

MONONÜKLEER FAGOSİTİK SİSTEM ÜYESİ OLARAK ADRENAL MAKROFAJLARIN HİSTOLOJİK OLARAK KOBAY MODELİNDE GÖSTERİLMESİ

HISTOLOGIC DEMONSTRATION OF ADRENAL MACROPHAGES AS A
MEMBER OF MONONUCLEAR PHAGOCYTIC SYSTEM IN
GUINEA PIG MODELS

Ahmet ÖZBEK*, Elvan ÖZBEK**

ÖZET: Mononükleer fagositler olan makrofajlar, yabancı maddelerin ortadan kaldırılmasında ve immün yanıtı başlatılmasında rol alırlar. Kupffer hücreleri ve alveoler makrofajlar gibi bazı dokuya özgü makrofajların iyi bilinmesine karşın, adrenal makrofajlar hakkında herhangi bir bilgi henüz kaynak kitaplarda yer almamaktadır. Bu çalışma, sekizi gebe sekizi ise gebe olmayan toplam 16 kobayın adrenallerinde yerleşik makrofajları göstermek amacıyla planlanmıştır. Gebe olmayan hayvanların dördüne çini mürekkebi enjekte edilmiş (diğer kobaylara herhangi bir müdahale yapılmamıştır) ve tüm hayvanlar öldürüldükten sonra çıkarılan adrenaller Bouin solüsyonunda fikse edilerