендотелној ћелији који има антиапоптотски ефекат. Иако је молекуларни механизам цитопротективног ефекта *CD31*

молекула још увек непотпуно разјашњен, *Gao* и сарадници (2001) утврдили су да *CD31* инхибира ослобађање цитохрома Ц из митохондрија, након излагања ћелије токсичним стимулусима који доводе до активације *Bax* гена (*Noble* и сар., 1999; *Gao* и сар., 2001).

Експерименталне студије на мишевима су показале да *CD31* има кључну улогу у репарацији микроваскуларне баријере након њеног оштећења хистамином, у ендотоксемији изазваној липополисахаридима или након експериментално изазваног аутоимуног енцефалитиса (*Biswas* и сар., 2006; *Graesser* и сар., 2002; *Maas* и сар., 2005). *CD31* такође има значајну улогу и у ангиогенези. Наиме, ангиогенеза се карактерише променом фенотипа ендотелних ћелија, које из диферентованог стања прелазе у пролиферативни (миграторни) фенотип. Током овог процеса *CD31* регулише миграцију ендотелних ћелија, формирање спојних комплекса између ендотелних ћелија у новоствореним крвним судовима, морфогенезу капилара, као и сазревање новостворених крвних судова кроз ћелијско-екстраћелијско-матриксне интеракције (*Kondo* и сар., 2007).

1.5.1.2. *CD34*

CD34 је трансмембрански фосфогликопротеин откривен 1984. године на хематопоеетским стем ћелијама и прогениторским ћелијама (*Pusztaszeri* и сар., 2006; *Civin* и сар., 1989). То је фосфогликопротеин који припада породици сијаломуцина (тип 1) и један је од најпоузданијих маркера ендотелних ћелија крвних судова. Антиген *CD34* се експримира на различитим ћелијама јетре: ендотелним ћелијама, хематопоеетским матичним и прогениторским ћелијама, ендотелним прогениторским ћелијама, ембрионалним фибробластима и мултипотентним мезенхималним стромалним ћелијама (*Sidney* и сар., 2014). *Tavian* и сар. (2005) описују веома рано, код ембриона старих 3 до 5 недеља, *CD34* позитивност у ендотелним ћелијама крвних судова. Његова молекуларна улога још није у потпуности разјашњена (*Nakayama* и сар., 2000; *Kuroda* и сар., 2004; *Pusztaszeri* и сар., 2006; *Nielsen McNaghy*, 2008; *Acarreguli* и сар., 2014).

CD34 је углавном присутан на васкуларном ендотелу у јетри, али је у неким студијама приказан и на лимфатицима. *CD34* је одсутан у већини синусоидних ендотелних ћелија у нормалној јетри, али се експресија повећава током капиларизације код хроничних инфламаторних болести и у васкулатури синусоидног типа код хепатоцелуларног карцинома (*Lalor* и сар., 2006; *Amarapurkar* и сар., 2007; *Glgorijević* и сар., 2010; *Zeng* и сар., 2010). Синусоидна капиларизација означена *CD34* експресијом у корелацији је са дедиференцијом ткива јетре током цирозе (*Glgorijević* и сар., 2010).

1.5.2. Маркери ендотела лимфних судова

1.5.2.1. D2-40

D2-40 моноклонско антитело реагује са M2A протеином, онкофеталним антигеном, који се експримира на лимфном ендотелу, феталном тестису, на површини туморских ћелија тестиса, лимфагиому и Капоши саркому. M2A протеин се састоји од сијалогликопротеина (маса 40 kDa) са O-везаном карбохидратном структуром, која даје антигеност овом молекулу. Новије студије показују да се молекул D2-40 везује за ендотел лимфних судова, као и да не реагује са ендотелом капилара, артерија и вена у нормалном и неопластичном ткиву (Carreira и сар., 2001). D2-40 и њему скоро идентичан молекул – подопланин, показали су се као најосетљивији и најспецифичнији маркери за ендотел лимфних судова (Beauchamp и сар., 2000; Breiteneder-Geleff и сар., 1999; Young и сар., 2013; Jović и сар., 2017).

Током истраживања Chu и сар. доказана је специфичност D2-40 за ћелије које имају мезотелијално порекло (Chu и сар., 2010). Експресија молекула D2-40 почиње 12. дана, у време када се лимфна кеса издваја од кардиналне вене. Сисари који немају D2-40 умиру у ембрионалном периоду (Arimoto и сар., 2010; El Filali и сар., 2014).

1.5.2.2. LYVE-1

Ендотелни рецептор лимфних судова-1 (*Lymphatic Vessel Endothelial Receptor-1*, LYVE-1) јесте интегрални трансмембрански гликопротеин, члан суперфамилије Link протеина, хомолог хијалуронског рецептора CD44, који се везује за хијалуронску киселину (ХК). Показано је да у току ембрионалног периода ХК учествује у процесу ћелијске миграције, као и у диферентовању мезенхимских ћелија током процеса хондрогенезе и миогенезе. Код одраслих особа, ХК утиче на миграцију ћелија током инфламације или зарастања рана, и то формирањем перичелуларног матрикса у коме се смањује чврстина међућелијских веза. LYVE-1 се експримира на луминалним и аблуминалним површинама ендотела лимфних судова, као и на ендотелним ћелијама синусоида јетре (Mouta Carreira и сар., 2001; Jackson, 2003; Wróbel и сар., 2005). Користи се као маркер за лимфне судове (Prevo и сар., 2001; Jackson, 2003) и лимфангиогенезу (Gale и сар., 2007). Међутим, LYVE-1 се не експримира на „мирујућим“ ендотелним ћелијама лимфних судова, што указује да је његова главна функција у преносу ХК кроз ендотелне ћелије лимфатика до њиховог лумена (Burkhardt и сар., 1991; Banerji и сар., 1999;

Wróbel и сар., 2005; Ohtani и Ohtani, 2008; Jurišić и Detmar, 2009; Ross, 2016; Semo, 2016; Tanaka и Iwakiri, 2016).

У јетри током фетусног развоја, експресија *LYVE-1* се повећава на ендотелним ћелијама синусоидних капилара (Pusztaszeri и сар., 2006), што указује на сазревање њихове функције у прихватању ХК и њеној даљој обради у хепатоцитима. Код одраслих особа, експресија *LYVE-1* је ослабљена у циротичним огњиштима јетре, а потпуно одсутна у јетри са хепатоцелуларним карциномом (Wrobel, 2005; Lalor и сар., 2006; Gale и сар., 2007; Ohtani и Ohtani, 2008; Jurišić и Detmar, 2009; Semo, 2016; Tanaka и Iwakiri, 2016).

1.5.3. Маркери перицита и ендотела крвних судова

1.5.3.1. *CD146*

Ћелијски адхезиони молекул меланома (*melanoma cell adhesion molecule (MCAM)*, *melanoma CAM (Mel-CAM)*, *metastasis CAM (MET-CAM)*, *hemopoietic CAM (HEMCAM)*, *CD146*, *MUC18*, *A32 antigen*, *S-Endo-1*) јесте трансмембрански адхезивни гликопротеин из суперфамилије имуноглобулина, молекуларне масе 113 килодалтона. Откривен је 1987. године на меланомским ћелијама у метастатским лезијама малигног меланома. *CD146* је укључен у процесе повезивања ћелије са ћелијом и ћелија са екстрацелуларним матриксом, а описана је и његова улога у процесима ћелијске миграције, регулације ћелијског циклуса, ћелијске сигнализације и морфогенезе током развића и регенерације ткива. Утврђено је да је *CD146* компонента *VEGF* сигналног пута, у коме служи као корецептор за *VEGFR-2* током ангиогенезе у туморима. Осим у физиолошким процесима, експресија антигена *CD146* је доказана у крвним судовима карцинома, те га бројни аутори сматрају сигурним маркером за дијагнозу и прогнозу различитих тумора, као и у бројним патолошким стањима, као што су инфламација, инфекције и аутоимуне болести (Baksh и сар., 2007; Covas и сар., 2008; Sorrentino и сар., 2008; Russel и сар., 2010; Tormin и сар., 2011).

Откриће присуства антигена *CD146* на ћелијској мембрани периваскуларних ћелија пупчане врпце (Baksh и сар., 2007) сврстало га је у ред маркера мезенхимских матичних ћелија. *CD146* је, осим на мезенхимским матичним ћелијама, експримиран и у епителним структурама нервног система, трахеји, бубрегу, јајоводу, као и у ембрионским ткивима, нарочито у периоду од 7. до 12. недеље развића, а након 16. недеље ниво његове експресије драстично опада. Испитивањем развића васкуларног система

на моделу животиња утврђено је да је антиген *CD146* један од стално присутних антигена на ендотелним ћелијама и да има кључну улогу у нормалном развићу крвних судова. У крвним судовима, осим на ендотелним ћелијама, његова експресија је присутна и на глатким мишићним ћелијама и перицитима (*Jiang* и сар., 2012; *Zeng* и сар., 2012; *Zhang* и сар., 2013).

1.5.4. Маркери глатких мишићних ћелија крвних и лимфних судова

1.5.4.1. Алфа-глаткомишићни актин

Актински филаменти су цитоскелетни ћелијски протеини који имају важну улогу у ћелијској деоби, ћелијском кретању, формирању ћелијског скелета, као и стварању силе контракције у мишићним и миоепителним ћелијама. Еукариотске ћелије садрже шест различитих изоформи актина, од којих је сваки кодиран посебним геном. Бета и гама актини се означавају као немишићни или цитоплазматски актини и присутни су у свим ћелијама организма, док су мишићни актини гама-глаткомишићни актин и три изоформе алфа актина (глатка, скелетна и срчана форма). Алфа-глаткомишићни актин (алфа актин 2) јесте изоформа актина доминантно присутна у глатким мишићним ћелијама, али је његова експресија доказана и у перицитима и миофибробластима (*Geerts*, 2001; *Libbrecht* и сар., 2002; *Villeneuve* и сар., 2009).

Током развића, у јетри се уочавају миофибробласти који су укључени у формирање и сазревање портног канала. У најранијим фазама развића миофибробласти могу уочити око портне вене и у строми портног простора. Током развића, миофибробласти су присутни око жучних каналића, артеријских и венских огранака, док се у строми трансформишу у фибробласте који не експримирају алфа-глаткомишићни актин. Током сазревања артеријских крвних судова, миофибробласти тунике медије се замењују глатким мишићним ћелијама. За разлику од портног тракта, миофибробласти немају скоро никакву улогу у сазревању перисинусоидалног простора. Бројне хепатичне стелатне ћелије се уочавају већ од 13. недеље развића, али само мали број ових ћелија експримира на својој површини алфа-глаткомишићни актин (*Maher* и сар., 1990; *Villeneuve* и сар., 2009).

Број миофибробласта у јетри се значајно повећава током субакутних, акутних и хроничних запаљенских процеса. Досадашња сазнања указују да портални фибробласти, хепатичне стелатне ћелије, фибробласти Глисонове капсуле, ћелије тунике медије крв-

них судова, као и други слој ћелија око централобуларних вена могу да се трансформишу у миофибробласте, што је праћено и њиховом повећаном експресијом алфа-глаткоммишићног актина (*Bayraktar и сар.*, 1997; *Libbrecht и сар.*, 2002; *Villeneuve и сар.*, 2009).

1.5.5. Маркери перисинусоидних ћелија и нервних влакана

1.5.5.1. Синаптофизин

Синаптофизин је први откривени протеин мембране пресинаптичких везикула неурона. То је интегрални гликопротеин молекулске масе 38 *kDa* са четири трансмембранска домена. Присутан је у свим неуроендокриним ћелијама, као и свим неуронима централног нервног система који учествују у процесу синаптичке трансмисије, а такође и у неоплазмама пореклом од нервних/неуроендокриних ћелија, где се користи као један од дијагностичких маркера (*Calakos и сар.*, 1994; *McMahon и сар.*, 1996; *Kown и сар.*, 2011).

Улоге синаптофизина су још увек недовољно познате. Претпоставља се да има улогу у егзоцитози садржаја синаптичких везикула, формирању синапси и биогенези синаптичких везикула. Студије на мишевима, којима је инактивиран ген за синтезу синаптофизина, показале су да су синаптичка трансмисија и морфологија синаптичких везикула непромењене у односу на контролну групу. Међутим, у експерименту на културама неурона мишева којима је инактивиран ген за синаптофизин, *Kwon и сар.* (2011) показали су да недостатак синаптофизина доводи до дефеката у егзоцитози пресинаптичких везикула, што као резултат има њихово продужено попуњавање неуротрансмитером, а самим тим долази и до синаптичке депресије (*Cameron и сар.*, 1991; *Eshkind и сар.*, 1995; *Janz и сар.*, 1999).

У јетри, синаптофизин је присутан у мирујућим и активисаним хепатичним стелатним ћелијама људи и сисара. Присуство синаптофизина у овим ћелијама, као и других маркера доказаних у њима (глијални кисели фибрилари протеин, нестин и неурални ћелијски адхезивни молекул), могао би да имплицира способност њихове нервне/неуроендокрине диференцијације (*Roskams и сар.*, 2004; *Tarpey и сар.*, 2009).

1.5.6. Маркери компонената ЕЦМ

1.5.6.1. Колаген I

Колаген тип I је хетеродимер који се састоји од два $\alpha 1$ ланца и једног $\alpha 2$ ланца ($\alpha 1(I)_2, \alpha 2(I)$), који формирају троструку спиралу. Поред ове форме, постоји и хомотримерна форма, која се састоји од три $\alpha 1$ ланца. Колаген тип I представља структурну потпору ЕЦМ-а (*Linsenmayer, 1981; Amenta и сар., 1988, Engel, 2011*), учествује у изградњи међућелијских веза, утиче на миграцију и диференцијацију ћелија, као и на морфогенезу ткива. Овај протеин формира чврста влакна, која се на електронској микрографији виде са периодичношћу од 67 nm , и представљају градивну јединицу колагенских снопова. Колаген типа III, V, VI и фибронектин често се налазе везани за колагена влакна типа I (*Sharma и сар., 2017*).

Колаген I је најзаступљенији молекул структурне мреже ЕЦМ-а јетре. Молекули колагена I формирају влакна, која су углавном уснопљена. Снопови колагених влакана су локализовани у капсули јетре, портном и перисинусоидном простору, често и у нивоу бифуркације хепатоцитних трака. Он је главни колаген коже, кости, тетива и других везивних ткива, крвних судова, срца, плућа, а заступљен је и у ембрионалним ткивима.

1.5.6.2. Колаген III

Колаген типа III је хомотримерни молекул $[\alpha 1(III)]_3$. Састоји се од три $\alpha 1$ ланца, који се међусобно повезују дисулфидним везама (*Bulleid и сар., 1996*). Неки аутори сматрају да колаген тип III гради вијугава, зрнаста влакна која су у блиском контакту са колагеном тип I, док се данас сматра да су то танки снопови фибрила (фибриларни колаген) чијим повезивањем настају ретикуларна влакна. Ова влакна су локализована око жлезданих ацинуса, око мишићних ћелија, у периферним нервима и испод епитела. (*Keene и сар., 1987; Kim и сар., 1997*).

У јетри, колагена влакна типа III су локализована у капсули, везиву портних простора, у зиду централних вена, у адвентицији одводних венских судова, у перисинусоидалном простору и у периферним нервима. Унутар лобулуса јетре човека, колаген типа III је често удружен са сноповима колагених влакана типа I. Колагена влакна тип I и III синтетишу фибробласти, глатке мишићне и перисинусоидне ћелије. Колагена влакна типа III су заступљена и у везивном ткиву ембриона, као и у органима који показују својство еластичности, као што су крвни судови, материца, плућа и органи га-

строинтестиналног тракта. Такође, ова влакна су присутна у раним фазама зарастања рана (*Fleischmajer* и сар., 1981; *Williams* и сар., 1984; *Linsenmayer* и сар., 1984).

У нормалној јетри количине колагена типа I, III и колагена базалне ламине су скоро уједначене. У болестима јетре, које се одликују фиброзом, овај однос се мења у корист колагена типа I. Повећана количина колагена типа III у јетри је пронађена код нелеченог хроничног хепатитиса и примарне билијарне цирозе. Мутације гена за колаген типа III доводе до појаве најтежих форми *Ehlers-Danlosov* синдрома, које се летално завршавају (*Williams* и сар., 1984; *Fleischmajer* и сар., 1985).

1.5.6.3. Колаген IV

Колаген тип IV спада у групу нефбриларних колагена. Шест различитих α ланаца, који се обележавају бројевима од 1 до 6, учествују у формирању различитих изоформи колагена тип IV. Сваки алфа ланац поседује 7S домен, на свом аминокрају, који се састоји од 25 аминокиселинских резидуа, и глобуларни неколагени NCI домен, на карбоксилном крају, који се састоји од 230 аминокиселинских резидуа. Алфа ланци се међусобно повезују у трихеликсну структуру [$\alpha 1(\text{IV})$]₂, $\alpha 2(\text{IV})$, која се састоји од два $\alpha 1$ и једног $\alpha 2$ ланца. Поред ове, описане су још две молекуларне изоформе колагена тип IV: $\alpha 3(\text{IV})$, $\alpha 4(\text{IV})$, $\alpha 5(\text{IV})$] и [$\alpha 5(\text{IV})$]₂, $\alpha 6$ (*Hirata* и сар., 1983; *Kim* и сар., 1997; *Mao* и сар., 2015).

Поред колагена тип I и III, следећи најзаступљенији колаген у ЕЦМ јетре је главни структурални протеин базалне мембране, колаген тип IV. У нормалној адултној јетри, колаген тип IV је присутан у капсули јетре, васкулатури и систему жучних путева, и у виду дисконтинуираних депозита у перисинусоидалним просторима. Тачна природа молекуларних агрегата колагена типа IV у Дисеевим просторима још увек није детаљно разјашњена (*Hirata* и сар., 1983; *Kim* и сар., 1997; *Mao* и сар., 2015).

Колаген тип IV је присутан у базалним ламинама у виду вишеслојне плочасте мреже која служи као својеврсна филтрациона баријера. Иако су базалне ламине специјализоване структуре углавном повезане са епителним ћелијама, оне се могу наћи и око неких неепителних ћелија као што су адипоцити, мишићне ћелије и Шванове ћелије (*Николић*, 2015; *Ros*, 2016).

1.5.6.4. Ламинин

Ламинин је неколагени гликопротеин базалне мембране (*Kleinman* и сар., 1985; *Yurchenco* и *Schittny*, 1990). До сада је откривено више различитих ланаца ламинина, укључујући пет алфа ланаца ($\alpha 1-5$), три бета ланца ($\beta 1-3$) и два гама ланца ($\gamma 1$ и $\gamma 2$), али истраживања су још увек у току. Комбинацијом ових ланаца настаје преко 40 различитих изоформи молекула ламинина, величине око 800 kDa. Све изоформе ламинина су изграђене од троланчаног молекула, који садржи дуги α ланац и два кратка β и γ ланца, који се међусобно повезују и стварају молекул облика крста (*Ohno* и сар., 1985; *Barlow* и сар., 1984; *Timpl* и *Dziadek*, 1986).

У јетри, ламинин је присутан у свим базалним мембранама, а недостаје у перисинусоидалним просторима и у везивном ткиву портних простора. Међутим, у перисинусоидним просторима, ламинин се експримира само током хепатогенезе и регенерације јетре. Синтетишу га синусоидне ћелије, хепатоцити и ћелије жучних канала (у којима су присутне интрацитоплазматске накупине ламинина). Поред експресије у јетри, ламинин је присутан у свим органским системима, локализован у њиховим базалним мембранама (*Martinez-Hernandez* и *Chung*, 1984; *Wan* и сар., 1984; *Mark* и *Kuhl*, 1985; *Martin* и *Timpl*, 1987; *Karkavelas* и сар., 1988).

Ламинини имају многобројне функције: у ћелијској комуникацији, расту, миграцији и диференцијацији, као и у развоју многобројних различитих органских система током ембриогенезе. Овај гликопротеин поседује везујућа места за интегрине плазмалеме, за колаген тип IV, ентактин и хепаран-сулфат, услед чега делује као лепак који спаја компоненте базалне ламине. Ламинин посредује у причвршћивању епителних ћелија за БМ и утиче на њихов фенотип (*Baloch* и сар., 1992, *Wewer* и сар., 1992).

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Анализом литературе у последњих неколико година, може се закључити да је истраживање васкуларизације јетре одраслих и јетри у развоју веома актуелно, али да о томе, нарочито када су у питању имунохистохемијске и морфометријске карактеристике ендотела и зида крвних и лимфних судова, као и екстрацелуларног матрикса током развоја, постоје ретки, често контрадикторни и несистематизовани подаци. Сходно томе, постављени су циљеви истраживања докторске дисертације, да се у јетри ембриона и фетуса:

1. опишу хистолошке карактеристике у пренаталном – ембрионалном и феталном развоју, посебно њених крвних судова, у склопу динамских промена хистоархитектонике јетре у одређеном периоду развоја;
2. дефинише појава различитих типова крвних судова и утврди састав њихових зидова – ћелија и екстрацелуларног матрикса, од времена појављивања до краја феталног периода развоја;
3. испитају имунохистохемијске карактеристике ендотела – појава, заступљеност и степен имунореактивности, како у истом типу крвних судова у различитим периодима сазревања, тако и у различитим типовима крвних судова у истом периоду;
4. одреди време појављивања и дистрибуција глатких мишићних ћелија у различитим типовима крвних судова;
5. идентификују компоненте екстрацелуларног матрикса у зиду и око крвних и лимфних судова;
6. употребом специфичних маркера ендотелних ћелија лимфних судова утврди појава, локализација и заступљеност лимфних судова;
7. утврди време појављивања и дистрибуција нервних влакана у зиду развијајућих крвних судова;
8. израчуна волуменска густина портних простора и артерија, вена и лимфних судова у портним просторима, синусоида и централних вена, у склопу промена паренхимно-стромалних односа;
9. израчуна нумеричка ареална густина интерлобуларних артерија, вена и лимфних судова у портним просторима и централним венама.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Истраживања за израду докторске дисертације, која су трајала од 2015. до 2017. године, обављена су у:

- Лабораторији за хистологију и ембриологију Медицинског факултета Универзитета у Нишу,
- Центру за патологију и патолошку анатомију Клиничког центра у Нишу,
- Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра у Нишу,
- Стоматолошком факултету у Панчеву, Универзитет Привредне академије у Новом Саду.

Морфолошко истраживање на хуманом материјалу одобрио је Етички комитет Медицинског факултета Универзитета у Нишу (бр. 12-2307-2/9).

Истраживање је обављено у оквиру пројекта „Антиоксидативна заштита и потенцијали за диференцијацију и регенерацију мезенхималних матичних ћелија из различитих ткива током процеса старења“, бр. 175061, од 2011. до 2018. године, финансираног од стране Министарства за науку, просвету и технолошки развој Републике Србије, као и у оквиру интерног истраживачког пројекта Медицинског факултета Универзитета у Нишу, бр. 22.

3.1. МАТЕРИЈАЛ

Материјал су чиниле јетре ембриона и фетуса човека, добијене легалним путем са Клинике за гинекологију и акушерство Клиничког центра у Нишу, сагласно свим етичким принципима. Након хируршког завршетка екстраутерине трудноће или постабортивно, након спонтаних и артефицијалних побачаја, материјал је обрађиван у Центру за патологију и патолошку анатомију Клиничког центра у Нишу, где је постављана патохистолошка дијагноза. Након тога, целокупан материјал је обрађиван на Медицинском факултету Универзитета у Нишу.

Приликом узимања материјала, критеријум за одабир узорака је био присуство или одсуство макроскопских оштећења плода, као и присуство или одсуство пато-

лошких и аутолитичких промена ткива јетре. Одабирани су узорци код којих нису постојале постморталне промене и код којих нису постојали знаци оштећења и урођене аномалије јетре, а који су показивали нормалну морфолошку слику ткива јетре за одређени развојни стадијум (ембрионални или фетусни).

У материјал истраживања увршћене су хумане јетре 5 ембриона и 25 фетуса, оба пола, од 7 до 38 недеља гестационе старости. Сви испитивани узорци су разврстани по триместрима и гестационим недељама (табела 3.1) (*O'Rahully* и *Muller*, 1987). Сходно томе, првом триместру припадају јетре ембриона и фетуса до краја 12. недеље развоја (укупно 11 узорака), другом припадају јетре фетуса од 13. до краја 24. недеље развоја (укупно 9 узорака) и трећем припадају јетре фетуса од 25. до 38. недеље развоја (укупно 10 узорака).

Табела 3.1. Број узорака укључених у истраживање подељених по триместрима и гестационим недељама старости

Период развоја	Недеља гестације	№ јетри	Σ№		
Ембрион	7	2	11		
	8	3			
	Први триместар	9		1	
		10		2	
		11		1	
		12		2	
		14		1	
	Други триместар	15		1	9
		17		1	
		18		1	
		20		1	
21		1			
22		1			
23		1			
24		1			
Фетус	25	1	10		
	27	1			
	29	1			
	30	1			
	Трећи триместар	32		1	
		33		1	
		35		1	
		36		1	
		37		1	
	38	1			

3.2. МЕТОДЕ

3.2.1. Обрада ткивних узорака до микротомских парафинских пресека

Ткивни материјал узорака јетре подвргнут је рутинској, аутоматизованој обради до парафинских калупа у лабораторији за хистологију и ембриологију Медицинског факултета Универзитета у Нишу. Материјал је обрађен употребом дехидратационе линије усходних концентрација етанола (75%, 96%, 100%), просветљавања ксилолом и инфилтрације полимерним парафинским воском (*Histowax-polymer added, Poth Hille and Co.*, каталожки број: 517998). Од сваког испитиваног случаја узета су 2–3 калупа парафинизованих ткивних узорка. Од изабраних калупа, микротомом (*Leica RM2255, Leica Microsystems, Nussloch, GmbH, Germany*) начињени су ткивни пресеци, дебљине 5 микрометара, адхерирани на обична предметна стакла (*Isolab, Germany*) и предметна стакла припремљена за имунохистохемијска бојења, *SuperFrost Ultra Plus (Menzel-Glaser, Braunschweig, Germany)*.

3.2.2. Класично бојење хематоксилином и еозином

Ткивни пресеци су бојени употребом хематоксилина и еозина, за основну морфолошку анализу.

Бојење хематоксилином и еозином се врши у неколико корака. Након депарафинације ткивних узорака, у термостату (64°C, током 60 минута) и ксилолу (15 минута), хистолошки препарати су рехидратисани провођењем кроз етанол са опадајућим концентрацијама (100%, 96%, 76%), по 10 минута у сваком од наведених разблажења, и преливени дестилованом водом. Бојење је настављено хематоксилином током 8 минута, након чега је боја диферентована у чесменој води, у којој су и узорци испрани. Ткивни исечци су затим бојени еозином 20 минута, испрани у дестилованој води и дехидрирани провођењем кроз етанол са растућим концентрацијама (96%, 100%) (по 10 минута), након чега су просветљени у ксилолу и монтирани коришћењем канада балзама и покровних стакалаца.

3.2.3. Имунохистохемијске методе

Након депарафинације у термостату и ксилолу, хистолошки препарати су рехидратисани провођењем кроз етанол са опадајућим концентрацијама (100%, 96%, 75%) и доведени су до дестиловане воде. Процедура бојења је настављена коришћењем средства за откривање антигена (*En Vision FLEX Target retrieval solution, high pH*, произвођач: *Dako*, каталошки број: *K8000/8002*), у коме су ткивни исечци кувани током 45 минута у воденом купатилу на температури 95–98°C. Након процедуре откривања антигена, извршена је блокада ткивних пероксидаза коришћењем 3% раствора водоник-пероксида у трајању од 10 минута (*En Vision FLEX Peroxydase-blocking reagent*, произвођач: *Dako*, каталошки број: *K8000/8002*). Ткивни исечци су затим испрани пуфером (*En Vision FLEX Wash buffer*, произвођач: *Dako*, каталошки број: *K8000/8002*) три пута, у трајању од 3 до 5 минута, након чега је нанесено одговарајуће примарно антитело (Табела 3.2). Депарафинизовани ткивни исечци узорака јетре су инкубирани преко ноћи на температури од 4°C у влажној комори, а бојење је настављено током сутрашњег дана применом секундарног антитела конјугованог са пероксидазом рена 60 минута (*En Vision FLEX/HRP*, произвођач: *Dako*, каталошки број: *K8000/8002*). Између наведених корака, препарати су испирани пуфером (*En Vision FLEX Wash buffer*, произвођач: *Dako*, каталошки број: *K8000/8002*). Као хромоген коришћен је диаминобензидин (*Dako Liquid DAB+ substrate chromogen system*, произвођач: *Dako*, каталошки број: *K3468*), након чега су ткивни исечци контрастирани у Мајеровом хематоксилину током 2 минута. Након диферентовања хематоксилина у чесменој води и испирања дестилованом водом, ткивни исечци су дехидратисани кроз серију етанола са растућом концентрацијом (75%, 96%, 100%) (по 10 минута сваки), просветљени у ксилолу (20 минута) и монтирани коришћењем канада балзама (*Aquatex-OC 261903, Merk, Germany*) и покровних љуспица. Резултати бојења: браон (оксидисани продукт диаминобензидина и пероксидазе) – места везивања одговарајућег антигена и за њега специфичног антитела; плаво (хематоксин) – једра и мембране ћелија.

Табела 3.2. Антитела коришћена у истраживању

Антитело	Произвођач	Каталoшки број	Разблажење
Мишије моноклонално антитело на <i>CD31</i>	<i>Dako</i>	<i>M0823</i>	1:30
Мишије моноклонално антитело на <i>CD34</i>	<i>Dako</i>	<i>M7165</i>	1:25
Мишије моноклонално антитело на подопланин (<i>D2-40</i>)	<i>Dako</i>	<i>M3619</i>	1:150
Поликлонално козје антитело на <i>LYVE-1*</i>	<i>R&D Systems</i>	<i>AF2089</i>	25 µg/ml
Мишије моноклонално антитело на <i>CD146</i>	<i>Abcam</i>	<i>ab49492</i>	1:100
Мишије моноклонално антитело на алфа глаткомишићни актин	<i>Dako</i>	<i>M0851</i>	1:50
Мишије моноклонално антитело на синаптофизин	<i>Abcam</i>	<i>ab8049</i>	1:10
Зечије поликлонално антитело на колаген тип I	<i>Abcam</i>	<i>ab37410</i>	1:300
Мишије моноклонално антитело на колаген тип III	<i>Abcam</i>	<i>ab7778</i>	1:200
Зечије поликлонално антитело на колаген тип IV	<i>Abcam</i>	<i>ab6586</i>	1:200
Зечије поликлонално антитело на ламинин	<i>Abcam</i>	<i>ab11575</i>	1:50

*За ово примарно антитело коришћено је *DNK pAb goat IgG* секундарно антитело (произвођач: *Abcam*, каталoшки број: *ab6880*).

Антитела коришћена током израде овог истраживања су поуздана и користе се у лабораторијама широм света. Ипак, као позитивне контроле за имунохистохемијско бојење служили су узорци ткива који су дати у препорукама произвођача. Ова ткива, која показују високу специфичност и сензитивност за свако од испитиваних антитела, третирана су на исти начин као и испитивана ткива. Списак коришћених ткива која су служила као позитивне контроле је приказан у табели 3.3. Негативна контрола је вршена на истоветним узорцима јетре коришћеним у истраживању (јетре ембриона и фетуса), употребом истоветне имунохистохемијске процедуре, али уместо апликовања примарног антитела, хистолошки пресеци су били преливани фосфатним пуфером.

Табела 3.3. Позитивне контроле за имунохистохемијско бојење

Антитело	Позитивне контроле
Мишије моноклонално антитело на <i>CD31</i>	Слезина
Мишије моноклонално антитело на <i>CD34</i>	Бубрег
Мишије моноклонално антитело на подопланин (<i>D2-40</i>)	Колон, дуоденум
Поликлонално козје антитело на <i>LYVE-1</i>	Слезина, тонзила
Мишије моноклонално антитело на <i>CD146</i>	Слезина, тонзила
Мишије моноклонално антитело на алфа-глаткомишићни актин	Желудац, колон
Мишије моноклонално антитело на синаптофизин	Мозак, плућа
Зечије поликлонално антитело на колаген тип I	Колон, постељица
Мишије моноклонално антитело на колаген тип III	Кожа
Зечије поликлонално антитело на колаген тип IV	Кожа
Зечије поликлонално антитело на ламинин	Кожа, плућа

3.2.4. Дескриптивна и семиквантитативна микроморфолошка анализа

Микроскопски препарати су анализирани на светлосном микроскопу *Olympus BX50* (*Olympus, Japan*) и фотографисани дигиталном камером *Leica DFC295* (*Leica Microsystems, Germany*) Катедре за хистологију и ембриологију Медицинског факултета у Нишу.

Препарати су фотографисани дигиталном камером, под различитим повећањима, у распону од x40 до x800, а фотодокументација је сачувана у *TIFF (Tagged Image File Format)* формату компјутерског фајла и подвргнута метричкој калибрацији за одговарајуће микроскопско повећање у програму *Image J v. 1.48v* (*Wayne Rasband, National Institute of Health, USA*).

Заступљеност маркера, *CD31*, *CD34*, *CD146*, *Lyve-1*, *D2-40*, α -глаткомишићног актина, синаптофизина, колагена типа I, колагена типа III, колагена типа IV и ламинина, семиквантитативно је одређена на основу утиска (-, одсутна, - / +, веома ниска; ++, средња; +++, висока).

3.2.5. Морфометријске методе

У циљу квантификације, у раду је коришћена морфометријска анализа која је обухватала одређивање волуменске густине артерија, вена и лимфних судова у портним просторима јетре, централних вена, синусоида и портних простора у јетри, као и одређивање нумеричке ареалне густине артерија, вена и лимфних судова у портним просторима јетре и централних вена у јетри.

Нумеричка ареална густина приказује број испитиваних структура јетре по јединици површине ткива јетре, израженој у mm^2 .

Волуменска густина је мера процентуалне заступљености испитиваних структура јетре (испитивана фаза), у односу на цело ткиво јетре.

Број испитиваних видних поља (N), неопходних за адекватну морфометријску анализу, одређиван је по формули: $N=(20 \times SD/X)^2$, где SD представља стандардну девијацију, а X представља средњу вредност резултата добијених у пилот студији на 20 видних поља (Kališnik M, 2002).

За одређивање нумеричке ареалне густине коришћен је програм *Image J v. 1.48v* (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). Након учитавања слике, извршена је најпре њена метричка калибрација за одговарајуће микроскопско повећање. У програму *Image J* је обележавањем граница испитиваног видног поља за сваку учитану слику одређена њена површина у mm^2 . Нумеричка ареална густина (N_A) израчунавана је као количник броја испитиваних структура или ћелија (N) са површином видног поља (A).

$$N_A = N/A$$

За одређивање волуменске густине појединих морфолошких конституената јетре коришћен је програм *Image J v. 1.48v* (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA). Након учитавања слике, коришћењем опција *Plugins, Particle analysis* и *Grid*, на слику је постављен тестни систем од 266 тачака, при чему је свака тачка обухватала површину од 3000 пиксела (слика 3.1). Одређиван је број тачака који пада на испитивану фазу ткивног исечка јетре (V_f). Волуменска густина (V_V) јетре одређивана је као количник броја тачака који пада на испитивани морфолошки елемент са укупним бројем тачака тестног система (V_t). У свакој групи испитано је 150 видних поља.

$$V_V = V_f / V_t$$



Слика 3.1. Приказ тестног система у програму *Image J*.

Добијени резултати су помножени са 100 и исказани у процентима.

3.2.6. Статистичке анализе

За израчунавање броја видних поља, за морфометријску анализу, узети су резултати пилот истраживања, где су рачунате просечне вредности и стандардне девијације у испитиваним групама. За прорачун је коришћено двосмерно тестирање нулте хипотезе независним Т-тестом, уз прихваћене вредности вероватноће грешке првог типа $\alpha=0,05$ и снаге студије од 90%. Укупан студијски узорак износио је 150 видних поља, по групи. У *G power* програму израчуната је величина узорка.

Статистичка анализа података састојала се из методе дескриптивне и аналитичке статистике. Сва атрибутивна обележја посматрања описана су апсолутним и релативним бројевима. За опис нумеричких облика посматрања коришћене су мере средње вредности (аритметичка средина) и стандардна девијација.

Нормалност дистрибуције испитивана је Колмогоров-Смирновљевим тестом. За статистичку анализу података, коришћен је Крускал-Валисов тест због расподеле података различите од нормалне. Пост хок тестирање између група је извршено коришћењем Дуновог теста. Статистичка анализа је вршена у програму *Sigma Stat 3.5*.

4. РЕЗУЛТАТИ

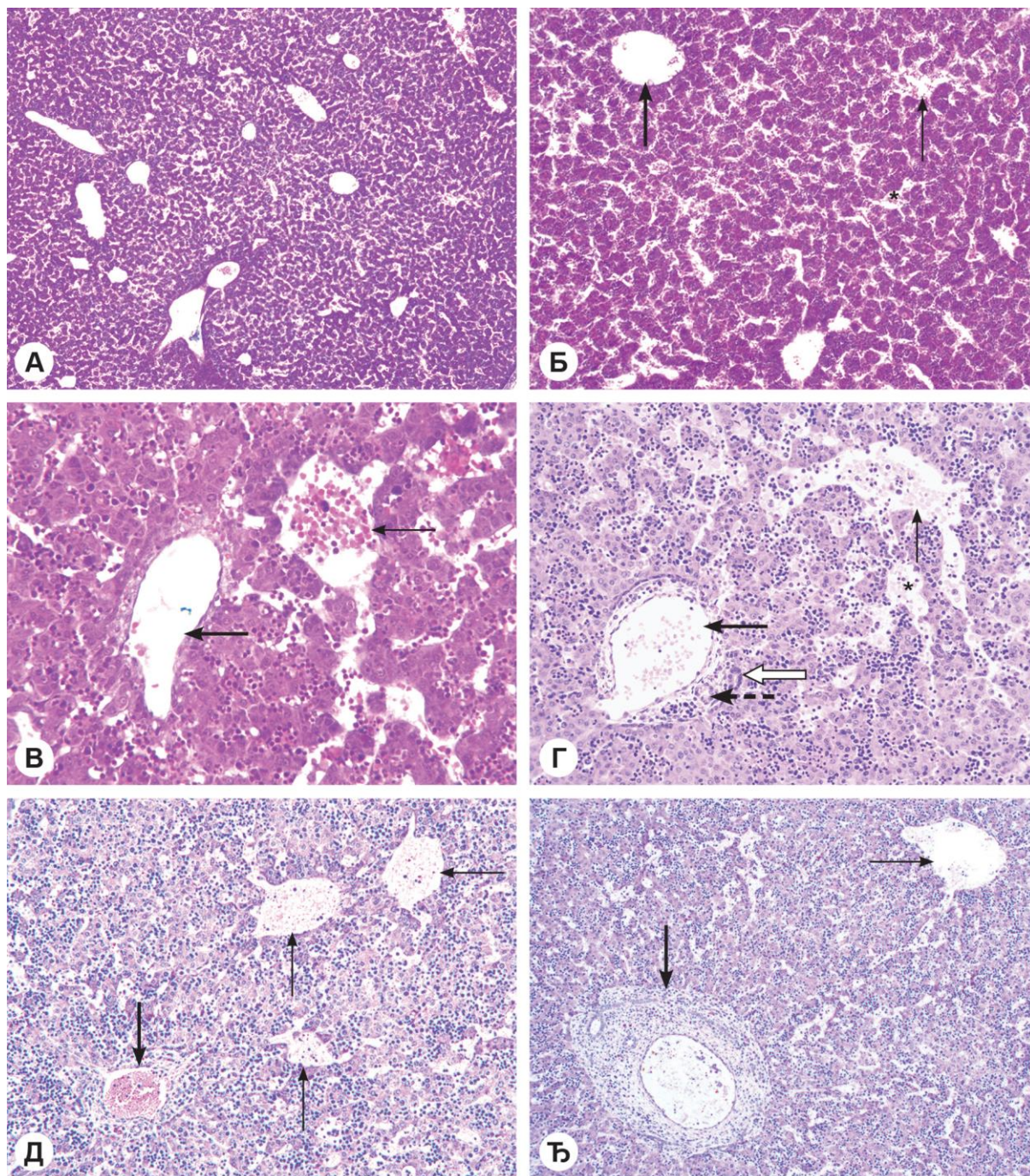
4.1. ХИСТОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ

Хистолошке карактеристике јетре у пренаталном развоју биће сагледане по триместрима.

4.1.1. Хистолошке карактеристике јетре у првом триместру

Јетре у првом триместру обухватају јетре ембриона од 3. до 8. недеље развоја и јетре фетуса од 9. до 12. недеље развоја. Јетра људског ембриона, крајем ембрионалног периода развоја (7–8 недеља) не показује лобуларну грађу (слика 4.1А). Обавијена је танком везивно-ткивном капсулом. У њој се уочавају ирегуларно постављене групице хепатоцита, које су на неким местима разврстане у двослојне или трослојне траке, хематопоетских ћелија и мноштво васкуларних структура (слика 4.1А, Б). Међу васкуларним структурама разликују се већи крвни судови и многобројни крвни судови мањег дијаметра, полиморфног облика и ирегуларне оријентације, који се протежу између група хепатоцита (слика 4.1А). Поједини већи судови имају релативно правилан лумен и изузетно танак, готово континуиран зид, док су други крвни судови, сличног дијаметра, вишеструко испрекидани уливима најмањих крвних судова (слика 4.1Б).

У јетри фетуса, почетком феталног периода развоја (од 9. недеље), који такође улази у састав првог триместра трудноће, запажају се минималне промене у грађи јетре у односу на јетре касног ембрионалног периода. Лобуларна грађа још није изражена. Острвца хематопоезе су бројна и састављена од великог броја ћелија (слика 4.1Г–Ђ). Хепатоцити су бројнији, док су крвни судови синусоидног изгледа, нешто ужег лумена (слика 4.1В). По први пут се уочава формирање портних простора у којима је најпре присутан портни венски огранак – интерлобуларна вена, чији је зид релативно континуиран – неискриван. Зид већих крвних судова је често испрекидан уливима синусоида, није обавијен везивним ткивом и одговара венули централис (слика 4.1В). Почевши од 10. и у 11. недељи развоја, у јетри се уочавају портни простори са интерлобуларном венулом, интерлобуларном артеријом и билијарним каналом, који у најмањим портним просторима изостаје (слика 4.1В), у средњим је на периферији – у нивоу перипортне граничне мембране (слика 4.1Г, Д), док је у већим у везиву портног простора (слика 4.1Ђ).



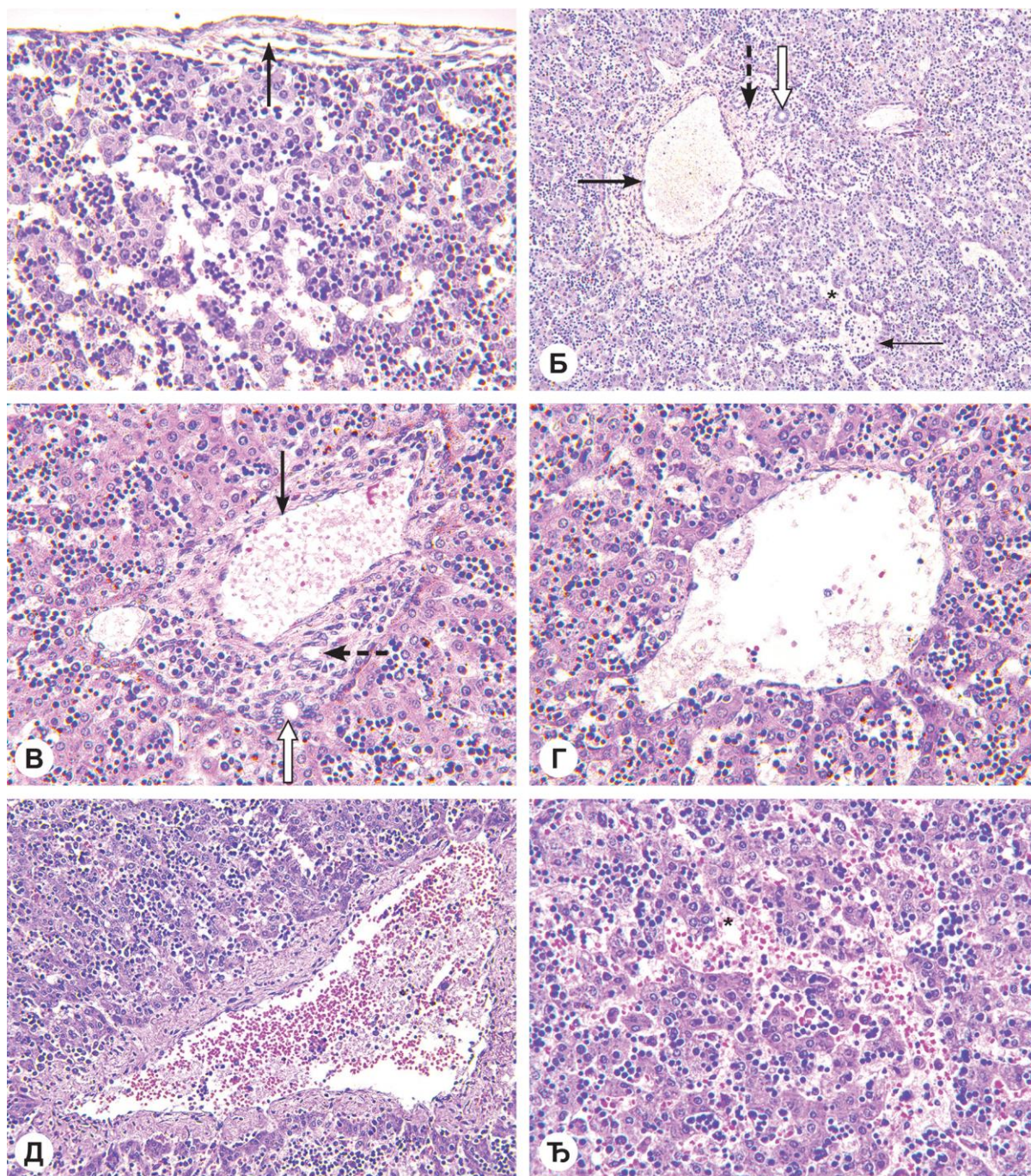
Слика 4.1. Јетра хуманог ембриона и фетуса у првом триместру трудноће (ХЕ). **А)** Јетра ембриона у седмој недељи развоја није лобуларне грађе; у њој се уочавају већи крвни судови, синусоиди, групе хепатоцита и малобројне ћелије хематопоезе; на периферији (доњи десни угао) налази се танка везивно-ткивна капсула (x40). **Б)** У јетри ембриона у 7. недељи развоја уочава се већи крвни суд континуираног зида (стрелица) и крвни суд сличног дијаметра чији је зид испрекидан уливама синусоида (танка стрелица); синусоиди су ирегуларно постављени, различитог облика и величине (звездица) (x100). **В)** У јетри фетуса у 10. недељи развоја уочава се незрели портни простор који садржи интерлобуларну вену (стрелица) и централна вена (танка стрелица) (x320). **Г)** У јетри фетуса у 11. недељи уочава се портни простор (доле лево) у коме су интерлобуларна вена (стрелица), интерлобуларна артерија (испрекидана стрелица) и жучни канал (бела стрелица); у горњем десном углу налази се централна вена (танка стрелица) у коју се уливају синусоиди (звездица) (x320). **Д)** У јетри фетуса у 12. недељи запажа се комплетан портни простор (стрелица) и три централне вене (танка стрелица), између којих су присутни хепатоцити у форми двослојних, ређе трослојних гредица, бројни синусоиди и изражена острвца хематопоезе (x160). **Ђ)** Јетра фетуса у 12. недељи, са лепо развијеним портним простором (стрелица) и централном веном (танка стрелица) (x100).

4.1.2. Хистолошке карактеристике јетре у другом триместру

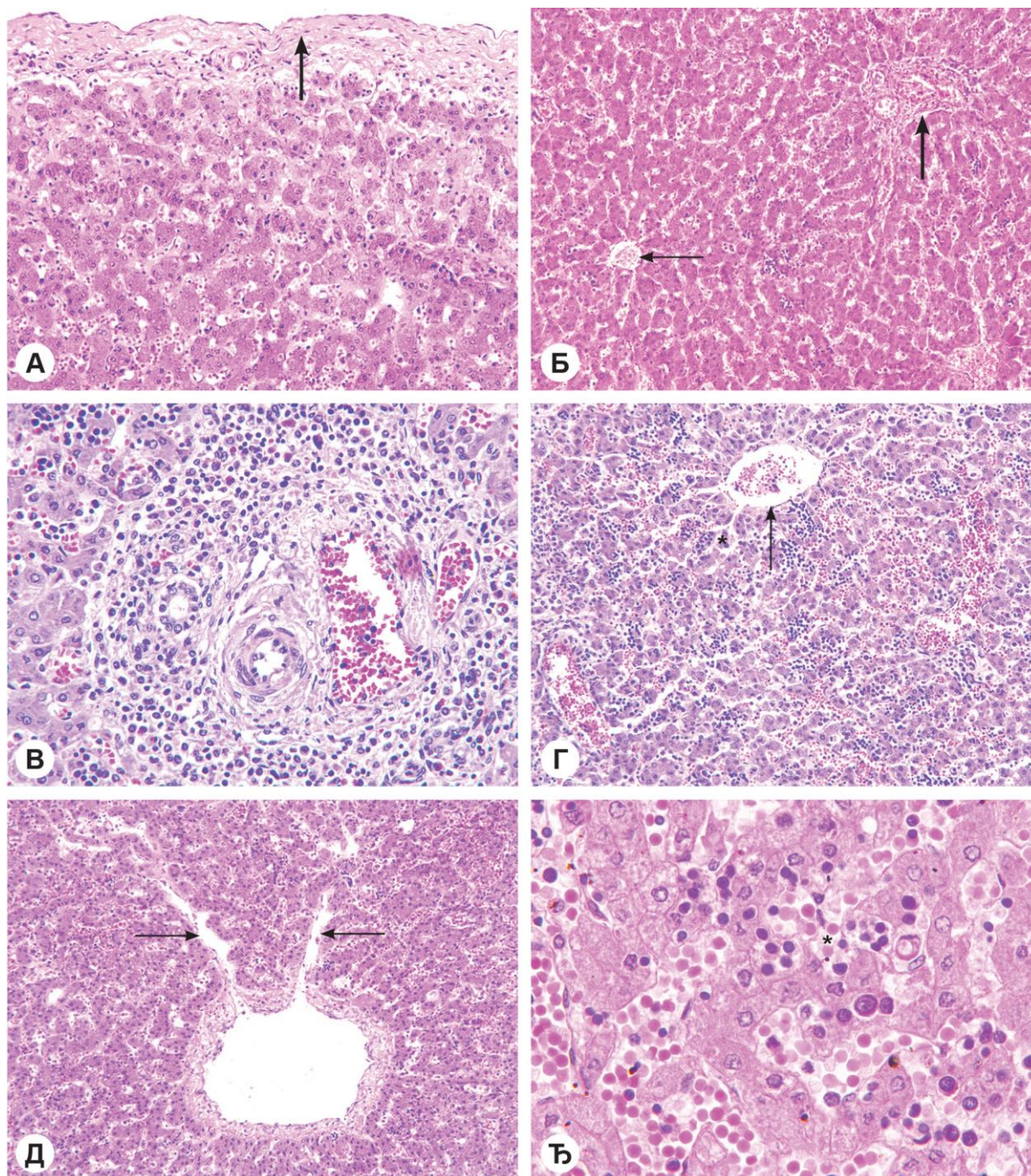
Јетре у другом триместру обухватају јетре фетуса од 13. до 24. недеље развоја. Почетком другог триместра јетра фетуса и даље не показује лобуларну организацију. Већина портних простора је комплетирана, централне венуле су јасно уочљиве, а синусоидни капилари су ужи од капилара у првом триместру (слика 4.2А-Г). Ипак, поједини капилари су у процесу ремоделације и нешто су шири од већине осталих капилара (слика 4.2Ђ). Осим споменутих крвних судова, у јетри фетуса се разликују и већи венски колекторни судови, са дебљом адвентицијом од везивног ткива, који одговарају сублобуларним и колекторним венама (слика 4.2Д). Хематопоетска острвца су и даље веома заступљена.

4.1.3. Хистолошке карактеристике јетре у трећем триместру

Јетре фетуса трећег триместра обухватају развојни период од 25. до 37. недеље. Капсула јетре у овом периоду је састављена од дебљег слоја везивног ткива (слика 4.3А). Назире се почетак лобуларне организације јетре (слика 4.3Б). Хематопоеза у јетри овог периода се редукује, идући ка његовом крају, и своди се на ретка острвца са малим бројем хематопоетских ћелија (слика 4.3Б). Портни простори и централне венуле су уобичајене и лако препознатљиве грађе (слика 4.3В, Г, Д), док синусоиди показују скоро радијалну оријентацију дивергирајући ка централној венули (слика 4.3Б, Г). Они показују релативно уједначен облик и дијаметар (слика 4.3Ђ).



Слика 4.2. Јетре хуманог фетуса у другом триместру трудноће (ХЕ). **А)** Јетра фетуса почетком другог триместра (14. недеља), на чијој површини се уочава танка везивно-ткивна капсула (стрелица) (x320). **Б)** Јетра фетуса у истом периоду, са портним простором у коме се уочавају елементи портне тријаде – интерлобуларна вена (стрелица), интерлобуларна артерија (испрекидана стрелица) и интерлобуларни жучни канал (бела стрелица); осим тога, присутне су централне вене у формирању (танка стрелица), синусоидни капилари (звездица) и бројна острвца хематопоезе (x125). **В)** Портни простор јетре фетуса у 15. недељи развоја – интерлобуларна вена (стрелица), интерлобуларна артерија (испрекидана стрелица) и интерлобуларни жучни канал (бела стрелица) (x320). **Г)** Централна вена јетре фетуса у 15. недељи (x320). **Д)** Сублобуларна вена у јетри фетуса у 20. недељи развоја, са израженом адвентицијом (x200). **Ђ)** Мноштво мањих и један, по дијаметру, нешто већи синусоид (звездица) у јетри фетуса у 20. недељи развоја (x320).



Слика 4.3. Јетре хуманих фетуса у трећем триместру трудноће (ХЕ). А) Капсула јетре фетуса (стрелица) у трећем триместру (33. недеља) је дебља, а у њој се налазе бројни крвни и лимфни судови (x200). Б) У овом периоду јетра показује знаке лобуларне организације, уз присуство формираних портних простора (стрелица), централне вене (танка стрелица), радијално оријентисаних униформних синусоидних капилара и хепатоцита у нивовима од по једног, ређе два хепатоцита (x160). В) Портни простор јетре фетуса у 31. недељи (x320). Г) Јетра фетуса у 32. недељи, у којој се, у горњем делу, запажа централна вена (танка стрелица) у коју се улива неколико синусоидних капилара (звездица) (x160). Д) У јетри фетуса, у трећем триместру (8. месец) уочава се велика сублобуларна вена, са израженом адвентицијом, у коју се уливају две централне вене (танке стрелице) (x160). Ђ) Синусоиди јетре фетуса у 31. недељи развоја (звездица), неправилног облика, који су локализовани између једнослојних или двослојних ламина хепатоцита, уз редуковане ћелије хематопоезе (x640).

4.2. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ

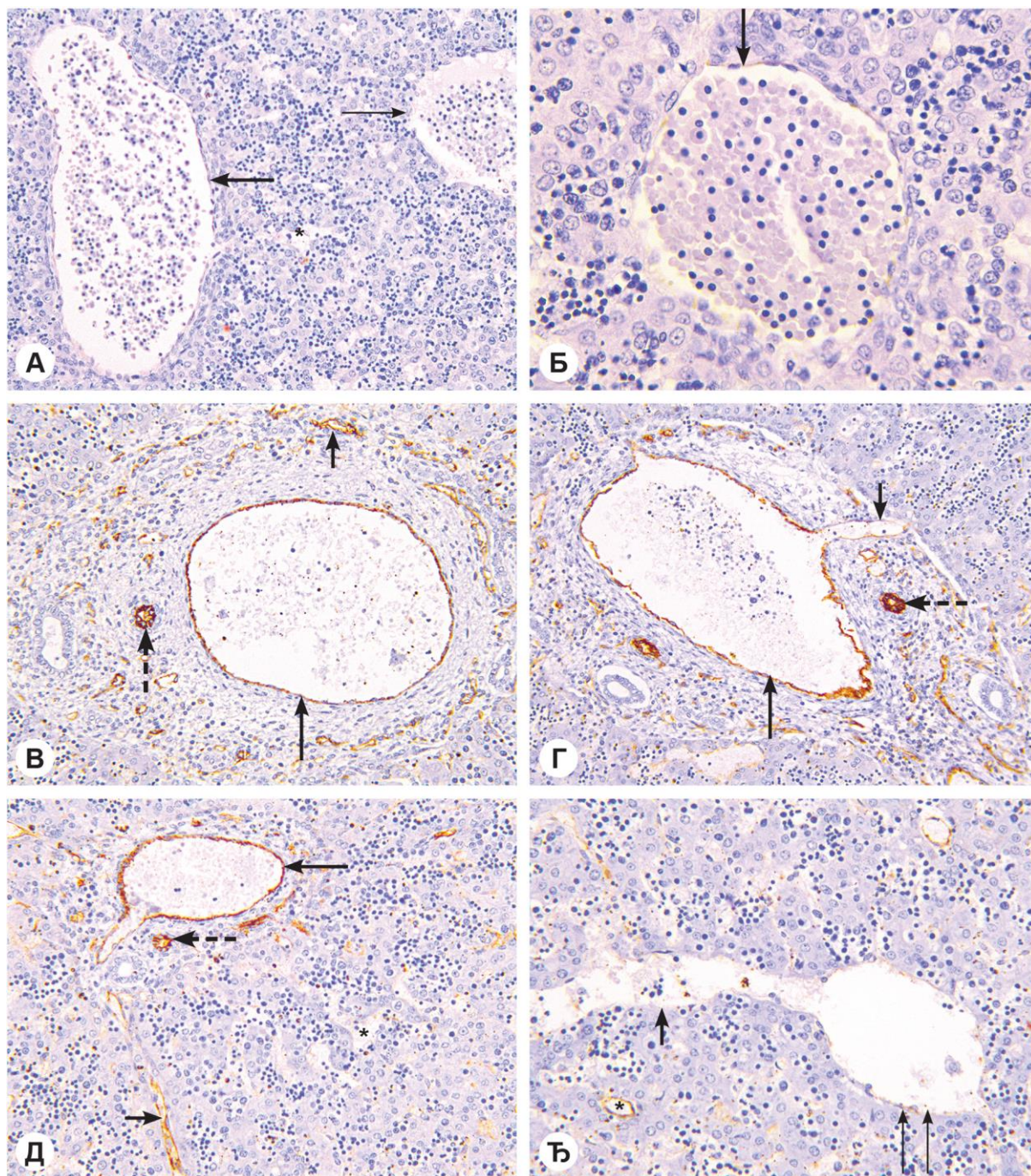
4.2.1. *CD31* Имунореактивност

4.2.1.1. Први триместар

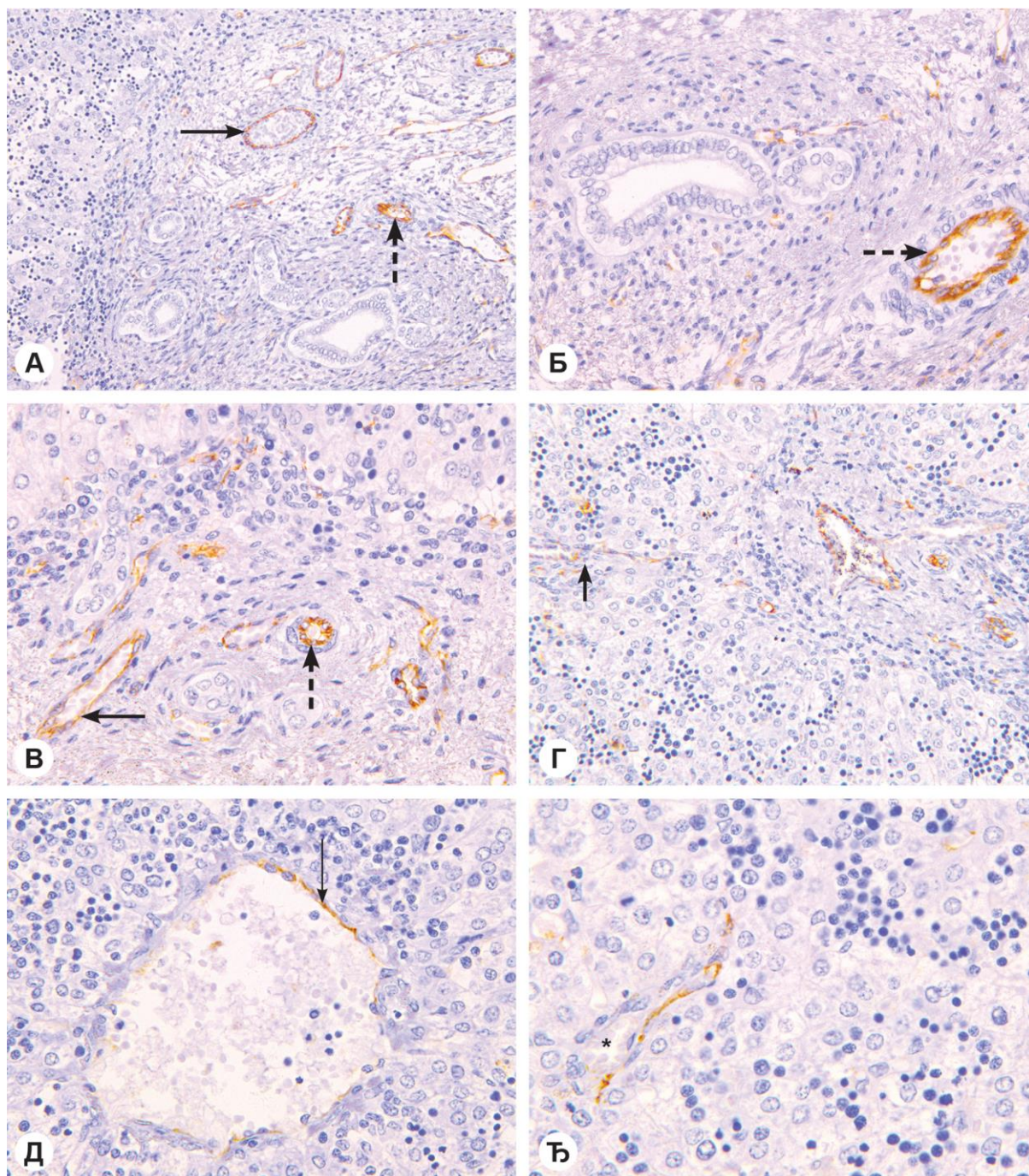
Ендотел крвних судова јетре, крајем ембрионалног периода развоја, показује веома ретку и слабо изражену *CD31* имунореактивност. Она се местимично запажа у ендотелу интерлобуларних вена (слика 4.4А, Б), док изостаје у централним венама и синусоидима. Почетком феталног периода развоја, све до краја првог триместра долази до пораста обима и интензитета *CD31* имунореактивности. Она је најинтензивнија у ендотелу интерлобуларних артерија, док је нешто мања у ендотелу интерлобуларних вена и још мања у њиховим огранцима, укључујући и ендотел терминалних портних венула (слика 4.4В-Д). Ендотел синусоида не показује *CD31* имунореактивност (слика 4.4Г-Ђ). Што се тиче централних вена, које се уливају у сублобуларне и колекторне вене, ни код једног од наведених типова крвних судова није показана *CD31* имунореактивност ендотела (слика 4.4Ђ). На појединим местима стиче се утисак да ретки синусоиди имају *CD31* позитиван ендотел (слика 4.4Ђ, табела 4.1).

4.2.1.2. Други триместар

У другом триместру ендотел већине крвних судова показује *CD31* имунореактивност. Она је присутна, пре свега, у ендотелу интерлобуларних вена и артерија, без обзира на њихов дијаметар, како већих тако и мањих портних простора, при чему је интензитет имунореактивности већи у ендотелу артеријских огранака (слика 4.5А-В). *CD31* имунореактивност бележи се и у ендотелу огранака интерлобуларне вене, тј. у ендотелу терминалних портних венула (слика 4.5Г). Ендотел централних вена показује спорадичну *CD31* имунореактивност (слика 4.5Д). Ендотел синусоида не показује *CD31* имунореактивност ни у перипортним ни у перицентралним синусоидима (слика 4.5Г, Д), мада се, на појединим местима, међу синусоидима уочавају и појединачни синусоиди са *CD31* имунореактивним ендотелом (слика 4.5Ђ, табела 4.1).



Слика 4.4. *CD31* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре ембриона и фетуса у првом триместру. А) Ендотел интерлобуларне вене у јетри ембриона, крајем 7. недеље развоја, местимично показује веома слабу *CD31* имунореактивност (стрелица), док је она у ендотелу централне вене (танка стрелица) и синусоида (звездица) негативна (x200). Б) У истом периоду, ендотел интерлобуларне вене (стрелица), мањег портног простора, показује ретку и веома слабу *CD31* имунореактивност (x500). В) У већем портном простору јетре фетуса, крајем првог триместра, *CD31* имунореактивност показују ендотел интерлобуларне вене (стрелица), њених огранака (кратка стрелица) и интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица) (x250). Г) У истом периоду, у мањем портном простору, *CD31* имунореактивност је такође забележена у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица), њених огранака (кратка стрелица) и интерлобуларних артерија, где је нарочито интензивна (испрекидана стрелица) (x200). Д) *CD31* имунореактивност је интензивна у ендотелу интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и интерлобуларне вене (стрелица), при чему се степен имунореактивности смањује у ендотелу огранака интерлобуларне вене – терминалне хепатичне венуле (кратка стрелица); у ендотелу синусоида јетре (звездица), у овом периоду, *CD31* имунореактивност није забележена (x250). Ђ) Ендотел централне вене (танка стрелица) и формирајућих сублобуларних вена (две танке стрелице) не показује *CD31* имунореактивност; на ретким местима ендотел синусоида (звездица) је *CD31* позитиван (x320).



Слика 4.5. *CD31* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре фетуса у другом триместру. А) У већем – хилусном портном простору уочавају се огранци интерлобуларних вена (стрелица) и артерија (испрекидана стрелица), са *CD31* позитивним ендотелом (x200). Б) Интензивна *CD31* имунореактивност у ендотелу већег артеријског интерлобуларног суда (испрекидана стрелица) (x400). В) *CD31* позитивна имунореактивност у ендотелу најмањих огранака интерлобуларних вена (стрелица) и артерија (испрекидана стрелица) у хилусном портном простору (x500). Г) *CD31* имунореактивност је присутна у зиду интерлобуларних крвних судова (десно) и нешто слабијег интензитета у ендотелу терминалне портне венуле (кратка стрелица) (x320). Д) У ендотелу централне вене поједине ендотелне ћелије показују *CD31* имунореактивност (танка стрелица) (x500). Ђ) У ендотелу синусоида (звездича) ретко се запажа *CD31* имунореактивност (x640).

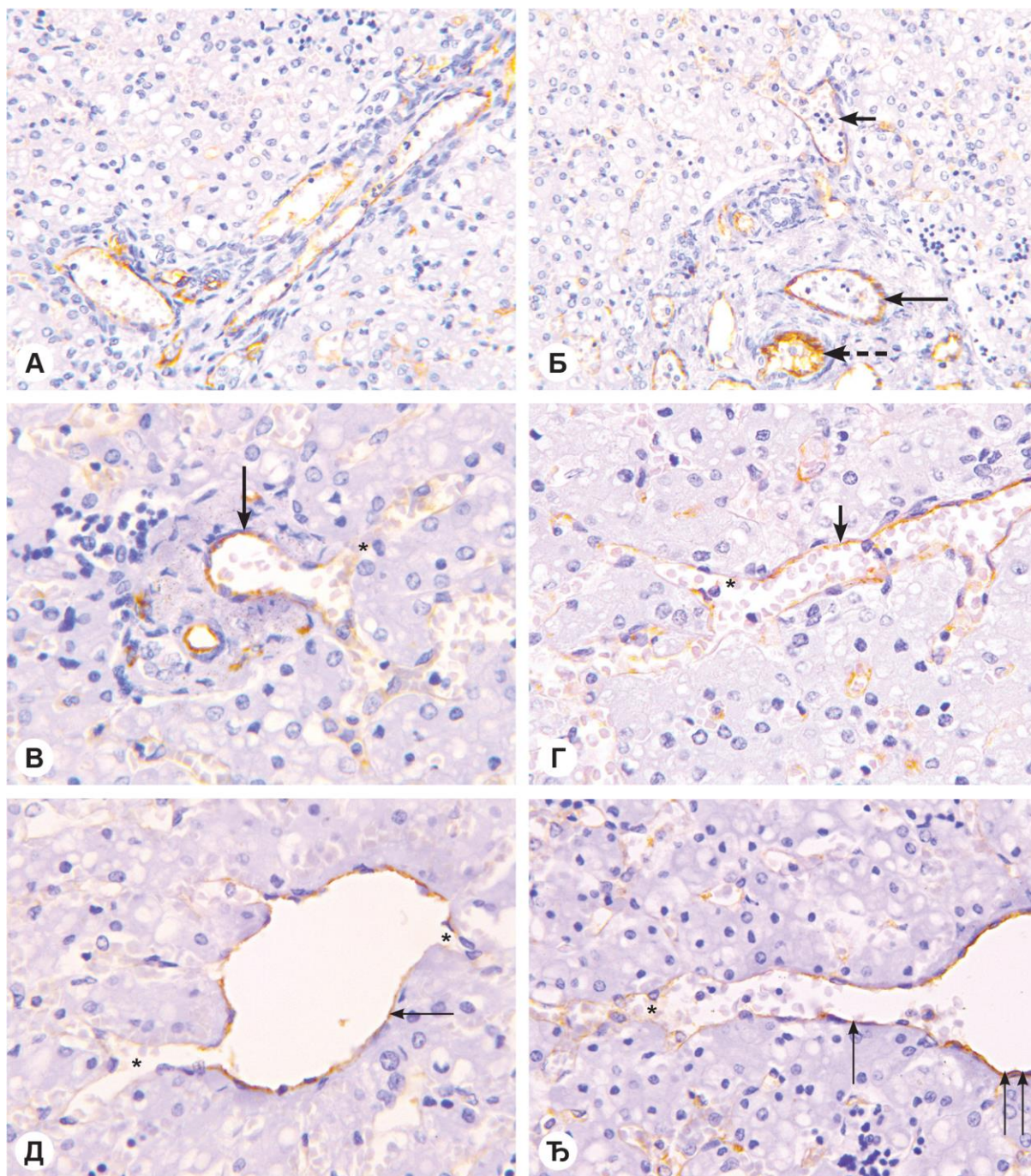
4.2.1.3. Трећи триместар

У крвним судовима јетре фетуса трећег триместра, интензивна *CD31* имунореактивност је забележена у ендотелу портних артеријских и венских судова и њихових огранака, док је у синусоидима изузетно ретка (слика 4.6А-Г). Најизраженију имунопозитивност и даље имају артеријски крвни судови (слика 4.6Б). У најмањим портним просторима интерлобуларне вене, које поседују *CD31* имунореактиван ендотел, уливају се у синусоиде, чији ендотел ту позитивност губи (слика 4.6В). На појединим пресецима јасно се уочава да већи огранци интерлобуларних вена – терминалне портне венуле имају *CD31* позитиван ендотел. Ова позитивност се постепено губи у ендотелу, на прелазу терминалних портних венула у разгранату мрежу синусоида (слика 4.6Г). Ендотел централних вена показује нешто слабију *CD31* имунореактивност, која је негативна у ендотелу синусоида који се уливају у одговарајућу централну вену (слика 4.6Д). Негативна или веома слабо позитивна *CD31* имунопозитивност у ендотелу синусоида се интензивира са прелазом синусоида у централне вене, и још више у сублобуларне вене (слика 4.6Ђ, табела 4.1).

4.2.2. *CD34* имунореактивност

4.2.2.1. Први триместар

У првом триместру у јетри ембриона крајем ембрионалног периода развоја (7. и 8. недеља), *CD34* имунореактивност присутна је у ендотелу великих венских судова (слика 4.7А). Она је идентификована у интерлобуларним венама и њиховим огранцима који су раштркани по периферији формирајућег портног простора, и у ендотелу великих одводних венских судова (будуће сабирне и колекторне вене) (слика 7А). Без обзира на величину још незрелих портних простора, ендотел интерлобуларних вена је увек *CD34* позитиван, за разлику од централних вена, које са смањењем величине губе ендотелну *CD34* позитивност (слика 4.7Б), до потпуног нестанка (слика 4.7В). *CD34* имунореактивност ендотела је интензивна у интерлобуларним портним венама и њиховим огранцима – терминалним портним венулама (слика 4.7Г, Д). Ендотел синусоида, у највећем броју случајева, не показује *CD34* имунореактивност, мада се на појединим местима могу уочити васкуларне формације по дијаметру сличне или мање од синусоида које имају *CD34* имунореактиван ендотел (слика 4.7Ђ, Е, Ж, табела 4.1).

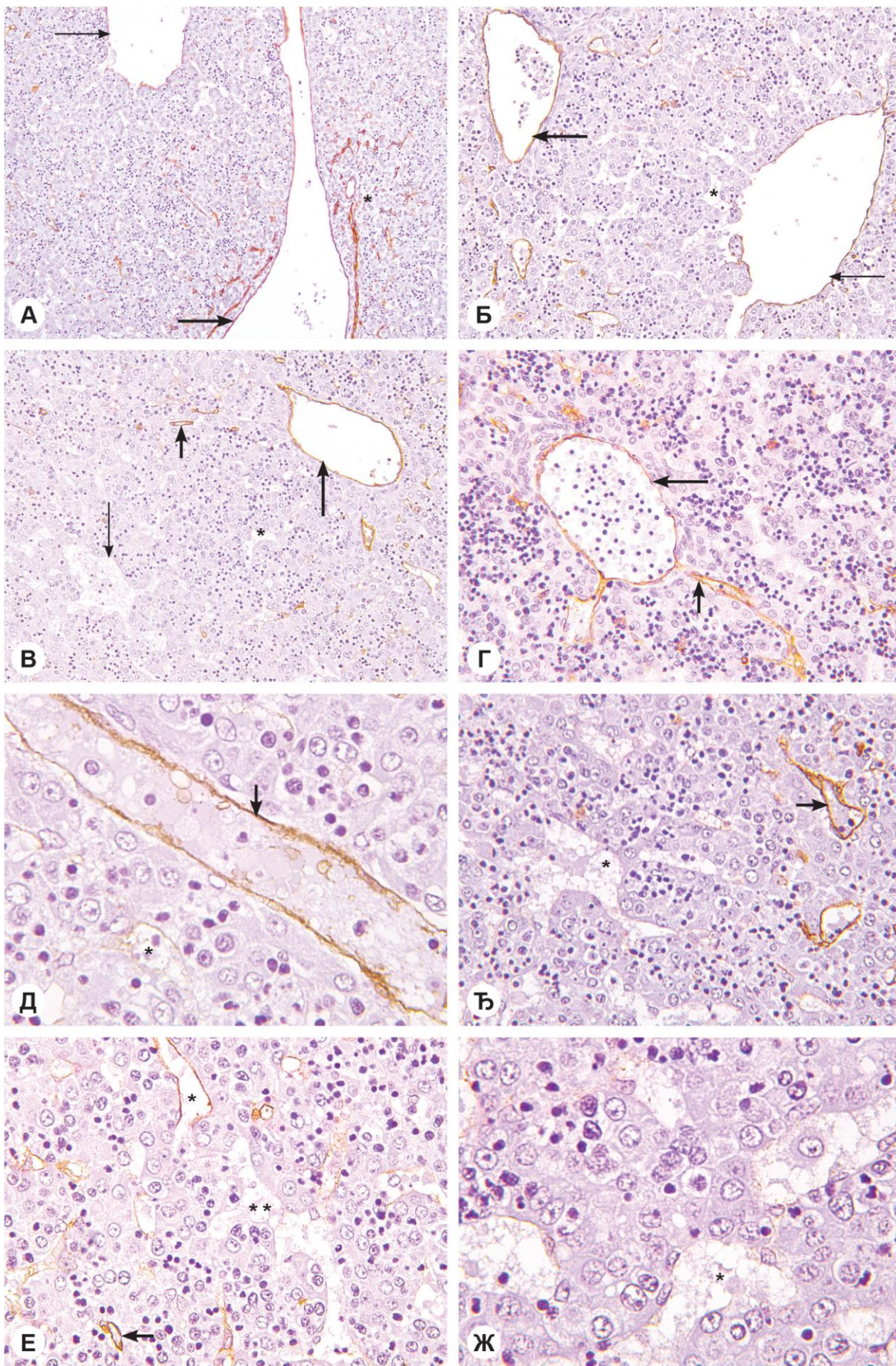


Слика 4.6. *CD31* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре у трећем триместру. **А)** *CD31* имунореактивност у ендотелу интерлобуларних крвних судова и њихових огранака (x400). **Б)** *CD31* имунореактивност је најинтензивнија у ендотелу интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), док је мање интензивна у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица) и њених огранака; *CD31* имунореактивност изражена је и у ендотелу терминалних портних венула (кратка стрелица) (x320). **В)** У мањем портном простору *CD31* позитивност ендотела интерлобуларне вене (стрелица) губи се на преласку у перипортне синусоиде (звездица) (x640). **Г)** Блага *CD31* имунореактивност ендотела терминалне портне венуле (кратка стрелица) губи се у ендотелу синусоида (звездица) који настављају њен ток (x500). **Д)** *CD31* имунореактивност у ендотелу централне вене (танка стрелица) и *CD31* негативан ендотел синусоида (звездица) који се у њу уливају (x640). **Ђ)** *CD31* имунореактивност у ендотелу се интензивира идући од синусоида, где је скоро негативна (звездица), преко централних вена (танка стрелица), где је интензивнија, до сублобуларних вена (две танке стрелице), где је најизраженија (x500).

Табела 4.1. CD31, CD34 имунореактивност ендотелних ћелија крвних и лимфних судова у јетри људских ембриона и фетуса, подељених према триместрима

Периоди и структуре	Маркери	
	CD31	CD34
I ТРИМЕСТАР		
– Ембрионални период		
Интерлобуларна вена	–	+++
Интерлобуларна артерија		
Централна вена	–	–
Синусоиди	–	+
Лимфни судови	–	–
– Фетусни период		
Интерлобуларна вена	+++	+++
Интерлобуларна артерија	+++	+++
Централна вена	+	++
Синусоиди	–/+	–/+
Лимфни судови	–/+	–
II ТРИМЕСТАР		
Интерлобуларна вена	+++	+++
Интерлобуларна артерија	+++	+++
Централна вена	++	+++
Синусоиди	–/+	–
Лимфни судови	+	–
III ТРИМЕСТАР		
Интерлобуларна вена	+++	+++
Интерлобуларна артерија	+++	+++
Централна вена	++	+++
Синусоиди	+	–
Лимфни судови	+	–

Интензитет имунохистохемијске реакције:
одсутна, - ; -/+ веома ниска; +, ниска; ++, средња; +++, висока.

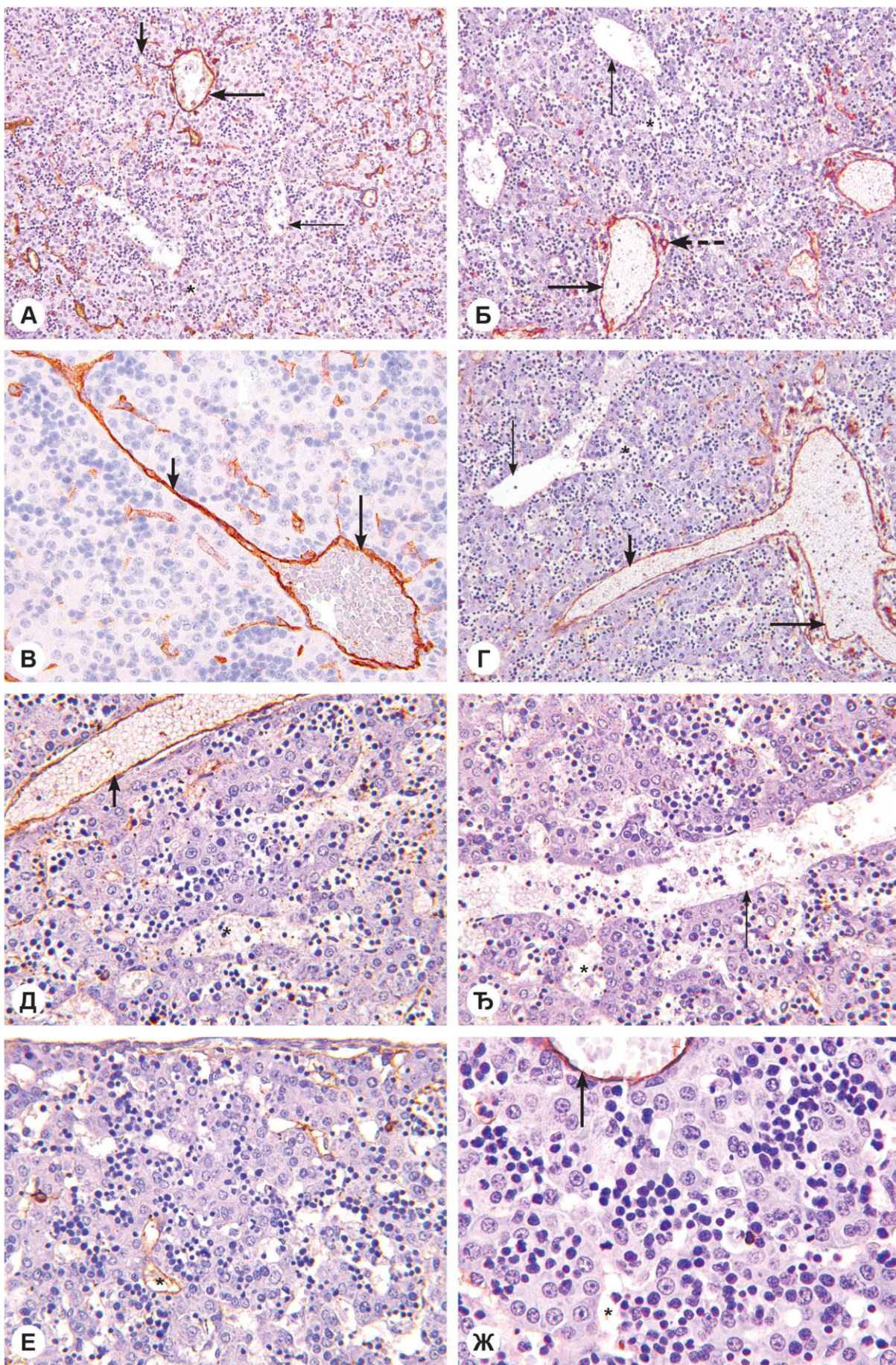


У даљем развоју у феталном периоду, од 9. до 14. недеље развоја, *CD34* имунореактиван ендотел садрже интерлобуларне артерије и вене и њихови огранци (слика 4.8А, Б, В, Г, Д). Ендотел централних вена, нарочито перичентралних синусоида, није *CD34* имунореактиван (слика 4.8Г, Ђ). Већина ендотелних ћелија, у овом периоду, не показује *CD34* имунореактивност (слика 4.8Д, Ђ, Е, Ж), мада се на појединим местима могу уочити синусоиди који имају слабо *CD34* имунореактиван ендотел (слика 4.8Е, табела 4.1).

4.2.2.2. Други триместар

У овом периоду *CD34* имунореактивне ендотелне ћелије високог степена имунореактивности идентификоване су у интерлобуларним артеријама, интерлобуларним венама и њиховим бројним огранцима (слика 4.9А, Б, В, Г). На појединим местима, најчешће перипортално, запажају се крвни судови, по дијаметру слични синусоидима, или нешто мањи, који садрже *CD34* имунореактиван ендотел (слика 4.9Г, Д, Ђ). Ендотел већих одводних вена (сублобуларне и колекторне вене) садржи ендотел високог степена *CD34* имунореактивности (слика 4.10А). Веће централне вене поседују ендотел слабе *CD34* имунореактивности, која се губи према њеним утокама – мањим централним венама и синусоидима (слика 4.9В, 10Б, В). Ендотелне ћелије синусоидних капилара углавном су *CD34* негативне, мада се, у појединим синусоидима, могу уочити појединачне слабо *CD34* имунореактивне ендотелне ћелије (слика 4.10Г, табела 4.1).

Слика 4.7. *CD34* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре ембриона крајем ембрионалног периода. А) *CD34* имунореактивност у јетри ембриона идентификована је у ендотелу велике интерлобуларне вене (стрелица) и њених огранака, као и у ендотелу већег одводног венског суда (танка стрелица), док се у синусоидима, пре свега перипортним, ретко уочава (звездица) (x125). Б) *CD34* имунореактивност је присутна у ендотелу мање интерлобуларне вене (стрелица) и њених огранака, док је нешто слабије изражена у ендотелу веће централне вене (танка стрелица). Ендотел већине синусоида (звездица), нарочито перичентралних, не показује позитивну имунореактивност (x200). В) *CD34* позитиван ендотел интерлобуларне вене (стрелица) пружа се све до њених најситнијих огранака (кратка стрелица), док код мањих централних вена (танка стрелица) и синусоида (звездица) то није случај (x200). Г) *CD34* имунореактивност се са ендотела интерлобуларне вене (стрелица) наставља на ендотел њених огранака – терминалних портних венула (кратка стрелица) (x320). Д) *CD34* позитиван ендотел у терминалној портној венули (кратка стрелица) и негативан у ендотелу синусоида (звездица) (x800). Ђ) *CD34* имунореактивност присутна је у перипортним, попречно пресеченим, крвним судовима чији дијаметар одговара величини синусоида (кратка стрелица), док у већини синусоида она није идентификована (звездица) (x400). Е) Бројни синусоиди, међу којима неки показују слабу и местимично изражену имунореактивност (звездица), док је у другима она одсутна (две звездице); осим тога, у ендотелу крвних судова знатно ужег лумена (кратка стрелица) од лумена синусоида бележи се интензивна *CD34* имунореактивност (x500). Ж) Неколико синусоида (звездица) чији ендотел није *CD34* позитиван (x800).

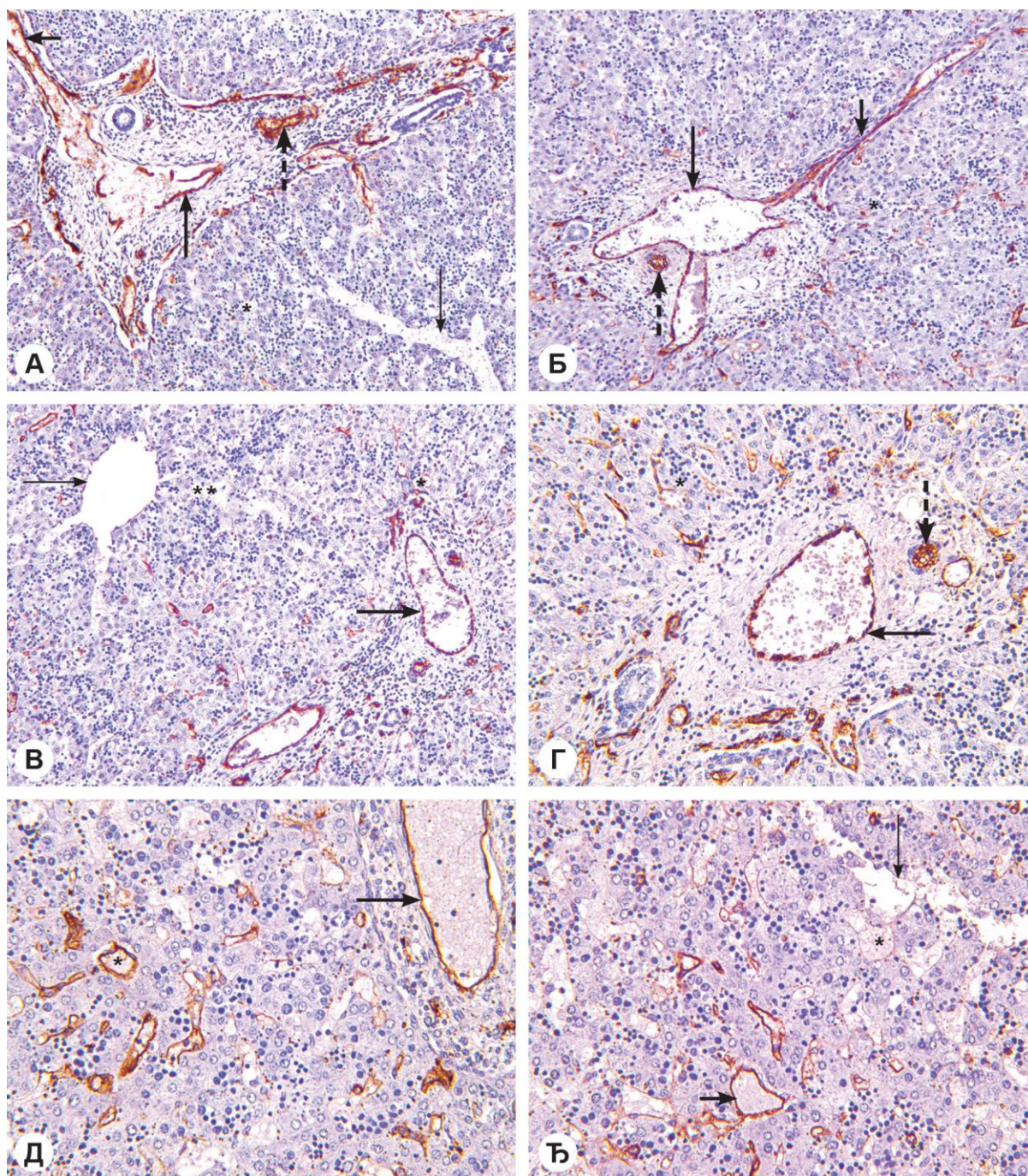


4.2.2.3. Трећи триместар

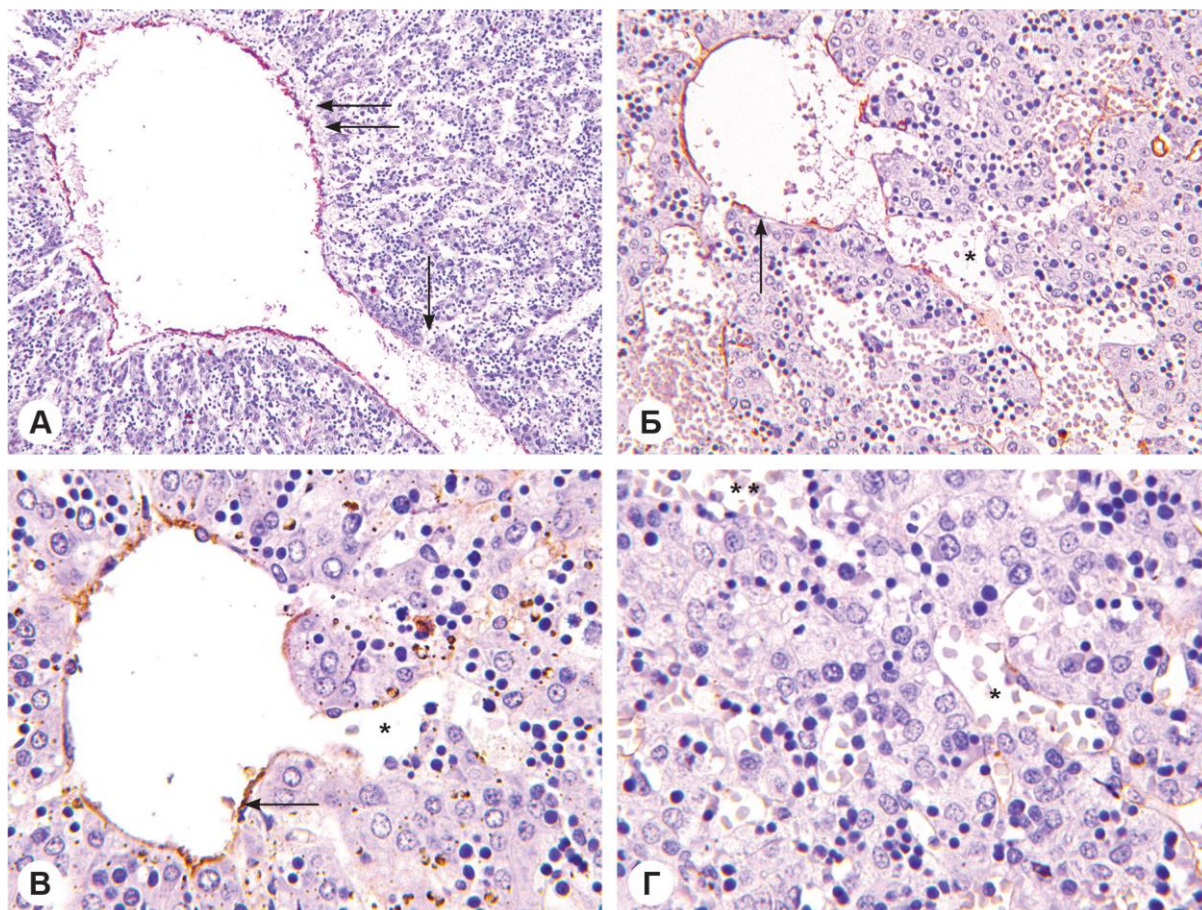
У крвним судовима јетре трећег триместра развоја, *CD34* имунореактивност је најинтензивнија у ендотелу интерлобуларних артерија, а нешто је мања у ендотелу интерлобуларних вена и њених огранака – терминалних портних и инлет венула (слика 4.11А-Г). Интензитет *CD34* ендотелне имунореактивности у интерлобуларним и терминалним портним венулама је равномерно интензиван и континуиран, при чему се нагло смањује при расипању у синусоиде, који немају *CD34* позитиван ендотел (слика 4.12А-Г). Синусоидне ендотелне ћелије су *CD34* негативне, са ретким изузецима (слика 4.12Д-Ж). Ендотел колекторних, сублобуларних и централних вена је, у односу на исте структуре у млађим периодима развоја, имунореактивнији (слика 4.12Е, Ж). Ова имунореактивност присутна је и код најмањих централних вена, што у првом и другом триместру није био случај (слика 4.12Ж, табела 4.1).

У близини портних простора уочава се велики број *CD34* имунопозитивних ендотелних ћелија крвних судова који су слични по дијаметру са синусоидима (слика 4.9Г). Ендотелне ћелије централних вена показују *CD34* имунореактивност знатно слабијег интензитета (слика 4.9В, 4.10А-В). Синусоиди јетре фетуса у овом периоду најчешће не показују *CD34* имунореактивност или је она изузетно ретка и слабо изражена (слика 4.9Д, Ђ, 10Г). Ендотел сублобуларних вена је интензивно *CD34* имунореактиван (слика 4.10А). Имунореактивност ендотела опада у централној вени која се улива у њу, пропорционално удаљености (слика 4.10 Б, В, табела 4.1).

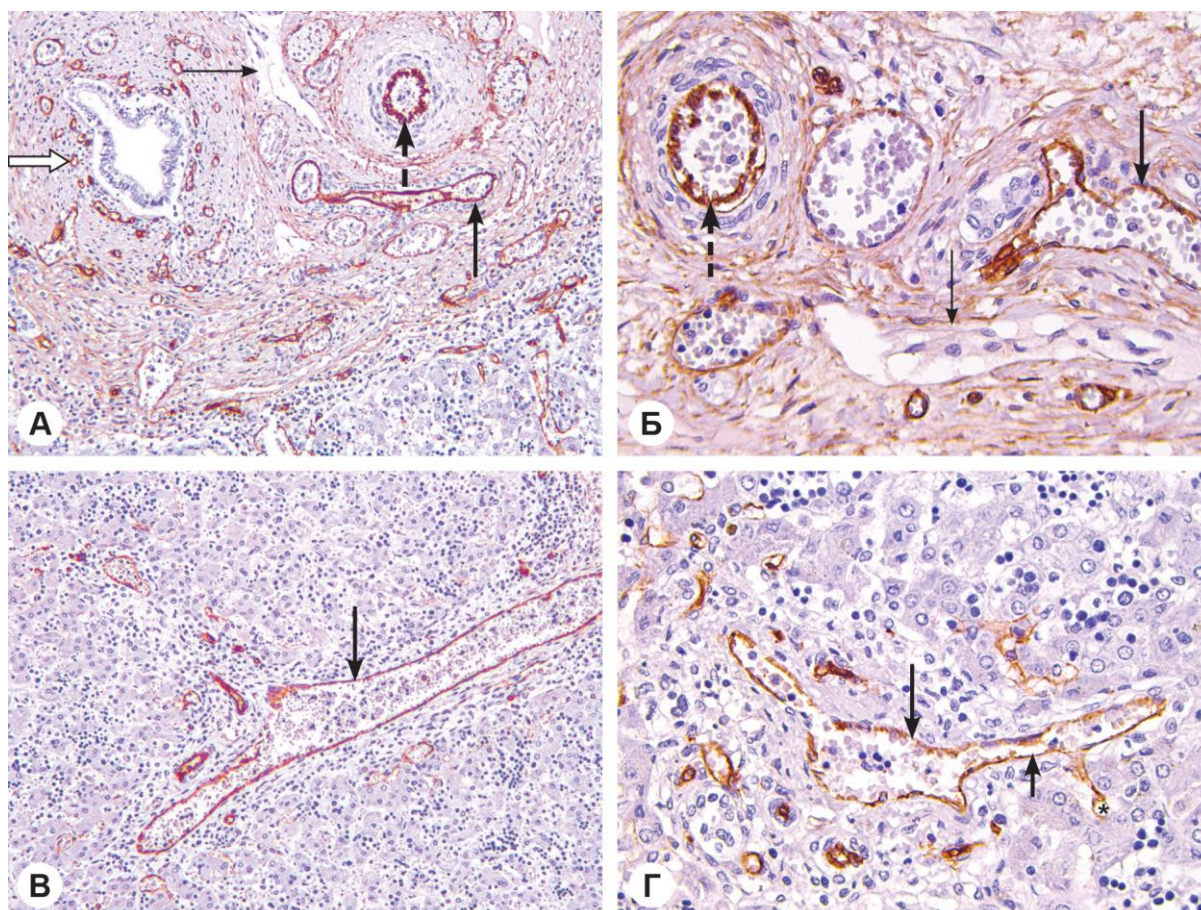
Слика 4.8. *CD34* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре фетуса у првом триместру. А) У јетри фетуса у 10. недељи, у ендотелу портних судова (стрелица) и њихових огранака (кратка стрелица) присутна је интензивна *CD34* имунореактивност, која изостаје у ендотелу централних вена (танка стрелица) и већине синусоида (звездица) (x160). Б) У 14. недељи у јетри фетуса, *CD34* имунореактивност је присутна у ендотелу интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица) и интерлобуларних вена (стрелица), док изостаје у ендотелу мањих централних вена (танка стрелица) и синусоида (звездица) (x200). В) У истом периоду, присутна је интензивна *CD34* имунореактивност у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица) и тангенцијално пресеченој терминалној портној венули (кратка стрелица) (x200). Г) У већем портном простору (десно) веома добро изражена *CD34* имунореактивност у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица) и њеног огранка (кратка стрелица), уз истовремено негативну имунореактивност ендотела централне вене (танка стрелица) и синусоида (звездица) који се уливају у њу (x400). Д) Детаљ на коме се уочава *CD34* имунореактиван ендотел терминалне портне венуле (кратка стрелица) и *CD34* негативан ендотел синусоида (звездица) (x400). Ђ) Ендотел уздужно пресечене централне вене (танка стрелица) и перицентралних синусоида (звездица) не показује *CD34* имунореактивност (x400). Е) У мањем броју крвних судова синусоидног изгледа (звездица) присутна је *CD34* имунореактивност (x400). Ж) Почетком феталног периода развоја *CD34* имунореактивност је врло интензивна у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица), док је у ендотелу синусоида (звездица) она негативна (x640).



Слика 4.9. CD34 имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре фетуса у другом триместру. **А)** Већи портни простор, у коме интензивну *CD34* имунореактивност показују интерлобуларна артерија (испрекидана стрелица), интерлобуларна вена (стрелица) и њени огранци (кратка стрелица), што није случај са ендотелом централних вена (танка стрелица) и синусоида (звездица) (x160). **Б)** Мањи портни простор са *CD34* интензивно позитивним ендотелом у интерлобуларној артерији (испрекидана стрелица), интерлобуларној вени (стрелица) и њеним огранцима (кратка стрелица); у перипортним судовима дијаметра блиских синусоидима (звездица) и мањим, бележи се нешто слабија *CD34* имунореактивност (x160). **В)** *CD34* имунореактиван ендотел у крвним судовима портног простора (стрелица) и њиховим огранцима, укључујући и перипортне синусоиде (звездица); ендотел централних вена (танка стрелица) и већине перичентралних синусоида (две звездице) је *CD34* негативан (x160). **Г)** *CD34* имунореактиван ендотел у интерлобуларној артерији (испрекидана стрелица), интерлобуларној вени (стрелица) и перипортним синусоидима (звездица) (x250). **Д)** *CD34* имунореактиван ендотел у интерлобуларној вени (стрелица) и бројним судовима синусоидног изгледа (звездица), удаљенијим од портног простора, где су непосредно око портног простора синусоиди *CD34* негативни (x320). **Ђ)** Жбун крвних судова различитог дијаметра са *CD34* позитивним ендотелом (кратка стрелица); централна вена (танка стрелица) и синусоиди (звездица) са *CD34* негативним ендотелом (x320).

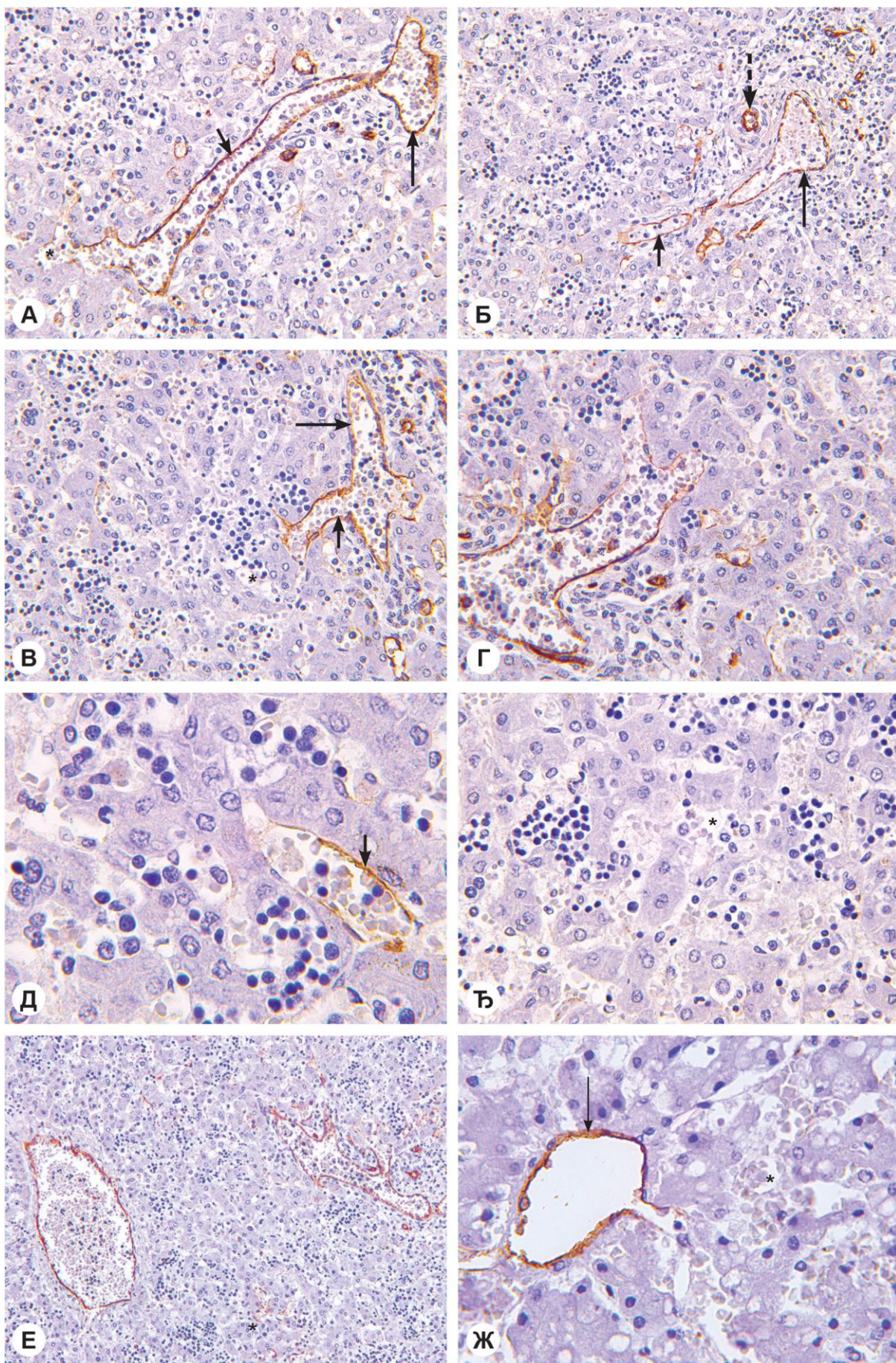


Слика 4.10. *CD34* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре фетуса у другом триместру. **А)** Слабо *CD34* имунореактивне ендотелне ћелије веће централне вене или сабирне вене (танка стрелица) настављају се у *CD34* интензиван ендотел већег – колекторног венског суда (две танке стрелице) (x160). **Б)** Мања централна вена (танка стрелица) поседује лако позитиван *CD34* имунореактиван ендотел, чија се позитивност губи или је ретко изражена – појединачна у ендотелу синусоида (звездица) који се у њу уливају (x 320). **В)** *CD34* имунореактиван ендотел у централној вени (танка стрелица) и негативан у њеним синусоидним утокама (звездица) (x640). **Г)** У ретким синусоидима (звездица) присутне су појединачне *CD34* имунореактивне ћелије, док у већини синусоида (две звездице) то није случај (x640).



Слика 4.11. *CD34* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре фетуса у трећем триместру. А) У великом – хилусном портном простору *CD34* имунореактивност је присутна у ендотелу различитих крвних судова: артеријама (испрекидана стрелица), огранцима портне вене (стрелица) и крвним судовима око билијарних канала (бела стрелица); у лимфним судовима имунореактивност није изражена (танка празна стрелица) (x160). **Б)** *CD34* имунореактивност у ендотелу веће интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), нешто мање интензивна у ендотелу огранака интерлобуларне вене (стрелица); ендотел лимфних судова садржи изузетно ретке *CD34* имунореактивне ендотелне ћелије (танка празна стрелица) (x400). **В)** Уздужно пресечен портни простор, са интензивном *CD34* имунореактивношћу ендотела интерлобуларне вене (стрелица), чије гране омеђују лобулусе јетре (x160). **Г)** Мали портни простор у коме се, на основу *CD34* позитивности ендотела, уочавају интерлобуларна вена (стрелица), терминална портна венула (кратка стрелица) и њен кратки огранак – инлет венула, која се улива у синусоид (звездича) са *CD34* негативним ендотелом (x400).

Слика 4.12. *CD34* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре фетуса у трећем триместру. А) Интензивна *CD34* имунореактивност у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица) и терминалне портне венуле (кратка стрелица) постепено се губи на прелазу у кратку – инлет венулу и синусоиде (звездича), који су *CD34* негативни (x320). **Б)** *CD34* имунореактивност у ендотелу интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), интерлобуларне вене (стрелица) и њених огранака (кратка стрелица) који се протежу између лобулуса; перипортни синусоиди су *CD34* негативни (x250). **В)** *CD34* имунореактиван ендотел интерлобуларне вене (стрелица) постаје негативан у синусоидима (звездича), у које се улива посредством кратке венуле (кратка стрелица) (x320). **Г)** Интензивна *CD34* имунореактивност у ендотелу терминалне хепатичне венуле се смањује са разгранавањем интерлобуларне вене, до синусоида, у којима је негативна (x400). **Д)** Ретка појава интензивне *CD34* позитивности у ендотелу крвног суда (кратка стрелица) чији дијаметар је близак дијаметру синусоида (x800). **Ђ)** Бројни синусоиди (звездича) са негативном *CD34* ендотелом (x640). **Е)** Интензивна *CD34* имунопозитивност у ендотелу већег одводног венског суда (лево) и судова портног простора (десно); ретка *CD34* имунореактивност слабијег интензитета у ендотелу појединачних синусоида (звездича) (x160). **Ж)** Интензивна *CD34* имунореактивност у ендотелу централне вене (танка стрелица), која је окружена бројним – перичентралним синусоидима чији је ендотел *CD34* негативан (звездича) (x640).

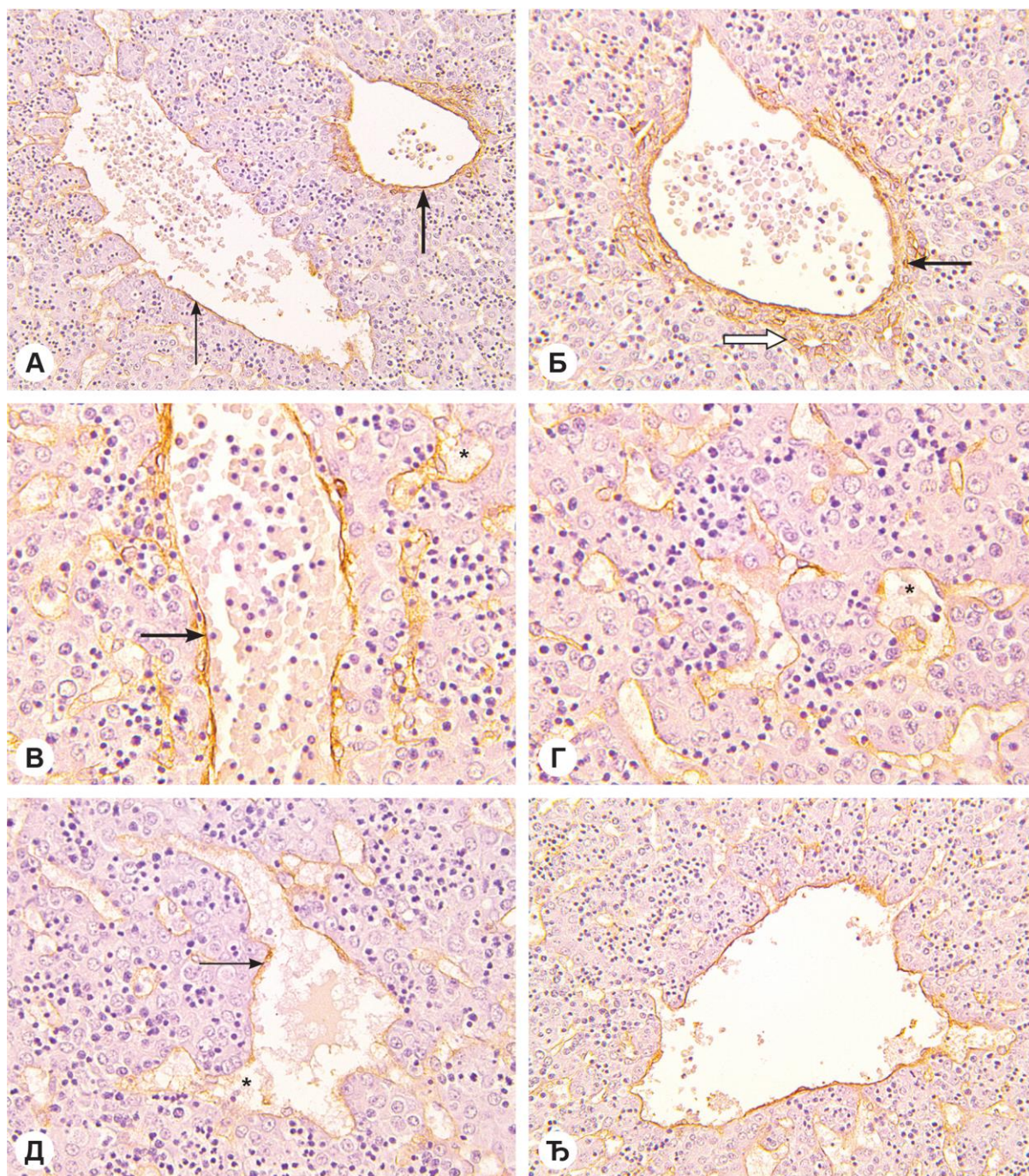


4.2.3. *CD146* имунореактивност

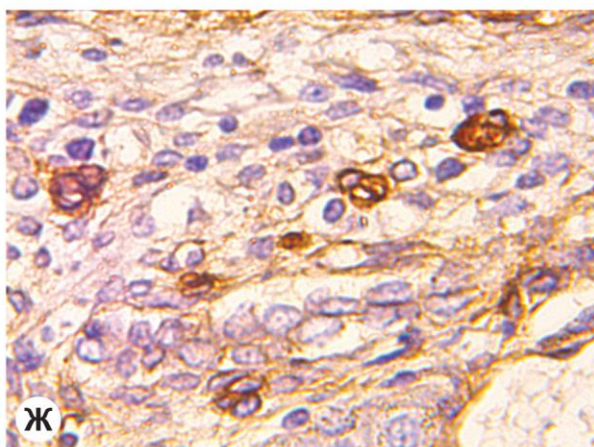
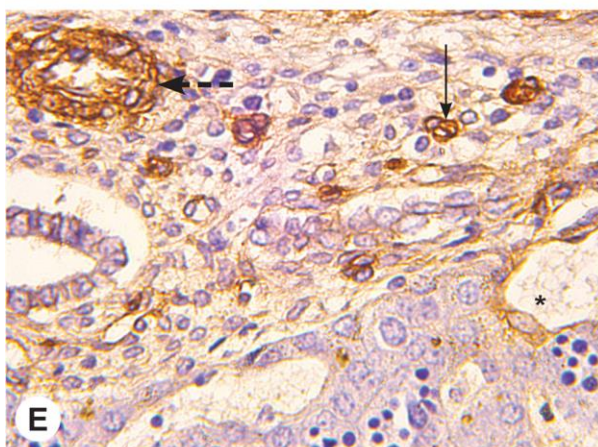
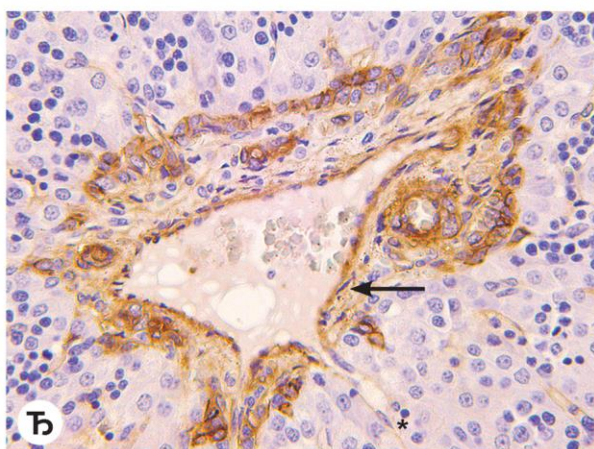
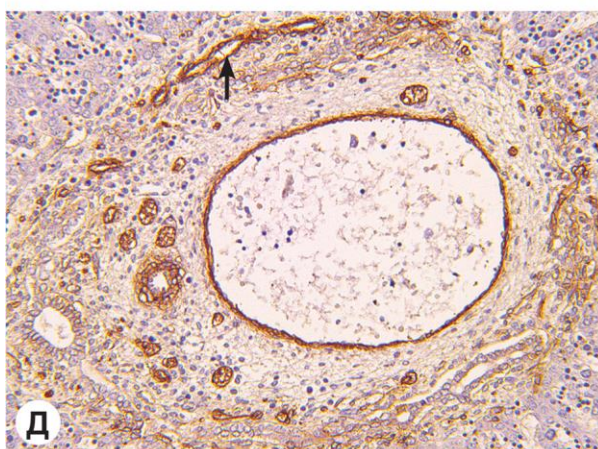
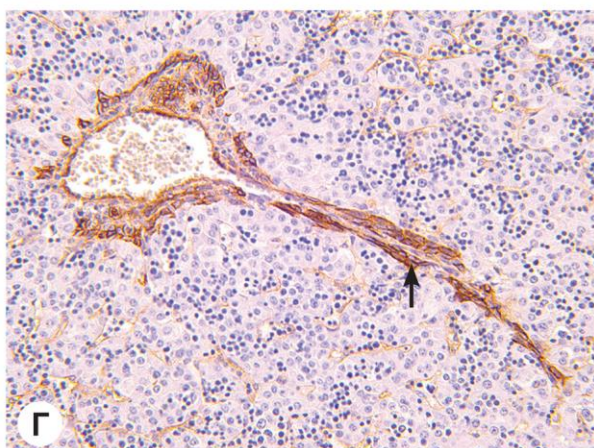
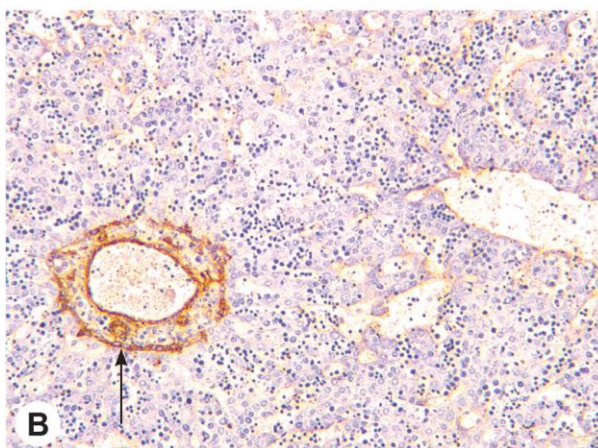
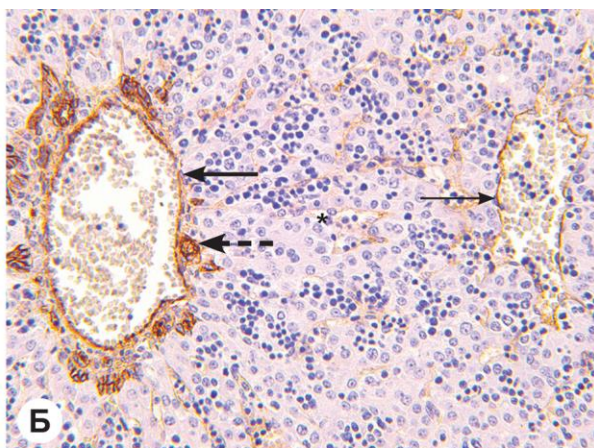
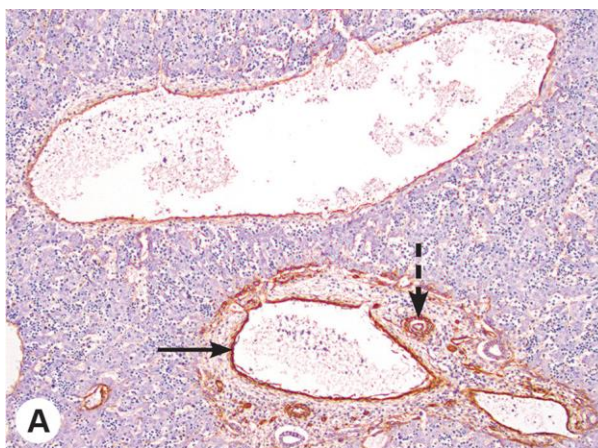
4.2.3.1. Први триместар

Крајем ембрионалног периода, у првом триместру, *CD146* имунореактивност у јетри ембриона присутна је у зиду интерлобуларне вене, централних вена, где је мање изражена (слика 4.13А, Б, В, Г), и у ендотелу синусоида, где је њена интензивност додатно умањена (слика 4.13Б, Г, Д, Ђ). Са повећањем дијаметра судова одводног венског система, у њима расте интензитет ендотелне *CD146* имунореактивности (слика 4.13Д, Ђ, табела 4.2).

Крајем првог триместра трудноће, у јетри фетуса, највећи интензитет *CD146* имунореактивности показује зид интерлобуларних артерија, у коме позитивност испољавају ендотелне и глатке мишићне ћелије (слика 4.14А-Е). Нешто слабији интензитет имунореактивности испољавају централне вене (слика 4.14Б, В) и синусоиди, чије ендотелне ћелије испољавају најнижи степен имунореактивности. Осим тога, *CD146* имунореактивност је забележена и у ћелијама перипортне граничне мембране (слика 4.14В). У зиду терминалних хепатичних венула, насупрот ендотелу, уочавају се издужене ћелије интензивне *CD146* имунореактивности (слика 4.15А). Ендотелне ћелије синусоида показују средњи степен *CD146* имунореактивности (слика 15Б). Ендотел централних вена је значајно *CD146* имунопозитивнији од ендотела перифералних синусоида (слика 4.15В, Г, Д). Степен интензитета *CD146* имунореактивности у ендотелу већих одводних крвних судова (колекторних и сублобуларних вена) нагло опада у судовним елементима мањег калибра који се у њих уливају – централним венама (слика 4.15Ђ, табела 4.2).



Слика 4.13. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре ембриона, крајем ембрионалног периода развоја. **А)** Интензивна *CD146* имунореактивност је забележена у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица), док је знатно слабијег интензитета присутна у ендотелу косо пресечене централне вене (танка стрелица); перипортни и перицентрални синусоиди показују изузетно слабу *CD146* имунореактивност (x200). **Б)** *CD146* имунореактивност у ендотелу интерлобуларне вене (стрелица) и њених огранака локализованих у непосредној околини њеног зида; слаба *CD146* имунореактивност присутна је и у епителним каналићима жучних путева у развоју (бела стрелица) (x320). **В)** Изражена *CD146* имунореактивност присутна је у ендотелу уздужно пресечене интерлобуларне вене (стрелица) и у ендотелу перипортних синусоида (звездица) (x500). **Г)** *CD146* имунореактивност испољена је у ендотелу синусоида (звездица), где је знатно мањег интензитета (x500). **Д)** Ретка *CD146* имунореактивност је присутна у појединачним ендотелним ћелијама централних вена у формирању (танка стрелица); ендотел синусоида (звездица) веома је слабо имунореактиван (x400). **Ђ)** Већи одводни венски суд са изразито *CD146* позитивним ендотелом, у који се уливају бројни синусоиди, или централне венуле, у којима је интензитет *CD146* имунореактивности знатно снижен (x250).



4.2.3.2. Други триместар

У другом триместру у зидовима свих крвних судова задржава се интензивна *CD146* имунореактивност (слика 4.16, 4.17). Ова позитивност је најочљивија у крвним судовима интерлобуларних простора, без обзира на њихову величину (слика 4.16А, Б, В). *CD146* имунореактивност је најизраженија у интерлобуларним артеријама, где позитивност показују ендотелне и глатке мишићне ћелије (слика 4.16Б). Минимално слабију имунореактивност испољавају ендотел и глатке мишићне ћелије интерлобуларних вена и њихових огранака (слика 4.16А, Б). Посебно интересантан налаз је у зиду терминалних портних венула и њихових огранака. У овим крвним судовима ендотелне ћелије показују *CD146* имунореактивност, која се са уливањем у синусоиде готово у потпуности губи (слика 4.16Б). Осим тога, веома интензивну имунореактивност показују појединачне (слика 4.16Г, Ђ и слика 4.17А) или у дисконтинуираним групама (слика 4.16Д) периендотелне ћелије – глатке мишићне ћелије. У ендотелним ћелијама синусоида *CD146* имунореактивност је веома слабо изражена (слика 4.16Д, 4.17А, В) или одсутствује (слика 4.16А, Б, В, Г, Ђ). У ретким синусоидима (слика 4.17Б) могу се у зиду видети појединачне *CD146* имунореактивне ћелије (табела 4.2).

У одводним венама, почевши од централне вене (слика 4.16Б, 4.17В) до сублобуларних и колекторних вена (слика 4.17Г), *CD146* имунореактивност мањег степена показују ендотелне ћелије.

Ендотелне ћелије лимфних судова у већим и средњим портним просторима не садрже *CD146* имунореактиван ендотел (слика 4.16А, В).

Осим у крвним судовима, *CD146* имунореактивност показују и нервна влакна локализована у везивном ткиву портних простора (слика 4.16А, Б, табела 4.2).

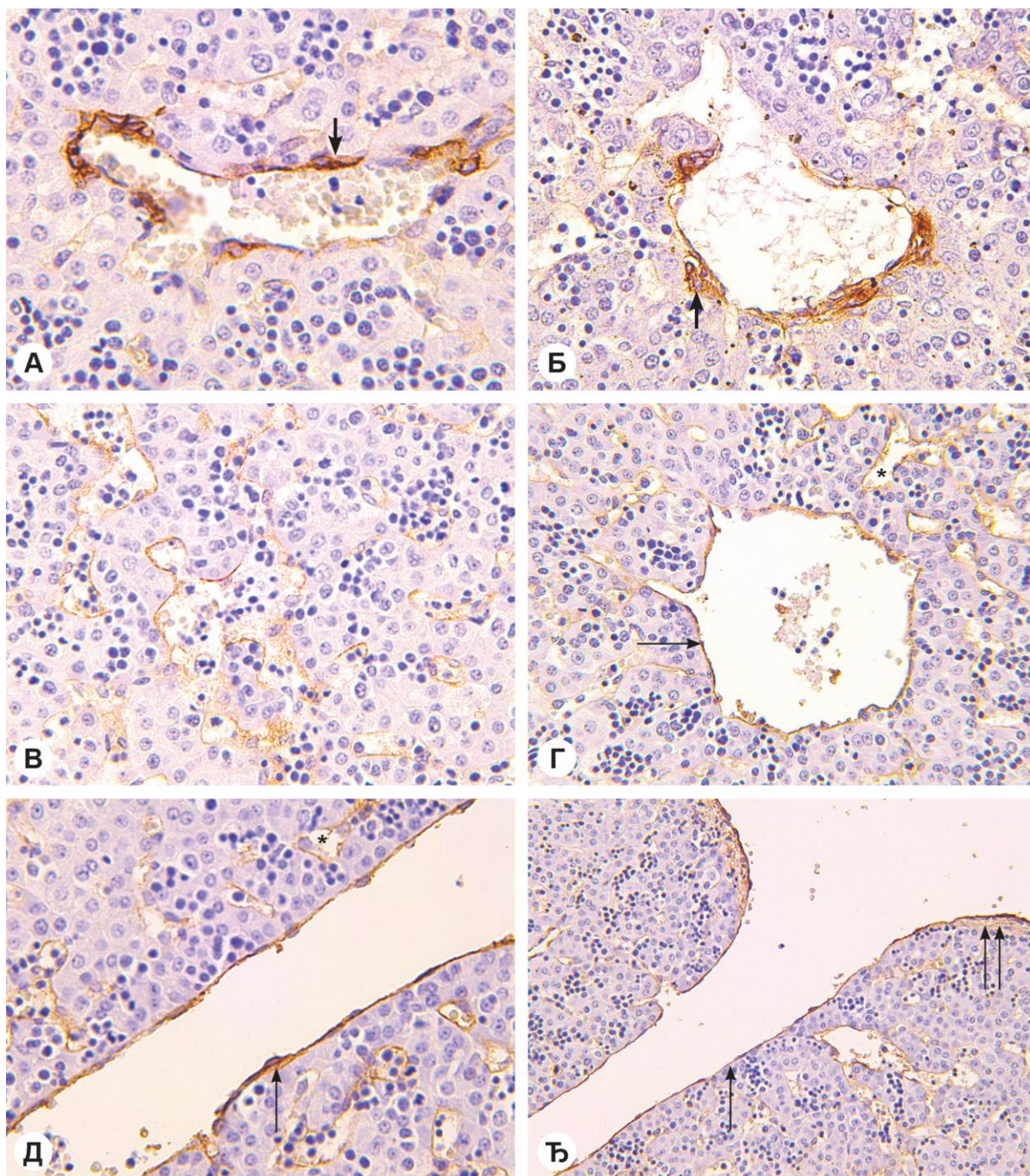
Слика 4.14. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у првом триместру. **А)** Интензивна *CD146* имунореактивност је евидентна у ендотелу интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица), вена (стрелица) и њихових огранака. Осим тога, *CD146* позитивност показују и глатке мишићне ћелије у зиду интерлобуларних артерија; нешто слабија имунореактивност се запажа у ендотелу велике – колекторне вене, локализоване у горњем делу слике (x100). **Б)** *CD146* имунореактивност у портном простору (лево) показује ендотел интерлобуларне вене (стрелица) и ендотел и глатке мишићне ћелије интерлобуларних артерија; ендотел централне вене (танка стрелица) и већине синусоида (звездица) показује *CD146* имунореактивност слабијег интензитета (x320). **В)** По ободу портног простора (лево), ћелије перипортне граничне мембране показују *CD146* имунореактивност (танка стрелица) (x320). **Г)** У зиду терминалне портне венуле (кратка стрелица) *CD146* имунореактивност показују ендотелне, периендотелне ћелије и глатке мишићне ћелије (кратка стрелица) (x250). **Д)** *CD146* имунореактивност, поред уобичајеног испољавања у крвним судовима портног простора, идентификована је и у крвним судовима малог дијаметра (кратка стрелица), локализованих на периферији портног простора (x250). **Ђ)** У мањем портном простору се јасно уочава губитак интензитета *CD146* имунореактивности у ендотелу на прелазу између интерлобуларних вена (стрелица) у синусоиде (звездица); хепатоцити перипортне граничне мембране показују *CD146* позитивност (x500). **Е)** *CD146* имунореактивност се, поред ћелија зида интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), уочава и у најситнијим крвним судовима капиларног типа (танка стрелица), као и у појединачним ендотелним ћелијама перипортних синусоида (звездица) (x640). **Ж)** *CD146* имунореактивност у најситнијим крвним судовима портног простора (x800).

Табела 4.2. Дистрибуција и заступљеност CD146, α -глаткомишићног актина и синаптофизина у јетри људских ембриона и фетуса, подељених према триместрима

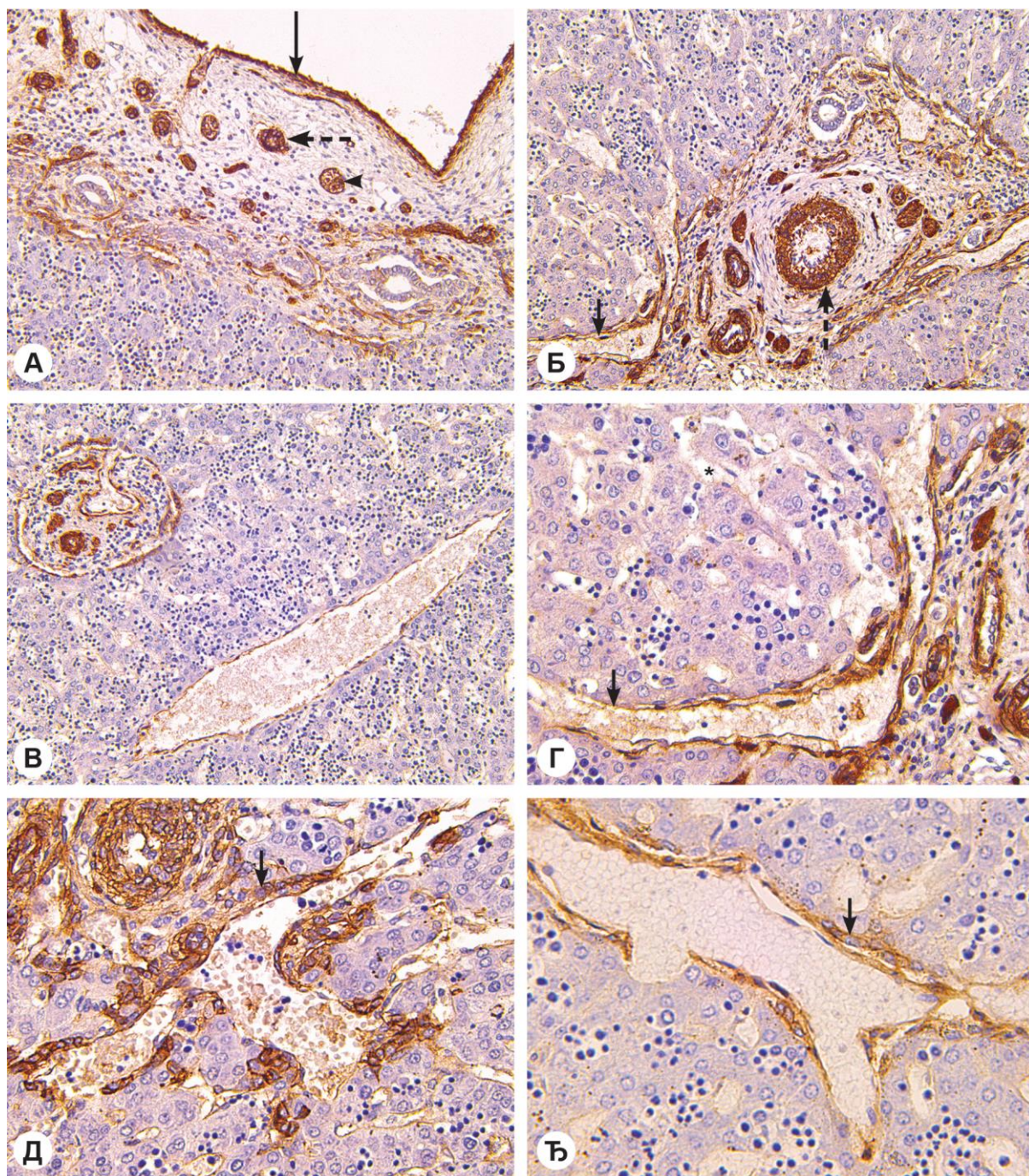
Периоди и структуре	Маркери		
	CD146	A-ГМА	Синаптофизин
I ТРИМЕСТАР			
– Ембрионални период			
Капсула			
Портни простор			
Везивно ткиво портног простора	+/-	+	-
Артерије			
Зид интралобуларне вене	++	++	+
Жучни канал	+	-	-
Нерви			+
Лобулус			
Зид синусоида и Дисеов простор	+	-	-
Централна вена	+	-	-
– Фетусни период			
Капсула			
Портни простор			
Везивно ткиво портног простора	+/-	++	+
Артерије	+++	++	+
Зид интралобуларне вене	+++	++	+
Жучни канал	++	+/-	
Нерви			+
Лобулус			
Зид синусоида и Дисеов простор	+	-	-
Централна вена	++	+/-	-
II ТРИМЕСТАР			
Капсула			
Портни простор			
Везивно ткиво портног простора	+/-	++	+
Артерије	+++	+++	+
Зид интралобуларне вене	+++	+++	+
Жучни канал	+	+/-	-
Нерви	++		+
Лобулус			
Зид синусоида и Дисеов простор	+/-	-	-
Централна вена	++	+	+/-
III ТРИМЕСТАР			
Капсула			
Портни простор			
Везивно ткиво портног простора	+/-	+	+
Артерије	+++	+++	+
Зид интралобуларне вене	+++	+++	+
Жучни канал	-	+	-
Нерви	+++	+/-	+
Лобулус			
Зид синусоида и Дисеов простор	+/-	+/-	+
Централна вена	++	+	+/-

Интензитет имунохистохемијске реакције:

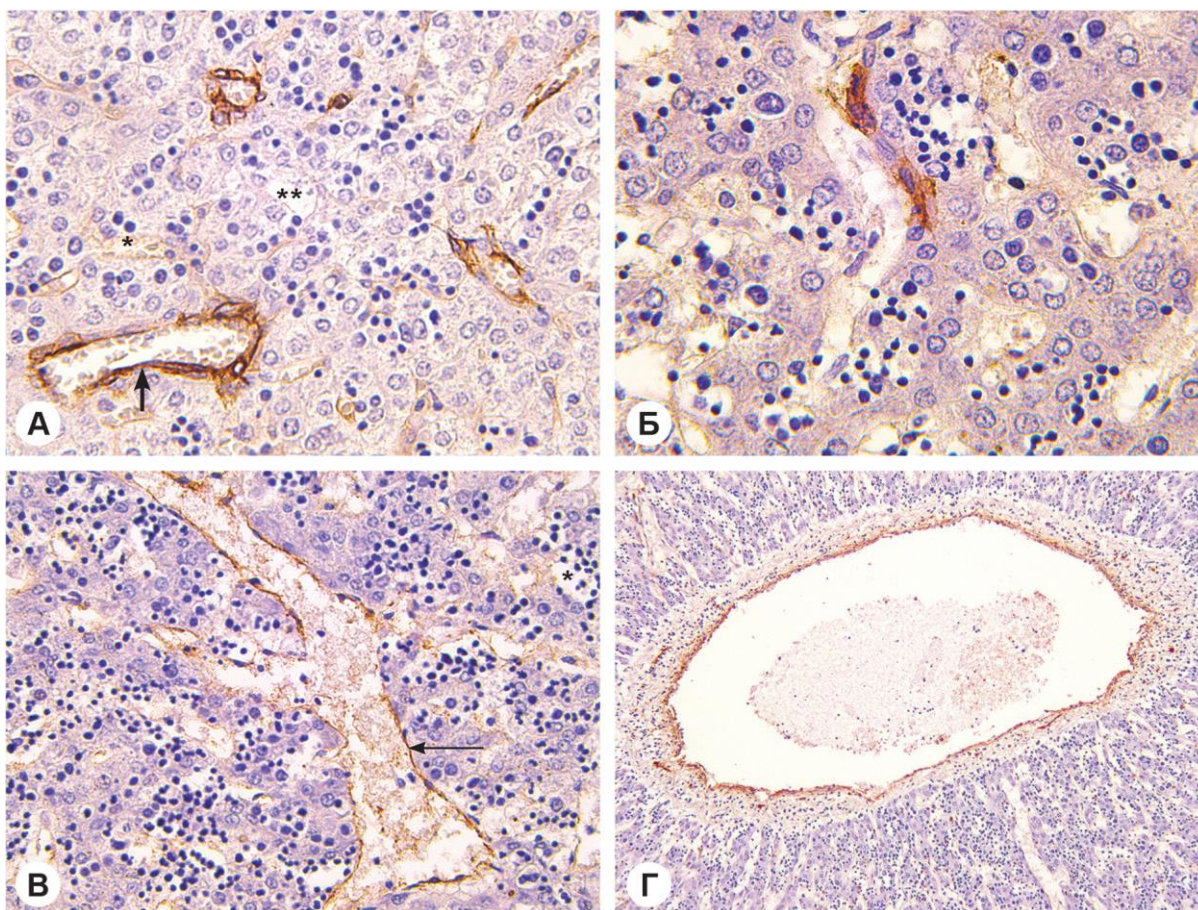
одсутна, - ; -/+ веома ниска; +, ниска; ++, средња; +++, висока.



Слика 4.15. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у првом триместру. **А)** Интензивна *CD146* имунореактивност у зиду дела терминалне портне венуле, у којој се на периферији запажају нешто крупније *CD146* имунореактивне издужене ћелије (кратка стрелица) (x640). **Б)** Интензивну *CD146* имунореактивност у зиду веће терминалне портне венуле, на попречном пресеку, показују крупне, у дисконтинуираном слоју, ћелије неправилног облика, локализоване са спољашње стране базалне мембране (кратка стрелица) (x500). **В)** Већина синусоида у ендотелу показује *CD146* имунореактивност (x500). **Г)** Ендотел централне вене (танка стрелица) показује већу *CD146* имунореактивност од синусоида (звездица) (x400). **Д)** Ендотел централне вене (танка стрелица) показује знатно виши степен *CD146* имунореактивности од ендотела синусоида (звездица) (x500). **Ђ)** Интензитет *CD146* имунореактивности ендотелних ћелија сублобуларне вене (две танке стрелице) опада ка њеним притокама – централним венама (танка стрелица) (x250).



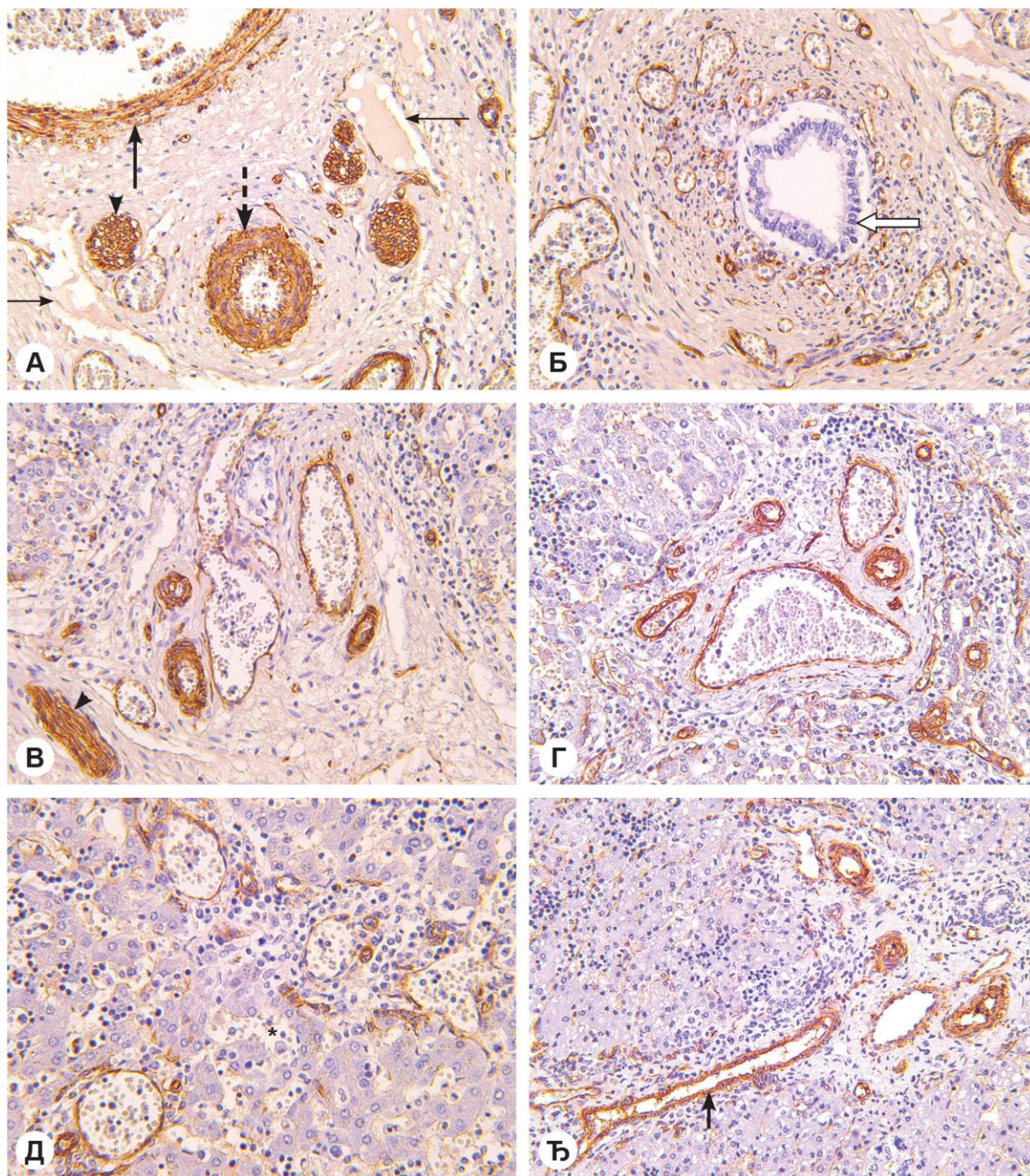
Слика 4.16. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у другом триместру. **А)** У делу великог – хилусног портног простора, *CD146* имунореактивност показује ендотел у зиду венског портног крвног суда (стрелица), као и у зиду артеријских крвних судова (испрекидана стрелица) и њихових огранака; осим тога *CD146* имунопозитивност је доказана и у нервним влакнима (врх стрелице) (x200). **Б)** У мањем портном простору, интензивна *CD146* имунореактивност идентификована је у зиду интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица), интерлобуларних вена и њихових огранака (кратка стрелица) и у нервним влакнима (x200). **В)** У најмањим портним просторима (лево горе), имунореактивност *CD146* је идентична као и у већим портним просторима; у доње десној половини слике, слабија *CD146* имунореактивност је идентификована у ендотелу косо пресечене централне вене (x200). **Г)** Детаљ слике Б, на коме се уочава простирање терминалне хепатичне венуле (кратка стрелица), у чијем зиду, у ендотелу и дисконтинуално постављеним периендотелим ћелијама интензитет *CD146* имунореактивности опада ка дисталним деловима; ендотел перипортних синусоида (звездица) готово је *CD146* негативан (x400). **Д)** Арборизација терминалне портне венуле (кратка стрелица), у чијем се зиду уочава *CD146* позитиван ендотел и *CD146* позитивне перивенуларне ћелије, које формирају једнослојни или вишеслојни дисконтинуирани омотач (x400). **Ђ)** У најмањим огранцима терминалних портних венула (кратка стрелица) *CD146* имунореактивност показују ендотелне ћелије и ретке периендотелне ћелије, што није случај са синусоидима (x500).



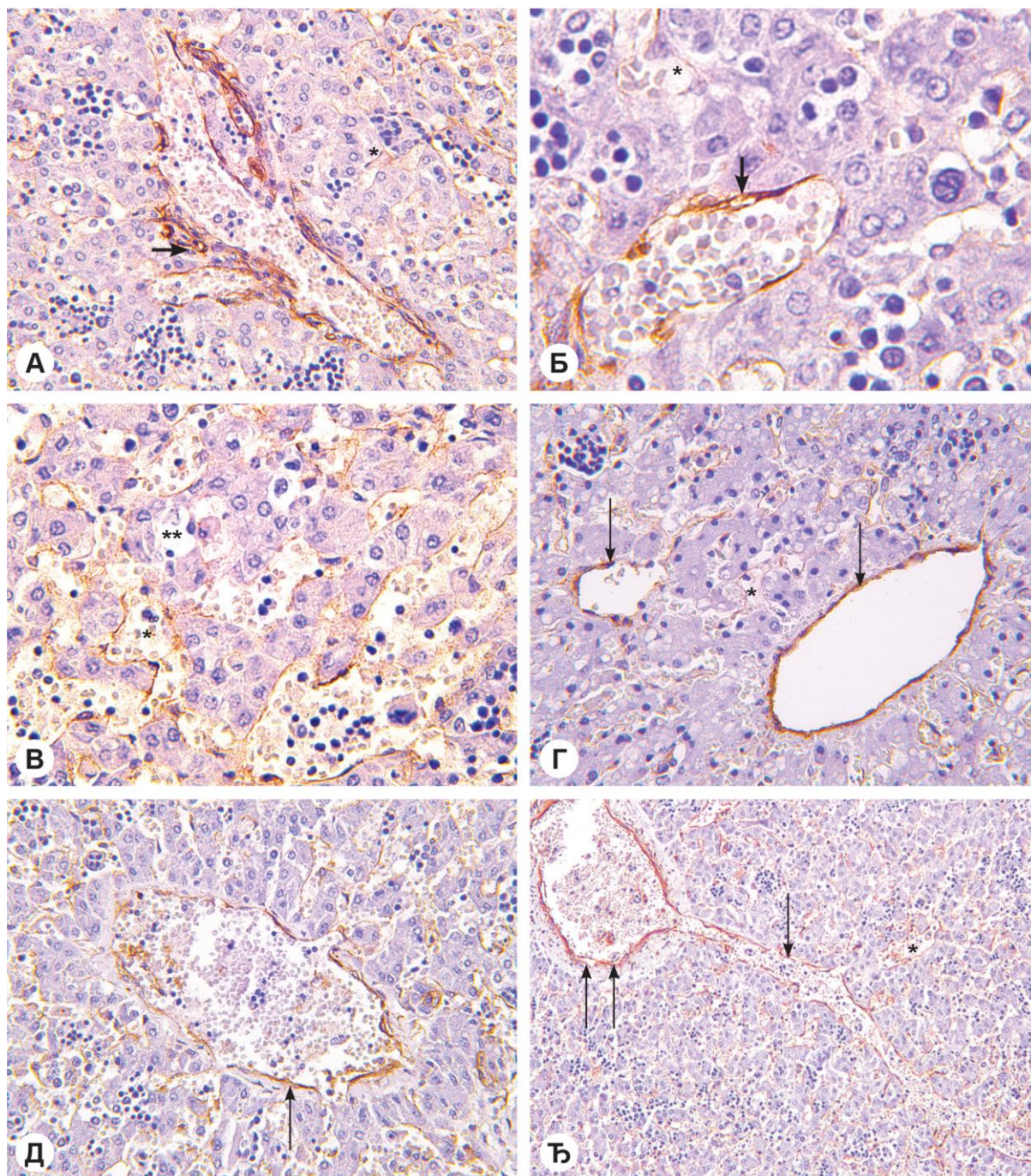
Слика 4.17. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у другом триместру. **А)** У најмањим огранцима терминалних портних венула (кратка стрелица) *CD146* имунореактивност је присутна у ендотелу и ретким периендотелним ћелијама, док је у синусоидима (звездица) ретка, или потпуно изостаје (две звездице) (x500). **Б)** Крвни суд синусоидног изгледа, у чијем зиду се запажају две *CD146* позитивне ћелије (x640). **В)** Ендотел централне вене (танка стрелица) показује интензивнију *CD146* имунореактивност у односу на ендотел синусоида (звездица) (x400). **Г)** Ендотел сублобуларне вене, као и субендотелне ћелије показују интензивну *CD146* имунореактивност (x125).

4.2.3.3. Трећи триместар

CD146 имунореактивност у крвним судовима и нервним влакнима у јетри фетуса у трећем триместру готово је идентична са већ описаним налазом у другом триместру (слика 4.18 и 4.19). Интензивну реакцију показују ендотелне ћелије интерлобуларних артерија, интерлобуларних вена и њихових огранака – терминалних портних венула (слика 4.18А, В, Г, Д, Ђ). У зиду интерлобуларних артерија и већих вена *CD146* имунореактивност показују и глатке мишићне ћелије (слика 4.18А). У већим портним просторима, око билијарних канала уочава се богата васкуларна мрежа са *CD146* позитивним ендотелом. У зиду терминалних портних венула и даље су присутне *CD146* имунореактивне глатке мишићне ћелије, постављене у дисконтинуираном слоју (слика 19А, Б). Ендотел синусоида је или негативан (слика 4.18Г, Д и слика 4.19Б) или слабо позитиван (слика 4.18Ђ



Слика 4.18. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у трећем триместру. **А)** У хилусном портном простору *CD146* имунореактивност, високог интензитета, присутна је у ендотелу и глатким мишићним ћелијама артерија (испрекидана стрелица), вена (стрелица) и нервним влакнима (врх стрелице), док се у ендотелу лимфних судова (празне стрелице) не бележи (x250). **Б)** Велики број крвних судова малог дијаметра, са *CD146* позитивним ендотелом, присутан је у непосредној околини већег жучног канала (бела стрелица) (x250). **В)** Осим у зиду артеријских и венских крвних судова, висок степен *CD146* имунореактивности присутан је и у уздужно пресеченом нервном влакну (доле лево – врх стрелице) (x250). **Г)** У мањем портном простору *CD146* имунореактивност, високог интензитета, присутна је у зиду свих крвних судова; ендотел перипортних синусоида углавном је негативан на *CD146* (x250). **Д)** Три веома мала портна простора садрже крвне судове са *CD146* позитивним ендотелом, што није случај са већином синусоида (звездича) (x320). **Ђ)** Интензивна *CD146* имунореактивност у уздужно пресеченом огранку терминалне портне венуле (кратка стрелица) (x250).



Слика 4.19. *CD146* имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у трећем триместру. **А)** Интензивну *CD146* имунореактивност показују периендотелне ћелије, нешто слабију ендотелне ћелије у зиду терминалне портне венуле (кратка стрелица) и њених огранака, док синусоиди (звездица) показују најслабију *CD146* имунореактивност (x320). **Б)** У најмањем огранку терминалне портне венуле (кратка стрелица) *CD146* имунореактивност је присутна у ендотелу и у једној периендотелној ћелији, док у синусоидима (звездица) изостаје (x800). **В)** Већина синусоида (звездица) у ендотелу показује слабу *CD146* имунореактивност, али су уочљиви и синусоиди са потпуно негативним ендотелом (две звездице) (x500). **Г)** Ендотел веће (десно) и мање (лево) централне вене (танке стрелице) показује интензивнију *CD146* имунореактивност у односу на ендотел синусоида (звездица), где је она веома слабо изражена (x400). **Д)** Ендотел централне вене (танка стрелица) показује знатно виши степен *CD146* имунореактивности од ендотела перицентралних синусоида; мањи број перицентралних синусоида не показује никакву *CD146* имунореактивност (x320). **Ђ)** Ендотел сублобуларне вене (две стрелице) показује интензивну *CD146* имунореактивност, чији се интензитет смањује ка њеним притокама – централним венама (танка стрелица) и синусоидима (звездица) (x160).

и слика 4.19А, В, Г, Д, Ђ). Централне вене, без обзира на величину (слика 4.19Г, Д, Ђ), садрже *CD146* позитиван ендотел, док исту имунореактивност показују и глатке мишићне ћелије већих одводних вена – сублобуларних и колекторних (слика 4.19Ђ, табела 4.2).

Ендотелне ћелије лимфатика портних простора нису *CD146* имунореактивне (слика 4.18А, В, табела 4.2).

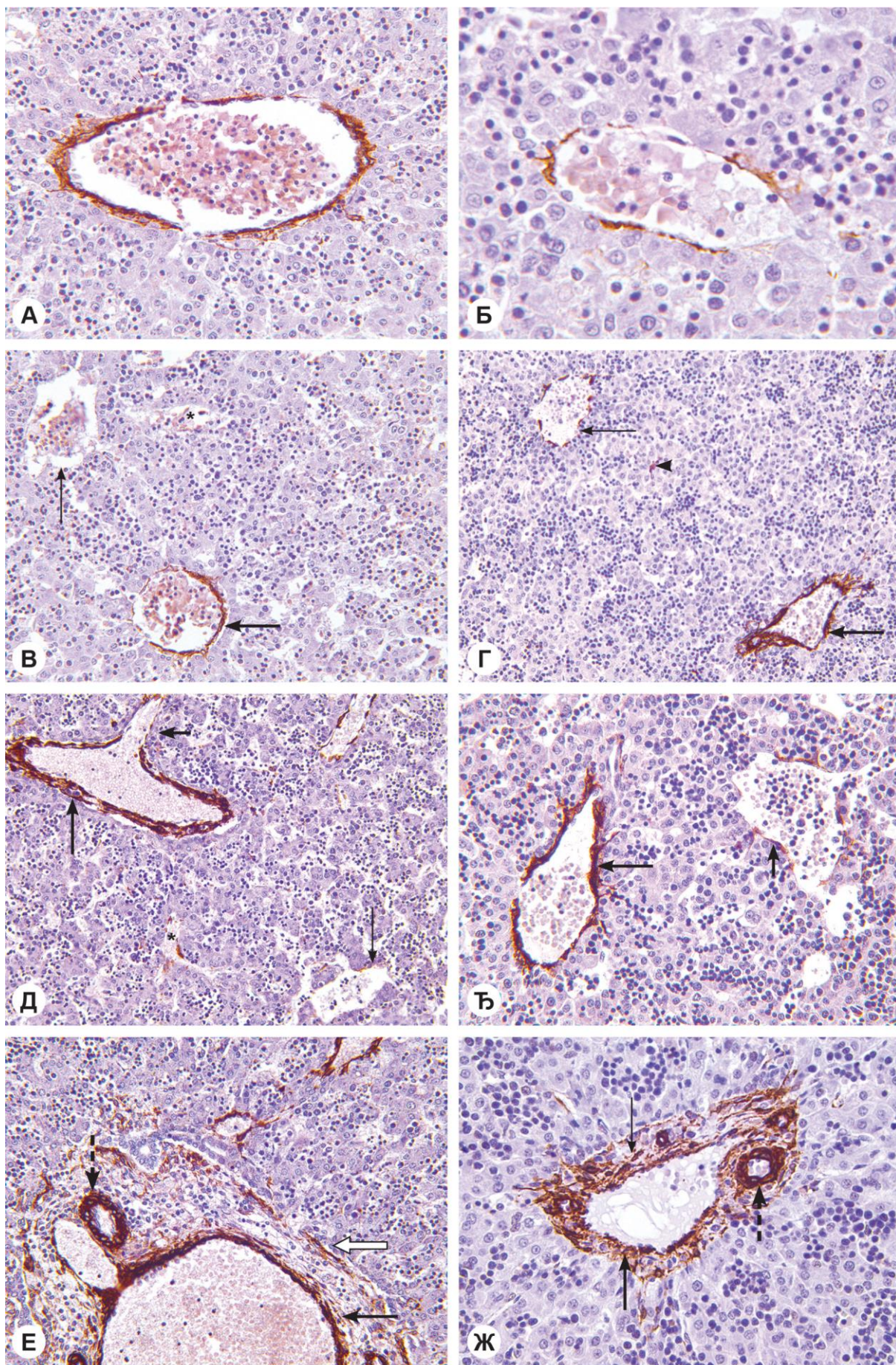
У нервним влакнима запажа се интензивна *CD146* имунореактивност (слика 4.18А, В, табела 4.2).

4.2.4. α -глаткомишићни актин имунореактивност

4.2.4.1. Први триместар

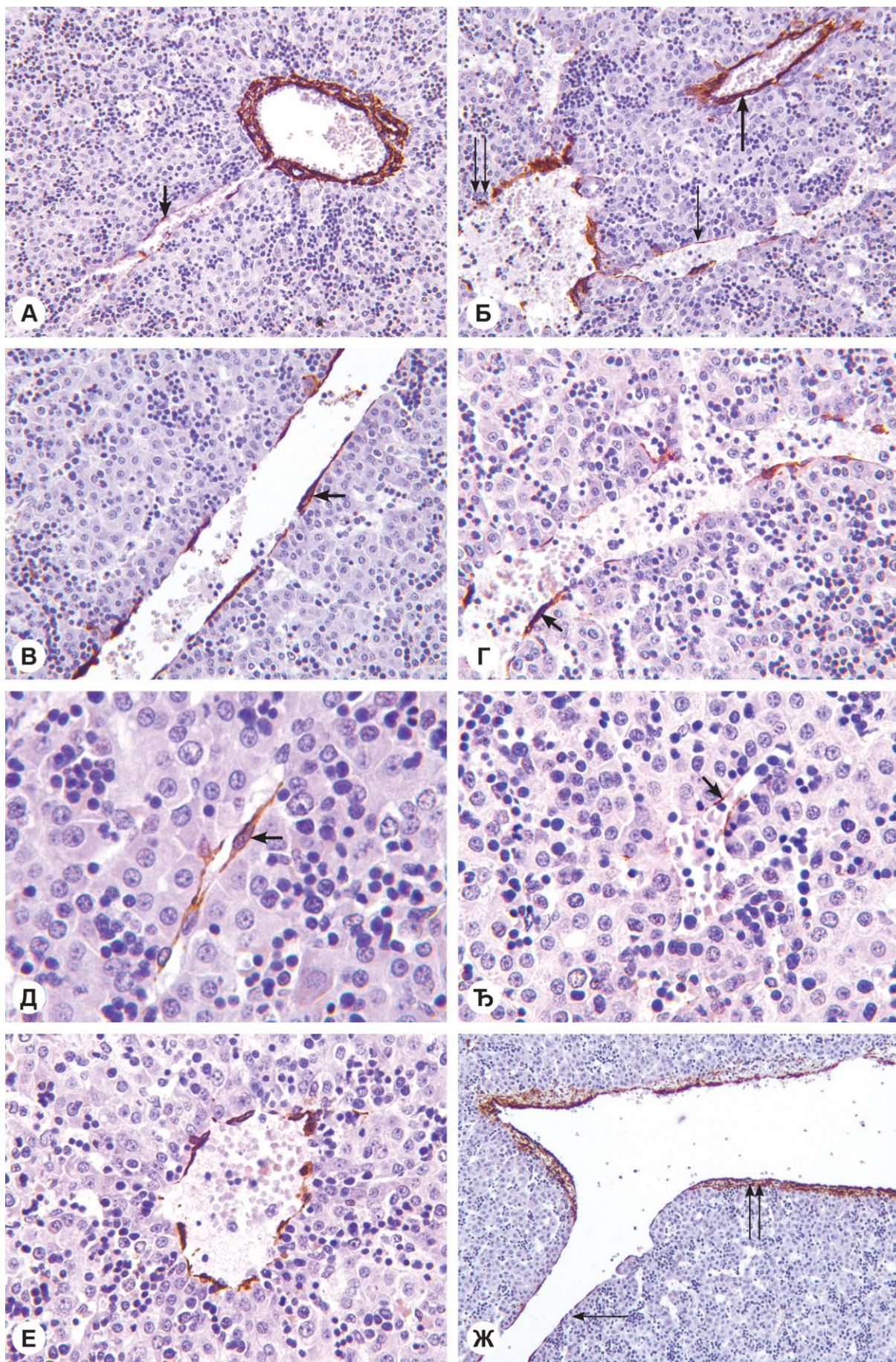
Крајем ембрионалног периода развоја у крвним судовима јетре је идентификована α -глаткомишићни актин имунореактивност (слика 4.20А-В). Она је врло интензивна и присутна у виду континуираног слоја разгранатих ћелија у зиду већих портних огранака (слика 4.20А), док је у мањим огранцима локализована субендотелно, али у виду дисконтинуираног слоја издужених ћелија (слика 4.20Б). У крвним судовима сличног дијаметра – централним венама, и синусоидима – нису идентификоване α -глаткомишићни актин имунореактивне ћелије (слика 4.20В, табела 4.2).

Слика 4.20. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре ембриона и фетуса у првом триместру. **А)** Крајем ембрионалног периода, у већем венском суду – огранку портне вене, позитивну α -глаткомишићни актин имунореактивност испољавају ћелије у субендотелном слоју, до границе хепатоцита; неке од њих су разгранате, а ретко се могу уочити, као ћелије неправилног облика, између хепатоцита у непосредној околини споменутог крвног суда (x320). **Б)** У истом периоду, у мањем огранку венског портног суда, у субендотелном слоју се уочава дисконтинуалан слој неправилно издужених ћелија позитивних на α -глаткомишићни актин (x640). **В)** Крајем ембрионалног периода, у јетри, за разлику од портних огранака (стрелица), у чијем зиду су идентификоване позитивне α -глаткомишићни актин ћелије, у централним венама (танка стрелица) и синусоидима (звездица) то није случај (x250). **Г)** У фетусном периоду, после 9. недеље развоја, у јетри се α -глаткомишићни актин имунореактивност идентификује у крвним судовима портног простора (стрелица), већим централним венама (танка стрелица) и ретким појединачним ћелијама интралобуларно (врх стрелице) (x200). **Д)** У јетри фетуса у првом триместру висок α -глаткомишићни актин степен имунореактивности присутан је у субендотелном слоју интерлобуларних вена (стрелица), при чему број имунореактивних ћелија опада у њиховим огранцима – терминалним портним венулама (кратка стрелица); у зиду малог броја крвних судова синусоидног изгледа уочавају се појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (звездица); у већини синусоида и зиду малих централних вена (танка стрелица), α -глаткомишићни актин имунореактивност се не уочава (x200). **Ђ)** У још незрелом портном простору изразиту α -глаткомишићни актин имунореактивност показују ћелије субендотелног слоја интерлобуларне вене (стрелица), док је знатно нижи степен имунореактивности присутан у субендотелном слоју централне вене (танка стрелица) сличног дијаметра, где је у виду дисконтинуираног слоја издужених ћелија (x320). **Е)** У нешто већем портном простору јетре фетуса у првом триместру, интензивну α -глаткомишићни актин имунореактивност показују глатке мишићне ћелије зида интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и интерлобуларне вене (стрелица); осим њих α -глаткомишићни актин имунореактивност знатно нижег степена испољавају и фузиформне ћелије (ћелије везива портног простора, нарочито на граници према перипортној граничној мембрани, тј. уз дукталну плочу (бела стрелица)) (x250). **Ж)** У мањем портном простору јетре фетуса у првом триместру α -глаткомишићни актин имунореактивност показују глатке мишићне ћелије у зиду артерије (испрекидана стрелица) и интерлобуларне вене (стрелица), као и појединачне ћелије у везиву портног простора (танка стрелица) (x400).



У крвним судовима јетре фетуса, у односу на ембрионалне јетре, после девете недеље развоја α -глаткомишићни актин имунореактивност је вишег интензитета (слика 4.20Г). Она је заступљенија у портним судовима него у зиду централних вена (слика 4.20Г, Д, Ђ). Најинтензивнију имунореактивност показују глатке мишићне ћелије интерлобуларних артерија (слика 4.20Е, Ж). У огранцима интерлобуларне вене – терминалним портним венулама (слика 4.21А), у њиховим проксималним деловима (слика 4.21Б), α -глаткомишићни актин позитивне ћелије су у једном, континуираном слоју, који се у дисталним деловима (слика 4.21Г) смањује чинећи дисконтинуиран слој субендотелно локализованих издужених α -глаткомишићни актин позитивних ћелија. У зиду ретких синусоида, тј. крвним судовима који по свом облику и величини подсећају на синусоиде, могу се уочити α -глаткомишићни актин имунореактивне ћелије вретенастог облика (слика 4.21Д, Ђ). Централне вене у субендотелном појасу садрже један слој издужених α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (слика 4.21Б, Е, Ж). У везивном ткиву портних простора (слика 4.20Д, Е, Ж и слика 4.21А, Б) и сублобуларних вена (слика 4.21Ж) уочавају се α -глаткомишићни актин позитивне ћелије – фузиформне ћелије (табела 4.2).

Слика 4.21. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у првом триместру. А) α -глаткомишићни актин имунореактивност високог интензитета присутна је у зиду интерлобуларних крвних судова; у огранку интерлобуларне вене – терминалној портној венули ова имунореактивност је слабијег интензитета и уочава се у мањем броју субендотелно локализованих ћелија (кратка стрелица) (x250). Б) α -глаткомишићни актин позитивне ћелије у зиду интерлобуларне вене (стрелица) и централне вене (танка стрелица), која се улива у сублобуларну вену (две танке стрелице) (x250). В) У зиду терминалне портне венуле уочава се субендотелно локализован танак слој издужених α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (кратка стрелица) (x320). Г) У још мањој терминалној портној венули, α -глаткомишићни актин позитивне ћелије су ретке и издуженог су облика (кратка стрелица) (x400). Д) У зиду крвног суда синусоидног изгледа присутне су две α -глаткомишићни актин позитивне ћелије вретенастог облика (кратка стрелица) (x800). Ђ) У крвном суду синусоидног изгледа (кратка стрелица) запажа се једва приметна α -глаткомишићни актин имунореактивност (x400). Е) У зиду мање централне вене присутан је субендотелно локализован слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x500). Ж) Уток централне вене (танка стрелица) у сублобуларну вену (две танке стрелице), у чијем се зиду запажа распрострањена α -глаткомишићни актин имунореактивност, чије ћелије запоседају целу ширину адвентиције (x160).



4.2.4.2. Други триместар

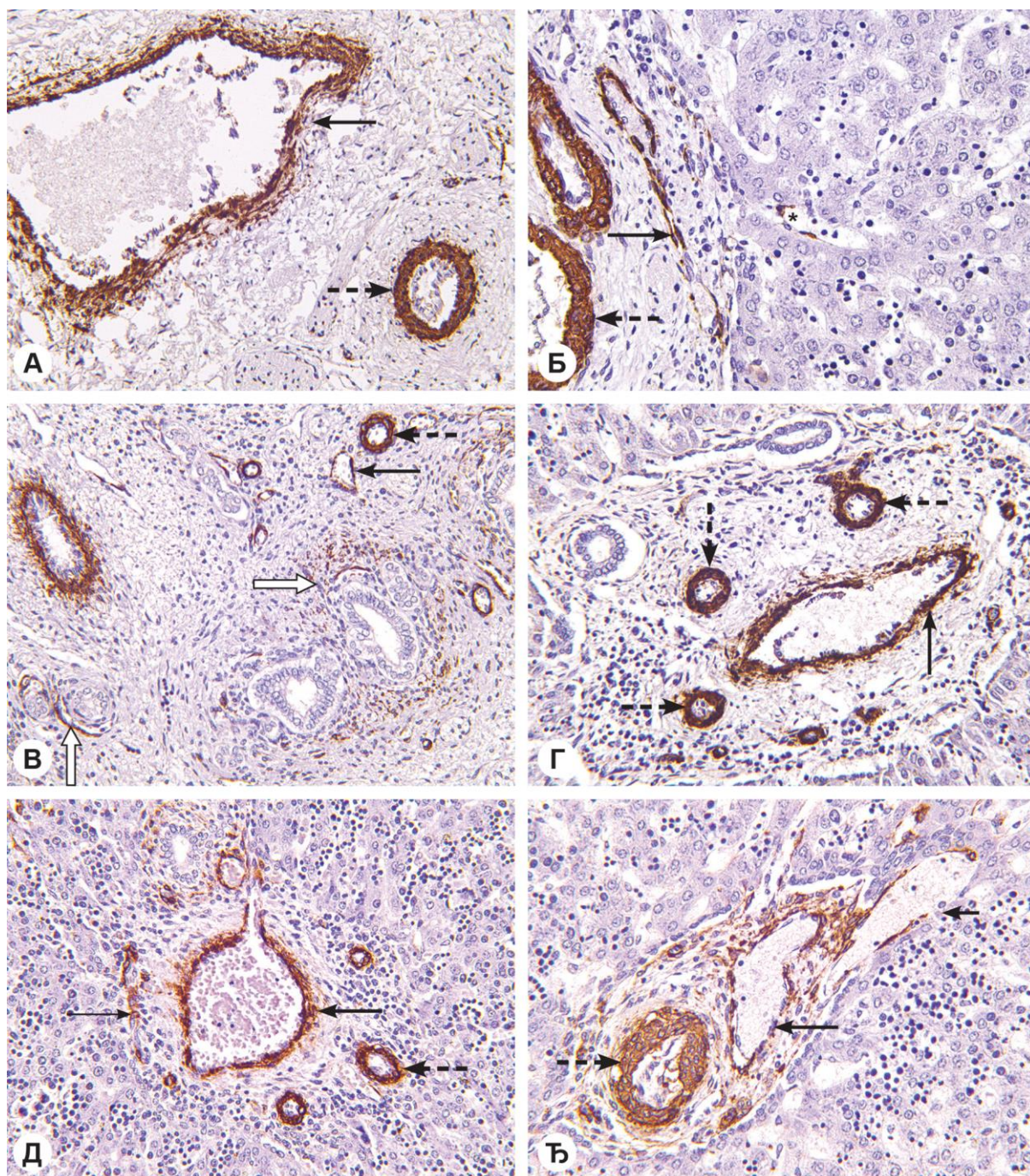
У јетрама фетуса у другом триместру трудноће, α -глаткомишићни актин имунореактивност присутна је у свим структурама, као и у јетрама фетуса у првом триместру (табела 4.2). Бележи се у портним просторима: већим (слика 4.22А, Б, В), средњим (слика 4.22Г) и најмањим (слика 4.22Д, Ђ). У артеријским огранцима, зависно од величине, α -глаткомишићни актин позитивне ћелије се налазе у три до четири слоја код већих артерија (слика 4.22А, Б), док се код мањих налазе у једном до два слоја (слика 4.22В, Г, Д, Ђ). У зиду већих интерлобуларних (интерлобарних) вена, осим у субендотелном слоју, у коме су континуиране, α -глаткомишићни актин имунореактивне ћелије налазе се и периферно, у адвентицији, где су издуженог облика са продужецима (слика 4.22А). Међутим, за разлику од портних простора јетри почетком фетусног периода, у којима су α -глаткомишићни актин позитивне ћелије биле присутне у читавом портном простору – у везиву између крвних судова (слика 4.20Д, Ж и 4.21А), у периваскуларном везиву портних простора јетре средином фетусног периода развоја то није случај (слика 4.22, табела 4.2).

У највећим – хилусним портним просторима у везиву, у крвним судовима и око њих, око великих жучних канала (слика 4.22В), налази се већи број α -глаткомишићни актин позитивних ћелија.

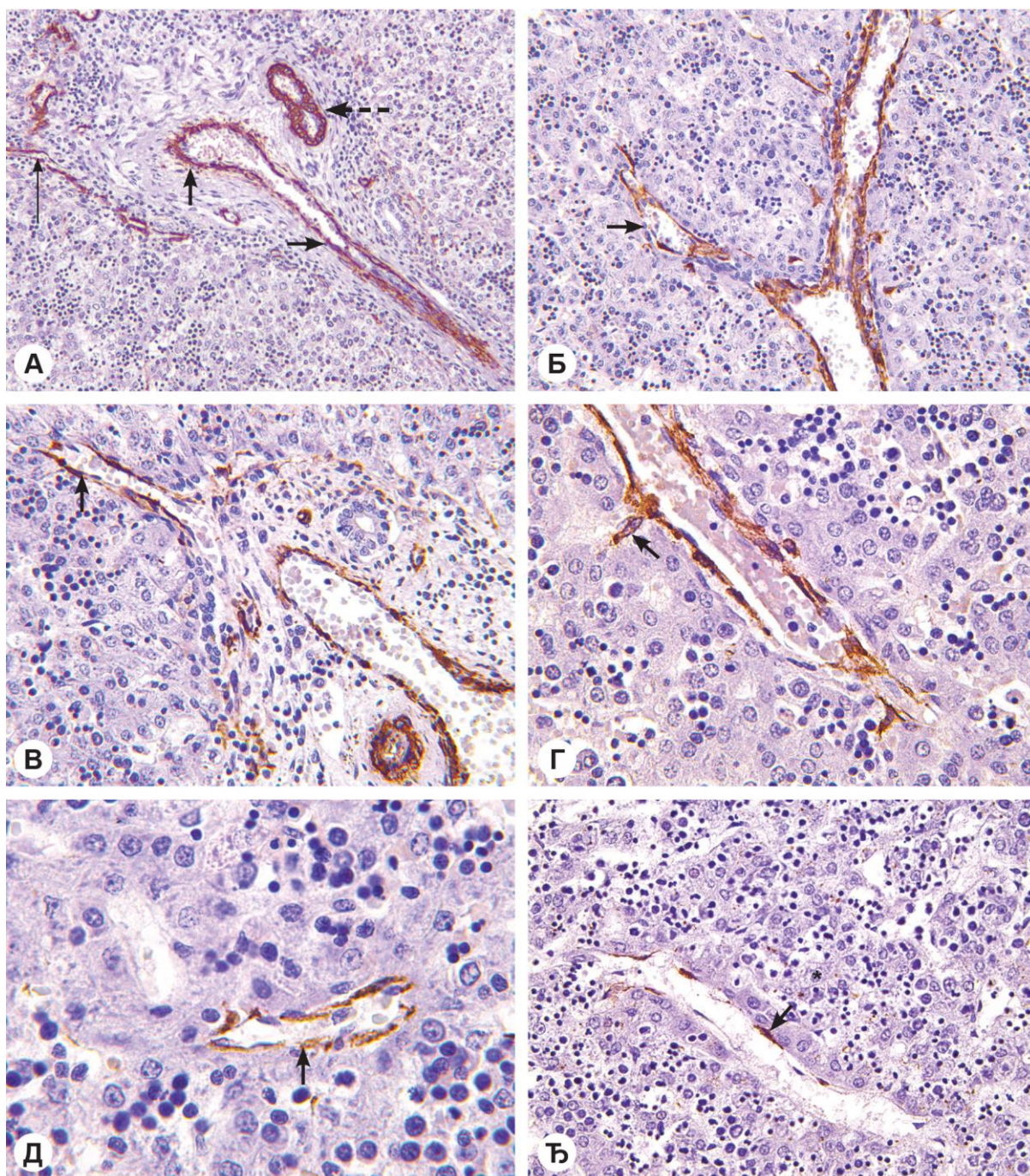
Слика 4.22. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у другом триместру. **А)** У делу великог портног простора уочава се артеријски суд (испрекидана стрелица), у чијем се зиду налазе од два до три слоја глатких мишићних ћелија, и портни венски суд (стрелица), у чијем се зиду у виду издужених или ћелија са продужецима налазе α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (x250). **Б)** У делу већег портног простора уочавају се два артеријска огранка (испрекидана стрелица), у чијем се зиду, испод ендотела, налазе два-три слоја α -глаткомишићни актин позитивних ћелија; осим тога, у мањем, уздужно пресеченом огранку (стрелица) и перипортном синусоиду (звездица) уочавају се субендотелно локализоване α -глаткомишићни актин имунореактивне ћелије (x400). **В)** У већем портном простору, поред већих артеријских и венских огранака, α -глаткомишићни актин имунореактивност испољавају и ћелије у зиду артериола (испрекидана стрелица) и венула (стрелица); у подручју како већих, тако и мањих жучних канала, у капиларима се испод ендотела уочавају α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (бела стрелица) (x250). **Г)** У портном простору средње величине α -глаткомишићни актин имунореактивност показују ћелије распоређене у једном слоју зида артеријских (испрекидане стрелице) и венских (стрелица) судова; у зиду интерлобуларне вене, имунопозитивност се бележи и у ћелијама адвентиције које су разгранатог облика; зид најситнијих крвних судова – артериола и капилара садржи по једну α -глаткомишићни актин позитивну ћелију; α -глаткомишићни актин имунореактивне ћелије нису присутне у строми портног простора, осим у нивоу адвентиције интерлобуларне вене (x320). **Д)** У малом портном простору α -глаткомишићни актин имунореактивност је најинтензивнија у интерлобуларним артеријама (испрекидана стрелица) и њиховим огранцима, потом у интерлобуларној вени где је најшира (стрелица) и у најситнијим огранцима крвних судова локализованих на периферији портног простора (танка стрелица) (x250). **Ђ)** У веома малом портном простору јасно се разликује интерлобуларна артерија (испрекидана стрелица), испод чијег се ендотела уочава два до пет слојева, у виду субендотелног јастучета, α -глаткомишићни актин позитивних ћелија; у малој интерлобуларној вени (стрелица), субендотелно, присутан је само један, често непотпун слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, које су у огранцима интерлобуларне вене који залазе у лобулу у дисконтинуираном слоју (кратка стрелица) (x320).

Анализирајући гранање, пре свега већих ка мањим интерлобуларним венама и њиховим огранцима – терминалним портним венулама и инлет венулама, опада заступљеност α -глаткомишићни актин позитивних ћелија у њиховом зиду (слика 4.23А-Д), до готово потпуног изостанка (слика 4.23Ђ).

Анализирајући α -глаткомишићни актин имунореактивност у синусоидима, она је ретка али присутна, или у виду једног слоја континуираних ћелија или дисконтинуирано постављених ћелија, издуженог или неправилног облика (слика 4.24). У зиду судова



одводног венског система, са повећањем дијаметра расте и заступљеност α -глаткомишићни актин имунопозитивних ћелија (слика 4.25). У зиду најмањих централних венула (слика 4.25Б) ова имунореактивност није забележена. У зиду малих и средњих централних вена, испод ендотела, налази се један слој α -глаткомишићни актин имунореактивних ћелија, који се прекида на уливу мањих у веће централне вене или синусоида у централне вене (слика 4.25В, Г, Д, Ђ). У зиду највећих одводних венских судова – сублобуларних и колекторних вена (слика 4.25Е, Ж), присутне су, у ширем појасу, α -глаткомишићни актин позитивне ћелије са цитоплазматским продужецима (табела 4.2).



4.2.4.3. Трећи триместар

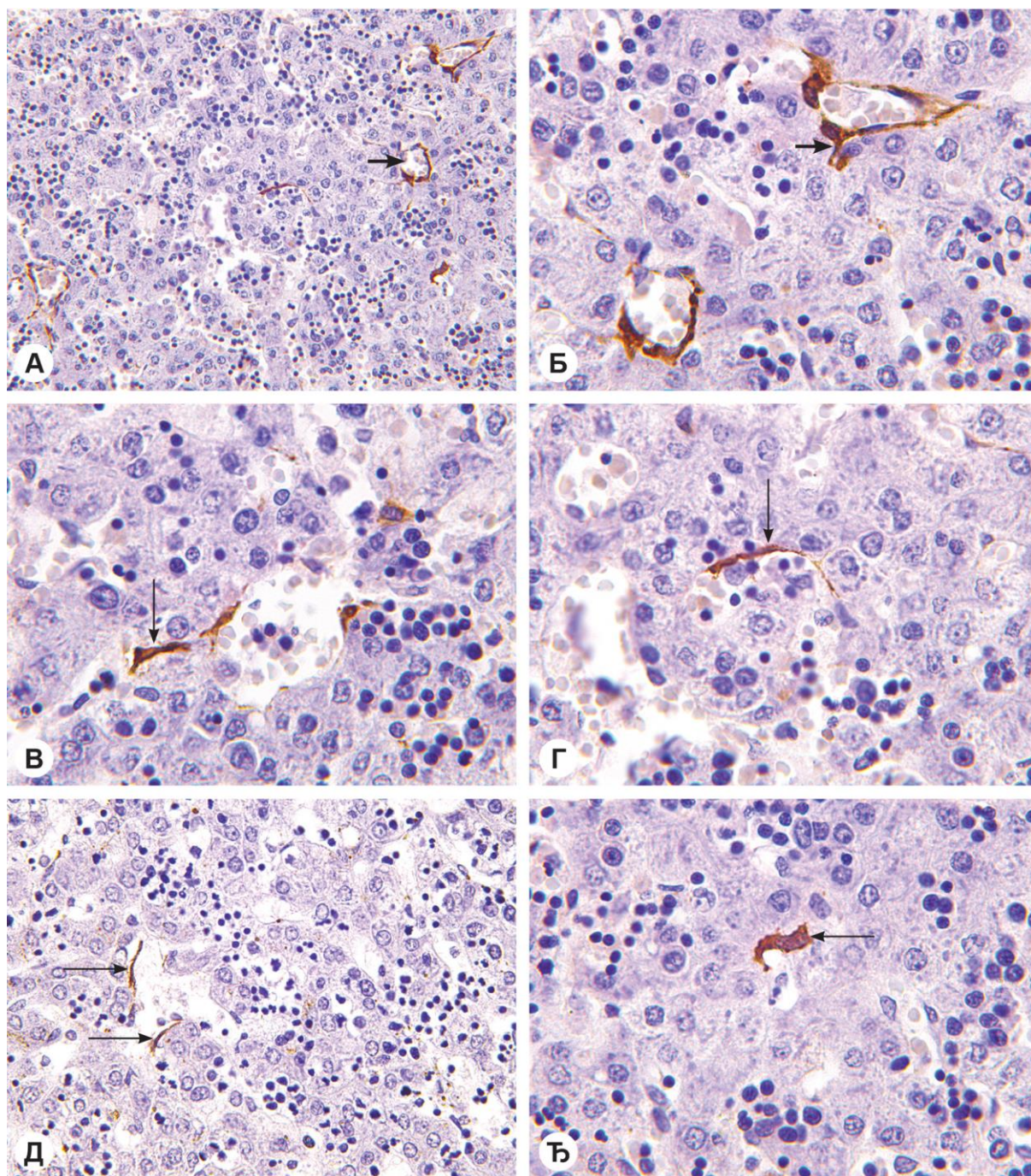
Налаз α -глаткомишићни актин имунореактивних ћелија у крвним судовима јетре фетуса у трећем триместру је готово идентичан налазу на истим структурама у другом триместру. Најинтензивнију реакцију показују α -глаткомишићни актин у зиду интерлобуларних артерија и вена (слика 4.26А, Б, В). Са гранањем интерлобуларних вена на мање огранке, терминалне хепатичне венуле и инлет венуле, опада заступљеност α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (слика 4.26Г-Ж). На појединим местима се у малим интерлобуларним венама, периферно од субендотелног α -глаткомишићни актин позитивног слоја, могу уочити појединачне или ћелије у мањим групама које испољавају α -глаткомишићни актин позитивност (слика 4.26Ђ). Најмањи огранци терминалних портних венула и инлет венула, који по свом облику и величини подсећају на синусоиде, садрже један субендотелно локализован, дисконтинуиран слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, издуженог облика (слика 4.26Ж). Овакви судови се могу уочити у близини портних простора (слика 4.26Ђ и слика 4.27Б), али могу бити и удаљени од њих (слика 4.27А). У појединим судовима синусоидног изгледа, могу се уочити појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије издуженог, готово цртастог, и ћелије неправилног облика (слика 4.27В, табела 4.2).

Централне вене у зиду садрже α -глаткомишићни актин позитивне ћелије које изостају у зиду уливајућих синусоида (слика 4.27Г, табела 4.2).

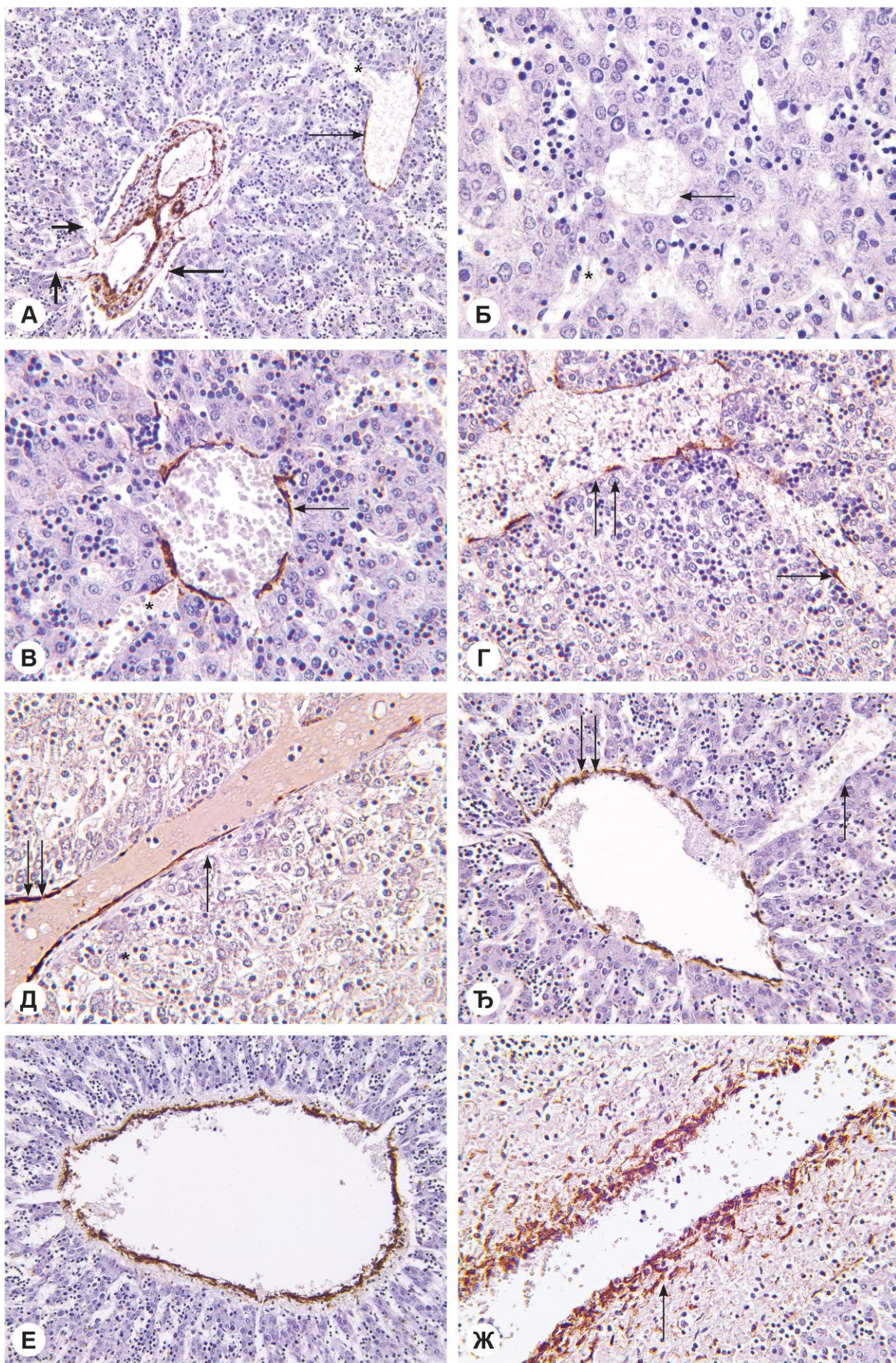
Зид како мањих, тако и већих лимфних судова не садржи α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (слика 4.27Д, табела 4.2).

У хилусним портним просторима, кроз које се простиру већи огранци нерава, у њиховом перу и ендонеуријуму су идентификовани мали крвни судови (артериоле, венуле и капилари) који у зиду садрже један слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (слика 4.27Ђ, табела 4.2).

Слика 4.23. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у другом триместру. **А)** α -глаткомишићни актин имунореактивност показује један слој ћелија интерлобуларне артерије (највиши степен имунореактивности) (испрекидана стрелица), и интерлобуларне вене (стрелица) која се наставља у терминалну портну венулу (кратка стрелица); α -глаткомишићни актин позитивне ћелије, у једном слоју, присутне су и у малим крвним судовима, локализованим по периферији портног простора (танка стрелица) (x200). **Б)** У зиду терминалне портне венуле α -глаткомишићни актин позитивне ћелије присутне су у једном до два слоја, док су у њеним кратким огранцима (кратка стрелица) оне редуковане на непотпун слој; синусоиди не показују присуство α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x250). **В)** α -глаткомишићни актин позитивне ћелије, у дисконтинуалном слоју, субендотелне локализације, издуженог облика присутне су у терминалној портној венули (кратка стрелица) (x400). **Г)** Део терминалне портне венуле, која субендотелно садржи један, готово континуиран слој вретенастих α -глаткомишићних ћелија, од које се одваја кратки огранак – инлет венула са једном α -глаткомишићни актин позитивном ћелијом (кратка стрелица) (x500). **Д)** У крвном суду синусоидног изгледа (кратка стрелица) присутан је један слој α -глаткомишићни актин имунореактивних ћелија (x800). **Ђ)** Појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (кратка стрелица) у субендотелном слоју крвног суда синусоидног изгледа (терминалне портне венуле или њеног огранка) (x400).

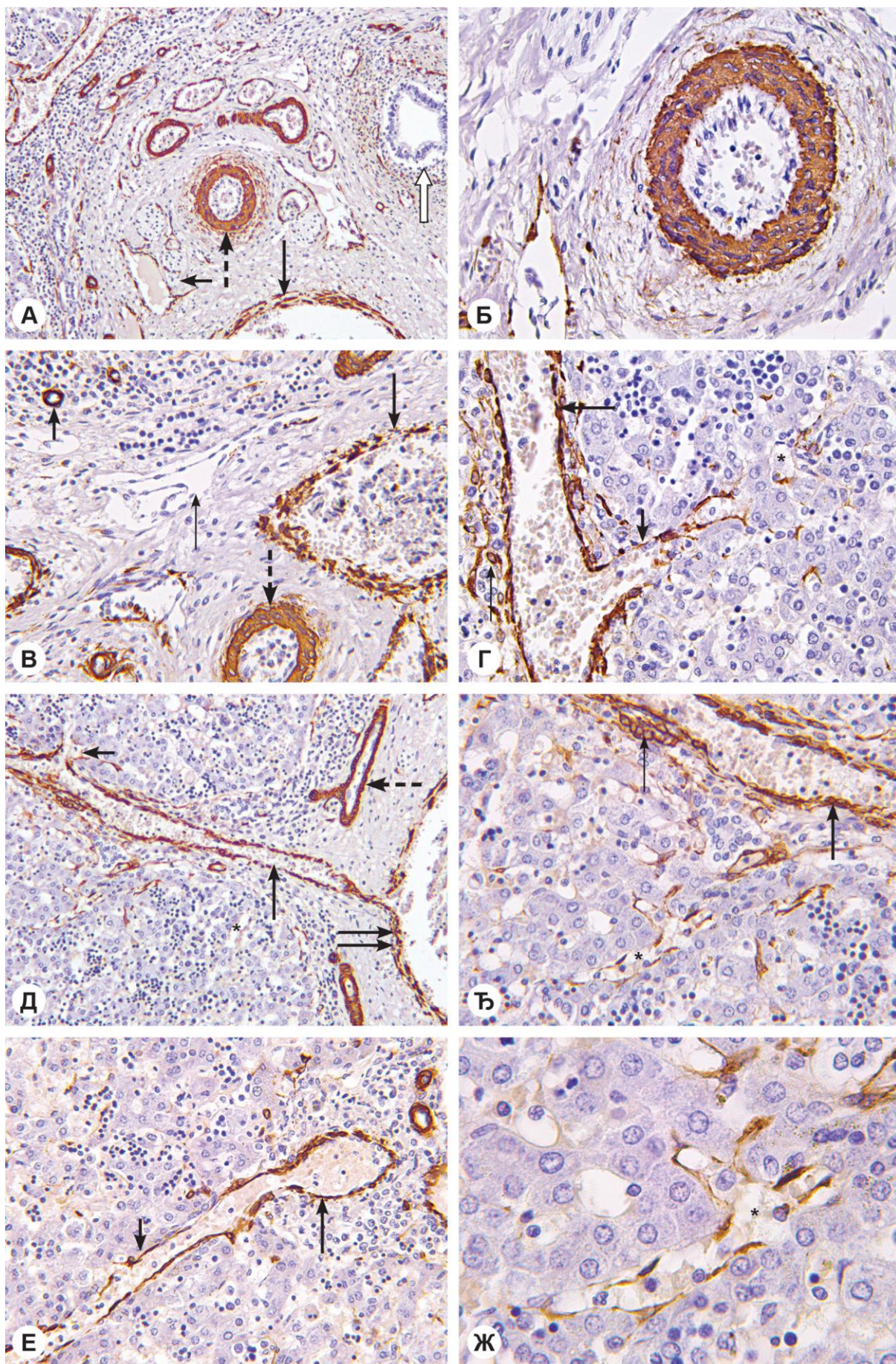


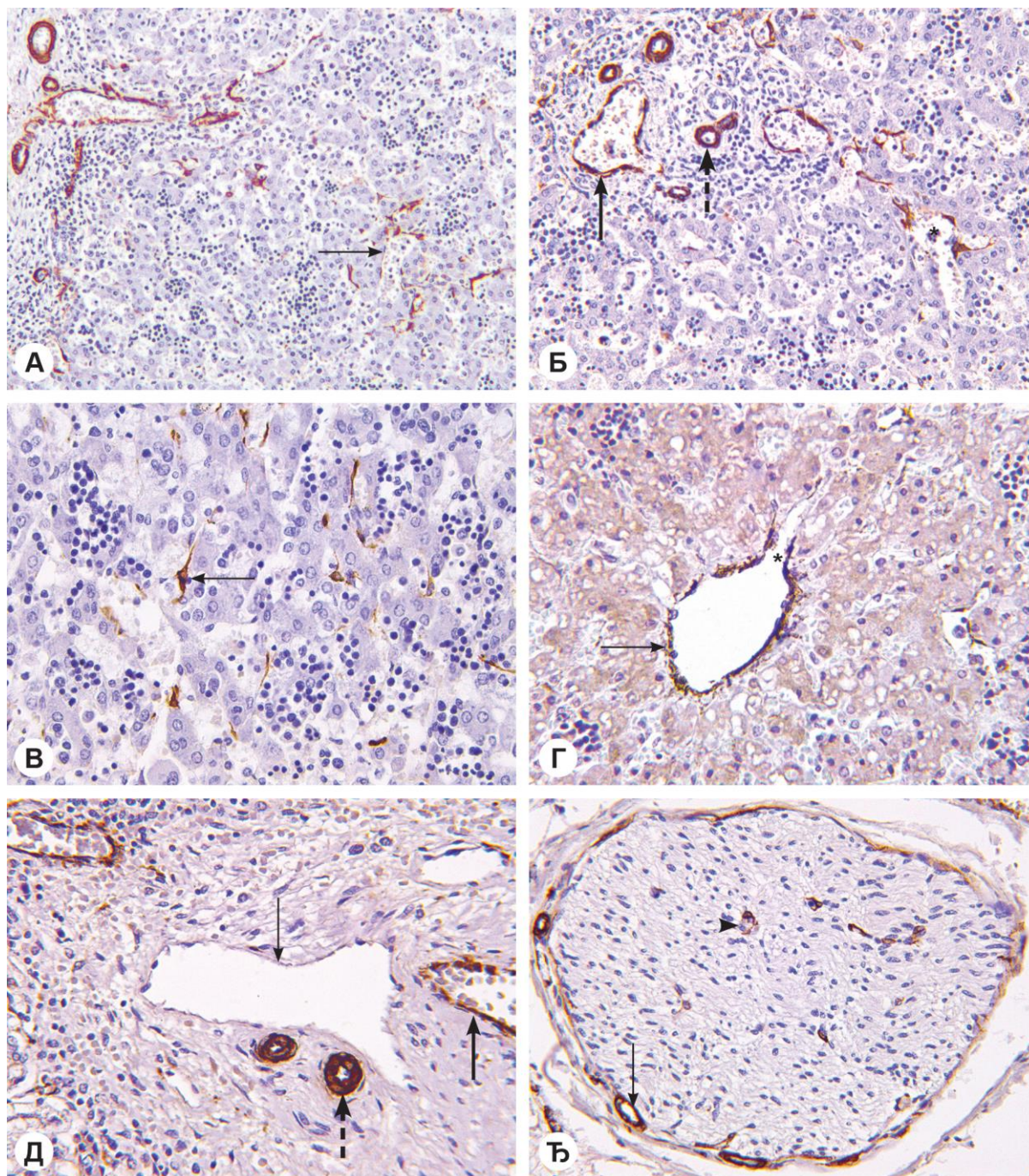
Слика 4.24. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у другом триместру. **А**) У мањем броју крвних судова синусоидног изгледа, субендотелно, уочава се дисконтинуиран слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (кратка стрелица) (x320). **Б**) Детаљ слике **А**), где се види да су α -глаткомишићни актин позитивне ћелије неправилног облика, са издуженим продужцима (кратка стрелица) (x800). **В**) Појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије синусоидне и перисинусоидне локализације (танка стрелица) (x800). **Г**) Једна α -глаткомишићни актин имунореактивна ћелија, издуженог облика перисинусоидно (танка стрелица) (x800). **Д**) Перисинусоидно се уочавају две α -глаткомишићни актин позитивне ћелије издуженог облика (танке стрелице) (x500). **Ђ**) Једна крупна α -глаткомишићни актин позитивна ћелија, неправилног облика, перисинусоидно (танка стрелица) (x800).



Слика 4.25. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у другом триместру. **А)** α -глаткомишићни актин позитивне ћелије у зиду интерлобуларних артерија и вена малог портног простора (стрелица); у зиду огранака интерлобуларне вене (кратке стрелице) ћелије са оваквом имунореактивношћу изостају; у зиду централне вене (танка стрелица) налази се један дисконтинуиран слој издужених α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, које се губе у уливном синусоиду (звездица) (x200). **Б)** Зид најмањих централних вена – централних венула (танка стрелица), као ни синусоида (звездица), не садрже α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (x500). **В)** У зиду нешто веће централне вене (танка стрелица), субендотелно је присутан слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија; у зиду већих синусоида, непосредно пре њиховог уливања у централну вену, могу се уочити појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (звездица) (x400). **Г)** Мања централна венула (танка стрелица), која у зиду садржи ретке α -глаткомишићни актин позитивне ћелије издуженог облика, улива се у већу – централну вену (две танке стрелице), у чијем зиду је слој α -глаткомишићних ћелија дисконтинуиран, тј. недостаје на местима улива централних венула и синусоида (x320). **Д)** Централна венула (танка стрелица) која се улива у централну вену (две танке стрелице) са приближавањем централној вени добија континуиранији слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x400). **Ђ)** Сублобуларна вена (две танке стрелице) која у зиду садржи континуиран слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, окружена централним венама (танка стрелица) и бројним – перичентралним синусоидима (звездица), у чијем зиду споменуте ћелије изостају (x250). **Е)** Зид сабирне вене, у субендотелном слоју, садржи бројније α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (x200). **Ж)** На уздужном пресеку сабирне вене уочава се да су α -глаткомишићни актин позитивне ћелије присутне не само у субендотелном слоју, већ и даље, у адвентицији, где су појединачне са продужецима (танка стрелица) (x250).

Слика 4.26. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у трећем триместру. **А)** У великом – хилусном портном простору α -глаткомишићни актин имунореактивност је присутна у артеријским судовима (испрекидана стрелица) у виду континуираног вишеслојног омотача, у великим интерлобуларним портним венама (стрелица) у виду вишеслојног дисконтинуираног слоја ћелија и у мањим портним огранцима (кратка стрелица), у виду једног слоја α -глаткомишићни актин позитивних ћелија; око већег жучног канала (бела стрелица) уочава се већи број малих крвних судова, у чијем зидовима се налазе појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (x160). **Б)** У зиду веће интерлобуларне артерије, испод ендотела, уочавају се четири континуирана слоја α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x200). **В)** У делу средњег портног простора α -глаткомишићни актин позитивне ћелије се налазе у зиду артерије (испрекидана стрелица), где се налазе од два до три слоја, у зиду интерлобуларне вене (стрелица), где су распоређене у два до три дисконтинуирана слоја и у крвним судовима малог дијаметра (кратка стрелица); у зиду лимфних судова не испољава се α -глаткомишићни актин реактивност (танка празна стрелица) (x320). **Г)** Од мале интерлобуларне вене на уздужном пресеку (стрелица) одваја се терминална портна венула (кратка стрелица); у првој α -глаткомишићни актин позитивне ћелије присутне су субендотелно, у виду континуираног слоја издужених ћелија, али и у појединачним ћелијама (танка стрелица) периферно од споменутих; са гранањем терминалне портне венуле у инлет венуле (кратка стрелица), па затим у синусоиде (звездица), заступљеност α -глаткомишићни актин позитивних ћелија се редукује до појединачних (x400). **Д)** α -глаткомишићни актин позитивне ћелије у субендотелном слоју интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и њеним огранцима, великој интерлобуларној вени (две стрелице) и њеним гранама за мањи портни простор (стрелица), њеном огранку – терминалној портној венули (кратка стрелица) и синусоидима (звездица) (x200). **Ђ)** Детаљ слике Д): у делу зида интерлобуларне вене (стрелица), поред субендотелног слоја α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, уочава се и група удаљенијих α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (танка стрелица); у зиду појединих синусоида (звездица) уочава се дисконтинуиран слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x400). **Е)** Гранањем интерлобуларне вене (стрелица) на терминалне портне венуле (кратка стрелица) долази до редукације слојева α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x320). **Ж)** Детаљ слике Ђ): ретки судови синусоидног изгледа (звездица) у зиду садрже појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије (x800).



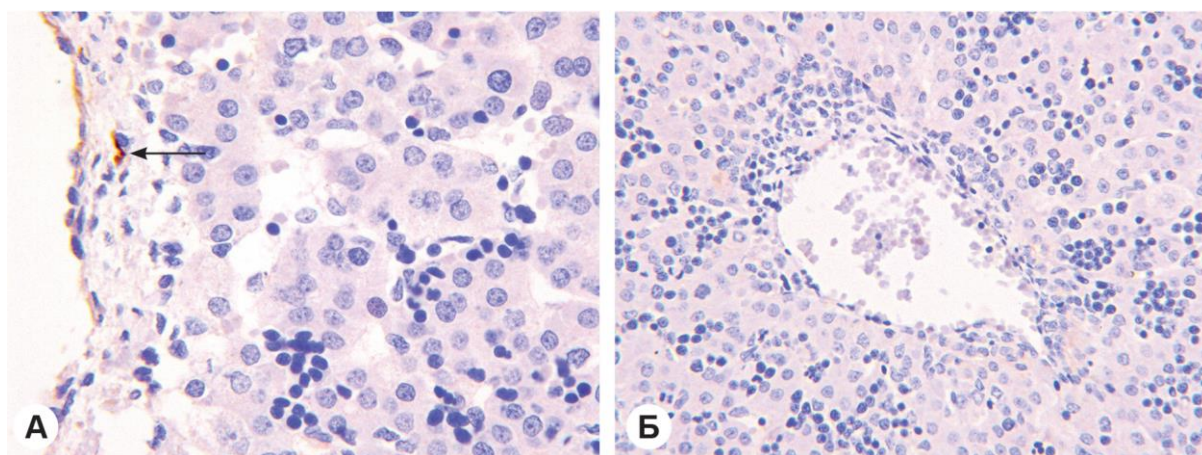


Слика 4.27. α -глаткомишићни актин имунореактивност у крвним судовима јетре фетуса у трећем триместру. **А)** α -глаткомишићни актин позитивне ћелије су присутне у зидовима артеријских и венских судова дела портног простора (лево), али и као појединачне у крвним судовима синусоидног изгледа (танка стрелица) (x200). **Б)** У малом портном простору α -глаткомишићни актин позитивне ћелије су у виду двослојног омотача присутне у зиду интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица), у једном слоју у зиду интерлобуларних вена (стрелица) и дисконтинуирано у перипортним синусоидима (звездича) (x500). **В)** У зиду синусоида – перисинусоидално уочавају се α -глаткомишићни актин позитивне ћелије неправилног облика са изузетно дугим и танким цитоплазматским продужецима (танка стрелица) (x400). **Г)** У субендотелном слоју централне вене (танка стрелица) налази се један слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, које се у зиду уливних синусоида (звездича) губе (x400). **Д)** У зиду лимфног суда (танка празна стрелица) дела већег портног простора, за разлику од интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица) и вена (стрелица), нема α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x400). **Ђ)** Попречни пресек нерва у великом портном простору, у чијем се перинеуријуму (стрелица) и ендонеуријуму (врх стрелице) запажају ситни крвни судови, у чијем зиду се налази један слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија (x320).

4.2.5. Синаптофизин имунореактивност

4.2.5.1. Први триместар

У јетрама ембриона ни у једној структури није идентификована синаптофизин имунореактивност. У јетрама фетуса, изузетно ретко, идентификована је синаптофизин имунореактивност у појединачним нервним влакнима у зиду огранака портне вене, али само у пределу хилуса (слика 4.28А), док у мањим портним просторима (слика 4.28Б), као ни у осталим структурама, није идентификована (табела 4.2).



Слика 4.28. Синаптофизин имунореактивност у јетри фетуса у првом триместру. А) У зиду огранка портне вене, у пределу хилуса, уочава се синаптофизин имунореактивно нервно влакно (танка стрелица) (x640). Б) У крвним судовима портног простора, ни у околним структурама, није идентификована синаптофизин имунореактивност (x200).

4.2.5.2. Други триместар

У другом триместру синаптофизин имунореактивност у јетри фетуса је веома изражена. Њено присуство је превасходно везано за снопове нервних влакана и појединачна нервна влакна у портним просторима (слика 4.29А-Б). Већи снопови споменутих нервних влакана присутни су у везивном ткиву између крвних судова (слика 4.29А) и чешће у близини артеријских огранака, пре свега у великим портним просторима (слика 4.29Б). У већим и средњим портним просторима, у зиду интерлобуларних вена, појединачна синаптофизин позитивна нервна влакна присутна су на граници између тунике медије и тунике адвентиције (слика 4.29В). У мањим портним просторима, споменута влакна се простиру непосредно или веома близу ендотела од којег их одваја један слој ћелија (слика 4.29Г). Ова нервна влакна, на уздужном пресеку, имају линеаран ток, у виду линија са варикозним проширењима. У најмањим портним про-

сторима у зиду интерлобуларне вене уочавају се веома танка појединачна синаптофизин позитивна нервна влакна тачкастог изгледа (слика 4.29Д, Ђ, табела 4.2).

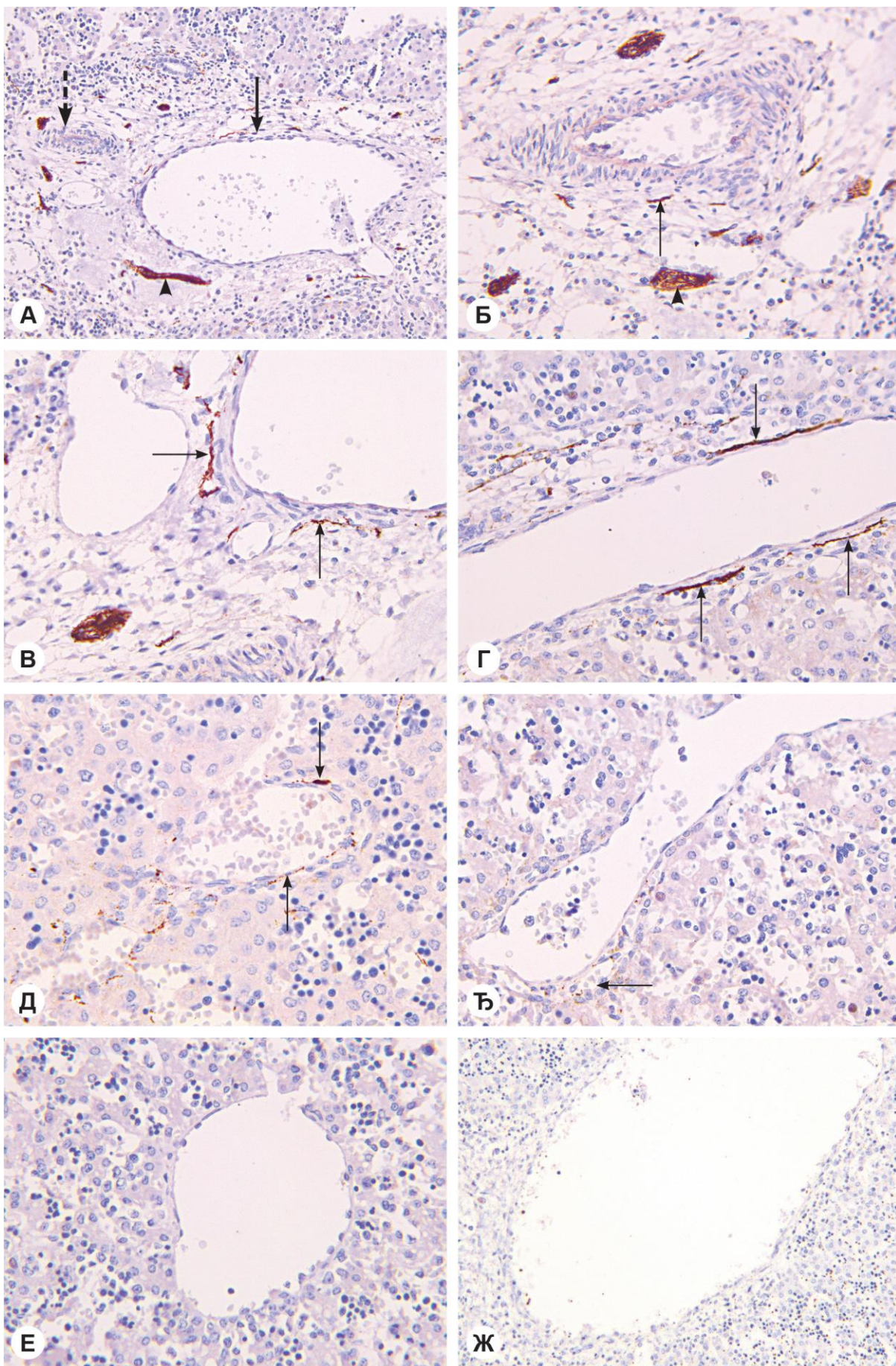
Што се тиче одводних венских судова, у њиховом зиду, без обзира на величину лумена и дебљину зида, нису идентификована синаптофизин имунореактивна нервна влакна (слика 4.29Е, Ж, табела 4.2).

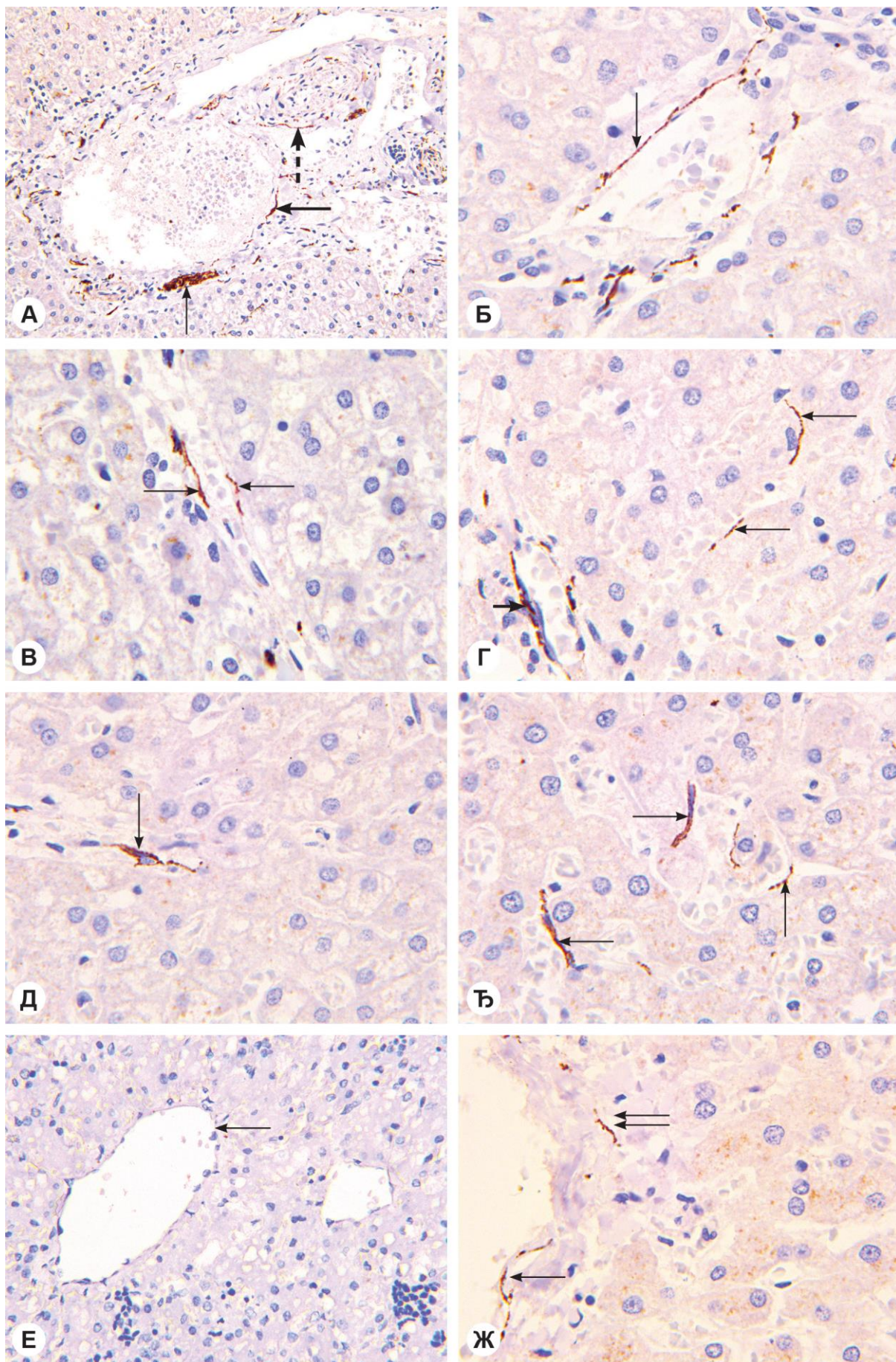
4.2.5.3. Трећи триместар

У трећем триместру синаптофизин имунореактивност у јетри фетуса показује већу заступљеност. У портним просторима (слика 4.30А, Б) она је присутна у сноповима и њиховим огранцима, који дубље залазе у зид како артеријских, тако и венских судова (слика 4.30А). Синаптофизин имунореактивна нервна влакна присутна су и у најмањим интерлобуларним венама, где се често, у виду линеарних, варикозно проширених структура срећу у субендотелном подручју (слика 4.30Б). Синаптофизин позитивна нервна влакна уочавају се и дубље у лобулусу јетре, перисинусоидно, где су локализована у зиду терминалних портних и инлет венула (слика 4.30В, Г), или у зиду синусоида (слика 4.30Г-Ђ).

У зиду мањих и средњих централних вена, синаптофизин позитивна нервна влакна нису идентификована, док су у зиду већих изузетно ретка (слика 4.30Е). Међутим, у дебљем зиду већих венских одводних судова (сублобуларне и колекторне вене) веома танка синаптофизин имунореактивна нервна влакна, са варикозним проширењима, срећу се како субинтимално тако и даље – у адвентицији (слика 4.30Ж, табела 4.2).

Слика 4.29. Синаптофизин имунореактивност у јетри фетуса у другом триместру. А) У портном простору средње величине уочавају се синаптофизин позитивна појединачна нервна влакна или нервна влакна у сноповима (врх стрелице) у везиву портног простора; већи број снопова присутан је око глаткомишићног слоја интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица), док се појединачна кратка нервна влакна вијугавог тока налазе у субендотелном подручју интерлобуларне вене (стрелица) (x200). Б) У околини артерије већег портног простора присутни су снопови синаптофизин позитивних нервних влакана (врх стрелице), чије гране се, у виду појединачних влакана, налазе између мишићног слоја и адвентиције (танка стрелица) (x320). В) Појединачни огранци синаптофизин позитивних нервних влакана, са „варикозним“ проширењима (танке стрелице), локализовани су на граници мишићног слоја и адвентиције интерлобуларне вене (x400). Г) Уздужни пресек мање интерлобуларне вене, у чијем се зиду субинтимално уочавају три синаптофизин позитивна нервна влакна са варикозним проширењима (танке стрелице) (x400). Д) У мањем портном простору се у субинтималном делу интерлобуларне вене уочавају изузетно танка синаптофизин позитивна нервна влакна (танке стрелице) (x500). Ђ) Изузетно мали портни простор у коме се, уочавају профили тачкастог изгледа попречно пресечених нервних влакана (танка стрелица); у синусоидима није доказана синаптофизин позитивност (x400). Е) У зиду централне вене и у синусоидима изостаје синаптофизин позитивност (x400). Ж) У зиду већег венског одводног суда – сублобуларне вене није идентификована синаптофизин имунореактивност (x200).





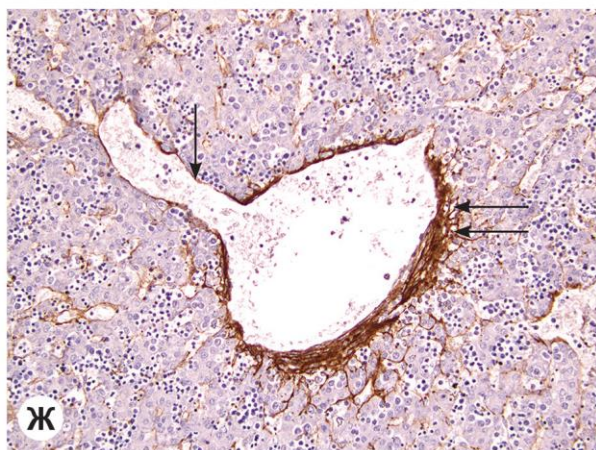
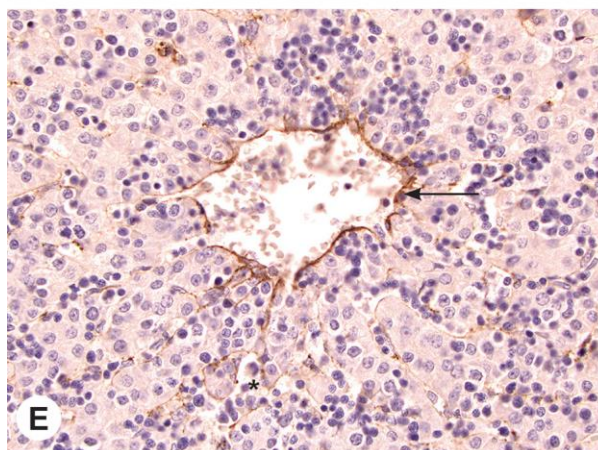
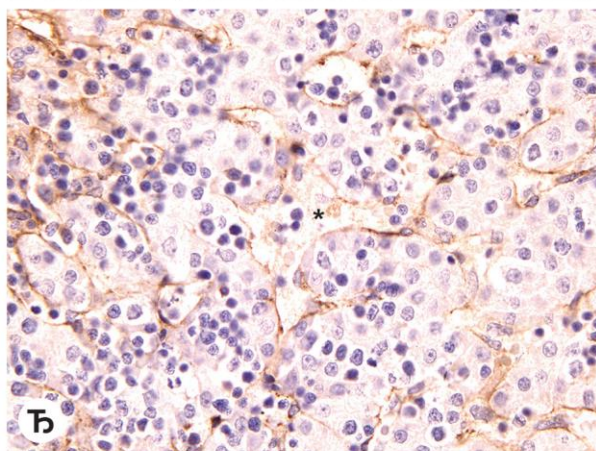
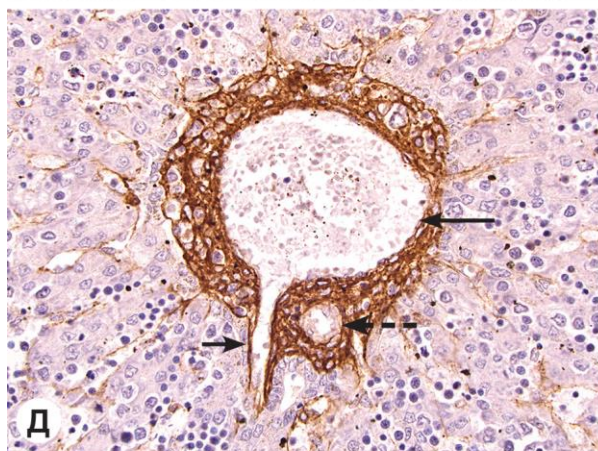
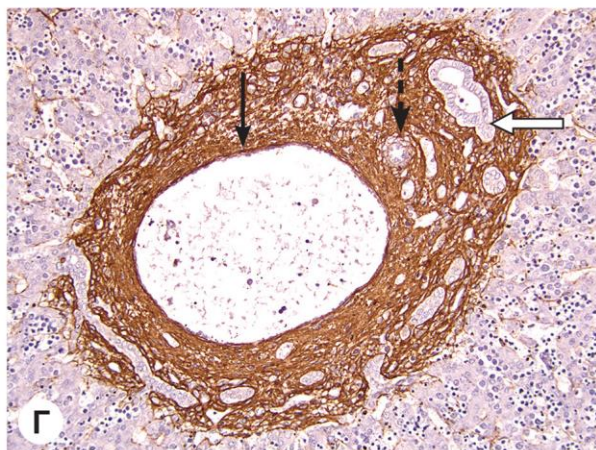
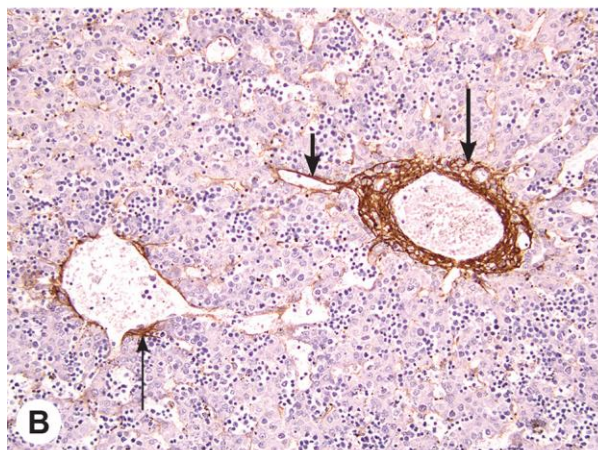
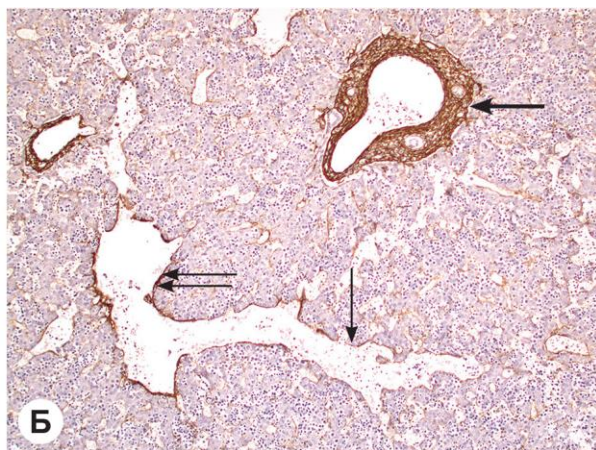
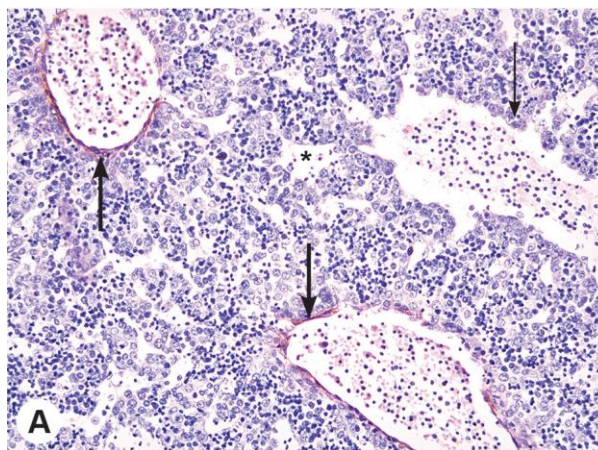
4.2.6. Колаген I имунореактивност

4.2.6.1. Први триместар

Колаген I имунореактивност у јетри крајем ембрионалног периода није посебно изражена. Она се у виду нежних влакана уочава у капсули и местимично у зиду венских портних огранака, у субендотелном подручју (слика 4.31А). У зиду непотпуно формираних (незрелих) централних вена и синусоида колаген I имунореактивност није доказана (слика 4.31А, табела 4.3).

Крајем првог триместра, што одговара почетку фетусног периода развоја, у јетри се бележи значајан пораст колаген I имунореактивности. Колаген I имунореактивна влакна, у виду fine мреже, присутна су у везиву оформљених (комплетираних) портних простора, око портних венских огранака, интерлобуларних артерија и билијарних канала (слика 4.31Б, В, Г, Д). У овом периоду, колаген I имунореактивна влакна се у виду нежних кончастих и слабо имунореактивних структура налазе и око ендотелних ћелија синусоида јетре (слика 4.31Ђ). Колаген I имунореактивна влакна, умереног интензитета, присутна су у танком зиду централних вена (слика 4.31Б, В, Е). Централне вене се уливају у сублобуларне вене у којима се запажају још израженија и заступљенија колаген I имунореактивна влакна (слика 4.31Ж, табела 4.3).

Слика 4.30. Синаптофизин имунореактивност у јетри фетуса у трећем триместру. **А)** Синаптофизин имунореактивност, у снопу нервних влакана, у зиду интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), интерлобуларне вене (стрелица) и појединачним нервним влакнима, у оба типа судова (танка стрелица) (x250). **Б)** У зиду интерлобуларне вене, веома малог портног простора, уочавају се субинтимално локализована танка нервна влакна (танка стрелица) тестерастог изгледа (x800). **В)** У зиду крвног суда синусоидног изгледа уочавају се два синаптофизин имунореактивна нервна влакна (танке стрелице) (x800). **Г)** Нешто дебља синаптофизин имунореактивна нервна влакна у зиду терминалне портне или инлет венуле (кратка стрелица) и нешто тања у перисинусоидном простору (танке стрелице) (x800). **Д)** Синаптофизин позитивно нервна влакна (ћелија) (танка стрелица) у перисинусоидном простору (x800). **Ђ)** Синаптофизин позитивна нервна влакна у перисинусоидном простору (танке стрелице) (x800). **Е)** У зиду мање централне вене (десно) синаптофизин имунореактивност није идентификована, док се у већој (лево) једва уочава, у виду изузетно ретких тачкастих структура (танка стрелица) (x400). **Ж)** У зиду дела веће – сублобуларне вене, ретка, веома танка и са варикозним проширењима синаптофизин позитивна нервна влакна су локализована субинтимално (танка стрелица) или у адвентицији (две стрелице) (x800).



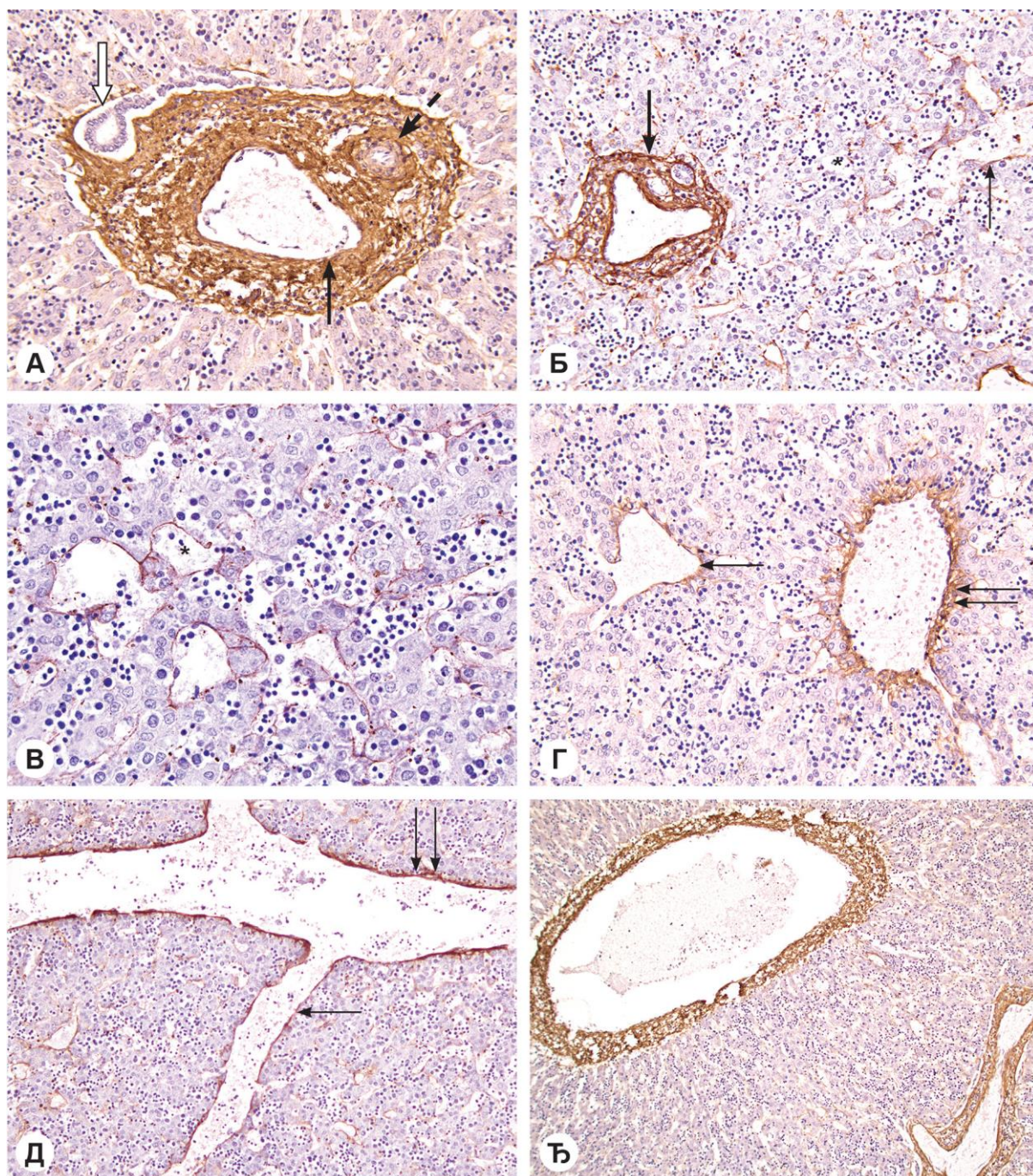
4.2.6.2. Други триместар

Током другог триместра, у јетрама фетуса колаген I имунореактивност је и даље присутна у везивно-ткивним структурама у портним просторима, око и у зидовима интерлобуларних артерија и вена и око билијарних канала (слика 4.32А, Б). У овом периоду, интензивна колаген I имунопозитивност је присутна у перисинусоидном простору (слика 4.32Б, В), у танком зиду централних и у везиву нешто дебљег зида сублобуларних вена (слика 4.32Г, Д, Ђ, табела 4.3).

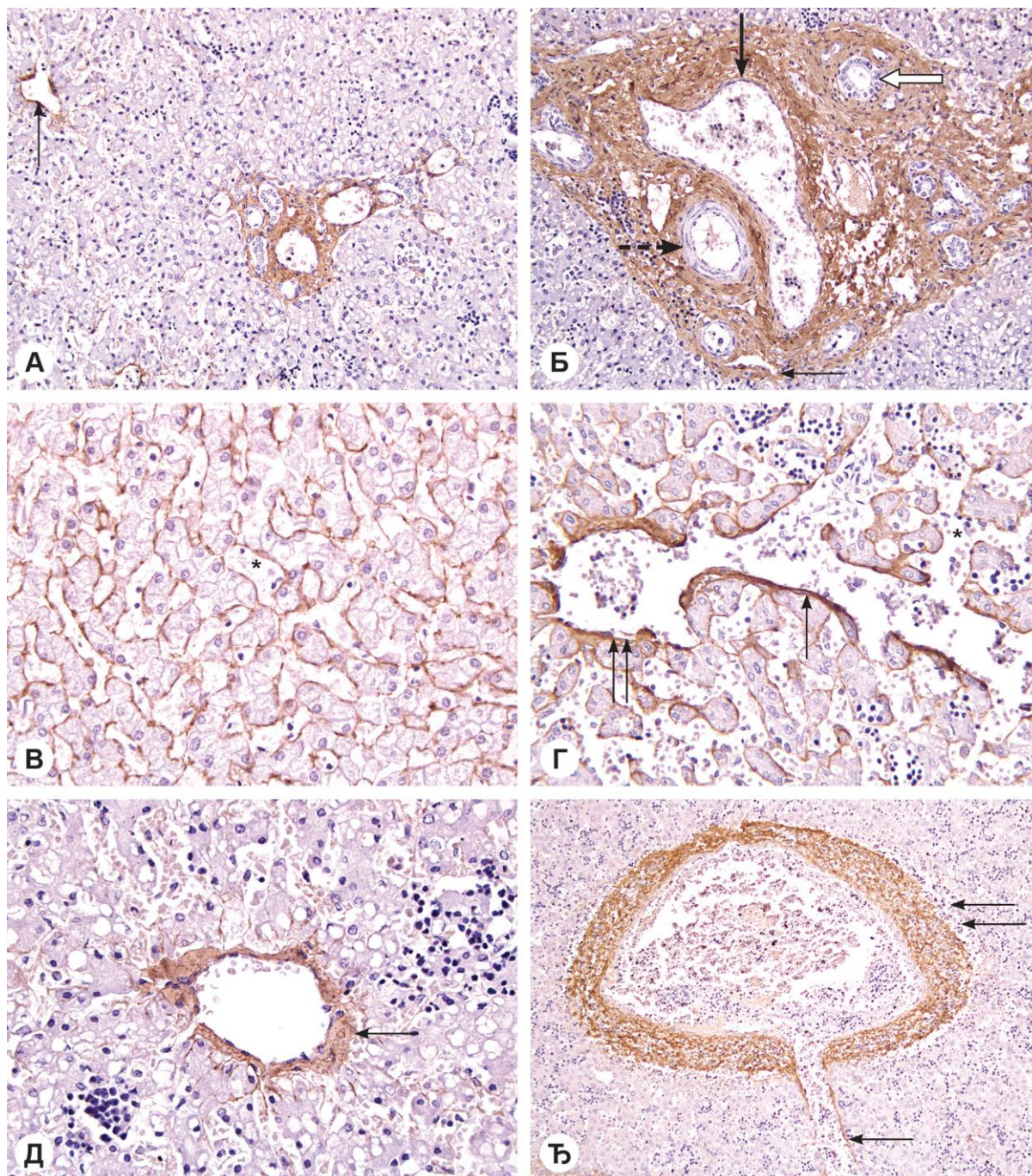
4.2.6.3. Трећи триместар

У последњем триместру, у јетри фетуса, до рођења, колаген I имунореактивност је изузетно изражена, како у везивном ткиву већих, тако и у најмањим портним просторима, око билијарних дуктуса, око и у зидовима интерлобуларних артерија и вена (слика 4.33А, Б). Интензивна колаген I имунореактивност се уочава и у фином везивном ткиву перисинусоидног простора (слика 4.33В). Ова имунопозитивност у зидовима венског одводног система, почевши од централне вене (слика 4.33Г) до сублобуларних и колекторних вена (слика 4.33Г, Д, Ђ), значајно је заступљенија и интензивнија (табела 4.3).

Слика 4.31. Колаген I имунореактивност у јетри ембриона и фетуса у првом триместру. **А)** Крајем ембрионалног периода бележи се местимична и слаба колаген I имунореактивност у танком зиду портних огранака (стрелица), док се у синусоидима (звездица) и формирајућим централним венулама (танка стрелица) не запажа (x200). **Б)** Крајем I триместра, колаген I имунореактивност је присутна у везивном ткиву портних простора (стрелица), у зиду и око портних венских и артеријских огранака и око билијарних канала; осим тога, колаген I имунореактивност је веома слабо изражена у танком зиду централних вена (танка стрелица), док је у зиду већих – сублобуларних вена она присутна у танком, али континуираном слоју (две танке стрелице) (x100). **В)** У истом периоду, у портном простору (стрелица) интензивна колаген I имунореактивност идентификована је у везивном ткиву и око зида портних венских (кратка стрелица) и артеријских огранака и билијарних канала. Колаген I имунореактивност запажа се и у танком зиду централне вене (танка стрелица) (x200). **Г)** У везивном ткиву већег портног простора колаген I имунопозитивност је изузетно изражена, у виду разгранате мреже влакана, око артеријских (испрекидана стрелица) и венских (стрелица) огранака и билијарних канала (бела стрелица) (x200). **Д)** Из интерлобуларне вене (стрелица) мањег портног простора извире терминална портна венула (кратка стрелица), у чијем зиду је забележена колаген I имунопозитивност у виду континуираних танких интензивно пребојених влакана (x400). **Ђ)** Нежна колаген I имунореактивна влакна ограничавају синусоиде јетре (звездица) неправилног облика (x500). **Е)** У мањој централној вени (танка стрелица) јетре првог триместра, колаген I имунореактивност се уочава у виду финих влакана на које налажу ендотелне ћелије; у околним синусоидима (звездица) запажа се местимична колаген I имунопозитивност (x400). **Ж)** У зиду сублобуларне вене (две танке стрелице), колаген I имунопозитивност је знатно израженија; на периферији њене адвентиције колагена влакна се у виду мреже настављају на зидове синусоида (звездица); у зиду синусоида (звездица) и централне вене (танка стрелица) колаген I имунопозитивност је слабије изражена и запажа се у виду веома танког – кончастог слоја (x200).



Слика 4.32. Колаген I имунореактивност у јетри фетуса у другом триместру. **А)** У другом триместру, у јетри фетуса, у већем портном простору, интензивна колаген I имунореактивна влакна запајају се у зиду и око интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и вене (стрелица), као и око билијарних канала (бела стрелица) (x250). **Б)** У истом периоду, слично као код већих, присутна је мрежа колаген I имунопозитивних влакана и у мањим портним просторима (стрелица), исте локализације, као и у синусоидима (звездица) и централним венама (танка стрелица) (x250). **В)** У синусоидима (звездица) јетре колаген I имунореактивност је слабо изражена, у виду кончастих структура, које местимично или у целости ограничавају синусоиде (x400). **Г)** Колаген I имунореактивност је израженија у зиду сублобуларне (две танке стрелице) у односу на централну вену (танка стрелица) (x250). **Д)** Интензитет колаген I имунопозитивности је упадљивији у већој (две танке стрелице) у односу на мању централну вену (танка стрелица) (x160). **Ђ)** Дебели зид сабирне вене (лево) у потпуности је прожет колаген I имунореактивним влакнима (x100).



Слика 4.33. Колаген I имунореактивност у јетри фетуса у трећем триместру. **А)** У везивном ткиву мањег портног простора уочава се интензивна колаген I имунореактивност, док су у зиду централне вене (танка стрелица) колаген I имунопозитивна влакна мање заступљена (x200). **Б)** Интензивна колаген I имунопозитивна влакна хомогене структуре присутна су у великом портном простору, како у зиду интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), интерлобуларне вене (стрелица), лимфних судова (танка празна стрелица) и билијарних канала (бела стрелица) тако и око њих. (x200). **В)** У зиду синусоида (звездица) колаген I имунореактивност је интензивна и континуирана (x400). **Г)** Интензивна колаген I имунопозитивност синусоида (звездица) наставља се на зид како мањих (танка стрелица), тако и већих централних вена (две танке стрелице) (x320). **Д)** Колаген I имунореактивност захвата шири појас зида централне вене (танка стрелица) (x400). **Ђ)** У зиду нешто веће централне вене (танка стрелица), као и у зиду сублобуларне вене (две танке стрелице), уочавају се интензивно пребојена колаген I имунореактивна влакна (x125).

4.2.7. Колаген III имунореактивност

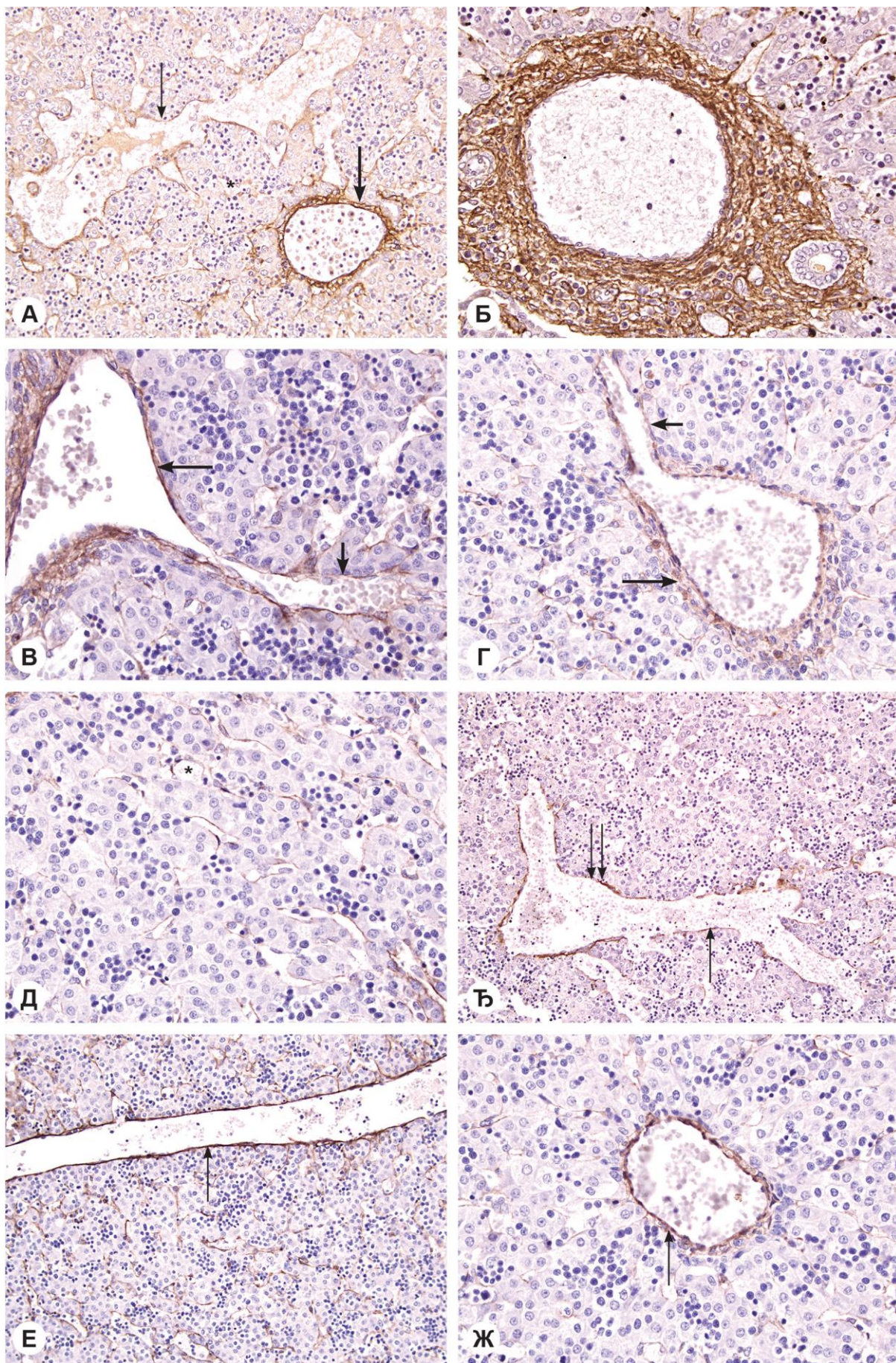
4.2.7.1. Први триместар

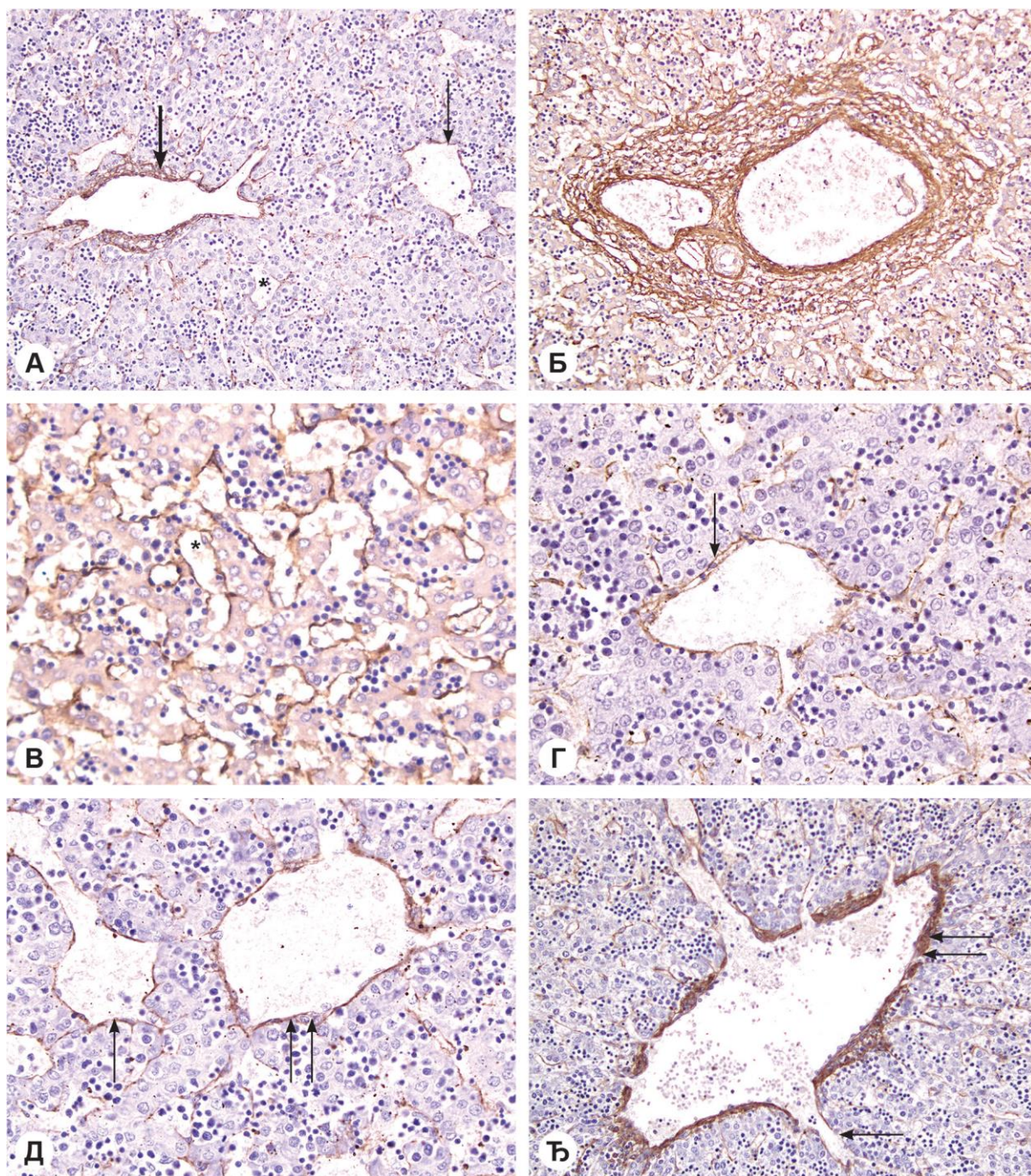
Колаген III имунореактивност у јетри се идентификује крајем ембрионалног периода у везивном ткиву формирајућег портног простора (слика 4.34А). У истом периоду, појединачна танка колаген III имунореактивна влакна се уочавају у зиду формирајућих централних венула и синусоида јетре (слика 4.34А). Од средине првог триместра, колаген III имунореактивност присутна је у виду нежне влакнасте мреже у капсули јетре и периваскуларним структурама. Израженија мрежа ових влакана присутна је у везивном ткиву највећих, скоро у потпуности формираних, портних простора (слика 4.34Б), као и у будућим, нешто мањим, још потпуно неформираним портним просторима, у зиду портних венских огранака и у оскудном везиву које их окружује (слика 4.34В, Г). Колаген III имунореактивност, у виду изузетно танког, скоро континуираног слоја налази се у зиду синусоида (слика 4.34Д) и незрелих централних вена (слика 4.34Ђ, Е, Ж, табела 4.3).

4.2.7.2. Други триместар

У другом триместру, у јетри фетуса, уочавају се формирани портни простори, у којима је колаген III имунореактивност знатно израженија, а ова влакна се налазе у субендотелном слоју интимае, у медији и адвентицији венских и артеријских огранака, као и око жучних канала и у везиву које окружује све наведене структуре (слика 4.35А, Б). Колаген III имунореактивност јасно је уочљива перисинусоидно (слика 4.35В) и у танком зиду централних вена (слика 4.35Г, Д), као и у везивним влакнима нешто дебљег зида сублобуларних вена (слика 4.35Ђ, табела 4.3).

Слика 4.34. Колаген III имунореактивност у јетри ембриона и фетуса у првом триместру. А) Фина мрежа колаген III имунореактивних влакана у портном простору (стрелица) и појединачна танка колаген III имунореактивна влакна у зиду синусоида (звездица) и формирајућих централних венула (танка стрелица) јетре крајем ембрионалног периода, у 7. недељи (x250). Б) Крајем првог триместра, у везиву формираних портних простора јетре и у зиду крвних судова и билијарних канала присутна је развијена мрежа колаген III имунореактивних влакана (x400). В и Г) У истом периоду, али у мањим, још некомплетираним портним просторима, колаген III имунореактивност, у виду нежних – слабо имунореактивних влакана, присутна је у интерлобуларним венама (стрелице) и њиховим огранцима – терминалним портним венулама (кратке стрелице) (x400). Д) У зиду синусоида (звездица) колаген III имунореактивност је слаба и местимично изражена (x400). Ђ) Колаген III имунореактивност слабијег интензитета се запажа у мањим (танка стрелица) централним венама и њиховим притокама, као и већим централним венама (две танке стрелице) (x200). Е) Крајем I триместра у зиду централне вене (танке стрелице) на уздужном (x200) и попречном Ж) (x400) пресеку, јасно се уочава колаген III имунореактивност.



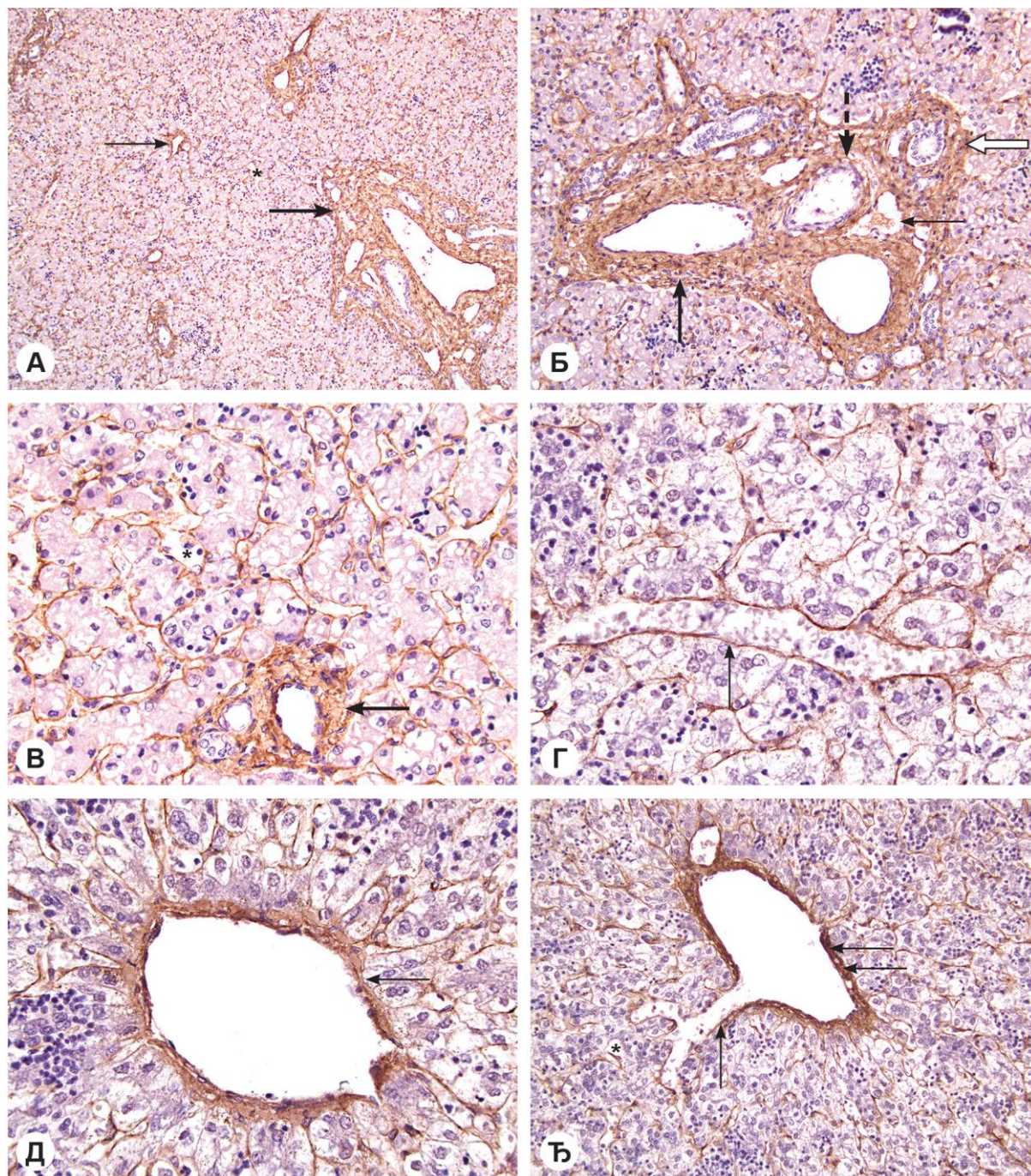


Слика 4.35. Колаген III имунореактивност у јетри фетуса у другом триместру. А) Колаген III имунореактивна влакана су заступљенија у портном простору (стрелица) него у зиду синусоида (звездица) и централне вене (танка стрелица) (x200). Б) Изузетно развијена мрежа колаген III имунореактивних влакана у портном простору, која је гушћа у зиду артеријских и венских крвних судова у односу на окружујуће везивно ткиво (x200). В) У зиду синусоида (звездица) јетре бележи се интензивна колаген III имунореактивност (x400). Г) Колаген III имунореактивност умереног интензитета се запажа у мањој централној вени (танка стрелица) (x200). Д) У већој централној (две танке стрелице) колаген III имунореактивна влакна су нешто израженија у односу на мању централну вену (танка стрелица) (x400). Ђ) У зиду сублобуларне вене (две танке стрелице) уочавају се распрострањенија колаген III имунопозитивна влакна у односу на зидове њених притока – централних вена (танка стрелица) (x200).

Табела 4.3. Дистрибуција и заступљеност колагена I, III, IV и ламинина у јетри људских ембриона и фетуса, подељених према триместрима

Периоди и структуре	Маркери			
	Колаген I	Колаген III	Колаген IV	Ламинин
I ТРИМЕСТАР				
– Ембрионални период				
Капсула	+	++	++	+
Портни простор				
Везивно ткиво портног простора	–	++	+	–
Артерије	–		+	–
Зид интралобуларне вене	+	++	+	–
Жучни канал	–			
Нерви				
Лобурус				
Зид синусоида и Дисеов простор	–	+	++	+/-
Централна вена	–	+	+	–
– Фетусни период				
Капсула	+	++	++	+
Портни простор				
Везивно ткиво портног простора	+	+++	+	–
Артерије	+	+++	+	–
Зид интралобуларне вене	+	+++	+	–
Жучни канал	+	+++		–
Нерви				–
Лобурус				
Зид синусоида и Дисеов простор	+/-	++	++	+/-
Централна вена	+	++	+	–
II ТРИМЕСТАР				
Капсула	++	+++	++	+
Портни простор				
Везивно ткиво портног простора	++	+++	–	–
Артерије	++	+++	+++	+++
Зид интралобуларне вене	++	+++	+++	+++
Жучни канал	++	+++	+	++
Нерви			++	++
Лобурус				
Зид синусоида и Дисеов простор	+	+++	++	–
Централна вена	++	+++	++	–
III ТРИМЕСТАР				
Капсула	+++	+++	++	+
Портни простор				
Везивно ткиво портног простора	+++	+++	–	–
Артерије	+++	+++	+++	+++
Зид интралобуларне вене	+++	+++	+++	+++
Жучни канал	++	+++	+	++
Нерви			++	++
Лобурус				
Зид синусоида и Дисеов простор	++	+++	+++	–
Централна вена	+++	+++	+++	–

Интензитет имунохистохемијске реакције:
одсутан, - ; +/- веома низак; +, низак; ++, средњи; +++, висок.



Слика 4.36. Колаген III имунореактивност у јетри фетуса у трећем триместру. **А)** Интензивна колаген III имунореактивност се бележи у везиву портних простора (стрелица), синусоида (звездица) и централних вена (танка стрелица) (x100). **Б)** Интензивна колаген III имунопозитивност се запажа у везивном ткиву великог портног простора око крвних судова – интерлобуларних вена (стрелица), артерија (испрекидана стрелица) и лимфних судова (танка празна стрелица), као и билијарних канала (бела стрелица) (x200). **В)** Крајем трећег триместра, колаген III имунореактивност је интензивна у мањем портном простору (стрелица) и у зиду синусоида (звездица) (x400). **Г)** У зиду мање централне вене, на уздужном пресеку (танка стрелица) уочава се интензивна колаген III имунопозитивност (x400). **Д)** Зид веће централне вене (танка стрелица) садржи изражену колаген III имунопозитивност, у широком појасу (x400). **Ђ)** Зид сублобуларне вене садржи многобројна, интензивно имунореактивна колагена влакна типа III, која се протежу кроз читав зид сублобуларне вене (две танке стрелице); у њеној притоци (танка стрелица), као и синусоидима (звездица) колаген III имунореактивна влакна су присутна у једном слоју (x200).

4.2.7.3. Трећи триместар

У трећем триместру, колаген III имунореактивна влакна, у јетри фетуса, интензивније су обојена и показују већу заступљеност. У том периоду, колаген III имунореактивна влакна су, уз пораст имунореактивности, и даље присутна у капсули јетре. До краја III триместра, у јетрама зрелих фетуса долази до пораста присуства колаген III имунореактивних влакана у везивном ткиву портних простора, у зиду интерлобуларних артерија и вена, као и у базалној ламини билијарних канала (слика 4.36А, Б, В). Поред тога, интензивна колаген III имунопозитивност присутна је у синусоидима (слика 4.36В), зидовима централних (слика 4.36Г, Д) и сублобуларних вена (слика 4.36Ђ, табела 4.3).

4.2.8. Колаген IV имунореактивност

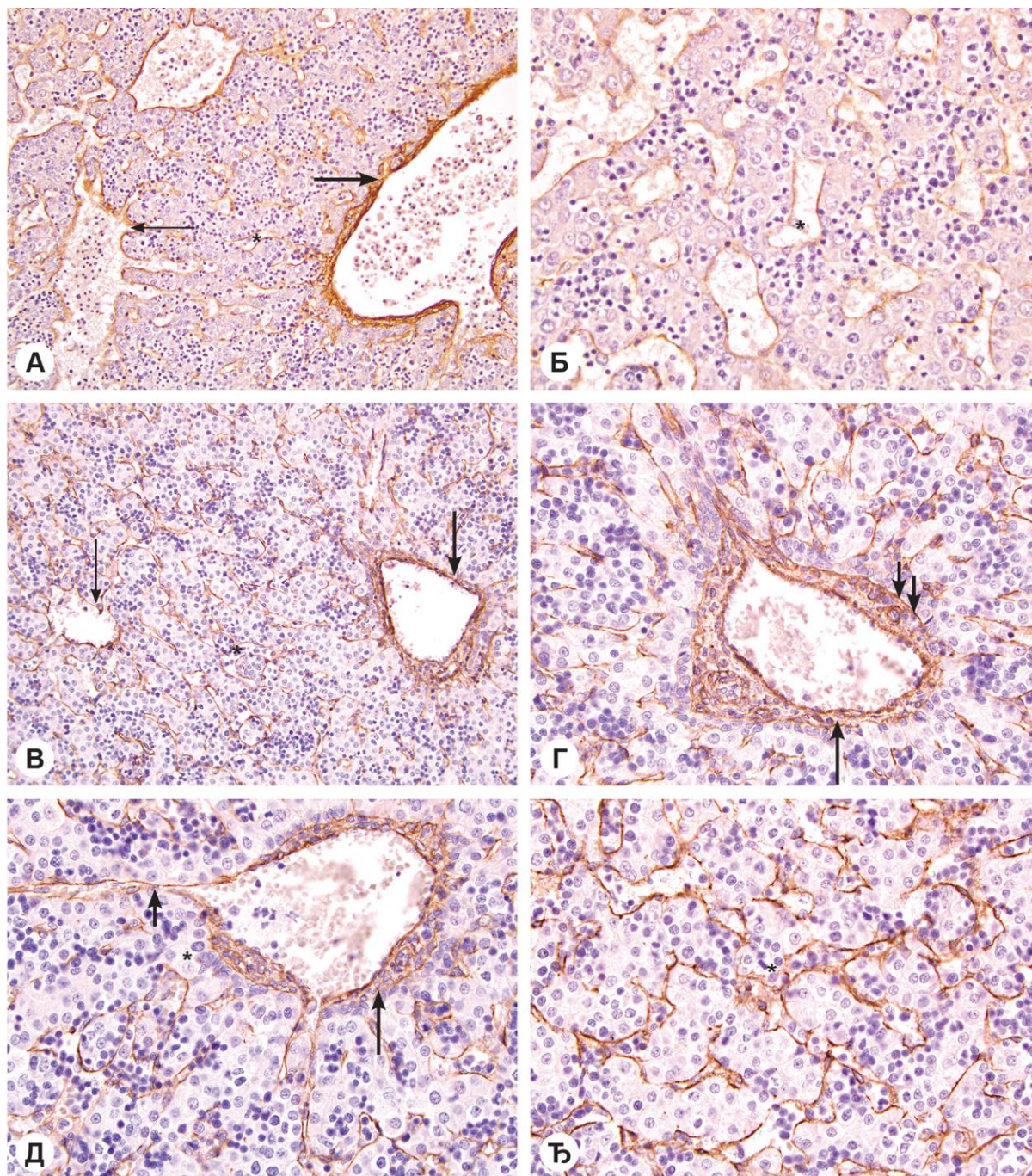
4.2.8.1. Први триместар

Колаген IV имунореактивност у јетри крајем ембрионалног периода је присутна у капсули и у зиду свих васкуларних структура (слика 37А), укључујући и перисинусоидне просторе (слика 4.37Б).

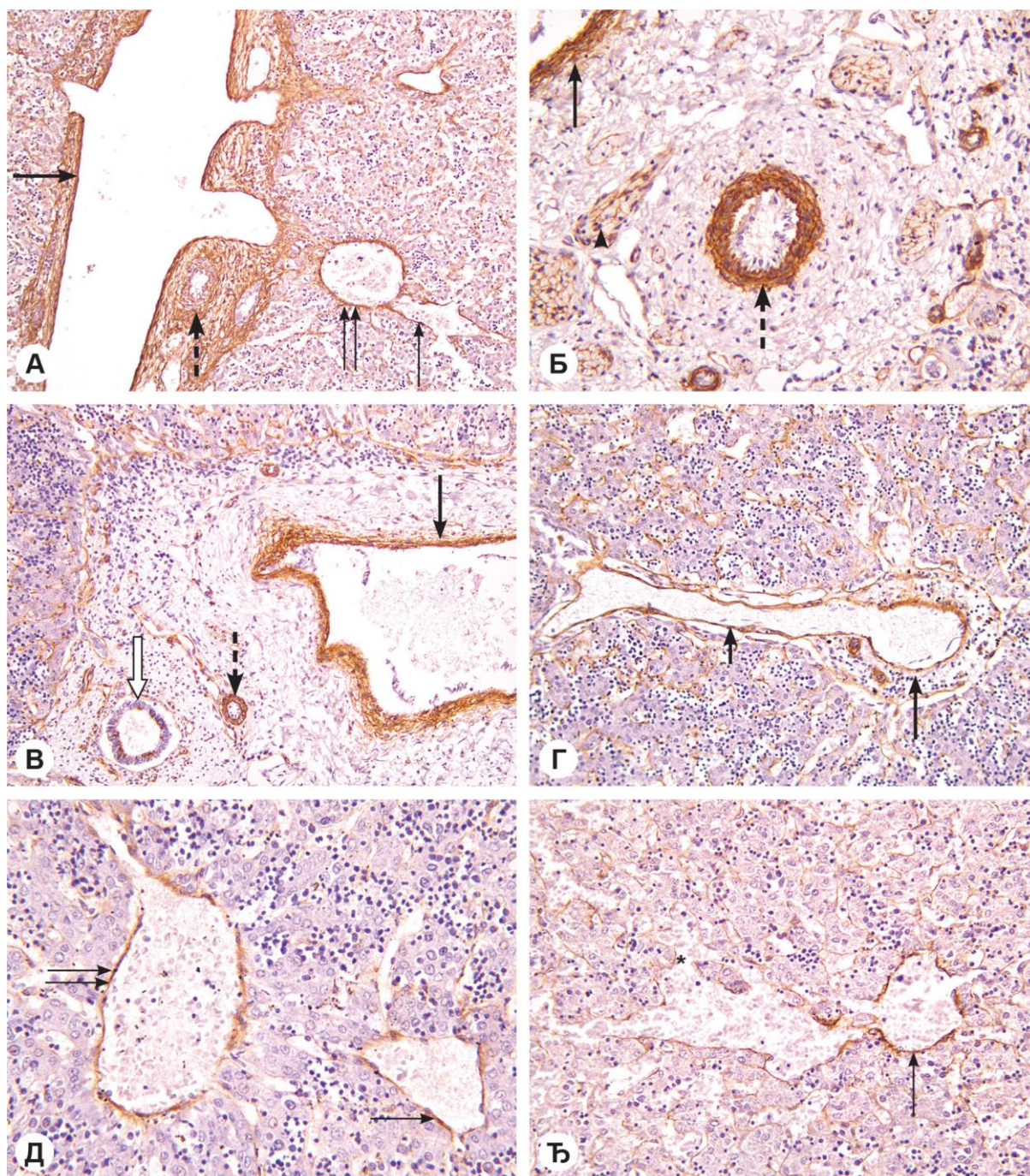
Крајем првог триместра, у оскудном везивном ткиву портног простора се запажа колаген IV имунопозитивност (слика 4.37В, Г, Д). Истовремено, нешто јачи интензитет имунореактивности испољавају интерлобуларне вене и њихови огранци – терминалне портне венуле (слика 4.37Г, Д). Интензивна колаген IV имунопозитивност се бележи у танком зиду централних вена (слика 4.37В) и перисинусоидно (слика 4.37Ђ, табела 4.3).

4.2.8.2. Други триместар

Почетком другог триместра, интензивна колаген IV имунореактивност је дифузно присутна у везивном ткиву портних простора (слика 4.38А), са нешто јачим интензитетом у зиду портних венских и артеријских огранака (слика 4.38А). Крајем другог триместра дифузно распоређена колаген IV имунореактивност у везивном ткиву портних простора значајно опада (слика 4.38Б, В), док се интензивна колаген IV имунопозитивност задржава у зидовима интерлобуларних артерија (слика 4.38Б, В), интерлобуларних вена (слика 4.38Б, В) и њихових огранака (слика 4.38Г). Осим тога, колаген IV имунореактивност, бележи се и у нервним влакнима портног простора (слика 4.38Б). Нешто слабија колаген IV имунореактивност је присутна у зидовима синусоида (слика 4.38Ђ), док у одводним венама, почевши од централне вене (слика 4.38Д, Ђ) до сублобуларних и колекторних вена, интензитет колаген IV имунореактивности се појачава (табела 4.3).



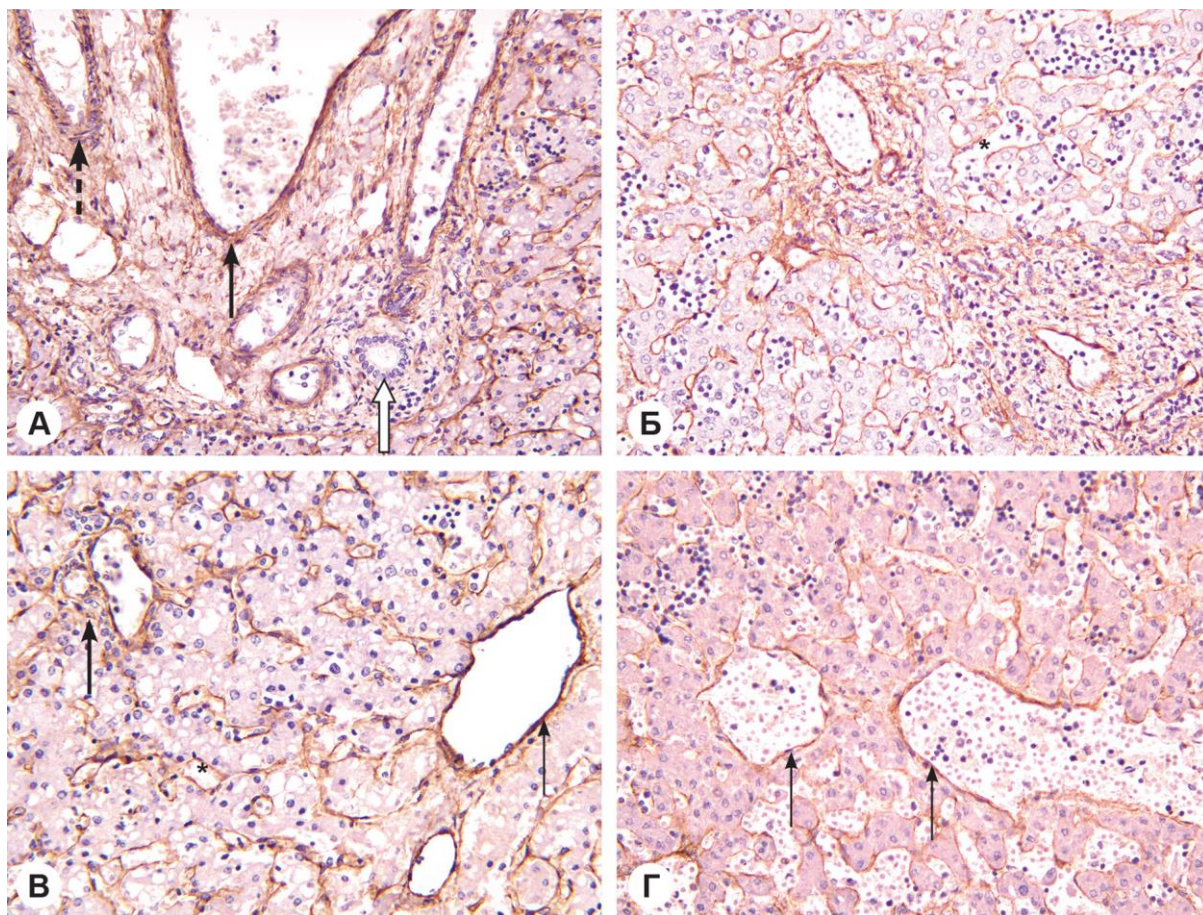
Слика 4.37. Колаген IV имунореактивност у јетри ембриона и фетуса у првом триместру. **А)** Крајем ембрионалног периода, колаген IV имунореактивност присутна је у портном простору (стрелица), у оскудном везиву, у виду таласастих влакана, у зиду портних венских огранака, у танком зиду формирајућих централних вена (танка стрелица) и синусоидним капиларима (звездица), где је слабог интензитета (x200). **Б)** Колаген IV имунореактивност умереног интензитета се уочава у зидовима синусоида (звездица) (x400). **В)** Крајем првог триместра, у јетри фетуса, запажа се пораст колаген IV имунореактивности у портном простору, нарочито у зиду интерлобуларне вене (стрелица), у зиду централне венуле (танка стрелица) и у зиду синусоида (звездица) (x200). **Г)** У истом периоду, у везивном ткиву већег портног простора запажа се умерена колаген IV имунореактивност, нарочито изражена у зиду интерлобуларне вене (стрелица) и у нивоу перипортне граничне мембране (две кратке стрелице) (x400). **Д)** Колаген IV имунореактивност се са зида интерлобуларне вене (стрелица) наставља на терминалне портне венуле (кратка стрелица) и синусоиде (звездица) (x400). **Ђ)** У зидовима синусоида неправилног облика (звездица), присутна су колаген IV имунореактивна влакна високог степена имунореактивности (x400).



Слика 4.38. Колаген IV имунореактивност у јетри фетуса у другом триместру. **А)** Почетком другог триместра, у великом портном простору јетре, на уздужном пресеку се уочава колаген IV имунореактивност равномерно заступљена у његовом везивном ткиву, у зиду уздужно пресечене интерлобуларне вене (стрелица) и интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица); зид мање централне вене (танка стрелица) показује слабију колаген IV имунореактивност у односу на зид веће централне вене (две танке стрелице) у коју се улива (x125). **Б)** У истом периоду, у хилусном портном простору, колаген IV имунореактивност присутна је у зиду интерлобуларне вене (стрелица), интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и њеним огранцима, и у нервним влакнима (глава стрелице) (x320). **В)** Средином другог триместра (20. недеља развоја), у већем портном простору, колаген IV имунореактивност, израженог интензитета, присутна је у зиду интерлобуларне вене (стрелица), интралобуларне артерије (испрекидана стрелица), у зиду мањих крвних судова и лимфатика и у базалној мембрани билијарних канала (бела стрелица) (x200). **Г)** У истом периоду, у зиду интерлобуларне вене (стрелица) и терминалне портне венуле (кратка стрелица), на уздужном пресеку уочава се интензивна колаген IV имунореактивност (x200). **Д)** Крајем другог триместра, у зиду мање (танка стрелица) и веће (две танке стрелице) централне вене запажа се колаген IV имунореактивност средњег интензитета (x320). **Ђ)** Истовремено, зидови синусоида (звездица) показују нешто слабију колаген IV имунореактивност у односу на зид централне вене (танка стрелица) (x250).

4.2.8.3. Трећи триместар

У фетусној јетри у трећем триместру колаген IV имунореактивност готово је идентична са већ описаним налазом на крају другог триместра. Везивно ткиво портних простора показује веома слабу колаген IV имунореактивност, док се у зидовима свих крвних судова (интерлобуларне артерије и вене) у портном простору задржава интензивна колаген IV имунореактивност (слика 4.39А, Б). У портним просторима, око билијарних канала уочава се колаген IV имунопозитивна базална ламина (слика 4.39А). Колаген IV имунопозитивност је и даље веома изражена у перисинусоидном простору и у зидовима централних и сублобуларних вена, без обзира на њихову величину (слика 4.39В, Г, табела 4.3).



Слика 4.39. Колаген IV имунореактивност у јетри фетуса у трећем триместру. А) Средином трећег триместра, у већем портном простору, колаген IV имунореактивност је присутна у зиду интерлобуларне вене (стрелица) и интралобуларне артерије (испрекидана стрелица), док је веома слабо заступљена око билијарног канала (бела стрелица) (x250). Б) У везивном ткиву и у зиду крвних судова мањег (горе) и већег (доле десно) портног простора запажа се колаген IV имунореактивност; она је изражена и у зиду синусоида (звездица) (x250). В) Крајем трећег триместра (37. недеља развоја), интензивна колаген IV имунореактивност у мањем портном простору (стрелица), у зиду централне вене (танка стрелица) и синусоида (звездица) (x320). Г) Зидови централних вена (танке стрелице) на попречном и уздужном пресеку садрже колаген IV имунореактивна влакна (x250).

4.2.9. Ламинин имунореактивност

4.2.9.1. Први триместар

Крајем ембрионалног периода ламинин имунореактивност се не запажа у структурама формирајућег портног простора ни у централној вени (слика 4.40А). У овом периоду, ламинин имунореактивност је слабо изражена и местимично се уочава у зиду синусоида јетре (слика 4.40Б). Нешто касније, крајем првог триместра, највећи интензитет ламинин имунореактивности показују зидови интерлобуларних вена и њихових огранака (слика 4.40В, Г). У портном простору, интензивна ламинин имунореактивност се запажа и у зидовима ситних крвних судова. У истом периоду, запажају се поједини хепатоцити који испољавају јасну ламинин имунореактивност. Ова имунореактивност се може у виду малих депозита уочити и у перисинусоидним просторима (слика 4.40Д), као и у зидовима мањих и већих централних (слика 4.40Ђ, Е) и сублобуларних вена (слика 4.40Ж, табела 4.3).

4.2.9.2. Други триместар

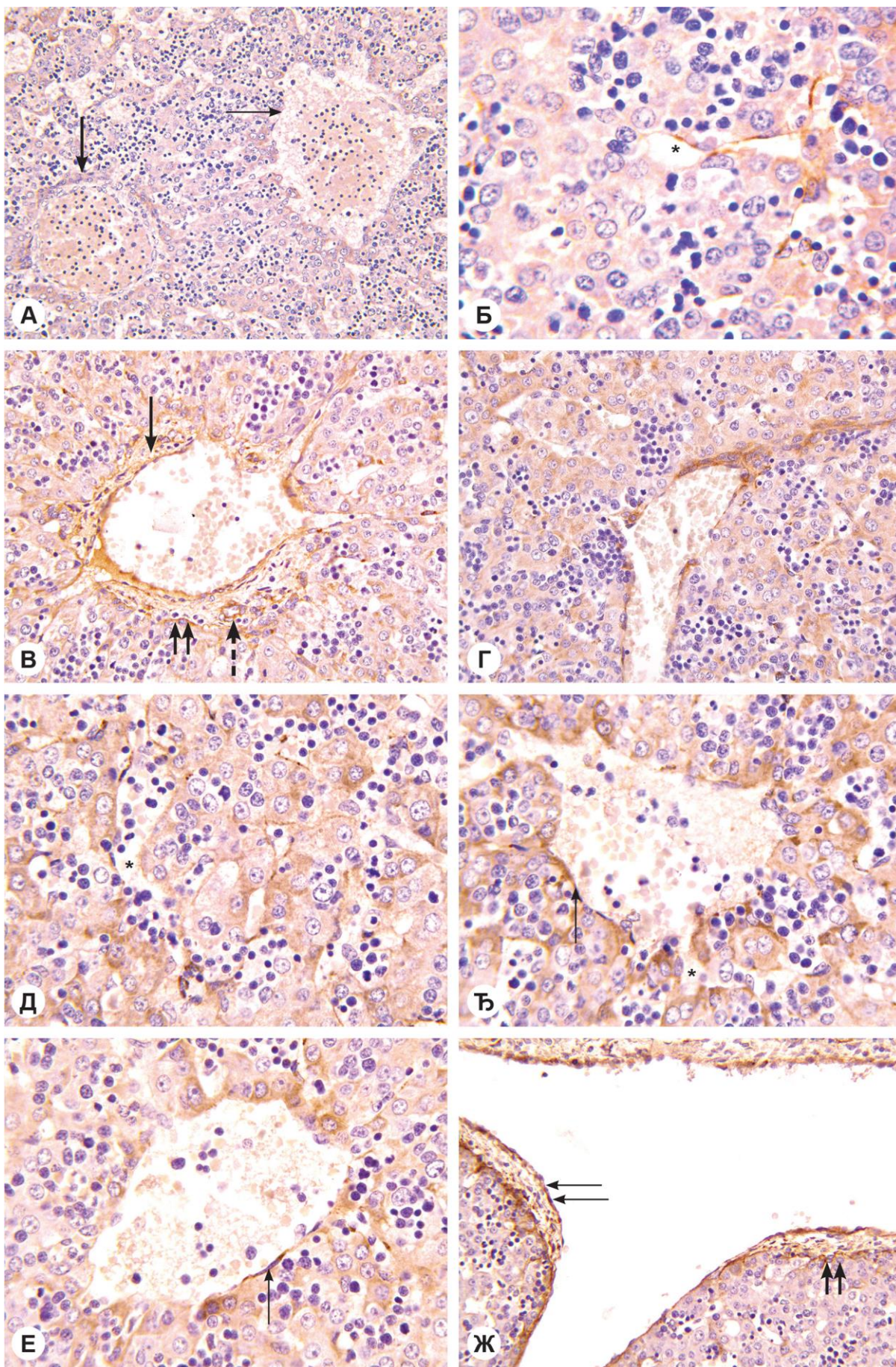
У портном простору јетре фетуса средином другог триместра, интензивна ламинин имунореактивност се запажа у средишњем слоју интерлобуларне артерије и вене, базалној ламини билијарног дуктуса, као и у периферним нервима (слика 4.41А, Б, В, Г). Везивно-ткивна влакна портног простора не испољавају ламинин имунореактивност. У истом периоду, ламинин имунореактивност није присутна у зидовима синусоида и централних вена (слика 4.40Д), али се умерена ламинин имунопозитивност уочава у великим одводним венама. Ова позитивност је најуочљивија у унутрашњем слоју зида великих сублобуларних вена (слика 4.41Ђ, табела 4.3).

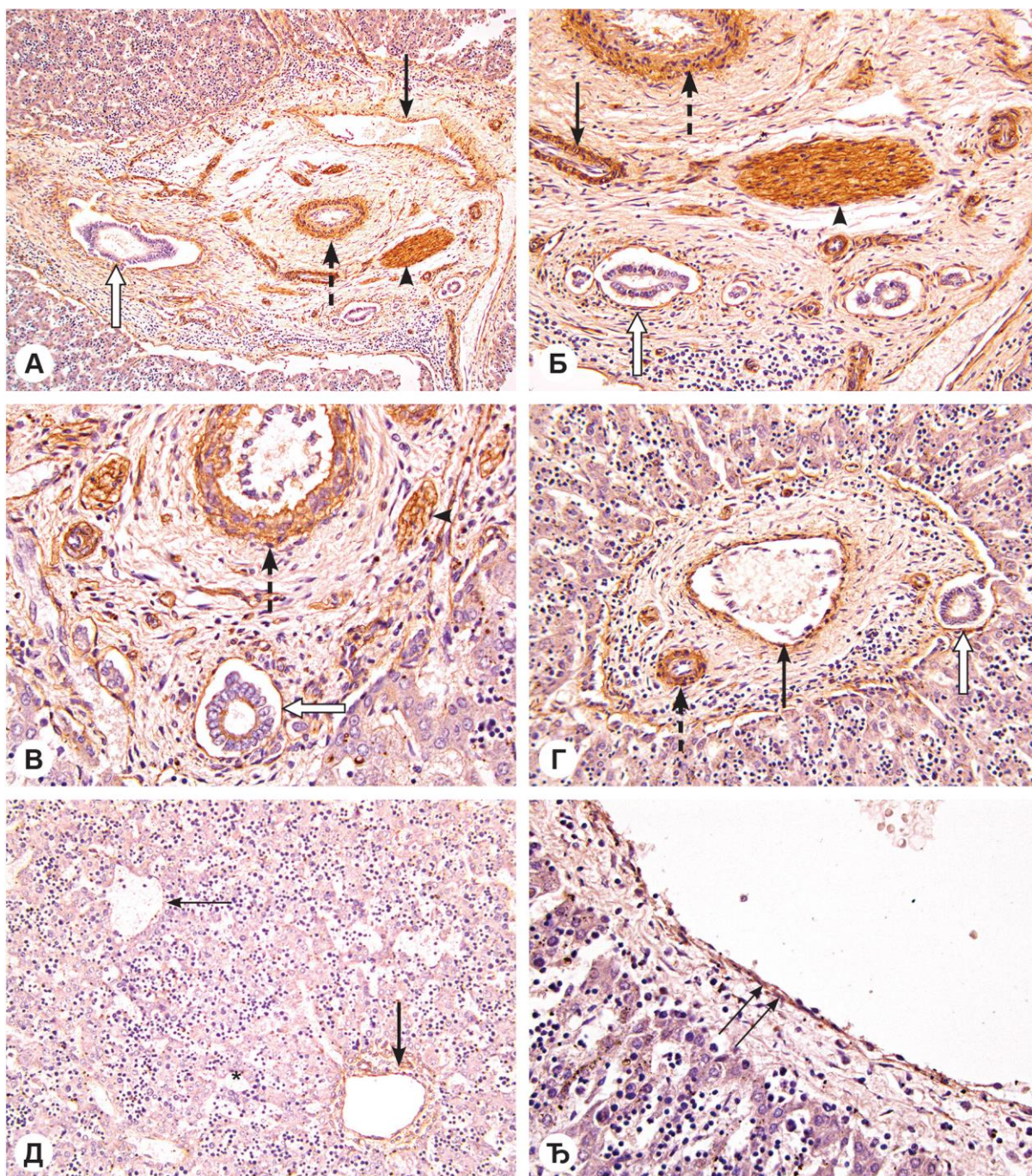
4.2.9.3. Трећи триместар

У трећем, и до краја трећег триместра, у јетрама фетуса задржава се ламинин имунореактивност, идентична као и у јетрама у другом триместру. Везивно ткиво портних простора је потпуно ламинин имунонегативно, па се у њему могу лако уочити ламинин имунореактивни елементи. У овом периоду, интензивна ламинин имунопозитивност се јасно запажа у структурама великог портног простора: интерлобуларној артерији и вени, у базалној мембрани билијарних дуктуса и у периферним нервима (слика 4.42А, Б, В, Г). Интензивна ламинин имунореактивност која са бележи у зиду

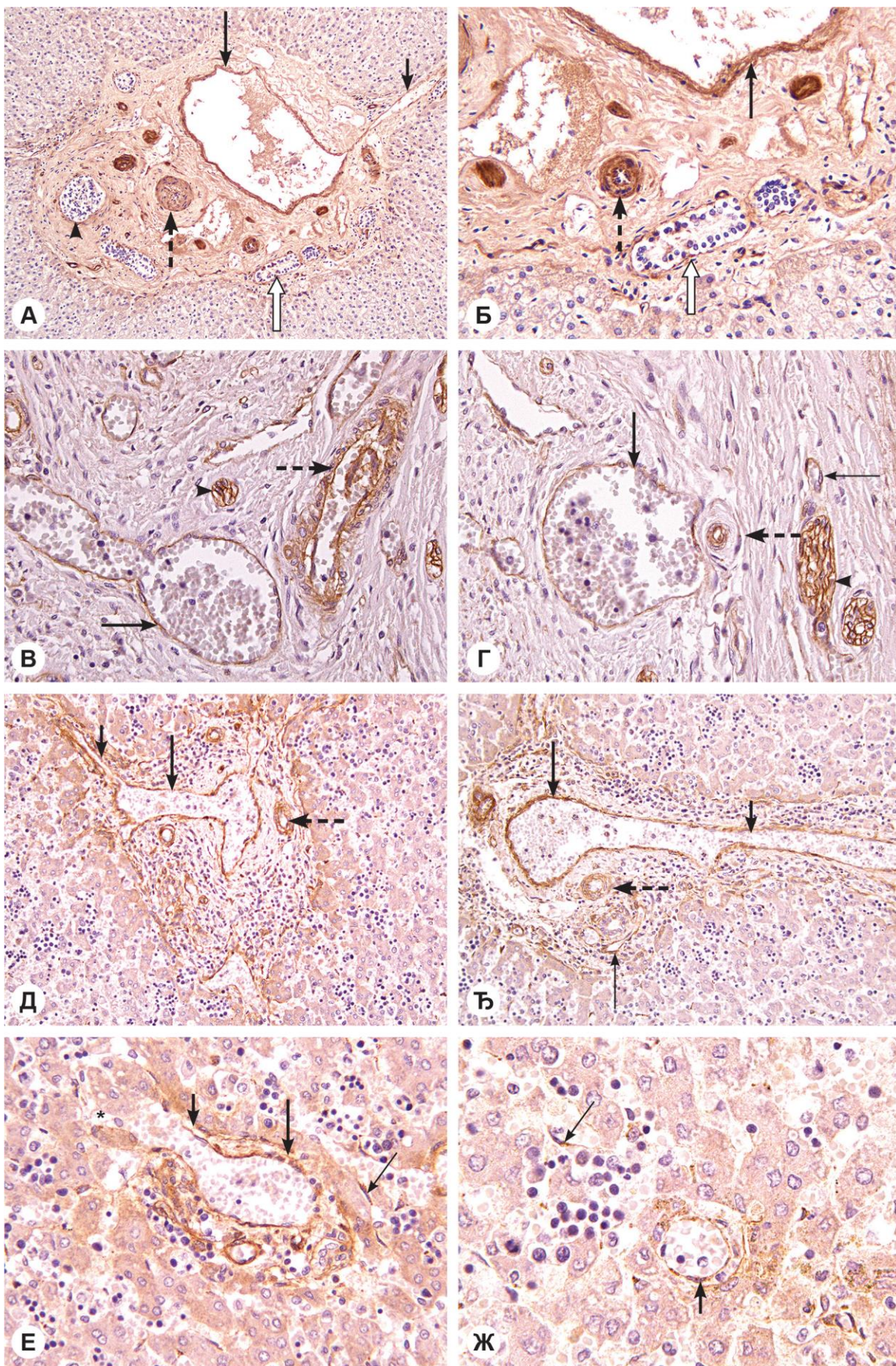
интерлобуларне вене, постепено опада у њеним огранцима – терминалним портним венулама (слика 4.42Ѓ) и готово потпуно нестаје приликом преласка у синусоиде који су имунонегативни (Слика 4.42Д, Ѓ, Е). У паренхиму јетре се могу уочити крвни судови, који по величини одговарају синусоидима, а који испољавају континуирану ламинин имунопозитивност дуж њихових веома танких зидова (слика 4.42Ж). Крајем трећег триместра, у зиду централне вене се запажа ламинин имунопозитивност у виду малих депозита (слика 4.43А), док се у унутрашњем слоју зида мање сублобуларне вене јасно уочава континуирана ламинин имунореактивност (слика 4.43Б, В). У нешто већим сублобуларним венама, ламинин имунопозитивност се уочава око ендотелних ћелија, у субендотелном везивном ткиву, као и у средишњем слоју зида вене (слика 4.43Ѓ, табела 4.3).

Слика 4.40. Ламинин имунореактивност у јетри ембриона и фетуса у првом триместру. А) Крајем ембрионалног периода ламинин имунореактивност се не запажа у структурама формирајућег портног простора (стрелица) ни у централној вени (танка стрелица) (x250). Б) У истом периоду, ретка ламинин имунореактивност се запажа у зиду малог броја синусоида (звездица) (x800). В) У јетри фетуса, у 10. недељи развоја, уочава се незрели портни простор (без дуктуса), у чијем се венском (стрелица) и артеријском (испрекидана стрелица) зиду уочава слаба ламинин имунореактивност; слаба имунореактивност ламинина, кончастог изгледа, присутна је и у нивоу перипортне граничне мембране (две кратке стрелице) (x400). Г) Крајем првог триместра, у танком зиду гране интерлобуларне вене (кратка стрелица) јасно се уочава ламинин имунореактивност (x400). Д) У истом периоду, слаба ламинин имунореактивност се запажа у зидовима синусоида (звездица) (x640). Ѓ и Е) Крајем првог триместра, ламинин имунореактивност испољавају и поједини хепатоцити, али се може, у виду малих депозита, уочити и у перисинусоидном простору (звездица) и у зидовима централних вена (танке стрелице) (x640). Ж) Континуирана ламинин имунореактивност средњег интензитета присутна је у зиду велике сублобуларне вене (две танке стрелице), одакле се шири и у регион перичентралне граничне мембране (две кратке стрелице) (x320).

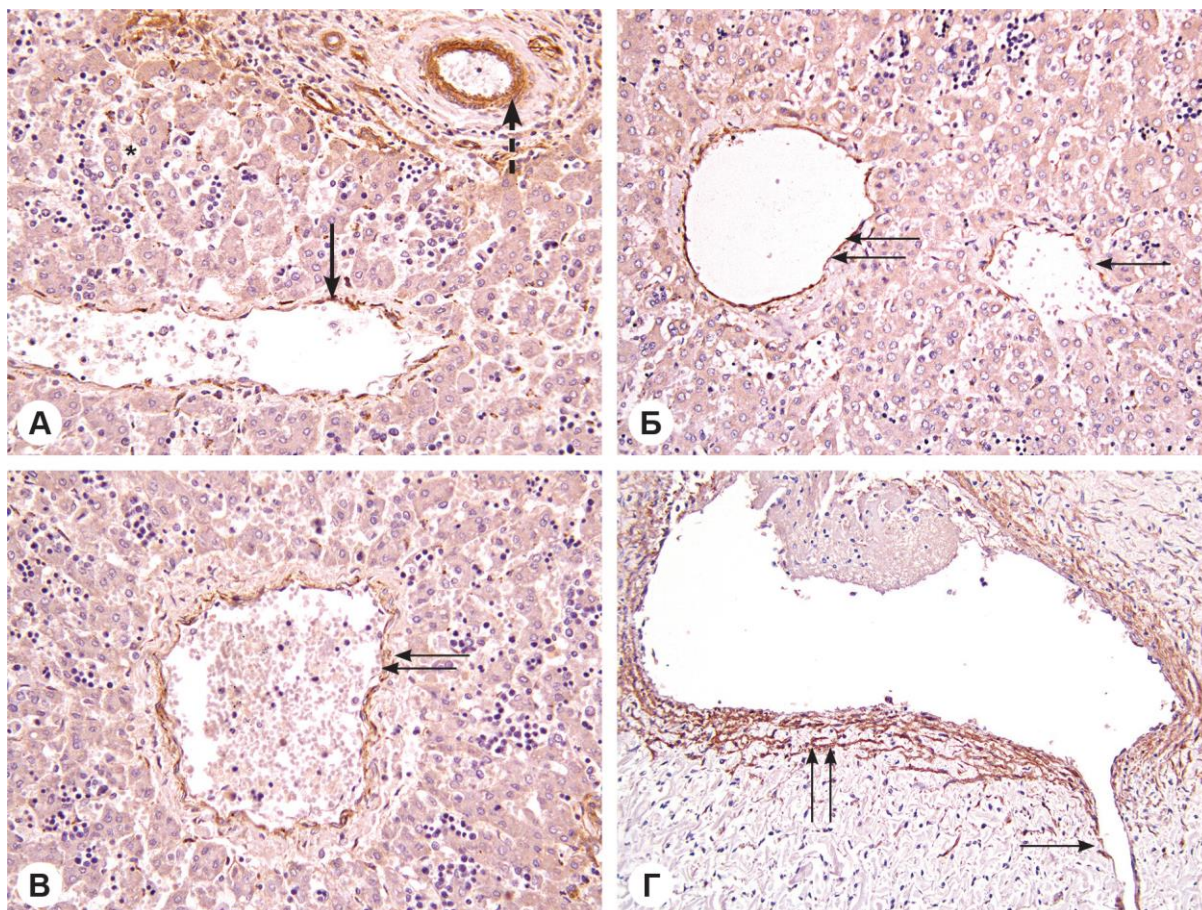




Слика 4.41. Ламинин имунореактивност у јетри фетуса у другом триместру. **А)** У портном простору ламинин имунореактивност се запажа у периферним нервима (врх стрелице), средишњем слоју интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и вене (стрелица), као и у базалној ламини билијарног дуктуса (бела стрелица) (x100). **Б)** Детаљ слике А) који показује јасну ламинин имунореактивност у периферним нервима портног простора (врх стрелице), у артеријским (испрекидане стрелице), венским (стрелица) огранцима и у базалној ламини билијарног канала (празна стрелица) (x250). **В)** Средином другог триместра ламинин имунореактивност је идентификована у медији интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица), у базалној мембрани билијарних дуктуса (бела стрелица) и у периферним нервима (врх стрелице) (x400). **Г)** У истом периоду ламинин имунореактивност се запажа у нешто мањем портном простору, у субинтималном појасу интерлобуларне вене (стрелица), у медији интерлобуларних артерија (испрекидана стрелица) и у базалној мембрани билијарних дуктуса (бела стрелица) (x250). **Д)** У још мањем портном простору (стрелица) јетре истог узраста ламинин имунореактивност прати образац имунореактивности већег портног простора; ламинин имунореактивност није присутна у зидовима централне вене (танка стрелица) и синусоида (звездича) (x200). **Ђ)** Крајем другог триместра у површном слоју зида велике сублобуларне вене (две танке стрелице) уочава се ламинин имунореактивност (x400).



Слика 4.42. Ламинин имунореактивност у јетри фетуса у трећем триместру. **А)** Интензивна експресија ламинина бележи се у медији интерлобуларне вене (стрелица), њене гране – терминалне портне венуле (кратка стрелица), медији интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица), у базалној мембрани билијарних дуктуса (бела стрелица) и у нервима (врх стрелице) великог интерлобуларног простора (x125). **Б)** Детаљ слике А) на коме се јасно уочава ламинин имунореактивност у средишњем слоју интерлобуларне вене (стрелица), артерије (испрекидана стрелица) и у базалној мембрани билијарног канала (бела стрелица) (x320). **В)** Средином трећег триместра интензивна ламинин имунореактивност у великом портном простору се запажа у интерлобуларној артерији (испрекидана стрелица), интерлобуларној вени (стрелица), лимфатицима и нервним влакнима (врх стрелице) (x400). **Г)** У портном простору сличне величине се уочава јасна ламинин имунореактивност у зиду интерлобуларне вене (стрелица), артериола (испрекидана стрелица) и капилара, као и у периферним нервима (врх стрелице) (x400). **Д)** У портном простору средње величине запажа се ламинин имунопозитивност у туници медији интерлобуларне вене (стрелица) и њеном огранку (кратка стрелица), као и у медији интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) (x200). **Ђ)** У портном простору сличне величине, интензивна ламинин имунореактивност се бележи у медији интерлобуларне вене (стрелица), која се задржава и целом дужином њене гране – терминалне портне венуле (кратка стрелица) и интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) (x200). **Е)** У најмањем портном простору и даље се уочава јасна ламинин имунопозитивност у зиду интерлобуларне вене (стрелица), која се постепено губи у њеном огранку (кратка стрелица), који се улива у ламинин негативне синусоиде (звездица); у зиду појединих синусоида уочавају се ретке ћелије издуженог облика, које су ламинин имунопозитивне (танка стрелица) (x400). **Ж)** У паренхиму јетре уочава се ламинин имунопозитиван зид крвног суда (кратка стрелица) који по величини, али не и по облику, одговара синусоидима; у зиду појединих синусоида уочавају се ретке ћелије издуженог облика, које су ламинин имунопозитивне (танка стрелица) (x640).



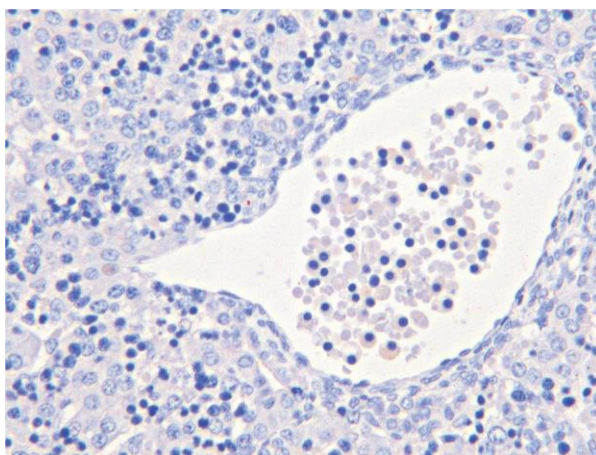
Слика 4.43. Ламинин имунореактивност у јетри фетуса у трећем триместру. **А)** Крајем трећег триместра, ламинин имунореактивност је идентификована у унутрашњем и средишњем слоју зида интерлобуларне артерије (испрекидана стрелица) и у зидовима мањих крвних судова; у зиду централне вене (танка стрелица) ламинин имунопозитивност је местимично изражена, док у синусоидима (звездича) изостаје (x250). **Б)** У зиду централне вене (танка стрелица) запажа се дисконтинуирана ламинин имунопозитивност, док се у унутрашњем слоју зида мање сублобуларне вене (две танке стрелице) јасно уочава као континуирана (x200). **В)** У нешто већој сублобуларној вени (две танке стрелице), ламинин имунопозитивност се уочава у субендотелном везивном ткиву (x250). **Г)** У великој сублобуларној вени (две танке стрелице) ламинин имунореактивност се запажа у субендотелном слоју, одакле се шири и проређује, допирући до краја адвентиције; уливна централна вена (танка стрелица) садржи смањену, субендотелну ламинин имунореактивност (x200).

4.3. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ

4.3.1. *D2-40* имунореактивност

4.3.1.1. Први триместар

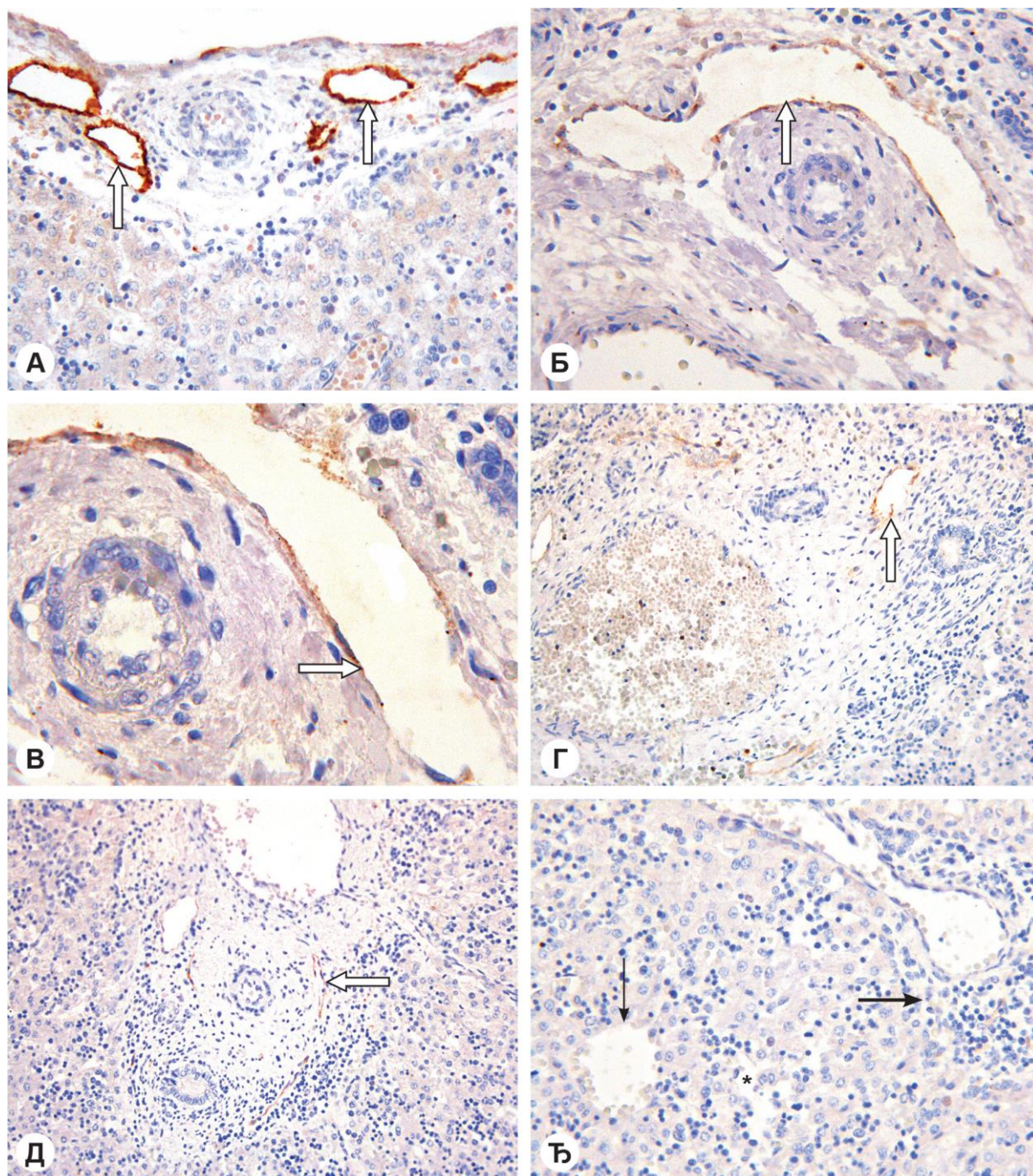
У јетри ембриона и фетуса до краја првог триместра ни у једној структури се не уочава *D2-40* имунореактивност (слика 4.44А, табела 4.4).



Слика 4.44. *D2-40* имунореактивност није идентификована у портном простору јетре крајем ембрионалног периода развоја (x400).

4.3.1.2. Други триместар

Током другог триместра развоја, у јетри фетуса, највећи интензитет *D2-40* имунореактивности показује зид лимфних судова капсуле јетре (слика 4.45А), у коме позитивност испољавају ендотелне ћелије. У овом периоду, у великим портним просторима јетре се уочава умерена *D2-40* имунопозитивност у ендотелним ћелијама лимфних судова (слика 4.45Б, В, Г). У нешто мањим портним просторима уочава се *D2-40* имунопозитивност слабог степена, у лимфним судовима узаног лумена и различитог облика (слика 4.45Д). У мањим портним просторима, имунореактивност није видљива (слика 4.45Ђ). Остали елементи, како већих, тако и мањих портних простора нису *D2-40* имунореактивни. Ендотелне ћелије синусоида и централних вена различите величине не садрже *D2-40* имунореактиван ендотел (слика 4.45Ђ, табела 4.4).



Слика 4.45. D2-40 имунореактивност у лимфним судовима јетре фетуса у другом триместру. А) Бројни лимфни судови (празне стрелице) са интензивним D2-40 имунопозитивним ендотелом се уочавају у капсули јетре фетуса средином другог триместра (x320). Б) У великом портном простору јетре запажа се слаба D2-40 имунореактивност у ендотелним ћелијама већег лимфног суда (бела стрелица) (x400). В) Детаљ слике Б) на коме се јасно уочавају D2-40 имунопозитивне ендотелне ћелије лимфног суда (бела стрелица) (x800). Г) У истом периоду, слаба D2-40 имунопозитивност се запажа у мањим лимфним судовима (бела стрелица) унутар портног простора (x400). Д) Већи портни простор са умерено D2-40 имунореактивним ендотелом у лимфним судовима (бела стрелица) издуженог лумена (x400). Ђ) У малом портном простору (стрелица) нису идентификоване ендотелне ћелије са D2-40 имунореактивношћу. D2-40 имунореактивност се не запажа ни у зидовима централне вене (танка стрелица) ни у зидовима синусоида (звездича) (x320).

4.3.1.3. Трећи триместар

До краја трећег триместра развоја фетуса, задржава се интензивна *D2-40* имунопозитивност у ендотелним ћелијама лимфних судова капсуле јетре (слика 4.46А). За разлику од претходног периода, у овом периоду веома интензивна *D2-40* имунореактивност се уочава у ендотелним ћелијама лимфних судова (различног облика и величине), како већих (слика 4.46Б, В), тако и средњих (слика 4.46Г, Д) и најмањих портних простора (слика 4.46Ђ) јетре. Крвно-судовни елементи у портним просторима не показују *D2-40* имунореактивност, као ни ендотелне ћелије синусоидних капиЛАра и централних вена лобулуса јетре (табела 4.4).

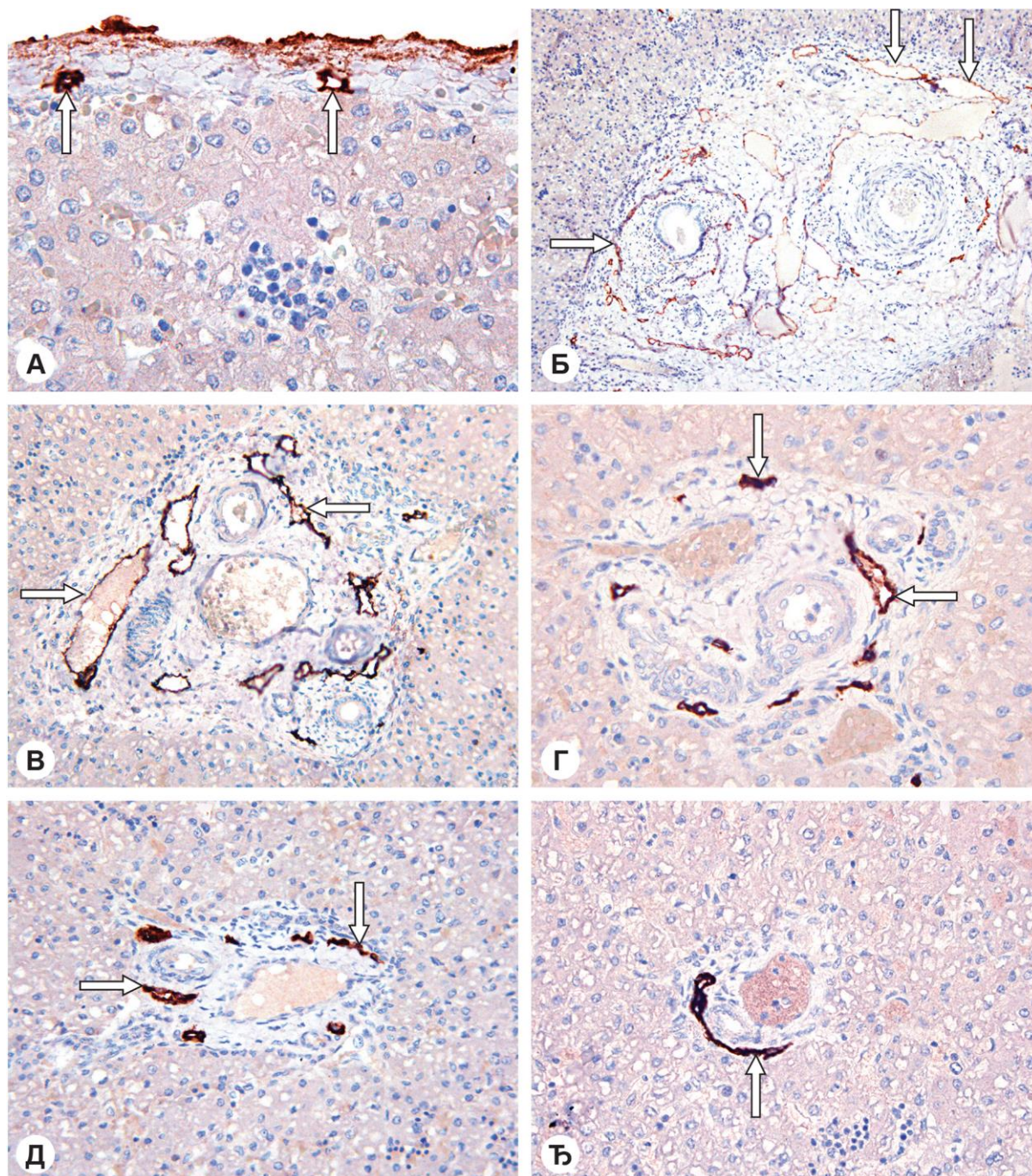
4.3.2. *LYVE-1* имунореактивност

4.3.2.1. Први триместар

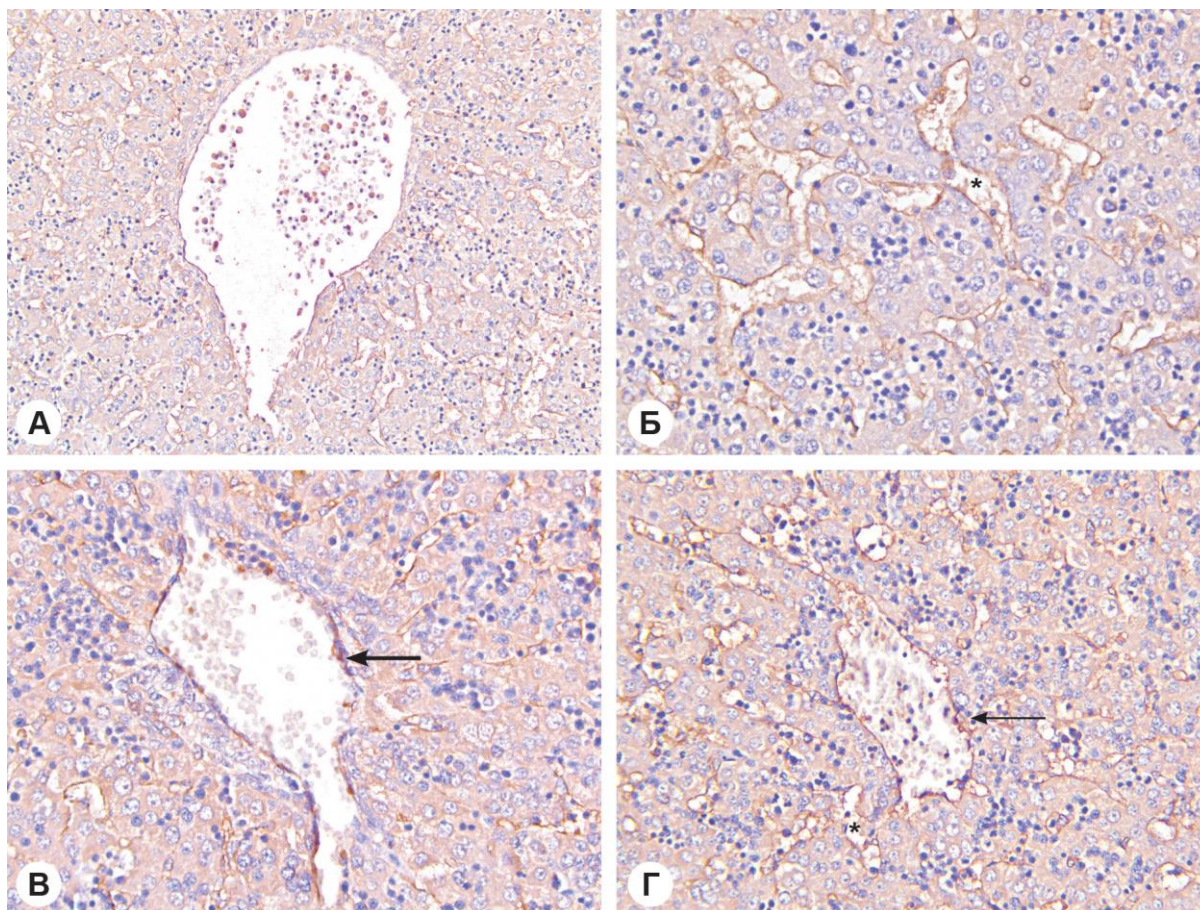
Крајем ембрионалног периода *LYVE-1* имунореактивност се не запажа у структурама формирајућег портног простора (слика 4.47А) ни у централној вени. У овом периоду, *LYVE-1* имунореактивност је слабо изражена и местимично се уочава у ендотелним ћелијама синусоидних капиЛАра јетре (слика 4.47Б). Крајем првог триместра трудноће, у јетри фетуса, у још увек комплетно неформираним портним просторима, слабу *LYVE-1* имунореактивност испољавају ендотелне ћелије интерлобуларних вена, као и ендотелне ћелије њихових огранака – терминалних портних венула (слика 4.47В). У овом периоду, уочљива је и *LYVE-1* имунореактивност, умереног интензитета, у ендотелним ћелијама синусоидних капиЛАра и формирајућих централних вена (слика 4.47Г, табела 4.4).

4.3.2.2. Други триместар

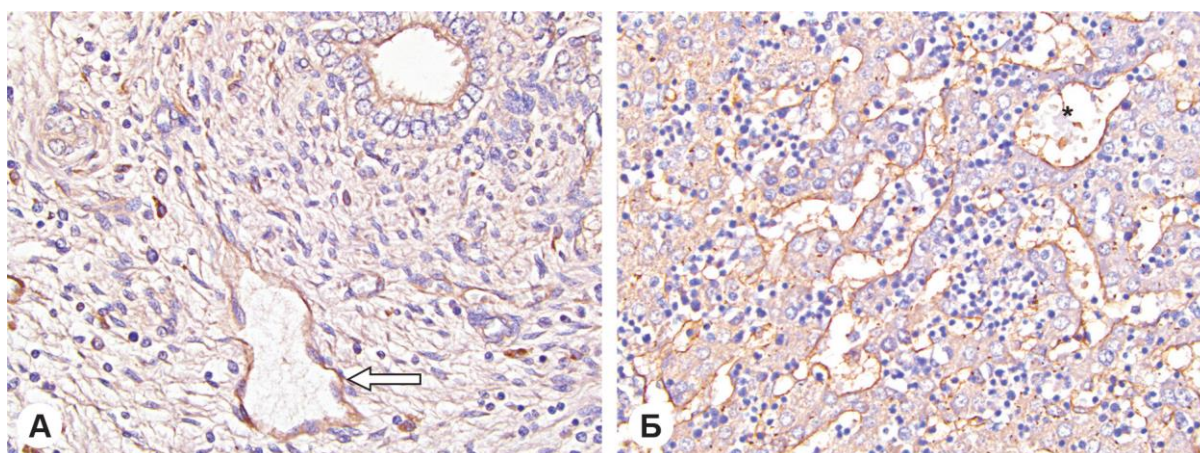
У портним просторима јетре фетуса средином другог триместра, запажа се *LYVE-1* имунореактивност, нешто јачег интензитета, у ендотелу лимфних судова (слика 4.48А). Ендотел синусоида показује јасну *LYVE-1* имунореактивност у перипортним и у перичентралним синусоидима, мада се, на појединим местима, међу синусоидима уочавају и појединачни синусоиди са *LYVE-1* имунонегативним ендотелом (слика 4.48Б). У одводним венама, почевши од централне вене до сублобуларних и колекторних вена, не запажа се *LYVE-1* имунореактивност (табела 4.4).



Слика 4.46. D2-40 имунореактивност у лимфним судовима јетре фетуса у трећем триместру. **А)** Крајем трећег триместра у лимфним судовима капсуле јетре (беле стрелице) уочавају се интензивно D2-40 имунопозитивне ендотелне ћелије (x640). **Б)** У великом портном простору јетре уочавају се многобројни лимфни судови (беле стрелице) различитог облика и величине, са D2-40 имунопозитивним ендотелом (x125). **В)** У нешто мањем портном простору, такође се уочавају интензивно D2-40 имунопозитивне ендотелне ћелије лимфних судова (беле стрелице), различитог облика и величине (x250). **Г)** У малом портном простору, запажа се мањи број лимфних судова (беле стрелице) различитог облика, са D2-40 имунопозитивним ендотелом јаког интензитета (x400). **Д)** У још мањем портном простору, задржава се интензивно D2-40 имунореактиван ендотел у лимфним судовима (беле стрелице) (x350). **Ђ)** Најмањи портни простор јетре са интензивно D2-40 имунореактивним ендотелом веома танког лимфног суда (бела стрелица) (x400).



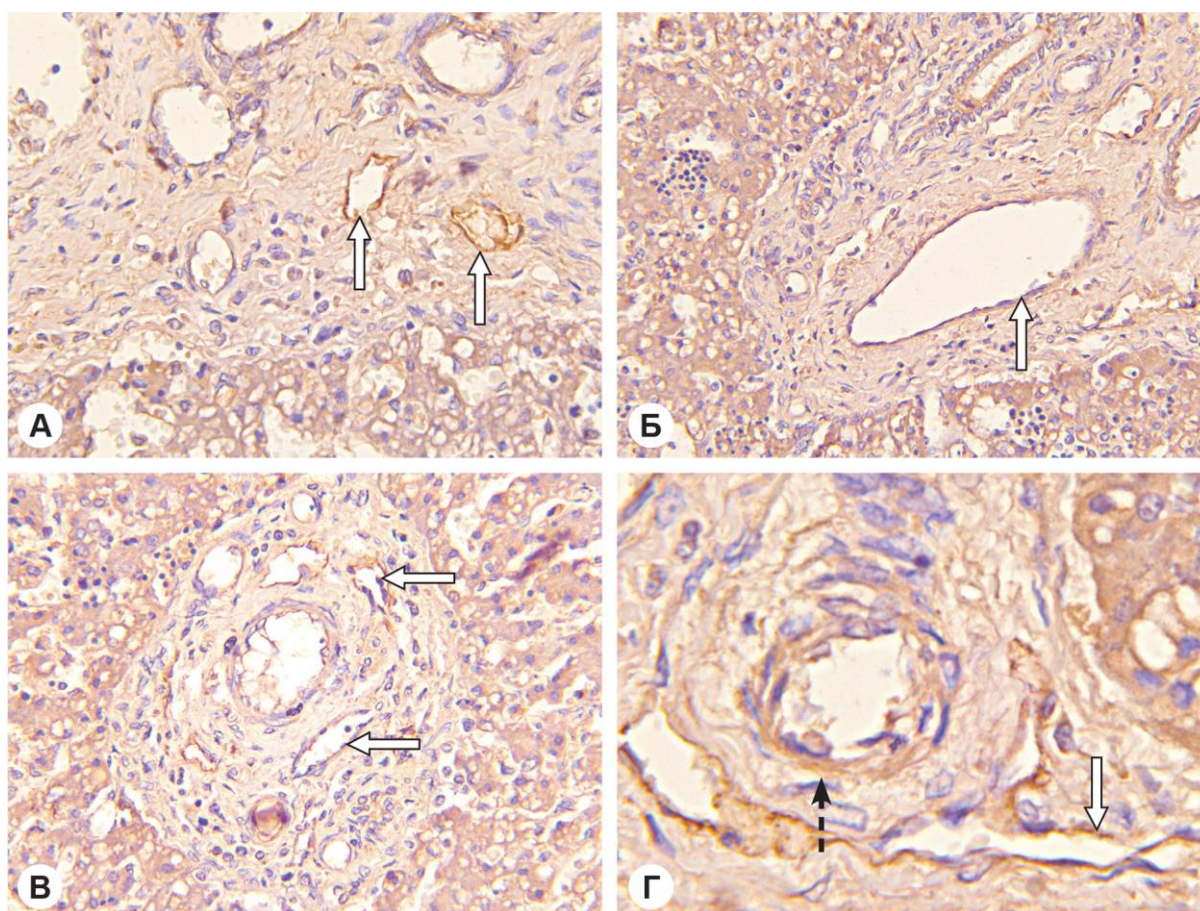
Слика 4.47. *LYVE-1* имунореактивност у крвним и лимфним судовима јетре ембриона и фетуса у првом триместру. А) У портном простору јетре ембриона крајем ембрионалног периода развоја нису идентификоване структуре са *LYVE-1* имунореактивношћу (x200). Б) У истом периоду идентификована је *LYVE-1* имунореактивност слабог интензитета у зидовима синусоидних капиlara (звездица) (x400). В) У ендотелним ћелијама интерлобуларне вене (стрелица), код још увек незрелог портног простора у првом триместру, уочава се веома слаба *LYVE-1* имунореактивност (x400). Г) У ендотелним ћелијама централне вене (танка стрелица) и синусоида (звездица) запажа се *LYVE-1* имунопозитивност умереног степена (x350).



Слика 4.48. *LYVE-1* имунореактивност у крвним и лимфним судовима јетре фетуса у другом триместру. А) Почетком другог триместра *LYVE-1* имунореактивност, нешто јачег интензитета, бележи се у ендотелу лимфног суда (бела стрелица) у портном простору (x250). Б) У истом периоду, ендотелне ћелије синусоидних капиlara (звездица) показују јасну *LYVE-1* имунопозитивност (x400).

4.3.2.3. Трећи триместар

У јетрама фетуса трећег триместра, *LYVE-1* имунореактивност је присутна, пре свега, у ендотелу лимфних судова, без обзира на њихов дијаметар, како већих тако и мањих портних простора, при чему је интензитет имунореактивности скоро једнак у свим ендотелним ћелијама (слика 4.49А, Б, В, Г). За разлику од претходна два триместра, ендотелне ћелије синусоидних капиЛАра показују веома слабу *LYVE-1* имунореактивност, док у појединим ендотелним ћелијама ова имунопозитивност потпуно нестаје. Ендотелне ћелије централних, сублобуларних и колекторних вена не показују *LYVE-1* имунореактивност (табела 4.4).



Слика 4.49. *LYVE-1* имунореактивност у крвним и лимфним судовима јетре фетуса у трећем триместру. **А)** Крајем трећег триместра *LYVE-1* имунореактивност се бележи у ендотелним ћелијама мањих лимфних судова (беле стрелице) портног простора (x500). **Б)** У истом периоду, у ендотелним ћелијама већег лимфног суда (бела стрелица) портног простора се уочава *LYVE-1* имунореактивност (x320). **В)** У нешто мањем портном простору, многобројни лимфни судови (беле стрелице) различитог облика и величине поседују *LYVE-1* имунопозитиван ендотел (x400). **Г)** *LYVE-1* имунопозитивне ендотелне ћелије лимфних судова (бела стрелица) у непосредној околини интерлобуларне артерије, чији ендотел није *LYVE-1* позитиван (испрекидана стрелица) (x800).

Табела 4.4. D2-40 и LYVE-1 имунореактивност ендотелних ћелија крвних и лимфних судова у јетри људских ембриона и фетуса, подељених према триместрима

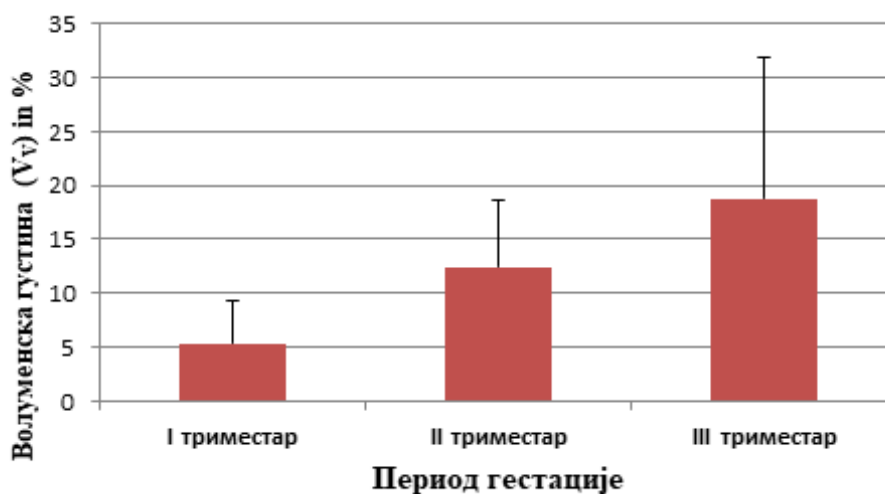
Периоди и структуре	Маркери	
	D2-40	LYVE-1
I ТРИМЕСТАР		
– Ембрионални период		
Интерлобуларна вена	–	–
Интерлобуларна артерија		
Централна вена	–	–
Синусоиди	–	+
Лимфни судови		
– Фетусни период		
Интерлобуларна вена	–	–
Интерлобуларна артерија	–	–
Централна вена	–	–
Синусоиди	–	++
Лимфни судови	++	++
II ТРИМЕСТАР		
Интерлобуларна вена	–	–
Интерлобуларна артерија	–	–
Централна вена	–	–
Синусоиди	–	++
Лимфни судови	+++	++
III ТРИМЕСТАР		
Интерлобуларна вена	–	–
Интерлобуларна артерија	–	–
Централна вена	–	–
Синусоиди	–	++
Лимфни судови	+++	++

Интензитет имунохистохемијске реакције:
одсутна, -; +/- веома ниска; +, ниска; ++, средња; +++, висока.

4.4. МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ

4.4.1. Морфометријске карактеристике портних простора јетре у развоју

Волуменска густина портних простора јетре од ембрионалног ка фетусном и до краја фетусног периода се повећава. Волуменска густина портних простора у првом триместру, изражена у процентима, износи $5,3 \pm 3,92$, у другом триместру износи $12,45 \pm 6,19$, а у трећем триместру износи $18,77 \pm 13,05$ (дијаграм 4.1). Између првог и другог, као и између другог и трећег триместра развоја плода, постоји статистички значајна разлика у повећању волуменске густине портних простора јетре ($p < 0,05$).



Дијаграм 4.1. Волуменска густина портних простора јетре током фетусног периода развоја ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)

4.4.2. Морфометријске карактеристике крвних судова јетре у развоју

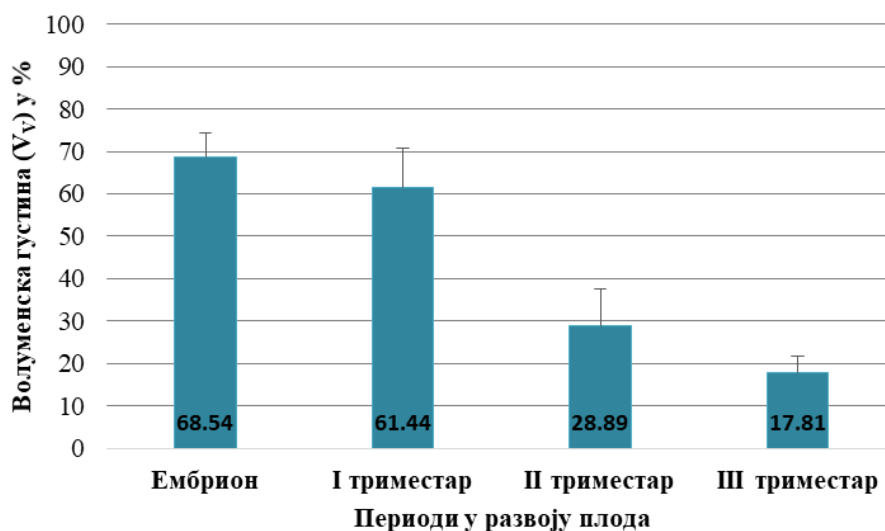
Волуменска густина интерлобуларних вена у портним просторима јетре током развоја плода се прогресивно смањује. Највећа волуменска густина интерлобуларних вена је у ембрионалном периоду, и у процентима износи $68,54 \pm 5,77$. Волуменска густина ових крвних судова у првом триместру износи $61,44 \pm 9,20$, у другом триместру износи $28,89 \pm 8,7$ и у трећем триместру износи $17,81 \pm 4,01$ (дијаграм 4.2). Између првог и другог, као и између другог и трећег триместра развоја плода, постоји статистички значајна разлика у смањењу волуменске густине интерлобуларних вена портних простора јетре ($p < 0,05$).

Волуменска густина интерлобуларних артерија у портним просторима јетре током развоја плода се повећава, сразмерно повећању волуменске густине портних простора (дијаграм 4.3). У ембрионалном периоду се не уочавају интерлобуларне артерије, па је због те чињенице приказана нула у овом периоду. Волуменска густина интерлобуларних артерија, изражена у процентима, износи у првом триместру $3,19 \pm 1,93$, у другом триместру $3,9 \pm 2,12$, и у трећем триместру $6,71 \pm 1,25$. Статистички

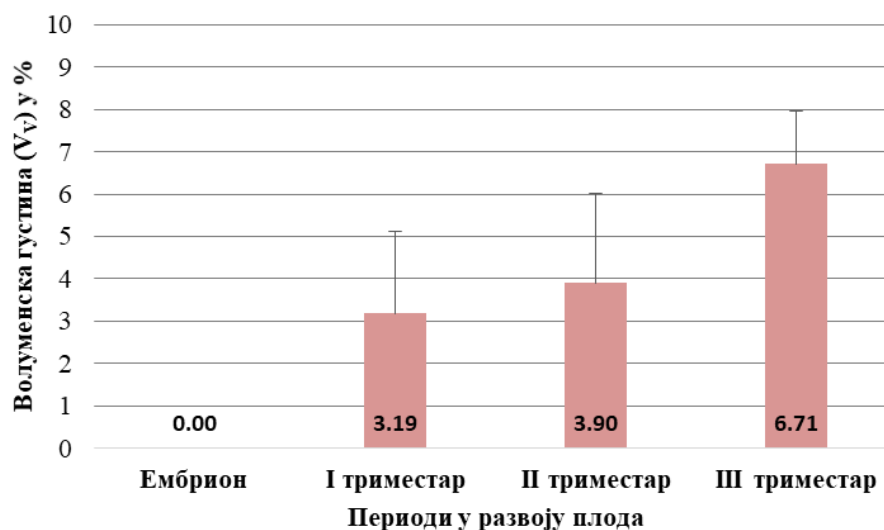
значајна разлика је уочена између другог и трећег триместра, као и између ембрионалног периода и првог триместра, где се интерлобуларне артерије још увек нису развиле ($p < 0,05$).

Волуменска густина синусоида у јетри током развоја плода се повећава (дијаграм 4.4). Најмања волуменска густина синусоида је у ембрионалном периоду, и у процентима износи $29,69 \pm 1,64$. Волуменска густина ових крвних судова у првом триместру износи $31,29 \pm 2,16$, у другом триместру износи $32,91 \pm 2,48$ и у трећем триместру износи $33,11 \pm 1,67$ (дијаграм 4.4). Статистички значајна разлика је уочена између ембрионалног периода и првог триместра, као и између првог и другог триместра ($p < 0,05$).

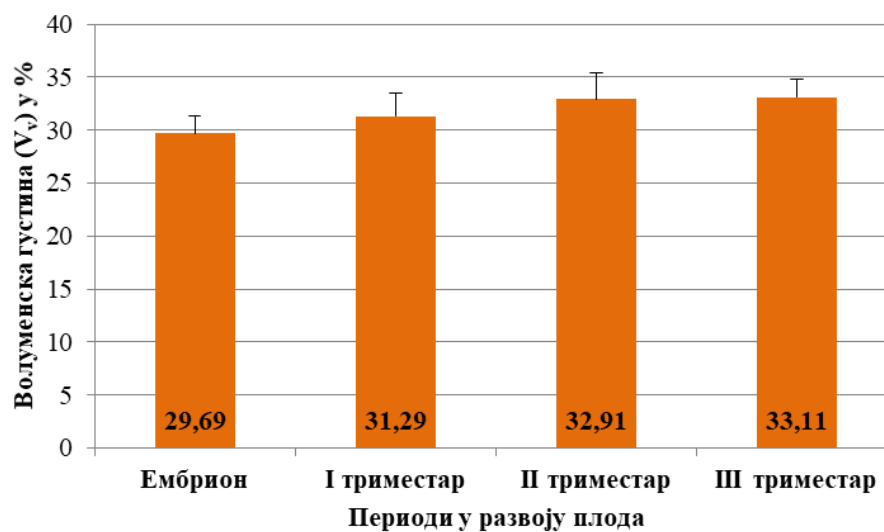
Волуменска густина централних вена у јетри током развоја плода се минимално повећава (дијаграм 4.5). Најмања волуменска густина синусоида је у ембрионалном периоду, и у процентима износи $4,66 \pm 3,89$. Волуменска густина ових крвних судова у првом триместру износи $5,34 \pm 1,33$, у другом триместру износи $4,91 \pm 0,83$ и у трећем триместру износи $5,62 \pm 0,82$. Статистички значајна разлика није уочена ни између једног периода развоја.



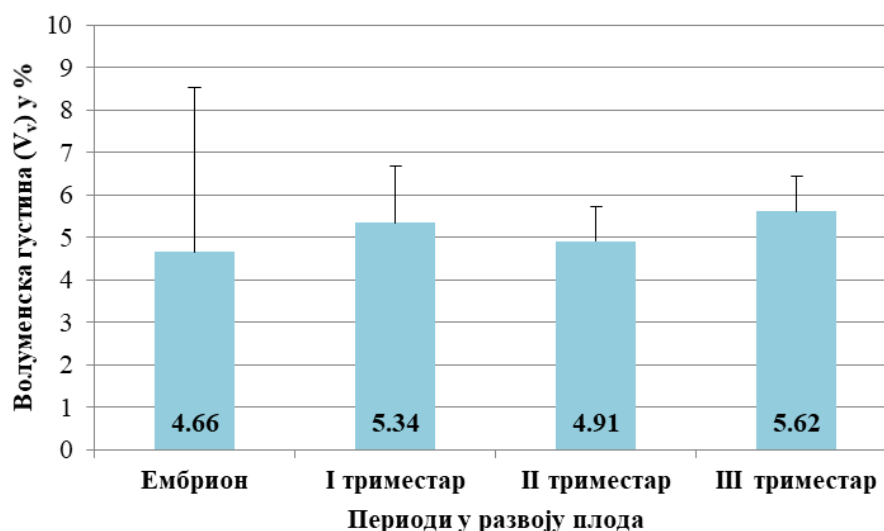
Дијаграм 4.2. Волуменска густина интерлобуларних вена у портним просторима јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)



Дијаграм 4.3. Волуменска густина интерлобуларних артерија у портним просторима јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)



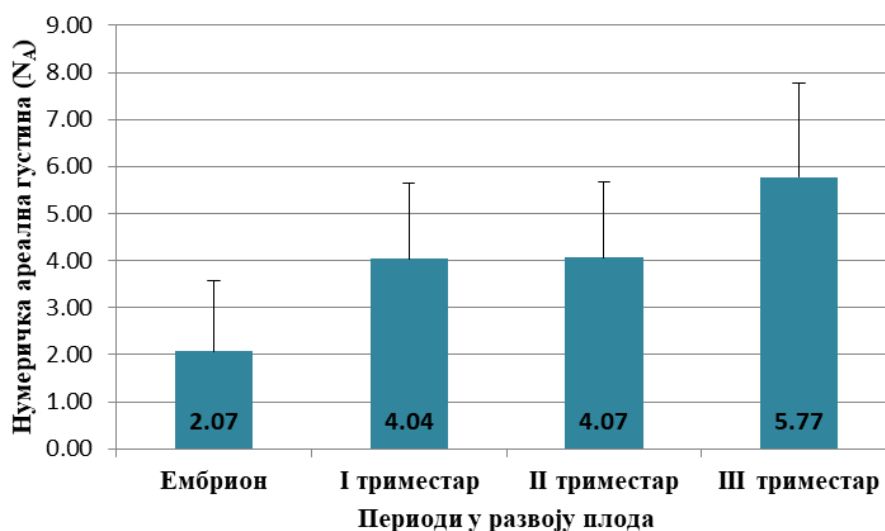
Дијаграм 4.4. Волуменска густина синусоида у лобулусу јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)



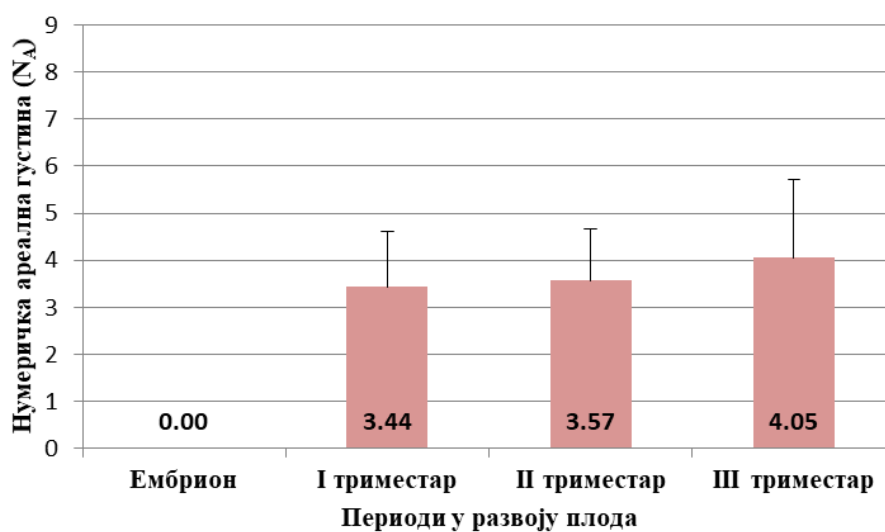
Дијаграм 4.5. Волуменска густина централних вена у лобулусима јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)

Нумеричка ареална густина интерлобуларних вена у јетри током развоја плода се повећава током развића (дијаграм 4.6). Нумеричка ареална густина у ембрионалном периоду износи $2,07 \pm 1,5$, у првом триместру је значајно већа и износи $4,04 \pm 1,59$, у другом триместру износи $4,07 \pm 1,6$, а у трећем је значајно већа од другог триместра, чија вредност износи $5,77 \pm 2,0$.

Нумеричка ареална густина интерлобуларних артерија у јетри се прогресивно повећава од првог ка трећем триместру (дијаграм 4.7). У ембрионалном периоду, због неразвијености артерија, нумеричка ареална густина је нула. У првом триместру, нумеричка ареална густина интерлобуларних артерија у јетри износи $3,44 \pm 1,16$, у другом триместру износи $3,57 \pm 1,09$, док у трећем триместру износи $4,05 \pm 1,66$. Статистички значајна разлика није нађена између првог, другог и трећег триместра. Једина разлика постоји између ембрионалног периода и првог триместра, када се и интерлобуларне артерије први пут појављују.

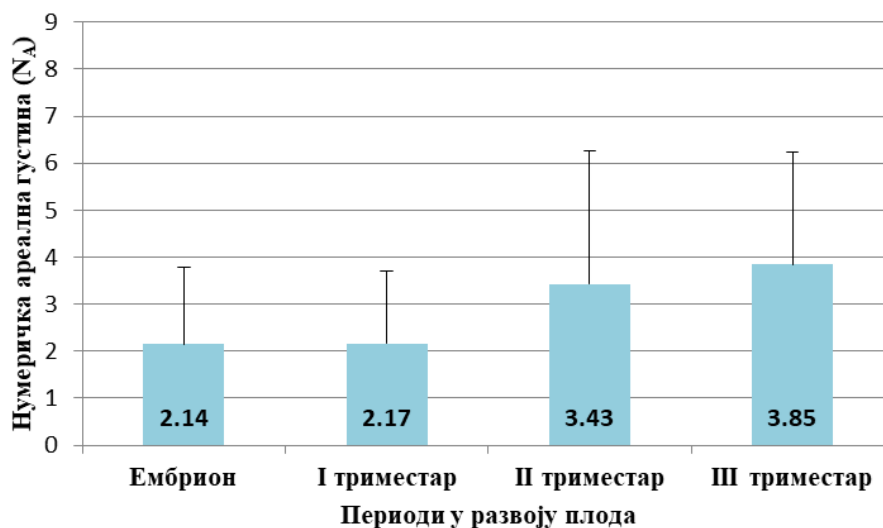


Дијаграм 4.6. Нумеричка густина интерлобуларних вена у портним просторима јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)



Дијаграм 4.7. Нумеричка ареална густина интерлобуларних артерија у портним просторима јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)

Нумеричка ареална густина централних вена у јетри током развоја плода се повећава током развића (дијаграм 4.8). Нумеричка ареална густина у ембрионалном периоду износи $2,14 \pm 1,64$, у првом триместру износи $2,17 \pm 1,54$, у другом триместру износи $3,43 \pm 2,83$, а у трећем њена вредност износи $3,85 \pm 2,39$. Статистички значајна разлика је уочена између првог и другог триместра, као и између другог и трећег триместра ($p < 0,05$).

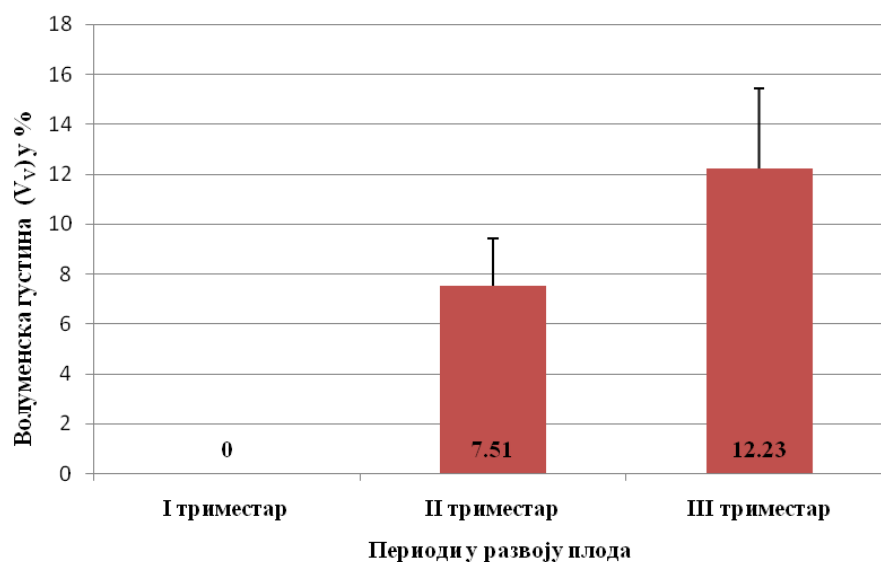


Дијаграм 4.8. Нумеричка ареална густина централних вена у портним просторима јетре током развоја плода ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)

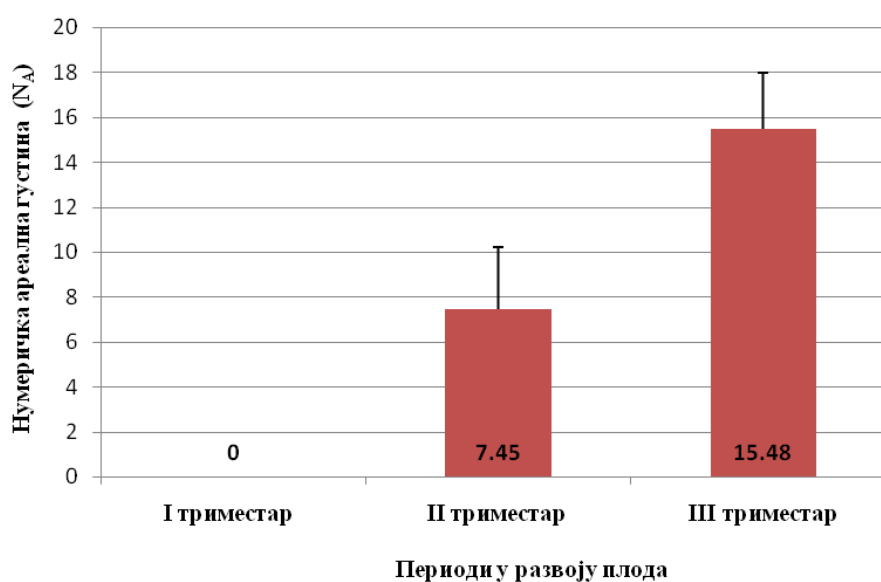
4.4.3. Морфометријске карактеристике лимфних судова јетре у развоју

Волуменска густина лимфних судова у портним просторима јетре за време феталног развоја се повећава од другог према трећем триместру трудноће (дијаграм 4.9), што је сразмерно повећању волуменске густине портних простора (дијаграм 4.1). Волуменска густина лимфних судова у портним просторима јетре у другом триместру, изражена у процентима, износи $7,516 \pm 1,91$, а у трећем триместру износи $12,23 \pm 3,22$ (дијаграм 4.9).

Нумеричка густина лимфних судова у портним просторима јетре такође прати тренд повећања од другог ка трећем триместру фетусног развоја (дијаграм 4.10). Нумеричка густина лимфних судова у портним просторима у другом триместру износи $7,454 \pm 2,77$, док је у трећем значајно већа и износи $15,48 \pm 2,52$ (дијаграм 4.10).



Дијаграм 4.9. Волуменска густина лимфних судова у портним просторима јетре током фетусног периода развоја ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)



Дијаграм 4.10. Нумеричка ареална густина лимфних судова у портним просторима јетре током фетусног периода развоја ($p < 0,05$ Крускал-Валисов тест)

5. ДИСКУСИЈА

У овом поглављу ће бити дискутовани резултати добијени употребом имунохистохемијских и морфометријских метода у крвним и лимфним судовима. Анализа резултата добијених на крвним судовима ће се разматрати у оквиру интерлобуларних крвних судова и њихових огранака, у оквиру синусоида, док ће на крају бити анализирани резултати добијени у сегментима колекторног венског система.

5.1. ИНТЕРЛОБУЛАРНИ КРВНИ СУДОВИ

Анализирајући јетре ембриона, крајем ембрионалног периода (7. и 8. недеља), бојених ХЕ методом, уочено је постојање морфолошки различитих типова крвних судова. Два типа крвних судова су, на попречном пресеку, слична по величини, али се разликују по облику и континуитету зида. Једни су правилнијег лумена и релативно континуираног зида, од којег се, местимично, одвајају гране узаног лумена. Имунохистохемијском анализом истих узорака јетре, ендотел ових крвних судова показује местимично уочљиву и слабо изражену *CD31* имунореактивност, интензивнију *CD34* и *CD146* имунопозитивност, а у њиховом зиду се може идентификовати врло интензивна α -глаткомишићни актин имунореактивност, у виду дисконтинуираног слоја ћелија. Образац експресије ових антигена може указати да се ради о венама. У првим недељама фетусног периода, око ових крвних судова појављује се везивно ткиво, у коме је идентификована колаген I и IV, и веома слабо и колаген III имунореактивност. Почетком фетусног периода развоја (у 9. и 10. недељи развоја), у споменутом везивном ткиву се развијају нови крвни судови, знатно мањег дијаметра и дебљег зида, а који по имунохистохемијском профилу одговарају интерлобуларним артеријама. Оне се карактеришу *CD31*, *CD34* и *CD146* имунопозитивним ендотелом, као и *CD146* и α -глаткомишићни актин имунопозитивним глатким мишићним ћелијама њиховог зида, које су постављене у једном континуираном или у два до три слоја. Истовремено, у ендотелу интерлобуларних вена и њихових огранака долази до пораста обима и интензитета *CD31*, *CD34* и *CD146* имунореактивности. У зидовима интерлобуларних вена, глатке мишићне ћелије су у једном континуираном слоју, који се дистално, у терминалним портним венулама, трансформише у дисконтинуирани слој. У овом периоду, појављују се и жучни каналићи обложени коцкастим епителом. *Gouysse* и сар.

(2002) наводе да се у јетри фетуса, између 10. и 15 недеље гестације, одвија интензивно гранање артеријских огранака, као и развој интрахепаричног билијарног система, што је у складу са нашим резултатима (*Gouysse* и сар., 2002).

На основу наведених налаза, као и анализом развоја портних простора, може се потврдити да раније споменути крвни судови, са континуираним зидом, који су се појавили крајем ембрионалног периода развоја, у још увек неформираним и некомплетираним портним просторима, представљају гране портне вене, односно интерлобуларне вене. Други тип крвних судова, који се на ХЕ препаратима јетре ембриона препознају по неправилном облику, дисконтинуираном зиду и дијаметру сличном првобитно описаним интерлобуларним венама, припада колекторним крвним судовима, прецизније централним венама, који ће бити описани касније (поглавље 5.3).

За разлику од резултата *Lalor* и сар. (2006), који су идентификовали *CD31* имунореактивност у ендотелу крвних судова јетре након 25. недеље развоја, резултати нашег истраживања указују да је интензивна *CD31* и *CD34* имунореактивност у ендотелу крвних судова портног простора (интралобуларним артеријама и венама) и њиховим огранцима (перипортним и интралобуларним артериолама и терминалним портним и инлет венулама) присутна већ крајем ембрионалног периода развоја (у интерлобуларним венама), а од 9. недеље и у ендотелу интерлобуларних артерија. Овакав налаз се подудара са налазом *Tavian* и сар. (2005), који описују *CD34* имунопозитивност у крвним судовима ембриона веома рано, пре 9. недеље гестације. Резултати *Tavian* и сар. (2005) у сагласности су са резултатима *Couvelard* и сар. (1996), који показују да експресија *CD31* и *CD34* антигена започиње у 6. недељи у скоро свим крвним судовима јетре ембриона. У 8. и 9. недељи развоја, експресија ових маркера се задржава у ендотелним ћелијама портних крвних судова. *Couvelard* и сар. (1996) указују да је од 10. недеље гестације па надаље експресија *CD31* и *CD34* антигена такође уочљива на ендотелу интерлобуларних артерија и вена (*Couvelard* и сар., 1996).

Крајем првог триместра, колаген I, III и IV имунореактивна влакна, у виду фине мреже, присутна су у субендотелном слоју интимае, у медији и у адвентицији интерлобуларних артерија и вена. Резултати нашег истраживања се поклапају са резултатима *Handa* и сар. (2014), који описују појаву колаген I имунореактивности у зиду интерлобуларних артерија и вена у фетусном периоду развоја. *Amenta* и *Harrison* (1997) показују сличну експресију колаген I молекула у фетусним јетрама експерименталних

животиња, пацова. С обзиром на то да ендотелне ћелије и хепатоцити експримирају антигене за колаген тип I, сматра се да обе наведене врсте ћелија учествују у синтези и секрецији колагена тип I (*Amenta и Harrison, 1997*).

У портном простору, највећи интензитет ламинин имунореактивности показују зидови интерлобуларних вена и њихови огранци. За разлику од резултата презентованих овим истраживањем, *Baloch и сар. (1992)* и *Wewer и сар. (1992)* показују да се у зиду интерлобуларних крвних судова ламинин имунореактивност не уочава. Међутим, ови аутори су доказали присуство ламинина у структурама јетре током процеса развоја и регенерације, што указује на његову комплексну улогу (*Baloch и сар., 1992, Wewer и сар., 1992*). Многи аутори претпостављају да је ламинин, као и друге компоненте ЕЦМ-а, неопходан за диференцијацију васкулатуре јетре. То доказују *Grant и сар. (1989)* у *in vitro* студији. Засејане ендотелне ћелије на пластичној подлози формирају један слој ћелија, док исте ћелије засејане на гелу који садржи ламинин формирају структуре сличне васкуларним структурама. *Shiojiri и Nagaji (1992)* описују да са развојем портних простора у њему постепено преовладава тип I и тип III колагена влакана, што је случај и са зидовима интерлобуларних крвних судова, што је у сагласности са резултатима истраживања спроведених током израде ове докторске дисертације. Резултати *Levavasseur и сар. (1995)* показују да се код глодара током хепатогенезе колаген тип IV експримира веома рано, у базалним мембранама свих крвних судова. Ова имунореактивност се појачава до краја фетусног периода. Резултатима *Мак и сар. (2013)* установљена је сличност у локализацији колагена типа IV и ламинина у јетри одраслих особа и других сисара. Заступљеност колагена типа IV се повећава са гестационом старосћу и изједначава се са заступљеношћу ламинина у термину порођаја или у раном постнаталном периоду (*Reif и сар., 1990; Elkasaby и сар., 1991; Baloch и сар., 1992; Amenta и Harrison, 1993*).

Крајем пренаталног периода развоја, хистолошка грађа јетре је слична као и код одрасле особе. Дефинисани су и лако уочљиви лобулуси јетре, као и портни простори. Интензивна *CD31* и *CD34* имунореактивност је присутна у ендотелу интерлобуларних артерија и вена, као и њихових огранака. *Carreira и сар. (2001)* такође показују интензивну *CD31* имунопозитивност у ендотелним ћелијама интерлобуларних крвних судова јетре крајем трећег триместра развоја. Минимално слабија *CD146* имунореактивност се запажа такође у ендотелу, али и у глатким мишићним ћелијама интерлобуларних артерија и вена и њихових огранака. У интерлобуларним артеријским огранцима,

зависно од величине, глатке мишићне ћелије се налазе у три до четири слоја, код већих артерија, док се код мањих налазе у једном до два слоја.

Највећа количина крви улази у синусоиде кроз гране терминалне портне венуле и кратке „инлет“ венуле. Артеријска крв улази у синусоиде кроз гране хепатичне артериоле, које се уливају у „инлет“ венуле или директно у синусоиде (Ekataksin и сар., 1995; Ekataksin и сар., 1997). Треба истаћи да су Collardeau-Frachon и Scoazec (2008) показали да у периоду између 10. и 15. недеље гестације постоји изузетно висок степен CD34 (Collardeau-Frachon и Scoazec, 2008) и CD146 имунореактивности у огранцима хепатичне артерије, који се пружају из портних простора до перипортних зона, што указује на постојање и значај артеријске васкуларизације јетре у овом периоду њеног развоја. Elias и Petty (1953) описују постојање „интралобуларних артериола“, које се пружају кроз паренхим јетре, од портног простора до половине лобулуса, уливајући се у синусоиде. Они закључују да је постојање ових артериола неопходно, како би се преко артеријске крви коју носе доставило више кисеоника, чија концентрација је у крви синусоида перифералне зоне веома ниска. У вези са тим, посебно је интересант наш налаз у којем се описује имунохистохемијски профил зида терминалних портних венула и њихових огранака. У овим крвним судовима CD34 имунореактивност ендотелних ћелија готово да се у потпуности губи на делу где се они уливају у синусоиде. Анализирајући гранање, пре свега већих, ка мањим интерлобуларним венама и њиховим огранцима – терминалним портним венулама и инлет венулама, опада заступљеност глатких мишићних ћелија у њиховом зиду, до готово потпуног изостанка (Николић и сар., 2017). Најмањи огранци терминалних портних венула и инлет венула, који по свом облику и величини подсећају на синусоиде, садрже један субендотелно локализован, дисконтинуиран слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, издуженог облика. Овакви судови се пружају кроз паренхим лобулуса. Најзаступљенији су у перипортном делу, али се могу уочити и дубље у паренхиму јетре. Овакав налаз могао би расветлити дилему и различите резултате других аутора (Scoazec и сар., 1991; Pusztaszeri и сар., 2006; Lalor и сар., 2006; Abe и сар., 2011), који на различите начине тумаче CD34 имунореактивност у ендотелним ћелијама синусоида јетре током њеног развоја. Наиме, тумачења се крећу од оних који говоре да су ендотелне ћелије синусоида местимично CD34 позитивне (Pusztaszeri и сар., 2006), до других (Abe и сар., 2011), по којима су CD34 ендотелне ћелије синусоида позитивне само у перипортним синусоидима, или до трећих (Scoazec и сар., 1991; Lalor и сар., 2006), који указују да су

ендотелне ћелије синусоида *CD34* негативне. Налаз који смо описали у резултатима би упућивао да су поједини истраживачи *CD34* позитивне инлет венуле или интралобуларне артериоле (једне и друге садрже у зиду α -глаткомишићни актин позитивне ћелије) проглашавали синусоидима са *CD34* позитивним ендотелом. Разлика између, морфолошки веома сличних, најситнијих терминалних портних венула и инлет венула и синусоида је у томе да синусоиди у своме зиду не садрже α -глаткомишићни актин позитивне ћелије. Због тога је, ради прављења разлике међу споменутих крвних судовима микроваскуларног корита јетре, неопходно доказати да ли зид споменутих крвних судова садржи или не садржи глатке мишићне ћелије.

Elias и *Petty* (1953) описују да хепатична артерија снабдева перибилијарни васкуларни плексус, ваза вазорум хепатичне и портне вене, капсулу јетре, као и везивно ткиво портних простора. Ови аутори такође указују на постојање „*bypass*“ крвних судова, који формирају артериопортну анастомозу. Други истраживачи нису показали постојање оваквих анастомоза (*Saxena* и сар., 1999; *Roskams* и сар., 2007; *Hwang*, 2011). Њиховим истраживањима је показано да је број грана хепатичне артерије и портне вене идентичан броју интерлобуларних простора. Даље гранање портних вена и хепатичних артерија се разликује. Портни венски огранци се гранају на претерминалне и терминалне портне венуле. Огранци хепатичне артерије формирају перипортни и перибилијарни плексус, истовремено чинећи и ваза вазорум већих крвних судова портног простора. Терминалне портне венуле и терминалне хепатичне артериоле носе крв до синусоида преко „инлет“ венула и артерио-синусоидних гранчица, које се повезују са синусоидима на различите начине (*Saxena* и сар., 1999; *Roskams* и сар., 2007; *Hwang*, 2011). Међутим, у јетри пацова, моделу који је до данас највише коришћен у истраживачке сврхе, доказане су многобројне артерио-портне анастомозе. У вези са тим, може се рећи да разлике у артеријској арборизацији постоје између различитих врста сисара, али и унутар различитих одељака јетре (*Burkel*, 1970; *Cho* и *Lunderquist*, 1983; *Saxena* и сар., 1999).

5.2. СИНУСОИДИ

Синусоиди јетре представљају јединствене капиларе, чије ендотелне ћелије, за разлику од ендотелних ћелија других капилара људског организма, поседују фенестре са дијафрагмом (ситаста поља) и веће отворе, углавном не леже на базалној ламини и имају специфичан имунохистохемијски профил (*Arimoto* и сар., 2010).

Крајем ембрионалног периода развоја, ендотел синусоида, у највећем броју случајева, не показује *CD31* и *CD34* имунореактивност, мада се на појединим местима могу уочити васкуларне формације по дијаметру сличне или мање од синусоида, које имају *CD34*, али и *CD146* имунореактиван ендотел. Овакви резултати су делимично у сагласности са резултатима других аутора. Испитивањем развића капиларне мреже у јетри, *Couvelard* и сар. (1996) установили су да су, од 5. до 7. недеље гестације, интрахепатични синусоиди позитивни на *CD31* и *CD34* антиген. У 8. и 9. недељи, опада експресија ова два антигена у синусоидима јетре. Од 10. недеље гестације па надаље, експресија *CD31* и *CD34* скоро у потпуности нестаје на ендотелним ћелијама синусоида јетре. Одсуство *CD34* позитивности на ендотелним ћелијама синусоида јетре потврђено је и у истраживањима других аутора (*Couvelard* и сар., 1993; *Daneker* и сар., 1998).

Повећана експресија *CD34* антигена на ендотелним ћелијама хепатичних синусоида у адултном добу удружена је са процесом који се назива „капиларизација“ синусоида, у коме се синусоиди трансформишу у капиларе са континуираним ендотелом. Овај процес се јавља током хроничних инфламаторних болести јетре и у хепатоцелуларном карциному (*Amarapurkar* и сар., 2007; *Zeng* и сар., 2010; Глигоријевић и сар., 2010).

Треба напоменути да *Abe* и сар. (2011) описују *CD34* имунореактивне ендотелне ћелије синусоида јетре и у 15. недељи развоја плода. Могуће је да су они описали почетне делове синусоидних капилара, који се формирају у процесу ангиогенезе из терминалних портних венула. У складу са изнетим разматрањима, поклапа се и резултат *Pusztaszeri* и сар. (2006), који наводе да је ендотел перипортних синусоида интензивно *CD34* имунореактиван, за разлику од перицентралних синусоида, који су потпуно *CD34* имунонегативни. Поново се враћамо на тврдњу да постојање α -глаткомишићни актин позитивних ћелија у *CD34* позитивним перипортним синусоидима указује да то заправо нису синусоиди већ огранци терминалних портних и инлет венула, које у свом

зиду имају континуиран, или, код мањих огранака, дисконтинуиран слој глатких мишићних ћелија.

Крајем ембрионалног периода развоја, маркер ендотелних ћелија лимфних судова, *LYVE-1*, најпре се, али веома слабиим интензитетом, експримира на ендотелним ћелијама синусоида. Током развоја, експресија *LYVE-1* молекула на ендотелу синусоида се постепено повећава и наставља да се експримира до краја фетусног периода. *Lalor* и сар. (2006) указују на сличност ендотелних ћелија синусоида и лимфних судова. Оба типа ендотелних ћелија експримирају *LYVE-1* молекул, док су *CD34* имунонегативни. Ова чињеница се делимично поклапа са разматрањима *Pusztaszeri* и сар. (2006), који описују ирегуларну експресију *CD31* и *CD34* молекула у ендотелу лимфних судова. Ови аутори такође примећују да се *CD31* и *CD34* маркери експримирају подједнако на ендотелним ћелијама крвних и лимфних судова. У вези са тим, ови маркери се користе као пан-ендотелни маркери свих ендотелних ћелија (*Pusztaszeri* и сар., 2006). Међутим, наши резултати указују да се *CD31* молекул заиста експримира на ендотелу и синусоида и лимфних судова, али да се *CD34* молекул експримира искључиво на ендотелним ћелијама крвних судова, изузев синусоида јетре.

Синусоиди се развијају од капиларних судова септум трансверзума и задобијају класични фенестровани изглед до 20. недеље гестације (*Gouysse* и сар., 2002). Од тог тренутка, ендотелне ћелије синусоида јетре остају функционално и фенотипски различите од других васкуларних ендотелних ћелија јетре, и на њима се може уочити експресија неколико рецептора који су карактеристични за ендотелне ћелије лимфних капилара који воде порекло од кардиналних вена. Ендотелне ћелије и синусоида и лимфних капилара имају минимално изражену базалну ламину, малобројне ћелијске спојеве и увек експримирају *LYVE-1* и *VAP-1*, док изостаје експресија антигена *CD34* (*Salmi* и *Jalkanen*, 2005). Поред овога, и ендотел синусоида и ендотел лимфних капилара експримирају гене за рилин (*Ikeda* и *Terashima*, 1997), гликопротеин који током ембрионалног развоја има значајну улогу у органогенези. Иако његова секреција престаје након ембриогенезе, у адултном организму он се експримира на ендотелним ћелијама синусоида и лимфних капилара, као и на хепатичним стелатним ћелијама (*Samata*, 2005). Претпоставља се да има улогу у регулацији лимфангиогенезе или у регулацији лифоендотелног фенотипа.

Ендотелне ћелије хепатичних синусоида формирају једину баријеру између хепатоцита и крви, а њихова стратешка позиција им омогућава интеракцију са леукоцитима и другим компонентама крви. Ове ћелије имају способност ендоцитозе и у нормалној јетри продукују минималну базалну мембрану, која садржи колаген типа IV (*Hahn* и сар., 1980; *Vidal-Vanaclocha* и сар., 1993). Експримирају неке од маркера заједничких за све ендотелне ћелије, као што су *CD31*, *CD105*, *vWF* и *E*-селектин. *CD31* се сматра маркером континуираног или класичног ендотела, те је још увек контроверзна његова експресија на ендотелу синусоидних капиlara јетре. Присуство овог маркера различитим техникама је у појединим студијама доказано на ендотелним ћелијама синусоида јетре пацова. Показано је да се његова експресија смањује после оштећења јетре изазване *CCl4* или *TNF α* (*Neubauer* и сар., 2000). Други аутори, међутим, сматрају да се овај антиген не експримира на ендотелу синусоида нормалне јетре пацова (*Scoazec* и сар., 1991). Код ендотела синусоида људске јетре ситуација је слична. За време ембрионалног развића хумане јетре *CD31* се не експримира на ендотелу синусоидних капиlara до 25. недеље. Код одраслих, овај маркер се доказује на ендотелним ћелијама у цирози јетре, али је његово присуство у здравој јетри минимално (*Daneker* и сар., 1998). *Lalor* и сар. (2006) наводе да је експресија *CD31* присутна и у нормалној и у оболелој јетри. Ове резултате треба узети са резервом, будући да синусоиди садрже и Купферове ћелије које експримирају овај антиген. Студије на културама ендотелних ћелија синусоида јетре показале су различите резултате везане за експресију *CD31* антигена. Поједини аутори наводе да субцелуларна локализација овог маркера на ендотелним ћелијама у култури може указивати на њихову дедиференцијацију (*DeLeve*, 2015), тј. да ћелије са експресијом *CD31* у цитоплазми представљају „нормалне“ ендотелне ћелије, док су оне које га експримирају на мембрани дедиферентоване – капиларизоване ендотелне ћелије (*Lalor* и сар., 2006).

Током ембрионалног периода развоја, појединачна танка колаген III и IV имунореактивна влакна се уочавају у зиду формирајућих синусоида јетре. Од 6. до 10. недеље развоја, компоненте базалне мембране (БМ) имају кључну улогу у регулацији диференцијације хепатоцита, синусоида и жучних путева (*Martinez-Hernandez* и *Martinez*, 1991). Чињеница да компоненте БМ учествују у морфогенези јетре је доказана у *in vitro* студији засејавања хепатоцита у култури, која показује да хепатоцити губе свој фенотип засејавањем на пластичној подлози или само на појединачним компонентама ЕЦМ. У примеру цирозе јетре, долази до губитка функције хепатоцита због преко-

мерне акумулације ЕЦМ и стромалних ћелија (*Handa* и сар., 2014; *Mao* и сар., 2015; *DeLeve*, 2015). На основу наведених података може се закључити да хепатични ЕЦМ има кључну улогу у хомеостази јетре, али и да је његова улога значајна и током патолошких процеса, попут цирозе (*Mao* и сар., 2015; *DeLeve*, 2015).

Крајем ембрионалног периода развоја, ламинин имунореактивност је слабо изражена и местимично се уочава у зиду синусоида. У паренхиму јетре се могу уочити крвни судови, који по величини одговарају синусоидима, а који испољавају континуирану ламинин имунопозитивност дуж њихових веома танких зидова. Постоји велики број контрадикторних података о експресији ламинина у перисинусоидалним просторима јетре током развоја и његовом појављивању током регенеративних промена у јетри сисара (*Halmann* и сар., 2005; *Bolarin* и *Azinge*, 2007). Већина аутора је сложна у тврдњи да се у непосредној близини митотички активних хепатоцита увек уочава присуство ламинина. Ламинин је способан да модулира фенотип хепатоцита *in vitro* условима, јер је показано да се хепатоцити из регенеришуће јетре доминантно везују за ламинин, а из нерегенеришуће се претежно везују за фибронектин. Модулација хепатогенезе може да зависи од ефеката ламинина на хепатоците у развоју, синусоидне ћелије или и једне и друге. Целуларна пролиферација у јетри није уочљива од 15. до 21. дана постнаталног живота пацова (*Herbst* и *Babiss*, 1991), што се поклапа са временом када експресија ламинина значајно опада, што сугерише да ламинин подстиче деобу хепатоцита *in vivo*.

Током даљег развоја синусоида, испољава се њихов профил имунореактивности, који се одржава до краја фетусног периода. Ендотел синусоида скоро да не показује *CD31* имунореактивност. Само се на појединим местима стиче утисак да ретки синусоиди имају *CD31* и *CD34* позитиван ендотел. Ретко, у зиду синусоида, тј. крвним судовима који по свом облику и величини подсећају на синусоиде, могу се уочити *CD146*, али и α -глаткомишићни актин имунореактивне ћелије, издуженог или неправилног облика. Оваква хетерогеност у експресији васкуларно-ендотелних маркера могла би се објаснити на основу истраживања *Vidal-Vanaclocha* и сар. (1993) и *Arid-a* (2007). Они су указали на постојање два типа ендотелних ћелија у синусоидним капиларима, ендотелне ћелије типа 1 (*liver endothelial cell type 1, LEC-1*) и ендотелне ћелије типа 2 (*liver endothelial cell type 2, LEC-2*). Резултати њиховог истраживања показују да се формирање фокуса хематопоезе у фетусној јетри мишева, током нормалног интраутериног развоја, дешава искључиво у перипортном делу јетриног парен-

хима, где је највећа дистрибуција *LEC-I* ћелија, што би могло да укаже да ове ћелије имају способност секреције и експресије одређених фактора, стварања специфичне микрооколине неопходне за одржавање хематопоеетских матичних ћелија, као и за пролиферацију и диференцијацију њихових ћерки ћелија (*Vidal-Vanaclocha* и сар., 1993). Међутим, резултати истраживања ове дисертације показују да крвни судови, који по свом облику и величини подсећају на синусоиде, садрже један субендотелно локализован, дисконтинуиран слој α -глаткомишићни актин позитивних ћелија, издуженог облика. Овакви судови се могу уочити у близини портних простора, али могу бити и удаљени од њих. Добијени резултати могу указивати на то да су поменути крвни судови најмањи огранци терминалних портних венула и инлет венула. Такође, у појединим судовима синусоидног изгледа могу се уочити појединачне α -глаткомишићни актин позитивне ћелије издуженог, готово цртастог, и ћелије неправилног облика.

Крајем фетусног периода, колаген I и IV имунореактивна влакна се у виду нежних кончастих и слабо имунореактивних структура налазе око ендотелних ћелија синусоида јетре, док се у перисинусоидним просторима ламинин имунореактивност може уочити у виду малих депозита. Колаген III имунореактивност се, у виду изузетно танког, скоро континуираног слоја, налази у зиду синусоида. Резултати овог истраживања недвосмислено показују да је интензивна колаген I, III и нешто слабија колаген IV имунопозитивност локализована у перисинусоидним просторима. *Klein* и сар. (1993) сматрају да депозиција компонената ЕЦМ-а у перисинусоидални матрикс јетре доприноси стварању специфичне хематопоеетске микрооколине у фетусној јетри, на сличан начин као што је то већ доказано у коштаног сржи. Утврђено је да је структура хуманих синусоида јетре, почетком другог триместра, када је хематопоеза у јетри најизраженија, јако слична капиларима црвене костне сржи. Оба типа капилара поседују *CD31* имунонегативан фенестровани и дисконтинуирани ендотел, који не поседује организовану базалну ламину са ламинином (*Newman*, 1997). Већина карактеристика које се јављају на синусоидним капиларима, током ране фазе формирања јетре, има за циљ да потпомогне нормално одвијање хематопоезе у јетри фетуса. Ове карактеристике остају присутне и после завршетка хепатичне фазе хематопоезе, омогућавајући да јетра и касније, током живота, буде место екстремедуларне хематопоезе током патолошких стања (*Couvelard* и сар., 1996).

5.3. КОЛЕКТОРНИ ВЕНСКИ СУДОВИ – ЦЕНТРАЛНЕ, СУБЛОБУЛАРНЕ И САБИРНЕ ВЕНЕ

У односу на експресију *CD34* антигена, у касном ембрионалном периоду развоја (7. и 8. недеља) могу се разликовати два типа крвних судова, готово идентичног дијаметра. Први тип крвних судова поседује *CD34* имунопозитиван ендотел, док код другог типа ендотелне ћелије не експримирају *CD34* антиген. *Abe* и сар. (2011) потврђују овај налаз, наводећи да је ендотел грана портне вене *CD34* имунопозитиван, као и да је ендотел притока хепатичне вене *CD34* имунонегативан. У фетусном периоду развоја, венски крвни судови портног простора, интерлобуларне вене и њени огранци, задржавају *CD34* имунопозитивност ендотела. У овом периоду, *CD34* имунореактивност се појављује у ендотелним ћелијама централних вена, чији интензитет расте са старашћу фетуса. Ендотел интерлобуларних вена је доста *CD34* имунореактивнији у односу на ендотел колекторних венских судова у истом периоду. У вези са тим, *CD34* имунореактивност ендотела крвних судова јетре у ембрионалном периоду може се узети као сигуран критеријум за разликовање *CD34* имунопозитивног огранка портне вене, у односу на *CD34* имунонегативан ендотел централних вена. *CD31* имунореактивност у одводним венским судовима се експримира по готово истом обрасцу као и *CD34* антиген.

У ембрионалном периоду, ендотел централних, сублобуларних и колекторних вена не показује *CD31* имунореактивност. *CD34* имунореактивност присутна је у ендотелу великих одводних венских судова (будуће сабирне, колекторне и централне вене). Централне вене у притокама губе ендотелну *CD34* позитивност, до потпуног нестанка у синусоидима. *CD146* имунореактивност се експримира на исти начин као и *CD34* антиген. Наш налаз експресије ендотелних маркера крајем ембрионалног периода је доста раније идентификован у односу на налаз *Gouysse* и сар. (2002), који показују да се примитивне централобуларне вене први пут појављују у 10. недељи развоја.

Са повећањем старости фетуса, интензивира се имунореактивност ендотелних маркера колекторних венских крвних судова (*Fasel*, 2008). Тако, у другом триместру, веће централне вене, сублобуларне и колекторне, поседују ендотел умерене *CD31*, *CD34* и *CD146* имунореактивности, која се губи према њеним утокама – мањим централним венама и синусоидима. На крају фетусног периода, *CD31* и *CD34* имунореактивност је присутна и код најмањих централних вена, што у ранијим периодима

развоја није био случај. У вези са тим, може се напоменути да ендотел колекторних крвних судова показује фенотипске промене у односу на CD34 имунореактивност.

Крајем ембрионалног периода, у зиду колекторних вена нису идентификоване глатке мишићне ћелије. Током развоја и са повећањем дијаметра одводног венског система, расте и заступљеност глатких мишићних ћелија. У зиду највећих одводних венских судова, глатке мишићне ћелије се могу уочити у ширем појасу. У зиду мањих и средњих централних вена, почев од 25. недеље развоја, испод ендотела, налази се један слој глатких мишићних ћелија, који изостаје на уливу синусоида у централне вене.

У ембрионалном периоду развоја, у зиду формирајућих централних венула се уочавају појединачна танка колаген III имунореактивна влакна. Колаген IV имунореактивност присутна је у зиду свих венских судова колекторног система. Овакав налаз указује на значај колагена типа III у формирању првобитне потпоре у организацији и формирању васкуларних структура у јетри. Током развоја, поред колагена III и IV, и колаген I имунореактивна влакна, умереног интензитета, присутна су у танком зиду централних вена. У сублобуларним венама се запажа још израженија и заступљенија имунореактивност колагених влакана. Резултати истраживача *Shiojiri* и *Nagaji* (1992), који описују да са развојем портних простора тип I и тип III колаген постепено почињу да преовладавају у субендотелном везивном ткиву колекторних вена, у сагласности су са резултатима нашег истраживања. Такође, *Handa* и сар. (2014) сматрају да се колаген тип I експримира у зиду колекторних вена у фетусном периоду, што се поклапа са описом резултата овог истраживања, тј. појављивањем колагена тип I средином фетусног периода. Ово је и у сагласности са резултатима *Quandomatteo* и сар. (1999), који, на основу специфичних матриксних металопротеиназа, описују слабу колаген тип I имунопозитивност у зиду микроваскулатуре хуманих јетри крајем првог триместра интраутериног развоја.

Крајем ембрионалног периода, ламинин имунореактивност није присутна у зидовима мањих централних вена, али се касније, током развоја, јавља у виду малих депозита. У зидовима већих централних и сублобуларних вена, уочава се интензивна ламинин имунопозитивност. Ова позитивност је најочљивија у унутрашњем слоју зида великих сублобуларних вена. Многи истраживачи су доказали присуство ламинина у структурама јетре, и током процеса развоја, и током процеса регенерације, што указује на комплексну улогу овог протеина (*Baloch* и сар., 1992, *Wewer* и сар., 1992).

Током II и III триместра, у фетусним јетрама расте имунореактивност компоненти ЕЦМ-а (осим ламинина у синусоидима). Наш налаз је у складу са налазом *Amenta* и *Harrison* (1997), који описују сличну експресију колагена I код фетусне јетре пацова, и *Baptista* и сар. (2014), који су показали имунореактивност колагена III, у облику дисконтинуираних депозита, у перисинусоидним просторима јетре одраслих особа. *Shiojiri* и *Nagaji* (1992) указују да се колаген I експримира у облику дисконтинуираних трака у свим перисинусоидним просторима, као и у везивном ткиву портних простора, што је у складу са нашим резултатима. Ови налази се могу објаснити на начин да компоненте ЕЦМ-а имају централну улогу у пролиферацији, миграцији и диференцијацији ћелија, као и у ремоделирању јетре у фетусном периоду. Током развоја јетре, колаген IV и ламинин су присутни у перисинусоидном простору, у облику дисконтинуираних депозита. Процент колагена IV се повећава са гестационом старашћу и изједначава се са ламинином током раног постнаталног периода (*Reif* и сар., 1990; *Elkasaby* и сар., 1991; *Baloch* и сар., 1992; *Amenta* и *Harrison*, 1993; *Ober* и *Lemaigre*, 2018). Студије рађене на фетусним јетрама пацова су показале да су, у раним стадијумима хепатогенезе и у јетри у којој се одвија регенерација, синусоиди прекривени континуираним ендотелом, али без морфолошки препознатљиве базалне мембране, упркос присуству колагена IV и ламинина у перисинусоидном простору (*Amenta* и *Harrison*, 1997; *Shiojiri* и *Sugiyama*, 2004; *Zeisberg* и сар., 2006; *Kuo* и сар., 2012; *Mak* и сар., 2013; *Zhou* и сар., 2016). *Quondamatteo* и сар. (1999) описују да смањена експресија ламинина у микроваскулатури указује на повећање дисконтинуитета ендотела. *Gimenez* и сар. (1995) и *Levavasseur* и сар. (1995) показују да је ламинин присутан у БМ крвних судова јетре одраслих особа, осим у перисинусоидним просторима, док је током фетусног развоја присутан и у њима (*Baloch* и сар., 1992; *Wewer* и сар., 1992). Овакав налаз је делимично у складу са нашим резултатима, и могао би се објаснити чињеницом да су на почетку, током ембрионалног периода развоја, синусоиди покривени континуираним ендотелом, уз присуство базалне ламине. Након тога, током развоја, експресија ламина се смањује, јер синусоиди добијају дисконтинуирани фенотип, без присуства базалне ламине (*Martinez-Hernandez* и *Amenta*, 1993; *Couvelard* и сар., 1996; *Gouysse* и сар., 2002).

5.4. ЛИМФНИ СУДОВИ

Питање порекла лимфних судова јетре још увек је предмет дискусије. Сматра се да примитивна лимфна кеса настаје од ендотелних ћелија пупољка кардиналне вене. По другом моделу, лимфни судови настају независно, диференцијацијом мезенхимских прекурсорских ћелија.

Ендотелне ћелије синусоида адултне јетре показују одређене морфолошке и функционалне сличности са ендотелним ћелијама лимфних судова: имају слабо изражену базалну ламину, ретке оклудентне спојеве и експримирају маркере лимфних судова – *D2-40*, *LYVE-1* и *VAP-1* (*SSAO/AOC3*) (*Braet* и сар., 2001; *Mouta Carreira* и сар., 2001; *Salmi* и сар., 2005). У литератури нису пронађени подаци о развојним и имунохистохемијским карактеристикама лимфних судова јетре хуманих ембриона и фетуса, као ни о могућој сличности између ендотелних ћелија синусоида и лимфних судова јетре у развоју.

Ендотел синусоида јетре има сличности са ендотелом лимфних судова, јер и један и други ендотел експримирају *LYVE-1*. *LYVE-1* се експримира на ендотелу кардиналне вене, почевши од 8. дана интраутериног развоја пацова, док молекула *D2-40* почиње експресију 12. дана, у тренутку када се лимфатична кеса одваја од кардиналне вене. Експерименталне животиње које немају ген за *D2-40* умиру још у ембрионалном периоду, а оне којима недостаје ген за *LYVE-1* могу да нормално живе до краја живота (*Zorn* и сар., 2008; *Si-Tayeb* и сар., 2010). Резултати овог истраживања су у сагласности са резултатима других истраживача и показују да се крајем ембрионалног периода *LYVE-1* и *D2-40* имунореактивност не запажа у структурама формирајућег портног простора ни у централној вени. У овом периоду, *LYVE-1* имунореактивност се местимично уочава у ендотелним ћелијама синусоидних капилара јетре. Крајем првог триместра трудноће, у јетри фетуса, слабу *LYVE-1* имунореактивност испољавају ендотелне ћелије интерлобуларних вена, као и ендотелне ћелије њених огранака – терминалних портних венула. У овом периоду, уочљива је и *LYVE-1* имунореактивност, умереног интензитета, у ендотелним ћелијама синусоидних капилара и формирајућих централних вена.

На основу дистрибуције експресије *LYVE-1*, који је уједно и рецептор за хијалуронску киселину, може се индиректно закључити да хијалуронска киселина, главни конституент екстрацелуларног матрикса, има улогу у диферентовању ендотелних

ћелија и синусоида и лимфних судова, али у различитим фазама ембрионалног развоја јетре. Наиме, експресија *LYVE-1* на ендотелним ћелијама синусоида, уочена само на почетку фетусног периода, указује на улогу *LYVE-1* и хијалуронске киселине у почетној диференцијацији ендотелних ћелија синусоида, што се може повезати са улогом хијалуронске киселине у ангиогенези и миграцији ћелија (*Carreira* и сар., 2001). На супрот томе, експресија *LYVE-1* на ендотелним ћелијама у лимфним судовима, од средине па до краја фетусног периода, иде у прилог значају овог молекула за морфофункционалну диференцијацију ендотела лимфних судова у другој половини фетусног периода развоја јетре.

Са даљим развојем, у јетри фетуса, највећи интензитет *D2-40* имунореактивности показују ендотелне ћелије лимфних судова капсуле јетре. У овом периоду, у портним просторима јетре се уочава умерена *D2-40* и *LYVE-1* имунопозитивност у ендотелним ћелијама лимфних судова, као и у недиферентованим мезенхимским ћелијама. Ендотел интерлобуларних крвних судова није *D2-40* и *LYVE-1* имунореактиван. Ендотел синусоида показује јасну *LYVE-1* имунореактивност у перипортним и у перифералним синусоидима, мада се, на појединим местима, међу синусоидима уочавају и појединачни синусоиди са *LYVE-1* имунонегативним ендотелом. Имајући у виду овај налаз, као и тумачење да је *LYVE-1* главни познати рецептор за хијалуронску киселину (*Carreira* и сар., 2001), који има улогу у транспорту хијалуронске киселине из ткива у лимфу (*Prevo* и сар., 2001), претпоставља се да иницијални лимфни судови у јетри настају од мезенхимских ћелија у региону портних простора, након формирања портне тријаде, док главно лимфатично стабло води порекло од лимфатичне кесе, односно од ендотелног пулоља кардиналне вене (*Jurišić* и *Detmar*, 2009).

Све до краја фетусног периода, задржава се интензивна *D2-40* имунопозитивност у ендотелним ћелијама лимфних судова капсуле јетре. *D2-40* и *LYVE-1* имунореактивност су присутне, пре свега, у ендотелу лимфних судова, како већих тако и мањих портних простора, при чему је интензитет имунореактивности скоро једнак у свим ендотелним ћелијама. За разлику од претходна два триместра, ендотелне ћелије синусоидних капилара у трећем триместру показују веома слабу *LYVE-1* имунореактивност, док у појединим ендотелним ћелијама ова имунопозитивност потпуно нестаје. Зид како мањих, тако и већих лимфних судова, не садржи α -глаткомишићни актин позитивне ћелије, нити је *CD146* имунореактиван.

Уколико се пореде интензитети имунопозитивних реакција, од почетка до краја фетусног периода, уочава се разлика. Јача експресија *D2-40*, у поређењу са интензитетом експресије *LYVE-1* у ткивним узорцима старости 37 недеља гестације, сугерише улогу подопланина – рецептора за *D2-40* у дефинитивној фенотипској диференцијацији ендотелних ћелија лимфних судова. Треба истаћи да се резултат овог истраживања, који се односи на дистрибуцију *D2-40* у јетри на крају фетусног периода, подудара са његовом дистрибуцијом у ткиву јетре одраслих особа (*Nikolić* и сар., 2017). Недавно су *Fujii* и сар. (2008), применом *D2-40*, у узорцима нормалне јетре одраслих доказали експресију подопланина на ендотелу лимфних судова, нервним влакнима и мезотелу који покрива фиброзна капсулу и, истовремено, одсуство његове експресије на било којој ћелијској популацији у јетрином лобулусу (*Fujii* и сар., 2008).

Поред примене *D2-40* молекула, као маркера ендотелних ћелија у лимфним судовима, има података о експресији његовог рецептора – подопланина и у неким туморима јетре (хемангиомима, епителиоидним хемангио-ендотелиомима), тако да се *D2-40* молекул, који се везује за подопланин, поред тога што је усвојен као маркер ендотела лимфних судова, може користити и као дијагностички маркер за епителоидне хемангиоендотелиоме у јетри (*Fujii* и сар., 2008).

5.5. ИНЕРВАЦИЈА

Аутономни нервни систем игра важну улогу у регулацији микроциркулације и метаболизма у јетри (*Bioulac-Sage* и сар., 1990). Описана су адренергичка, холинергичка и катехоламинска аутономна нервна влакна у јетри, која су у блиском контакту или су локализована у зиду крвних судова (*Nobin* и сар., 1978; *Amenta* и сар., 1981).

У јетрама ембриона ни у једној структури није идентификована синаптофизин имунореактивност. У јетрама фетуса, у 10. недељи развоја, изузетно ретко, идентификована је синаптофизин имунореактивност у појединачним нервним влакнима у зиду огранака портне вене, али само у пределу хилуса. За разлику од наших резултата, *Terada* (2015) показао је да се имунореактивна нервна влакна појављују у зиду интерлобуларних вена од 7. недеље интраутериног развоја, а да их од 16. недеље, слично нашим резултатима, има у већем броју у хилусном портном простору, као и у зидовима интерлобуларних артерија и вена, и перибилијарног капиларног плексуса.

Током развоја јетре фетуса, уочава се присуство синаптофизин имунореактивности у виду појединачних нервних влакана или снопова нервних влакана. Већи снопови нервних влакана, који су присутни у везивном ткиву портних простора, залазе дубље у зид како артеријских, тако и венских судова. У већим и средњим портним просторима, у зиду интерлобуларних вена, појединачна синаптофизин позитивна нервна влакна присутна су на граници између тунике медије и тунике адвентиције. У мањим портним просторима, споменута влакна се простиру непосредно или веома близу ендотела од којег их одваја један слој ћелија. Сличне резултате су добили и *Moghimzadeh* и сар. (1983) и *Kyosola* и сар. (1985), који су доказали да су адренергичка нервна влакна у портним просторима јетре, као и *Miyazawa* и сар. (1988), који су показали присуство неуропептид Y имунореактивних нервних влакана у зиду интерлобуларних артерија и вена.

Поред синаптофизин имунореактивности, бележи се и *CD146* и колаген IV имунореактивност у нервним влакнима портног простора, што се одржава до краја интраутериног развоја.

Средином фетусног периода, у зиду већих централних и сублобуларних вена су идентификована веома ретка синаптофизин имунореактивна нервна влакна. Крајем фетусног периода развоја, синаптофизин позитивна нервна влакна уочавају се у зиду терминалних портних и инлет венула и дубље у лобулу јетре, перисинусоидно. *Moghimzadeh* и сар. (1983) и *Amenta* и сар. (1981) доказали су да су катехолиминска и холинергичка нервна влакна у блиском контакту са хепатоцитима, што је у сагласности са нашим резултатима, који показују појединачна синаптофизин имунореактивна нервна влакна у перисинусоидном простору. У зиду мањих, средњих и већих централних вена, идентификована синаптофизин позитивна нервна влакна су веома ретка. Међутим, у дебљем зиду већих венских одводних судова (сублобуларне и колекторне вене), и то субинтимално и адвентицијално, могу се уочити танка синаптофизин имунореактивна нервна влакна, са варикозним проширењима, што указује на њихов пептидергички садржај. Код одраслих, у нервним влакнима јетре је идентификована имунореактивност неурон-специфичне енолесе (*NSE*), неурофиламентног протеина, *S-100* протеина, глукагона, глукагону сличног пептида (*GLP*), соматостатина, неуропептида Y, вазоактивног интестиналног полипептида (*VIP*), неуротензина, гастрин/холецистокинина, супстанце P и галанина (*Arisio* и сар., 2002; *Awatshi* и сар., 2004; *El-Salhy* и сар., 1993). Николић (1996), у својој докторској дисертацији, износи податке да

се у јетри фетуса идентификују аргирофилна, *S-100* протеина, *NSE*-, гастрин/холецистокинина-, глукагон-, супстанце *P*-, *CGRP*- и мотилин- имунореактивна нервна влакна. Ова влакна су локализована у зиду интерлобуларне вене и њених огранака, интерлобуларне артерије, перисинусоидно и у зиду одводних вена.

У хилусним портним просторима, кроз које се простиру већи огранци нерава, у њиховом пери- и ендонеуријуму су идентификовани мали крвни судови (артериоле, венуле, капилари), који у зиду садрже један слој α -глаткомишићних имунопозитивних ћелија.

Аутономни нервни систем јетре има важну улогу у локалној регулацији микроциркулације, метаболизму гликогена и липида и жучних путева. Осим тога, регулаторни пептиди нервних влакана јетре имају различите ефекте, као што су вазоконстрикторни или вазодилаторни. Многи од наведених пептида имају улогу и у процесима раста и диференцијације. Већина завршетака аутономног нервног система има и сензорну функцију, с обзиром на то да су неки од њих барорецептори, осморецептори и рецептори за глукозу. Пептидергички одељак аутономног нервног система јетре има незаобилазну улогу у патогенези многих обољења јетре, као што је хронични активни хепатитис, код којег се повећава број пептидергичких нервних влакана (*Bioulac-Sage* и сар., 1990). Иако аутономна нервна влакна имају важне улоге у функционисању јетре, ипак ваготонија не доводи до промена у дужини животног века човека (*Terada*, 2015).

Без обзира на чињеницу да је описано да се употребом синаптофизин антитела могу доказати и перисинусоидне ћелије, у нашем истраживању то није био случај.

5.6. МОРФОМЕТРИЈСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ЈЕТРЕ У РАЗВОЈУ

Волуменска густина портних простора јетре од ембрионалног ка фетусном и до краја фетусног периода се повећава, крећући се у распону од 5,3% до 18,77%. Ови резултати су у сагласности са налазима *Blouin* и сар. (1977) и *Van de Werve* (1980), који су показали да на екстрацелуларни матрикс јетре одраслих особа отпада 16–22% од укупног волумена јетре. Сразмерно повећању волуменске густине портних простора, волуменска густина интерлобуларних артерија у портним просторима расте, од 3,19%, колико износи на почетку фетусног периода развоја, до 6,71%, колика је у трећем триместру.

Волуменска густина интерлобуларних вена у портним просторима јетре се прогресивно смањује, од ембрионалног периода, где износи 68,54%, до краја фетусног периода, када износи 17,81%. Објашњење за овакав налаз лежи у чињеници да се у портном простору крајем ембрионалног периода налазе само једна интерлобуларна вена и изузетно оскудно везиво, због чега је у ембрионалном периоду волуменска густина интерлобуларних вена и највећа. Са развојем, у портном простору се појављују и остали елементи портне тријаде, један или више артеријских огранака и билијарних канала, као и везивно ткиво, што логично доводи до смањења волуменске густине интерлобуларних вена.

Волуменска густина синусоида у лобулусу јетре се благо повећава током развоја плода. Њене вредности се крећу од 29,69% до 33,11%.

Нумеричка ареална густина интерлобуларних артерија и вена, током развоја јетре, такође су у порасту. Њихове вредности се крећу од 3,44% до 4,05% за артерије, и од 2,07% до 4,07% за интерлобуларне вене.

Волуменска и нумеричка густина лимфних судова у портним просторима јетре за време пренаталног развоја плода се повећава, од другог, где износи 7,45% (волуменска густина) и 7,51% (нумеричка густина), према трећем триместру, када достиже вредност од 12,23% (волуменска густина) и 15,48% (нумеричка густина), што је сразмерно повећању волуменске густине портних простора.

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу изнесених резултата докторске дисертације о испитивању развојних карактеристика крвних и лимфних судова јетре ембриона и фетуса човека, произилазе следећи закључци:

1. Јетра у ембрионалном периоду развоја није лобуларне грађе, у њој се не уочавају портни простори, нити се прави разлика између интерлобуларних и централних вена; портни простори са интерлобуларним артеријама и венама се уочавају почетком фетусног периода (9. недеља), а комплетирани портни простори, са свим елементима портне тријаде, уочавају се од 10. недеље развоја; синусоиди јетре су крајем 8. недеље широки и неправилног облика и у даљем развоју се уситњавају, сужавају и, у трећем триместру, радијално оријентишу; централне вене се препознају крајем ембрионалног и почетком фетусног периода, док се од другог триместра идентификују сублобуларне и колекторне вене; хематопоеза у јетри је присутна током целог периода пренаталног развоја.

2. Интерлобуларне артерије, почевши од 9. недеље развоја, када се први пут распознају, садрже трослојан зид, којег чине интима, медија и адвентиција; ендотелне ћелије интима се карактеришу веома интензивном *CD31* и *CD34* имунореактивношћу; медија садржи један или више слојева глатких мишићних ћелија, зависно од калибра артерије, које су α -глаткомишићни актин имунореактивне; крајем првог триместра, колаген I, III и IV имунореактивна влакна се уочавају у субендотелном слоју интима, у медији и у адвентицији; у овом периоду, у базалној ламини ендотела и у медији, око глатких мишићних ћелија, уочава се имунореактивност ламинина слабог интензитета, која се током развоја појачава, док се имунореактивност осталих испитиваних маркера одржава до краја фетусног развоја.

3. Интерлобуларне вене, крајем ембрионалног периода развоја, такође садрже трослојни тањи зид, у коме су ендотелне ћелије интензивно *CD34* имунопозитивне, док је *CD31* имунореактивност у њима слабо изражена; у овом периоду, медија садржи α -глаткомишићни актин позитивне глатке мишићне ћелије у континуираном, или, код мањих огранака, дисконтинуираном слоју; у њиховом зиду доказани су колаген I и IV, док је колаген III имунореактивност веома слабо изражена; почетком фетусног периода

развоја, у ендотелу долази до пораста интензитета *CD31* имунореактивности, уз истовремену појаву ламинина у базалној ламини и у медији; имунореактивност свих споменутих антигена у зиду интерлобуларне вене се одржава до краја фетусног периода развоја.

4. Терминалне портне и инлет венуле, које се распознају почетком фетусног периода развоја, имају веома танак зид састављен од ендотелних ћелија које су *CD31* и *CD34* умерено имунореактивне, и α -глаткомишићни актин имунопозитивних глатких мишићних ћелија у дисконтинуираном слоју; у овом периоду, у њиховом зиду се уочава и имунореактивност колагена I, III и IV и ламинина; описани профил имунореактивности се одржава до краја пренаталног развоја.

5. Синусоиди, крајем ембрионалног периода развоја, садрже ендотел који је слабо *CD34* имунопозитиван и *CD31* имунонегативан; од 10. недеље развоја до краја фетусног периода, ендотел синусоида губи и *CD34* имунопозитивност; крајем првог триместра, у зиду синусоида, појединачна танка колаген I, III и IV имунореактивна влакна, као и местимично присутна ламинин имунореактивна поља, уочавају се у зиду синусоида (перисинусоидно); овакав профил имунореактивности колагена се одржава до краја фетусног периода, док се ламинин имунореактивност постепено губи до потпуног изостанка, крајем другог и у трећем триместру развоја.

6. Централне вене, крајем ембрионалног периода, садрже ендотел који је *CD31* и *CD34* негативан; крајем првог триместра (11–12. недеља), ендотел већих централних, сублобуларних и колекторних вена постаје умерено *CD31* и *CD34* имунореактиван, при чему се та имунореактивност губи према њиховим притокама – мањим централним венама; даљим развојем јетре, до краја фетусног периода, *CD31* и *CD34* имунореактивност се интензивира и постаје уочљива у ендотелу и најмањих централних вена; од почетка до краја фетусног периода, танак зид централних и дебљи зид сублобуларних и колекторних вена садржи колаген I, III и IV и ламинин имунореактивност.

7. *CD34* имунореактивност ендотелних ћелија, крајем ембрионалног периода развоја јетре, може послужити за разликовање интерлобуларних и централних вена, када су ови крвни судови усамљени и имају готово идентичан изглед, с обзиром на то да је ендотел интерлобуларних вена *CD34* имунопозитиван, а ендотел централних вена *CD34* имунонегативан; на тај начин се, на основу различите *CD34* имунореактивности,

крајем ембрионалног периода развоја, разликују два фенотипа ендотелних ћелија – ендотелне ћелије интерлобуларних вена и ендотелне ћелије централних вена.

8. Колокализовани налаз *CD34* имунореактивних ендотелних ћелија и α -глатко-мишићни актин позитивних ћелија у интралобуларним, широко луменских, крвним судовима, перипортне локализације, недвосмислено указује да се ради о огранцима терминалних портних и инлет венула, који имају *CD34* позитиван ендотел и глатке мишићне ћелије у свом зиду, а не о синусоидима, који имају *CD34* негативан ендотел и у свом зиду не садрже глатке мишићне ћелије.

9. Нервна влакна, која су први пут доказана у јетри фетуса, крајем првог триместра, у портним просторима су синаптофизин имунореактивна; у другом триместру, ова влакна су бројнија, имунореактивнија, показују различитост дијаметара и евидентира се њихова локализованост и у зиду интерлобуларних артерија и вена; у трећем триместру, њихово разграновање, а самим тим и бројност се повећава, при чему се појединачна синаптофизин позитивна нервна влакна уочавају и интралобуларно, у перисинусоидним просторима.

10. Лимфни судови јетре, који су имунохистохемијски детектовани почетком другог триместра, у капсули и у портним просторима, садрже ендотел који показује интензивну *D2-40* имунореактивност и слабију *LYVE-1* имунореактивност, која се током развоја интензивира; у истом периоду, у танком зиду лимфних судова идентификована је веома слаба колаген I, III и IV и ламинин имунореактивност.

11. Ендотелне ћелије синусоида показују имунохистохемијску сличност са ендотелним ћелијама лимфних судова, јер оба типа ендотелних ћелија експримирају маркер лимфних судова – *LYVE-1*, али не експримирају маркер крвних судова *CD31*; ендотелне ћелије синусоида, крајем ембрионалног периода, показују позитивну *CD34* и *LYVE-1* имунореактивност; у фетусном периоду, *CD34* имунореактивност се губи, а *LYVE-1* имунореактивност се одржава до краја овог периода развоја.

12. Волуменска густина портних простора јетре од ембрионалног до краја фетусног периода се повећава; сразмерно повећању волуменске густине портних простора, волуменска густина интерлобуларних артерија у портним просторима расте, као и нумеричка ареална густина интерлобуларних артерија и вена; волуменска густина интерлобуларних вена у портном простору јетре се прогресивно смањује, док се, током

развоја плода, волуменска густина синусоида у лобулусу јетре благо повећава; волуменска и нумеричка густина лимфних судова у портним просторима јетре за време пренаталног развоја се повећавају, од другог према трећем триместру, што је сразмерно повећању волуменске густине портних простора.

13. Резултатима овог дисертационог рада описане су развојне хистолошке, имунохистохемијске и морфометријске карактеристике крвних и лимфних судова јетре током њеног пренаталног развоја; дефинисани су различити типови крвних судова и време њиховог препознавања, као и имунохистохемијске карактеристике њиховог зида, тј. ћелијског састава и садржаја екстрацелуларног матрикса; у процесу диференцијације, крајем ембрионалног и почетком фетусног периода развоја, доказане су различите фенотипске форме ендотелних ћелија портних крвних судова и њихових огранака, синусоида и вена колекторног система; доказана је и сличност ендотела синусоида са ендотелом лимфних судова; на основу дистрибуције глатких мишићних ћелија, у јетри фетуса се могу разликовати огранци терминалних портних венула и синусоидних капилара, који се у перипортном региону, на класично обојеним препаратима, не могу разликовати.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Abe S, Suzuki M, Cho K, Murakami G, Cho B, Ide Y. CD34-positive developing vessels and other structures in human fetuses: an immunohistochemical study. *Surg Radiol Anat.* 2011; 33(10):919-27.
2. Acarreguli M, England K, Richman J, Littig J. Characterization of CD34+ cells isolated from human fetal lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003; 284:365-401.
3. Ahmed Q, Harrison D, Johnson SJ, Burt AD. Expression of muscle-associated cytoskeletal proteins by human liver sinusoidal cells. In: Wisse E, Knook DL, McCuskey R, (Eds.) *Cells of the Hepatic Sinusoid*, vol. 3. Leiden, Kupffer Cell Foundation, 1991, pp 203-6.
4. Aird WC. Endothelial cell heterogeneity. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2(1):a006429.
5. Aird WC. Endothelium in health and disease. *Pharmacol Rep.* 2008; 60(1):139-43
6. Aird WC. Molecular heterogeneity of tumor endothelium. *Cell Tissue Res.* 2009; 335(1):271-81.
7. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circ Res* 2007; 100:158-73
8. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: II. Representative vascular beds. *Circ Res.* 2007; 100(2):174-90.
9. Amarapurkar AD, Amarapurkar DN, Vibhav S, Patel ND. Angiogenesis in chronic liver disease. *Ann Hepatol.* 2007; 6(3):170–3.
10. Amenta F, Cavallotti C, Ferrante F, Tonelli F. Cholinergic nerves in the human liver. *Histochem J.* 1981; 13:419-24.
11. Amenta P, Gil J, Martinez-Hernandez A. Connective tissue of rat lung. II: ultrastructural localization of collagen types III, IV, and VI. *J Histochem Cytochem* 1988; 36:1167-73.
12. Amenta P, Harrison D. Expression and potential role of the extracellular matrix in hepatic ontogenesis: a review. *Microsc Res Tech.* 1997; 39(4):372-86.
13. Arimoto J, Ikura Y, Suekane T, Nakagawa M, Kitabayashi C, Iwasa Y, Sugioka K, Naruko T, Arakawa T, Ueda M. Expression of LYVE-1 in sinusoidal endothelium is reduced in chronically inflamed human livers. *J Gastroenterol.* 2010; 45(3):317-25.
14. Arisio R, Borissone M, Piccoli I, Panzica G. Central nervous system microangiarchitecture in the human foetus. *Adv Clin Path.* 2002; 6:125-9.

15. Awasthi A, Das A, Srinivasan R, Joshi K. Morphological and immunohistochemical analysis of ductal plate malformation: correlation with fetal liver. *Histopathology*. 2004; 45(3):260-7.
16. Baksh D, Yao R, Tuan R. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem cells*. 2007; 25:1384-92.
17. Baloch Z, Klapper J, Buchanan L, Schwartz M, Amenta P. Ontogenesis of the murine hepatic extracellular matrix: an immunohistochemical study. *Differentiation* 1992; 51(3):209-18.
18. Banerji S, Ni J, Wang S, Clasper S, Su J, Tammi R, Jones M, Jackson G. LYVE-1, a new homologue of the CD44 glycoprotein, is a lymph-specific receptor for hyaluronan. *JCB*. 1999; 144(4):789-801.
19. Baptista PM, Moran E, Vyas D, Shupe T, Soker S. Liver Regeneration and Bioengineering: The Role of Liver Extra-Cellular Matrix and Human Stem/Progenitor Cells. In: *Regenerative Medicine Applications in Organ Transplantation*. Orlando G, Lerut JP, Soker S, Stratta RJ (eds). First edition. Elsevier, London. 2014; pp: 391-8.
20. Barberá-Guillem I, Arrue J, Ballesteros J, Vidal-Vanaclocha F. Structural changes in endothelial cells of developing rat liver in the transition from fetal to postnatal life. *J Ultrastruct Mol Struct Res*. 1986; 97(1-3):197-206.
21. Bardadin K, Scheuer P, Peczek A, Wejman J. Immunocytochemical observations on macrophage populations in normal fetal and adult human liver. *J Pathol* 1991; 164:253-9.
22. Barioz C, Sengel P, Grimaud J. Immunolocalization of matricial components during the early stages of chick embryonic liver development. *Biol Struct Morphog*. 1988; 1(1):3-14.
23. Barlow DP, Green NM, Kurkinen M, Hogan BL. Sequencing of laminin B chain cDNAs reveals C-terminal regions of coiled-coil alpha-helix. *EMBO J*. 1984; 3:2355-2362.
24. Bayraktar Y, Bayraktar M, Gurakar A, Hassanein T, Van Thiel D. A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis: the role of interferon in the development of autoimmune diseases. *Hepatology*. 1997; 44:417-25.
25. Beauchamp J, Heslop L, Yu D, Tajbakhsh S, Kelly R, Wernig I. Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J Cell Biol*. 2000; 151(6):1221-34.
26. Benedetti A, Bassotti C, Rapino K, Marucci L, Jezequel AM. A morphometric study of the epithelium lining the rat intrahepatic biliary tree. *J Hepatol*. 1996; 24: 335-342.

27. Berthoud HR. Anatomy and function of sensory hepatic nerves. *Anat Rec.* 2004; 280:827-35
28. Bioulac-Sage P, Lafon ME, Saric J, Balabaud C. Nerves and perisinusoidal cells in human liver. *J Hepatol.* 1990; 10:105-12.
29. Biswas P, Canosa S, Schoenfeld D, Schoenfeld J, Li P, Cheas LC, Zhang J, Cordova A, Sumpio B, Madri JA. PECAM-1 affects GSK-3 β -mediated β -catenin phosphorylation and degradation. *Am J Pathol.* 2006; 169:314-24.
30. Blanc-Brunat N, Mutin M, Peyrol S. Immunohistochemical localization of type IV collagen fibronectin and laminin in the juxtaglomerular apparatus of the rat kidney. *Cell Mol Biol.* 1989;35(4):469-84.
31. Bobryshev Y, Orekhov A, Chistiakov D. Vascular stem/progenitor cells: current status of the problem. *Cell Tissue Res.* 2015; 362(1):1-7
32. Bolarin D, Azinge E. Biochemical markers, extracellular components in liver fibrosis and cirrhosis. *Nig Q J Hosp Med.* 2007; 17(1):42-52.
33. Braet F, Luo D, Spector I, Vermijlen D, Wisse I. Endothelial and pit cells. In: Arias I, Boyer J, Chisari F, Fausto N, Schachter D, Shafritz D, editors. *The Liver: Biology and Pathobiology.* 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins. 2001; 437–53.
34. Braet F, Wisse I. Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review. *Comp Hepatol.* 2002; 1(1):1-17.
35. Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, Horvat R, Amann G, Kriehuber E, Diem K, Weninger W, Tschachler E, Alitalo K, Kerjaschki D. Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries. Podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. *Am J Pathol.* 1999; 154:385-94.
36. Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, Horvat R, Amann G, Kriehuber E, Diem K, Weninger W, Tschachler E, Alitalo K, Kerjaschki D. Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries: podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. *Am J Pathol.* 1999; 154(2):385-94.
37. Burkel W. The fine structure of the terminal branches of the hepatic arterial system of the rat. *Anat Rec.* 1970; 167(3):329-49.
38. Burkhardt J. Cytoskeletal function in the immune system. *Immunological Reviews.* 2013; 256:5-9.
39. Burt A, Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P. Morphologic investigation of sinusoidal cells. *Semin Liver Dis.* 1993; 13(1):21-38.

40. Buscher H, Schramm U, MacNelly S, Kurz G, Gerok W. The acinar location of the sodium-independent and the sodium-dependent component of taurocholate uptake. A histoautoradiographic study of rat liver. *J Hepatol.* 1991; 13:169-78.
41. Butler M, Kobayashi H, Rafii S. Instructive role of the vascular niche in promoting tumour growth and tissue repair by angiocrine factors. *Nat Rev Cancer.* 2010; 10:138-46.
42. Calakos N, Scheller R. Vesicle-associated membrane protein and synaptophysin are associated on the synaptic vesicle. *J. Biol. Chem.* 1994; 269(40):24534-7
43. Cameron P, Sudhof T, Jahn R, De Camilli P. Colocalization of synaptophysin with transferrin receptors: implications for synaptic vesicle biogenesis. *J Cell Biol.* 1991; 115:151-64.
44. Cardier J, Barbera-Guillem I. Extramedullary hematopoiesis in the adult mouse liver is associated with specific hepatic sinusoidal endothelial cells. *Hepatology.* 1997; 26(1):165-75.
45. Carnegie JA, Cabaca O. Extracellular matrix composition and resilience: two parameters that influence the in vitro migration and morphology of rat inner cell mass-derived cells. *Biol Reprod.* 1993; 48(2):287-99.
46. Carreira M, Nasser M, Di Tomaso E, Padera P, Boucher Y, Tomarev IS, Jan KR. LYVE-1 is not restricted to the Lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrhosis. *Cancer Research* 2001; 61:8079-84.
47. Chivu M, Dima S, Stancu C, Dobrea C, Uscatescu V, Necula L, Bleotu C, Tanase C, Albulescu R, Ardeleanu C, Popescu I. In vitro hepatic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells under differential exposure to liver-specific factors. *Translational Research.* 2009; 154(3):122-32.
48. Cho K, Lunderquist A. The peribiliary vascular plexus: the microvascular architecture of the bile duct in the rabbit and in clinical cases. *Radiology.* 1983; 147:357-64,
49. Chu A, Litzky L, Pasha T, Acs G, Zhang P. Utility of D2-40, a novel mesothelial marker, in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 2005; 18(1):105-110.
50. Chu P, Zhong J, Lawrence W. Hepatocyte antigen as a marker of intestinal metaplasia. *The American journal of surgical pathology.* 2003; 27(7):952-9.
51. Civin C, Trischmann T, Fackler M, Bernstein I, Brunning J, Campos L, Greaves M, Kamoun M, Katz D, Lansdorp P, et al. Report on the CD34 cluster workshop; in Knapp W, Dorken B, Gilk W, Rieber E, Stein H, Schmidt R, von den Borne A (eds): *Leukocyte Typing IV.* Oxford, UK, Oxford University, 1989; p. 818.

52. Cleaver O, Dor Y. Vascular instruction of pancreas development. *Development*. 2012; 139(16):2833-43.
53. Clement B, Rissel M, Peyrol S, Mazurier Y, Grimaud JA, Guillouzo A. A procedure for light and electron microscopic intracellular immunolocalization of collagen and fibronectin in rat liver. *J Histochem Cytochem*. 1985; 33(5):407-14.
54. Collardeau-Frachon S, Scoazec J. Vascular development and differentiation during human liver organogenesis. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008; 291(6):614-27.
55. Collins C, Guilluy C, Welch C, O'Brien E, Hahn K, Superfine R, Burridge K, Tzima E. Localized tensional forces on PECAM-1 elicit a global mechanotransduction response via the integrin-RhoA pathway. *Curr Biol*. 2012; 22(22):2087-94.
56. Couvelard A, Scoazec J, Feldmann G. Expression of cell-cell and cell-matrix adhesion proteins by sinusoidal endothelial cells in the normal and cirrhotic human liver. *Am J Pathol*. 1993; 143(3):738-52.
57. Couvelard I, Scoazec JY, Dauge MC, Bringuier F, Potet F, Feldmann G. Structural and functional differentiation of sinusoidal endothelial cells during liver organogenesis in humans. *Blood*. 1996; 87(11):4568-80.
58. Covas T, Panepucci A, Fontes M, Silva A, Orellana D, Freitas C, Neder L, Santos R, Peres L, Jamur C, Zago A. Multipotent mesenchymal stromal cells obtained from diverse human tissues share functional properties and gene-expression profile with CD146+ perivascular cells and fibroblasts. *Exp. Hematol*. 2008; 36:642-54.
59. Crawford AR, Lin XZ, Crawford JM. The normal adult human liver biopsy: a quantitative reference standard. *Hepatology*. 1998; 28: 323-31.
60. Daneker G, Lund S, Caughman S, Swerlick R, Fischer H, Staley C. Culture and characterization of sinusoidal endothelial cells isolated from human liver. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 1998; 34(5):370-7.
61. Dardenne I. The microcirculation of the liver: literature study and micro CT-imaging of its architecture and hemodynamic properties. 2013.
62. Darlington GJ. Molecular mechanisms of liver development and differentiation. *Curr Opin Cell Biol*. 1999;11(6):678-82.
63. Delalande J, Milla P, Burns A. Hepatic nervous system development. *Anat Rec*. 2004; 280A:848-53
64. DeLeve L. Liver sinusoidal endothelial cells in hepatic fibrosis. *Hepatology*. 2015; 61(5):1740-6.

65. Draganova-Tacheva R, Solomides C, Ren S, Bibbo M. Arginase-1 and HepPar-1 expression in fine-needle aspiration specimens of primary lung adenocarcinoma. *Journal of the American Society of Cytopathology*. 2015; 4(3):137-40.
66. Duncan S, Navas M, Dufort D, Rossant J, Stoffel M. Regulation of a transcription factor network required for differentiation and metabolism. *Science*. 1998; 281:692-95.
67. Duncan S. Mechanisms controlling early development of the liver. *Mech Dev*. 2003; 120(1):19-33.
68. Ekataksin W, Wake K. New concepts in biliary and vascular anatomy of the liver. *Prog Liv Dis*. 1997; 15:1-30.
69. Ekataksin W, Zou Z, Wake K, Chunhabundit P, Somana R, Nishida J, McDonnell D. Hepatic microcirculatory subunits in mammalian species: intralobular grouping of liver tissue with definition enhanced by the drop-out sinusoids. In: Wisse E, Knook DL, Wake K, eds. *Cells of the Hepatic Sinusoids*. Volume 5. Leiden: Kupffer Cell Foundation, 1995; 247-51.
70. Ekataksin W, Zou Z, Wake K, Chunhabundit P, Somana R, Nishida J, McCuskey R. The hepatic microcirculatory subunits: an over-threecentury-long search for the missing link between an exocrine unit and an endocrine unit in mammalian liver lobules. In: Motta PM, ed. *Recent Advances in Microscopy of Cells, Tissues and Organs*. Rome: University of Rome La Sapienza Press, 1997; 375-80.
71. El Filali E, Duijst S, Hiralall JK, Legrand N, van Gulik T, Hoekstra R, Seppen J. Human fetal liver cells for regulated ex vivo erythropoietin gene therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2014; 1:14003.
72. Elias H, Petty D. Terminal distribution of the hepatic artery. *Anat Rec*. 1953; 116:9-17.
73. Elias H. A re-examination of the structure of the mammalian liver II: the hepatic lobule and its relation to the vascular and biliary systems. *Am J Anat*. 1949; 85:379-456.
74. Elkasaby A, Xu D, Schröter-Kermani C, Merker H. Morphology, differentiation and matrix production of liver cells in organoid cultures (high density cultures) of fetal rat livers. *Histol Histopathol*. 1991; 6(2):217-28.
75. Elvevold K, Nedredal GI, Revhaug A, Bertheussen K, Smedsrod B. Long-term preservation of high endocytic activity in primary cultures of pig liver sinusoidal endothelial cells. *Eur J Cell Biol*. 2005; 84(9):749-64.
76. Elvevold K, Smedsrod B, Martinez I. The liver sinusoidal endothelial cell: a cell type of controversial and confusing identity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008; 294:G391-G400.

77. Engel J, Chiquet M. An overview of extracellular matrix structure and function. In: Mecham R. (ed) *The extracellular matrix: an overview*. Springer Science & Business Media, 2011; pp 1-41.
78. Enzan H, Hara H, Yamashita Y, Ohkita T, Yamane T. Fine structure of hepatic sinusoids and their development in human embryos and fetuses. *Acta Pathol Jpn*. 1983; 33:447-66.
79. Enzan H, Himeno H, Hiroi M, Kiyoku H, Saibara T, Onishi S. Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells. *Microsc Res Tech*. 1997; 39(4):336-49.
80. Eshkind L, Leube R. Mice lacking synaptophysin reproduce and form typical synaptic vesicles. *Cell Tissue Res*. 1995; 282:423-433.
81. Fasel JH. Portal venous territories within the human liver: an anatomical reappraisal. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008; 291(6):636-42.
82. Feaver R, Gelfand B, Wang C, Schwartz M, Blackman B. Atheroprone hemodynamics regulate fibronectin deposition to create positive feedback that sustains endothelial inflammation. *Circ Res*. 2010; 106:1703-11.
83. Fennie C, Cheng J, Dowbenko D, Young P, Lasky L. CD34+ endothelial cell lines derived from murine yolk sac induce the proliferation and differentiation of yolk sac CD34+ hematopoietic progenitors. *Blood*. 1995; 86(12):4454-67.
84. Fleischmajer R, Perlish J, Timpl R. Collagen fibrillogenesis in human skin. *Ann NY Acad Sci*. 1985; 460:246-57.
85. Fleischmajer R, Timpl R, Tudermann L. Ultrastructural identification of extension amino propeptides of types I and III collagens in human skin. *Proc Natl Acad Sci*. 1981; 78:7360-4.
86. Friedl P, Weigelin B. Interstitial leukocyte migration and immune function. *Nature Immunology*. 2008; 9: 960-9.
87. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008; 134(6):1655-69.
88. Fujii T, Zen Y, Sato Y, Sasaki M, Enomae M, Minato H, Masuda S, Uehara T, Katsuyama T, Nakanuma Y. Podoplanin is a useful diagnostic marker for epithelioid hemangioendothelioma of the liver. *Modern Pathology*. 2008; 21:125-30
89. Gale W, Prevo R, Espinosa J, Ferguso J, Dominguez M, Yancopoulos G, Thurston G, Jackson D. Normal Lymphatic Development and Function in Mice Deficient for the Lymphatic Hyaluronan Receptor LYVE-1. *Mol Cell Biol* January. 2007; 27(2): 595-604.

90. Gao C, Sun W, Christofidou-Solomidou M, Sawada M, Newman K, Bergom C, Albelda M, Matsuyama S, Newman J. PECAM-1 functions as a specific and potent inhibitor of mitochondrial-dependent apoptosis. *Blood*. 2003; 102(1):169-79.
91. Gaudio E, Onori P, Pannarale L, Alvaro D. Hepatic microcirculation and peribiliary plexus in experimental biliary cirrhosis: a morphological study. *Gastroenterology*. 1996; 111:1118-24.
92. Geerts A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin. Liver Dis*. 2001; 21:311-35.
93. Gersdorff N, Müller M, Otto S, Poschadel R, Hübner S, Miosge N. Basement membrane composition in the early mouse embryo day 7. *Dev Dyn*. 2005; 233(3):1140-8.
94. Giampieri P, Jezequel M, Orlandi F. The lipocytes in normal human liver. *Digestion* 1981; 22:165-9.
95. Giménez A, Hostench J, Stamatoglou S, Enrich C. Differential expression of A and B laminin chains during rat liver regeneration. *Hepatology*. 1995; 22(4Pt1):1259-62.
96. Gligorijević J, Djordjević B, Petrović A, Radičević A, Stojanović S. Expression of CD34 in cirrhotic liver – reliance to dedifferentiation. *Vojnosanit Pregl*. 2010; 67(6):459-62.
97. Gordillo M, Evans T, Gouon-Evans V. Orchestrating liver development. *Development*. 2015; 142(12):2094-108.
98. Gouysse G, Couvelard A, Frachon S, Bouvier R, Nejari M, Dauge MC, Feldmann G, Hénin D, Scoazec JY. Relationship between vascular development and vascular differentiation during liver organogenesis in humans. *J Hepatol*. 2002; 37(6):730-40.
99. Graesser D, Solowiej A, Bruckner M, Osterweil E, Juedes A, Davis S, Ruddle NH, Engelhardt B, Madri J. Altered vascular permeability and early onset of experimental autoimmune encephalomyelitis in PECAM-1-deficient mice. *J Clin Invest*. 2002; 109:383-92.
100. Grant D, Tashiro K, Segui-Real B, Yamada Y, Martin R, Kleinman K. Two different laminin domains mediate the differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures in vitro. *Cell*. 1989; 58(5):933-43.
101. Gressner M, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med*. 2006; 10(1):76-99.
102. Guarrera V, Karim A. Liver preservation: is there anything new yet? *Current opinion in organ transplantation*. 2008;13(2): 148-54.

103. Gumerova A, Titova A, Kiasso P. Cell sources of liver development. *Tsitologija*. 2007; 49(2):133-41.
104. Gumina J, Kirschbaum E, Rao N, VanTuinen P, Newman J. The human PECAM-1 gene maps 17q23. *Genomics*. 1996; 34(2):229-32.
105. Guyot C, Lepreux S, Combe C. Hepatic fibrosis and cirrhosis: the (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2006; 38(2):135-51.
106. Hahn E, Wick G, Pencev D, Timpl R. Distribution of basement membrane proteins in normal and fibrotic human liver: collagen type IV, laminin, and fibronectin. *Gut*. 1980; 21(1):63-71.
107. Hallmann R, Horn N, Selg M, Wendler O, Pausch F, Sorokin M. Expression and function of laminins in the embryonic and mature vasculature. *Physiol Rev*. 2005; 85(3):979-1000.
108. Handa K, Matsubara K, Fukumitsu K, Guzman-Lepe J, Watson A, Soto-Gutierrez A. Assembly of human organs from stem cells to study liver disease. *Am J Pathol*. 2014; 184(2):348-57.
109. Hardonk M, Huitema S, Koudstaal I. Immunohistochemical methods in the study of liver sinusoidal cells. In: Wisse E, Knook DL, Decker K (Eds): *Cells of the Hepatic Sinusoid*, vol.2. Rijswijk, Kupffer Cell Foundation. 1989; 483-487.
110. Hay E. Introductory remarks. In: *Cell Biology of Extracellular Matrix*. Second Edition. Hay E (eds). Springer Science+Business Media New York, New York. 1991; 1-7.
111. Hind L, Vincent W, Huttenlocher A. Leading from the Back: The Role of the Uropod in Neutrophil Polarization and Migration. *Developmental Cell*. 2016; 38:161-9.
112. Hirata K, Yoshida Y, Shiramatsu K, Freeman E, Hayasaka H. Effects of laminin, fibronectin and type IV collagen on liver cell cultures. *Exp Cell Biol*. 1983; 51(3):121-9.
113. Hughes R, Stamatoglou S. Adhesive interactions and the metabolic activity of hepatocytes. *J Cell Sci Suppl*. 1987; 8:273-91.
114. Hughes S, Yang H, Chan-Ling T. Vascularization of the human fetal retina: roles of vasculogenesis and angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41:1217-28.
115. Hwang S. Microcirculation of the Liver. In: Madoff D, Makuuchi M, Nagino M, Vauthey JN. (eds) *Venous Embolization of the Liver*. Springer, London. 2011. DOI 10.1007/978-1-84882-122-4_2.

116. Ikeda Y, Terashima T. Expression of reelin, the gene responsible for the reeler mutation, in embryonic development and adulthood in the mouse. *Dev Dyn.* 1997; 210:157-72.
117. Jackson E. The unfolding tale of PECAM-1. *FEBS Letters* 540, 2003; 7-14.
118. Jackson G, Prevo R, Clasper S, Banerji S. LYVE-1, the lymphatic system and tumor lymphangiogenesis. *Trends Immunol.* 2001; 22(6):317-21
119. Jackson G. The lymphatics revisited: new perspectives from the hyaluronan receptor LYVE-1. *Trends Cardiovasc Med.* 2003; 3(1):1-7.
120. Janz R, Sudhof C, Hammer E, Unni V, Siegelbaum A, Bolshakov Y. Essential roles in synaptic plasticity for synaptogyrin I and synaptophysin I. *Neuron.* 1999; 24:687–700.
121. Jezequel M, Novelli G, Venturini C, Orlandi F. Quantitative analysis of the perisinusoidal cells in human liver; the lipocytes. *Front Gastrointestinal Res.* 1984; 8:85-90.
122. Jiang T, Zhuang J, Duan H, Luo Y, Zeng Q, Fan K, Yan H, Lu D, Ye Z, Hao J, Feng J, Yang D, Yan X. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis. *Blood.* 2012; 120(11):2330-9.
123. Jin ZW, Nakamura T, Yu HC, Kimura W, Murakami G, Cho BH. Fetal anatomy of peripheral lymphatic vessels: a D2-40 immunohistochemical study using an 18-week human fetus (CRL 155 mm). *J. Anat.* 2010; 216(6):671-82.
124. Jones L, Schmucker L. Current concepts of liver structure as related to function. *Gastroenterology* 1977; 73:833-51.
125. Jović M, Nikolić I, Todorović V, Petrović A, Petrović V, Denčić T. D2-40 immunoreactivity of lymphatic vessels endothelium and representation of lymphatic vessels in the liver of human fetuses of different gestational age. *Acta Fac Med Naiss.* 2017; 34(1): 23-33.
126. Jung J, Zheng M, Goldfarb M, Zaret KS. Initiation of mammalian liver development from endoderm by fibroblast growth factors. *Science.* 1999; 284:1998-2003.
127. Jurisic G, Detmar M. Lymphatic endothelium in health and disease. *Cell Tissue Res.* 2009; 335: 97-108.
128. Kališnik M, Eržen I, Smolej V. Stereološke metode. In: Temelji stereologije. Third Edition. Kališnik M. (eds). Društvo za stereologijo in kvantitativno analizo slike (DSKAS), Ljubljana, Slovenija. 2002; pp: 37-91.
129. Kan Z, Madoff DC. Liver Anatomy : Microcirculation of the Liver. 2008; 1(212):77-85.
130. Karkavelas G, Kefalides N, Amenta P, Martinez-Hernandez A. Comparative ultrastructural localization of collagen types III, IV, VI, and laminin in rat uterus and kidney. *J Ultrastruct Mol Struct Res.* 1988; 100:137-55.

131. Keene R, Sakai Y, Bachinger P, Burgeson E. Type III collagen can be present on banded collagen fibrils regardless of fibril diameter. *J Cell Biol* 1987; 105:2393-402.
132. Kiassov A, Van Eyken P, van Pelt J, Depla E, Fevery J, Desmet VJ, Yap SH. Desmin expressing nonhematopoietic liver cells during rat liver development: an immunohistochemical and morphometric study. *Differentiation*. 1995;59(4) 253-8.
133. Kiernan F. The anatomy and physiology of the liver. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, Biol*. 1833; 123:711-70
134. Kierszenbaum A, Tress L. *Histology and cell biology – an introduction to pathology*. Forth edition. Elsevier, 2015.
135. Kim H, Park C, Han K, Choi J, Kim YB, Kim JK, Park YN. Primary liver carcinoma of intermediate (hepatocyte–cholangiocyte) phenotype. *J Hepatol*. 2004; 40:298–304.
136. Kim T, Mars W, Stolz D, Petersen B, Michalopoulos G. Extracellular matrix remodeling at the early stages of liver regeneration in the rat. *Hepatology* 1997; 26(4):896-904.
137. Klaus M, Kuhl U. Laminin and its receptor. *Biochim Biophys Acta*. 1985; 823:14-160.
138. Klein G, Beck S, Muller CA. Tenascin is a cytoadhesive extracellular matrix component of the human hematopoietic microenvironment. *J Cell Biol*. 1993; 123(4):1027-35.
139. Kleinman K, Cannon B, Laurie W, Hassell R, Aumailley M, Terranova P, Martin R, Dubois Dalcq M. Biological activities of laminin. *J Cell Biochem*. 1985; 27:317-325.
140. Koçkaya E, Akay M. Histological changes in the liver of fetuses of alcohol-treated pregnant rats. *Cell Biochem Funct*. 2006; 24(3):223-7.
141. Koga A. Morphogenesis of intrahepatic bile duct of human fetus: light and electron microscopic study. *Z Anat Entwickl*. 1971; 135(2):156-84.
142. Kondo S, Scheef EA, Sheibani N, Sorenson CM. PECAM-1 isoform-specific regulation of kidney endothelial cell migration and capillary morphogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007; 292(6):C2070-83
143. Kopp G, AVECILLA T, Hooper T, Rafii S. The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology (Bethesda)*. 2005; 20:349-356.
144. Krstić R. *Illustrated Encyclopedia of Human Histology*. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1984. DOI 10.1007/978-3-642-51596-5.
145. Kubota H, Yao L, Reid M. Identification and characterization of vitamin A-storing cells in fetal liver: implications for functional importance of hepatic stellate cells in liver development and hematopoiesis. *Stem Cells*. 2007; 25(9)2339-49.

146. Kuckleburg CJ, Newman PJ. Neutrophil proteinase 3 acts on protease-activated receptor-2 to enhance vascular endothelial cell barrier function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33:275-84
147. Kumagai A, Fukuo K, Keiji S, Masafumi I, Takeshi F, Masaji H, Masato W, Yurie S, Tsuyoshi I, Takuo T, et al. Immunohistochemical study of hepatocyte, cholangiocyte and stem cell markers of hepatocellular carcinoma: the second report: relationship with tumor size and cell differentiation. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2016; 23(7):414-21.
148. Kuo D, Labelle-Dumais C, Gould DB. COL4A1 and COL4A2 mutations and disease: insights into pathogenic mechanisms and potential therapeutic targets. *Hum Mol Genet.* 2012; 21(1):97-110.
149. Kuroda N, Nakayama H, Miyazaki E, Hayashi Y, Toi M, Hiroi M, Enzan H. Distribution and role of CD34-positive stromal cells and myofibroblasts in human normal testicular stroma. *Histol Histopathol.* 2004;19(3):743-51.
150. Kwon S, Chapman R. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. *Neuron.* 2011;70(5):847-54.
151. Лачковић В, Николић И, Тодоровић В. Основна и орална хистологија и ембриологија. Друго издање. Уредник: Николић И. Дата Статус. Београд, 2014.
152. Lalor P, Herbert J, Bicknell R, Adams D. Hepatic sinusoidal endothelium avidly binds platelets in an integrin-dependent manner, leading to platelet and endothelial activation and leukocyte recruitment. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013; 304(5):G469-78.
153. Lalor P, Lai W, Curbishley S, Shetty S, Adams D. Human hepatic sinusoidal endothelial cells can be distinguished by expression of phenotypic markers related to their specialised functions in vivo. *World J Gastroenterol.* 2006;12:5429-39.
154. Lamers WH, Hilberts A, Furt E, Smith J, Jonges GN, van Noorden CJ, Janzen JW, Charles R, Moorman AF. Hepatic enzyme zonation: a reevaluation of the concept of the liver acinus. *Hepatology.* 1989;10:72-76.
155. Langille BL. Remodeling of developing and mature arteries: endothelium, smooth muscle, and matrix. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993;21(1):S11-7.
156. Lutt WW. Hepatic nerves: a review of their functions and effects. *Can J Physiol Pharmacol.* 1980; 58:105-123.
157. Lee SY, Miwa M, Sakai Y, Kuroda R, Oe K, Niikura T, Matsumoto T, Fujioka H, Doita M, Kurosaka M. Isolation and characterization of connective tissue progenitor cells derived from human fracture-induced hemarthrosis in vitro. *J Orthop Res.* 2008; 26:190-9.

158. Lee U, Friedman S. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2011; 25(2):195-206.
159. Lemaigre F, Zaret KS. Liver development update: new embryo models, cell lineage control, and morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev.* 2004; 14(5):582-90.
160. Lepreux S, Desmoulière A. Human liver myofibroblasts during development and diseases with a focus on portal (myo)fibroblasts. *Front Physiol.* 2015;6:173.
161. LeSage G, Alvaro D, Benedetti A, Glaser S, Marucci L, EisenW, Caligiuri A. Cholinergic system modulates growth, apoptosis and secretion of cholangiocytes from bile duct ligated rats. *Gastroenterology.* 1999; 117:191-99.
162. Levavasseur F, Loréal O, Liétard J, Théret N, L'Helgoualc'h A, Guillouzo A, Clément B. Basement membrane gene expression in the liver. *J Hepatol.* 1995; 22(2):10-9.
163. Libbrecht L, Cassiman D, Desmet V, Roskams T. The correlation between portal myofibroblasts and development of intrahepatic bile ducts and arterial branches in human liver. *Liver* 2002; 22:252–8.
164. Libbrecht L, Roskams T. Molecular diagnostic approach to liver tissue as an ancillary tool for liver histopathology. *Semin Liver Dis.* 2006; 26(4):328-36.
165. Linsenmayer TF. Collagen. In: Hay ED (ed) *Cell biology of extracellular matrix.* Plenum Press, New York. 1981; pp 5-37.
166. Lo R, Oi-lin I. Histological Mimicker of Hepatocellular Carcinoma in the Liver. *Pathology Case Reviews* 2014; 19(6): 305-8
167. Loo C, Wu X. Origin of stellate cells from submesothelial cells in a developing human liver. *Liver International.* 2008; 28(10):1437-45.
168. Ludwig J. New concepts in biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 1987; 7: 293-301.
169. Maas M, Stapleton M, Bergom C, Mattson DL, Newman DK, Newman PJ. Endothelial cell PECAM-1 confers protection against endotoxic shock. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288:H159-H164
170. Maher J, McGuire RF. Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis in vivo. *J clin Invest.* 1990; 86:1641-1648.
171. Mak K, Chen L, Lee T. Codistribution of collagen type IV and laminin in liver fibrosis of elderly cadavers: immunohistochemical marker of perisinusoidal basement membrane formation. *Anat Rec.* 2013; 296(6):953-64.
172. Mak K, Chu E, Lau K, Kwong A. Liver fibrosis in elderly cadavers: localization of collagen types I, III, and IV, α -smooth muscle actin, and elastic fibers. *Anat Rec.* 2012; 295(7):1159-67.

173. Mak K, Mei R. Basement Membrane Type IV Collagen and Laminin: An Overview of their Biology and Value as Fibrosis Biomarkers of Liver Disease. *Anat Rec (Hoboken)*. 2017; 300(8):1371-90.
174. Mall FP. A study of the structural unit of the liver. *Am J Anat*. 1906; 5:227-308.
175. Mao M, Alavi M, Labelle-Dumais C, Gould D. Type IV Collagens and Basement Membrane Diseases: Cell Biology and Pathogenic Mechanisms. *Curr Top Membr*. 2015; 76:61-116.
176. Martin GR, Timpl R. Laminin and other basement membrane components. *Annu Rev Cell Biol*. 1987; 3:57-85.
177. Martinez-Hernandez A, Amenta PS. The hepatic extracellular matrix. I. Components and distribution in normal liver. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1993; 423(1):1-11.
178. Martinez-Hernandez A, Delgado FM, Amenta PS. The extracellular matrix in hepatic regeneration. Localization of collagen types I, III, IV, laminin, and fibronectin. *Lab Invest*. 1991; 64(2):157-66.
179. Martinez-Hernandez A. The hepatic extracellular matrix. I. Electron immunohistochemical studies in normal rat liver. *Lab Invest* 1984; 51:5-74.
180. Martinez-Hernandez* A, Amenta PS. The hepatic extracellular matrix. II. Ontogenesis, regeneration and cirrhosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1993; 423(2): 77-84.
181. Masatake Tanaka and Yasuko Iwakiri. The Hepatic Lymphatic Vascular System: Structure, Function, Markers, and Lymphangiogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2016; 2(6): 733-49.
182. Masyuk TV, Huang BQ, Ward CJ, Masyuk AI, Yuan D, Splinter PL, Punyashthiti R, Ritman EL, Torres VE, Harris PC, LaRusso NF. Defects in cholangiocyte fibrocystin expression and ciliary structure in the PCK rat. *Gastroenterology*. 2003; 125: 1303-10.
183. Mathew J, James OFW, Hines JE, Burt AD. Quantitative analysis of the perisinusoidal cell and macrophage response to acetaminophen-induced liver injury. In: Gressner AM, Ramadori G, (Eds): *Molecular and cell biology of liver fibrogenesis*. Lancaster, UK, MTP Press, 1992, pp 358-60.
184. Matsumoto T, Komori R, Magara T, Ui T, Kawakami M, Tokuda T, Takasaki S, Hayashi H, Jo K, Hano H, Tanaka H. A Study on the normal Structure of the human Liver, with special reference to its angioarchitecture. *Jikeikai Med J* 1979;26:1-40.
185. McCuskey R. A dynamic and static study of hepatic arterioles and hepatic sphincters. *Am J Anat*. 1996; 119:455-78.

186. McCuskey RS. The hepatic microvascular system. In: Arias IM, ed. *The Liver: Biology and Pathobiology*. New York: Raven, 1994; 1089-106.
187. McMahon HT, Bolshakov VY, Janz R, Hammer RE, Siegelbaum SA, Südhof TC. Synaptophysin, a major synaptic vesicle protein, is not essential for neurotransmitter release. *Proc Natl Acad Sci*. 1996; 93(10):4760-4.
188. Menger MD, Vollmar B. Role of microcirculation in transplantation. *Microcirculation*. 2000; 7(5):291-306.
189. Migliaccio G, Migliaccio A, Petti S, Mavilio F, Russo G, Lazzaro D, Testa U, Marinucci M, Peschle C. Human embryonic hemopoiesis. Kinetics of progenitors and precursors underlying the yolk sac-liver transition. *J Clin Invest*. 1986; 78(1): 51–60.
190. Monbaliu D, Brassil J. Machine perfusion of the liver: past, present and future. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010; 15:160-6.
191. Mouta Carreira C, Nasser M, di Tomaso I, Padera P, Boucher Y, Tomarev I, Jain K. LYVE-1 is not restricted to the lymph vessels: expression in normal liver blood sinusoids and down-regulation in human liver cancer and cirrh. *Cancer Res*. 2001; 61(22):8079-84.
192. Мојсиловић М. Морфолошка и морфометријска студија субепикардних сегмената коронарних артерија новорођенчади. Докторска дисертација. Медицински факултет, Ниш, 2004.
193. Muench MO, Cupp J, Polakoff J, Roncarolo MG. Expression of CD33, CD38, and HLA-DR on CD34+ human fetal liver progenitors with i high proliferative potential. *Blood*. 1994; 83(11):3170-81.
194. Naito M, Hasegawa G, Takahashi K. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cells. *Microsc Res Tech*. 1997; 39(4):350-64.
195. Nakayama H, Enzan H, Miyazaki I, Kuroda N, Naruse K, Hiroi M. Differential expression of CD34 in normal colorectal tissue, peritumoral inflammatory tissue, and tumour stroma. *J Clin Pathol*. 2000; 53(8):626-9.
196. Nava S, Westgren M, Jaksch M, Tibell A, Broome U, Ericzon Bo-G, Sumitran-Holgerson S. Characterization of cells in the developing human liver. *Differentiation*. 2005; 73:249-260.
197. Neubauer K, Ritzel A, Saile B, Ramadori G. Decrease of platelet-endothelial cell adhesion molecule 1-gene-expression in inflammatory cells and in endothelial cells in the rat liver following CCl(4)-administration and in vitro after treatment with TNFalpha. *Immunol Lett*. 2000; 74: 153-64
198. Newman J. Switched at birth: a new family for PECAM-1 *J. Clin. Invest*. 1999; 103:5-9.

199. Newman PJ. Perspectives Series. Cell Adhesion in Vascular Biology The Biology of PECAM-1. 1997; 99(1):3-8.
200. Nielsen JS, McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. J Cell Sci. 2008; 121(Pt 22):3683-92.
201. Николић И, Ранчић Г, Раденковић Г, Лачковић В, Тодоровић В, Митић Д, Михаиловић Д. Ембриологија човека. Седмо допуњено и измењено издање. Уредник: И. Николић. Дата Статус. 2018.
202. Николић И. Динамика развоја и морфолошке карактеристике интерлобулусних простора јетре човека од ембрионалног периода до десете године живота. Магистарски рад. Ниш, 1991.
203. Николић И. Неуроендокрине ћелије и пептидергичка нервна влакна хумане јетре и жучне кесе у ембриофетусном развоју. Докторска дисертација. Ниш, 1996.
204. Nikolić I, Todorović V, Petrović A, Petrović V, Jović M, Vladičić J, Puškaš N. Immunohistochemical heterogeneity of endothelium of blood and lymphatic vessels in human liver in development and adulthood. Cells Tissues Organs. 2017; 203(4):243-257.
205. Nikolova G, Strilic B, Lammert E. The vascular niche and its basement membrane. Trends Cell Biol. 2007; 17:19-25.
206. No authors listed. Hepatic stellate cell nomenclature. Hepatology 1996; 23:193.
207. Nobin A, Baumgarten HG, Falck B, Ingemansson S, Mohimzadeh E, Rosengren E. Organization of the sympathetic innervation in liver tissue from monkey and man. Cell Tissue Res 1978; 195:371-80.
208. Noble KE, Wickremasinghe RG, DeCornet C, Panayiotidis P, Yong KL. Monocytes stimulate expression of the Bcl-2 family member, A1, in endothelial cells and confer protection against apoptosis. J Immunol. 1999; 162:1376-83.
209. Nonaka H, Tanaka M, Suzuki K, Miyajima I. Development of murine hepatic sinusoidal endothelial cells characterized by the expression of hyaluronan receptors. Dev Dyn. 2007; 236:2258-67.
210. Nourshargh S, Alon R. "Leukocyte Migration into Inflamed Tissues". Immunity Review. 2014; 41: 694-707.
211. Oberlin I, Tavian M, Blazsek I, Péault B. Blood-forming potential of vascular endothelium in the human embryo. Development. 2002; 129(17):4147-57.
212. Ohno M, Martinez-Hernandez A, Ohno N, Kefalides NA. Comparative study of laminin found in normal placental membrane with laminin of neoplastic origin. In: Shibata S (ed) Basement membranes. Elsevier, Amsterdam 1985; pp 3-12.

213. Ohtani O, Ohtani Y. Lymph circulation in the liver. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008; 291(6):643-52.
214. Olds JM, Stafford ES. On the manner of anastomosis of the hepatic and portal circulations. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1930; 47:176-85.
215. O'Rahully R, Muller F. Developmental stages in human embryos. Carnegie Institution of Washington, Carnegie Laboratories of Embryology, California Primate Research Center and Departments of Human Anatomy and Neurology, University of California, Davis, 1987.
216. Osada M, Aishima S, Hirahashi M, Takizawa N, Takahashi S, Nakamura K, Tanaka M, Maehara Y, Takayanagi R, Oda Y. Combination of hepatocellular markers is useful for prognostication in gastric hepatoid adenocarcinoma. *Human pathology*. 2014; 1243-50
217. Payushina O. Hemathopoetic microenvirement in the fetal liver: roles of different cell populations. *ISRN Cell Biology*. 2012.
218. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999; 284:1168-70.
219. Petrova TV, Makinen T, Makela TP, Saarela J, Virtanen I, Ferrell RE, Finegold DN, Kerjaschki D, Yla-Herttuala S, Alitalo K. Lymphatic endothelial reprogramming of vascular endothelial cells by Prox-1 homeobox transcription factor. *EMBO J*. 2002; 21(17):4593-9.
220. Pitman B, Triratanachat S, Young RH, Oliva E. Hepatocyte paraffin 1 antibody does not distinguish primary ovarian tumors with hepatoid differentiation from metastatic hepatocellular carcinoma. *International Journal of Gynecologic Pathology*. 2004; 58-64.
221. Pöschl E, Schlötzer-Schrehardt U, Brachvogel B, Saito K, Ninomiya Y, Mayer U. Collagen IV is essential for basement membrane stability but dispensable for initiation of its assembly during early development. *Development*. 2004; 131(7):1619-28.
222. Prevo R, Banerji S, Ferguson DJ, Clasper S, Jackson DG. Mouse LYVE-1 is an endocytic receptor for hyaluronan in lymphatic endothelium. *J Biol Chem*. 2001; 276(22):19420-30.
223. Privratsky JR, Newman PJ. PECAM-1: regulator of endothelial junctional integrity, *Cell Tissue Res*. 2014; 355(3): 607-19
224. Pusztaszeri MP, Seelentag W, Bosman FT. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem*. 2006; 54(4):385-95.

225. Quondamatteo F, Knittel T, Mehde M, Ramadori G, Herken R. Matrix metalloproteinases in early human liver development. *Histochem Cell Biol.* 1999; 112(4):277-82.
226. Quondamatteo F, Scherf C, Miosge N, Herken R. Immunohistochemical localization of laminin, nidogen, and type IV collagen during the early development of human liver. *Histochem Cell Biol.* 1999; 111(1):39-47.
227. Ramadori G, Saile B. Mesenchymal cells in the liver—one cell type or two? *Liver.* 2002; 22(4):283-94.
228. Ramos-Moreno T, Galazo MJ, Porrero C, Martínez-Cerdeño V, Clascá F. Extracellular matrix molecules and synaptic plasticity: immunomapping of intracellular and secreted Reelin in the adult rat brain. *Eur J Neurosci.* 2006; 23(2):401-22.
229. Rappaport A. The structural and functional unit in the human liver (liver acinus). *Anat Rec.* 1958;130:673-89.
230. Rappaport AM, Borowy ZJ, Loughheed WM, Lotto WN. Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit. *Anat Rec.* 1954; 119:11-33.
231. Reif S, Terranova VP, el-Bendary M, Lebenthal E, Petell JK. Modulation of extracellular matrix proteins in rat liver during development. *Hepatology.* 1990; 12(3 Pt 1):519-25.
232. Rescan PY, Clément B, Grimaud JA, Guillois B, Strain A, Guillouzo A. Participation of hepatocytes in the production of basement membrane components in human and rat liver during the perinatal period. *Cell Differ Dev.* 1989; 26(2):131-44.
233. Rescan PY, Loréal O, Hassell JR, Yamada Y, Guillouzo A, Clément B. Distribution and origin of the basement membrane component perlecan in rat liver and primary hepatocyte culture. *Am J Pathol.* 1993; 142(1):199-208.
234. Roskams T, Cassiman D, De Vos R, Libbrecht L. Neuroregulation of the neuroendocrine compartment of the liver. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2004; 280(1):910-23.
235. Roskams T, Desmet V, Verslype C. Development, structure and function of the liver. In: Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, eds. *MacSween's pathology of the liver.* Fifth edition 2007;1-73.
236. Roskams T, Desmet V. Embryology of extra- and intrahepatic bile ducts, the ductal plate. *Anat Rec.* 2008; 291(6):628-35.
237. Roskams T, Theise N, Balabaud C, Bhagat G, Bhathal PS, Bioulac-Sage P, Brunt EM, Crawford JM, Crosby HA, Desmet V, et al. Nomenclature of the finer branches of the

- biliary tree: canals, ductules, and ductular reactions in human livers. *Hepatology* 2004; 39: 1739-45.
238. Roskams T. Different types of liver progenitor cells and their niches. *J Hepatol.* 2006; 45(1):1-4.
239. Roskams T. Relationships among stellate cell activation, progenitor cells, and hepatic regeneration. *Clin Liver Dis.* 2008; 12(4):853-60.
240. Ross M.H. *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology / Michael H. Ross, Wojciech Pawlina.—Seventh edition. Editor: Crystal Taylo. Wolters Kluwer, Philadelphia, 2016.*
241. Russell K, Phinney D, Lacey M, Barrilleaux B, Meyertholen K, O'Connor K, In vitro high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment. *Stem cells.* 2010; 28:788-98.
242. Saad S, Luckasevic TM, Noga CM, Johnson DR, Silverman JF, Liu YL. Diagnostic value of HepPar1, pCEA, CD10, and CD34 expression in separating hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma in fine-needle aspiration cytology. *Diagnostic cytopathology.* 2004; 1-6.
243. Salmi M, Jalkanen S. Cell-surface enzymes in control of leukocyte trafficking. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(10):760-71.
244. Samama B, Boehm N. Reelin immunoreactivity in lymphatics and liver during development and adult life. *The Anatomical Record A.* 2005; 285:595-9.
245. Sánchez A, Alvarez A, Pagan R, Roncero C, Vilaró S, Benito M. and Fabregat I. Fibronectin regulates morphology, cell organization and gene expression of rat fetal hepatocytes in primary culture. *J Hepatol.* 2000; 32(2):242-50.
246. Sánchez-Madrid F, Juan M S. Bringing up the rear: defining the roles of the uropod. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2009; 10(5): 353-9.
247. Sato M, Suzuki C, Senoo H. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Structure and Function.* 2003; 28(2):105-12.
248. Saxena R, Theise ND, Crawford JM. Microanatomy of the human liver-exploring the hidden interfaces. *Hepatology.* 1999; 30(6):1339-46.
249. Sell S. Comparison of liver progenitor cells in human atypical ductular reactions with those seen in experimental models of liver injury. *Hepatology.* 1998; 27(2):317-31.
250. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology.* 2001; 33: 738-50.

251. Semo J, Nicenboim J, Yaniv K. Development of lymphatic system: new questions and paradigms. *Development* 2016; 143: 924-35.
252. Sharma U, Carrique L, Vadon-Le Goff S, Mariano N, Georges RN, Delolme F, Koivunen P, Myllyharju J, Moali C, Aghajari N, Hulmes DJ. Structural basis of homo- and heterotrimerization of collagen I. *Nat Commun.* 2017;8:14671.
253. Shibuya M, Kondo F, Sano K, Takada T, Asano T. Immunohistochemical study of hepatocyte, cholangiocyte and stem cell markers of hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2011; 18:537-43.
254. Shiojiri N, Sugiyama Y. Immunolocalization of extracellular matrix components and integrins during mouse liver development. *Hepatology.* 2004; 40(2):346-55.
255. Shiojiri N, Nagai Y. Preferential differentiation of the bile ducts along the portal vein in the development of mouse liver. *Anat Embryol (Berl).* 1992; 185(1):17-24.
256. Shoulders M, Raines R. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem.* 2009; 78:929-58.
257. Sidney L, Branch M, Dunphy S, Dua H, Hopkinson A. Concise review: Evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. 2014; 32:1380-9.
258. Si-Tayeb K, Lemaigre FP, Duncan S. Organogenesis and development of the liver. *Dev Cell.* 2010; 18(2):175-89.
259. Sorrentino A, Ferracin M, Castelli G, Biffoni M, Tomaselli G, Baiocchi M, Fatica A, Negrini M, Peschle C, Valtieri M. Isolation and characterization of CD146+ multipotent mesenchymal stromal cells. *Exp. Hematol.* 2008; 36:1035-46.
260. Spagnoli F, Amicone L, Tripodi M, Weiss MC, Cedex P, Bolognetti F. Identification of a bipotential precursor cell in hepatic cell lines derived from transgenic mice expressing cyto-Met in the liver. 1998;143(4):1101-12.
261. Strazzabosco M, Fabris L. Functional Anatomy of Normal Bile Ducts. The anatomical record. 2008; 291(6): 653-60.
262. Strazzabosco M. New insights into cholangiocyte physiology. *J Hepatol.* 1997; 27: 945-52.
263. Suda T, Takakura N. Role of hemastopoietic stem cells in angiogenesis. *Int J Hematol.* 2001; 266-271.
264. Sudhakaran PR, Anil Kumar N, Santhosh A. Extracellular Matrix in Liver. In: *Liver and Environmental Xenobiotics.* S.Y.S. Rana and K. Taketa (Eds). Narosa Publishing House. New Delhi. India. 1997; pp 1-18.

265. Sugihara S, Martin SR, Hsuing CK, Maruiwa M, Bloch KJ, Moscicki RA, Bhan AK. Monoclonal antibodies to rat Kupffer cells. Anti-KCA-I distinguishes Kupffer cells from other macrophages. *Am J Pathol.* 1990; 136(2):345-55.
266. Sun QH, Delisser HM, Zukowski MM, Paddock C, Albelda SM, Newman PJ. Individually distinct Ig homology domains in PECAM-1 regulate homophilic binding and modulate receptor affinity. *J Biol Chem.* 1996; 271:11090-8.
267. Sun QH, Paddock C, Visentin GP, Zukowski MM, Muller WA, Newman PJ. Cell surface glycosaminoglycans do not serve as ligands for PECAM-1. PECAM-1 is not a heparin-binding protein. *J Biol Chem.* 1998; 273:11483-90,
268. Tarpey PS, Smith R, Pleasance E, Whibley A, Edkins S, Hardy C, O'Meara S, Latimer C, Dicks E, Menzies A, et al. A systematic, large-scale resequencing screen of X-chromosome coding exons in mental retardation. *Nat Genet.* 2009; 41(5):535-43.
269. Tavian M, Péault B. Embryonic development of the human hematopoietic system. *Int J Dev Biol.* 2005; 49(2-3):243-50.
270. Terada T, Nakanuma Y. Development of peribiliary capillary plexus: a lectin-histochemical and immunohistochemical study. *Hepatology.* 1993; 18:529-36.
271. Terada T, Nakanuma Y. Expression of tenascin, type IV collagen and laminin during human intrahepatic bile duct development and in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Histopathology.* 1994; 25(2):143-50.
272. Terada T. Ontogenic development of nerve fibers in human fetal livers: an immunohistochemical study using neural cell adhesion molecule (NCAM) and neuron-specific enolase (NSE). *Histochem Cell Biol.* 2015;143(4):421-9.
273. Teutsch HF, Schuerfeld D, Groezinger E. Three-dimensional reconstruction of parenchymal units in the liver of the rat. *Hepatology* 1999; 29:494-505.
274. Teutsch HF. The modular microarchitecture of human liver. *Hepatology.* 2005; 42(2):317-25.
275. Timens W, Kamps W. Hemopoiesis in human fetal and embryonic liver. *Microsc Res Tech.* 1997; 39(5):387-97.
276. Timpl R, Dziadek M. Structure, development, and molecular pathology of basement membranes. *Int Rev Exp Pathol.* 1986; 29:1-112.
277. Tiniakos D, Mathew J, Kittas C, Burt A. Ontogeny of human intrahepatic innervation. *Virchows Arch.* 2008; 452(4):435-42
278. Tormin A, Li O, Brune JC, Walsh S, Schütz B, Ehinger M, Ditzel N, Kassem M, Scheduling S. CD146 expression on primary non hematopoietic bone marrow stem cells is correlated with in situ localization, *Blood.* 2011; 117(19):5067-77.

279. Ueno T, Sata M, Sakata R, Torimura T, Sakamoto M, Sugawara H, Tanikawa K. Hepatic stellate cells and intralobular innervation in human liver cirrhosis. *Hum Pathol.* 1997; 28(8):953-9.
280. Ukai K, Terashima K, Fujii Y, Imai Y: A new monoclonal antibody, UFT-4, reacting with rat Kupffer cells. Immunohistochemical and immunoelectron microscopical analysis with reestimation of the reticuloendothelial system. *Acta Pathol Jpn.* 1988; 38(11):1391-403.
281. Vicente-Manzanares M, Sánchez-Madrid F. Role of the cytoskeleton during leukocyte responses. *Nature Immunology.* 2004; 4(2):110-22.
282. Vidal-Vanaclocha F, Rocha M, Asumendi A, Barbera´-Guillem E. Isolation and enrichment of two sublobular compartment-specific endothelial cell subpopulations from liver sinusoids. *Hepatology.* 1993; 18(2):328-39.
283. Villeneuve J, Pelluard-Nehme F, Combe C, Carles D, Chaponnier C, Ripoche J. Immunohistochemical study of the phenotypic change of the mesenchymal cells during portal tract maturation in normal and fibrous (ductal plate malformation) fetal liver. *Comp Hepatol.* 2009; 8:5-15.
284. Vollmar B, Menger MD. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair. *Physiol. Rev.* 2009; 89(4):1269-339.
285. Volpes R, van den Oord JJ, Desmet VJ. Distribution of the VLA family of integrins in normal and pathological human liver tissue. *Gastroenterology* 1991; 101(1):200-6.
286. Wake K. Structure of the sinusoidal wall in the liver. In: *Cells of the Hepatic Sinusoid*, edited by Wisse E, Knook DL, Wake K. Leiden: The Kupffer Cell Foundation, 1995, p. 241-6.
287. Wan YJ, Wu TC, Chung AE, Damjanov I. Monoclonal antibodies to laminin reveal the heterogeneity of basement membranes in the developing and adult mouse tissues. *J Cell Biol.* 1984; 98:971-9.
288. Wang D, Uhrin P, Mocan A, Waltenberger B, Breuss JM, Tewari D, Mihaly-Bison J, Huminiecki Ł, Starzyński RR, Tzvetkov NT, Horbańczuk J, Atanasov AG. Vascular smooth muscle cell proliferation as a therapeutic target. Part 1: molecular targets and pathways. *Biotechnol Adv.* 2018; Doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.04.006.
289. Wells RG. Cellular sources of extracellular matrix in hepatic fibrosis. *Clin Liver Dis.* 2008; 12(4):759-68.
290. Wewer U, Engvall E, Paulsson M, Yamada Y, Albrechtsen R. Laminin A, B1, B2, S and M subunits in the postnatal rat liver development and after partial hepatectomy. *Lab Invest.* 1992;66(3):378-89.

291. Wewer UM, Albrechtsen R. Carcinoma-associated perisinusoidal laminin may signal tumour cell metastasis to the liver. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1992; 421(2):87-93.
292. Williams IF, McCullagh KG, Silver IA. The distribution of types 1 and III collagen and fibronectin in the healing equine tendon. *Connect Tissue Res* 1984; 12:211-27
293. Wisse E. Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal cells in the liver. In: Wisse E, Knook DL, (Eds.): *Kupffer Cells and Other Sinusoidal Cells.* Amsterdam, Elsevier. 1977, pp 3340.
294. Wisse I, DeZanger R, Charels K, van der Smissen P, McCuskey R. The liver sieve: Considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall, and the space of Disse. *Hepatology* 1985; 5:683.
295. Wisse I. An ultrastructural characterization of the endothelial cell in the rat liver sinusoid under normal and various experimental conditions, as a contribution to the distinction between endothelial and Kupffer cells. *J Ultrastruct Res.* 1972; 38:528-62.
296. Wrobel T, Dziegiel P, Mazur G, Zabel M, Kuliczkowski K, Szuba A. LYVE-1 expression on high endothelial venules (HEVs) of lymph nodes. *Lymphology.* 2005; 38:107-10.
297. Xu H, Edwards JR, Espinosa O, Banerji S, Jackson DG, Athanasou NA. Expression of a lymphatic endothelial cell marker in benign and malignant vascular tumors. *Human Pathol.* 2004; 35 (7): 857-61.
298. Yamamoto K, Sherman I, Phillips MJ, Fisher MM. Three-dimensional observations of the hepatic arterial terminations in rat, hamster and human liver by scanning electron microscopy of microvascular casts. *Hepatology.* 1985; 5:452-6.
299. Young P, Baumhueter S, Lasky L. The sialomucin CD34 is expressed on hematopoietic cells and blood vessels during murine development. *Blood.* 2013; 85(1):96-105.
300. Yurchenco PD, Schittny JC. Molecular architecture of basement membranes. *FASEB J* 1990; 4(6):1577-90.
301. Zeisberg M, Kramer K, Sindhi N, Sarkar P, Upton M, Kalluri R. De-differentiation of primary human hepatocytes depends on the composition of specialized liver basement membrane. *Mol Cell Biochem.* 2006; 283(1-2):181-9.
302. Zeng Q, Li W, Lu D, Wu Z, Duan H, Luo Y, Feng J, Yang D, Fu L, Yan X. CD146, an epithelial-mesenchymal transition inducer, is associated with triple-negative breast cancer. *Proc Natl Acad Sci.* 2012; 109(4):1127-32.

303. Zeng W, Gouw AS, van den Heuvel MC, Molema G, Poppema S, van der Jagt EJ, de Jong KP. Hepatocellular carcinomas in cirrhotic and noncirrhotic human livers share angiogenic characteristics. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(6):1564-71.
304. Zhang H, Zhang J, Wang Z, Lu D, Feng J, Yang D, Chen X, Yan X. CD146 is a potential marker for the diagnosis of malignancy in cervical and endometrial cancer. *Oncol Lett*. 2013; 5(4):1189-94.
305. Zhao R, Duncan S. Embryonic development of the liver. *Hepatology*. 2005; 41(5):956-67.
306. Zhou Z, Pausch F, Schlötzer-Schrehardt U, Brachvogel B, Pöschl E. Induction of initial steps of angiogenic differentiation and maturation of endothelial cells by pericytes in vitro and the role of collagen IV. *Histochem Cell Biol*. 2016; 145(5):511-25.
307. Zorn AM. Liver development. In: *StemBook* [Internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; (2008). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27068/> doi: 10.3824/stembook.1.25.1

БИОГРАФИЈА

Доктор Марко Јовић је рођен 22. 04. 1982. године у Нишу. Медицински факултет у Нишу је уписао 2001. године, а завршио 17.12.2008. године са просечном оценом 9,32 и одбранио дипломски рад оценом 10. Током студија, од 2002. до 2004. године, био је демонстратор на предмету Биологија са хуманом генетиком, а од 2004. до 2007. године на предмету Хистологија и ембриологија. Академске докторске студије је уписао 2009. године на Медицинском факултету у Нишу, изборно подручје молекуларна медицина, и положио је све испите предвиђене програмом, са просечном оценом 9,32.

Др Јовић је у звању сарадника на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије од 01. 02. 2011. године, а од 01. 02. 2012. године изабран је у звање истраживач приправник. Ангажован је као сарадник у настави на Катедри за хистологију и ембриологију 15. 11. 2012. године, а 15. 11. 2014. године изабран је у звање асистента на истој катедри. Учествује, као истраживач, у реализацији пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја „Антиоксидативна заштита и потенцијали за диференцијацију и регенерацију мезенхималних матичних ћелија из различитих ткива током процеса старења” (бр. 175061, од 2010. до 2018), као и на интерним пројектима Медицинског факултета Универзитета у Нишу (бр. 22 и бр. 14), под називима „Морфолошки маркери матично-ћелијских одељака унутар организације, диференцијације и регенерације различитих типова ткива човека и експерименталних животиња“ и „Анализа кардиоваскуларног фенотипа гојазне деце“ .

Доктор Марко Јовић се усавршавао у водећим светским истраживачким центрима: *Department of Anatomy Pathology, Faculty of Medicine, University (Complutense) of Madrid (Spain)*, 2006; *Department of Gastroenterology (research), Faculty of Medicine, Free University Berlin (Germany)*, 2007; и *Department of Cardiology, Ferrarotto Hospital, University of Catania (Italy)*, 2009, где је стекао искуство у раду са културама ћелија и основе методологије молекуларних истраживања.

Аутор је 10 радова објављених у целини у часописима са SCI листе, и више од 20 радова саопштених на међународним и домаћим научним скуповима. Учесник бројних конгреса, семинара и стручних скупова. Говори енглески језик и познаје рад на рачунарима.

Изјава 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

**РАЗВОЈНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ И ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ
ЕМБРИОНА И ФЕТУСА ЧОВЕКА –
ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО И МОРФОМЕТРИЈСКО ИСТРАЖИВАЊЕ**

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу,

Потпис аутора дисертације:

Марко Јовић

Изјава 2.

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**РАЗВОЈНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ И ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ
ЕМБРИОНА И ФЕТУСА ЧОВЕКА –
ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО И МОРФОМЕТРИЈСКО ИСТРАЖИВАЊЕ**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу,

Потпис аутора дисертације:

Марко Јовић

Изјава 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

**РАЗВОЈНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КРВНИХ И ЛИМФНИХ СУДОВА ЈЕТРЕ
ЕМБРИОНА И ФЕТУСА ЧОВЕКА –
ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО И МОРФОМЕТРИЈСКО ИСТРАЖИВАЊЕ**

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)¹

У Нишу,

Потпис аутора дисертације:

Марко Јовић

¹ Аутор дисертације обавезан је да изабере и означи (заокружи) само једну од шест понуђених лиценци; опис лиценци дат је у наставку текста.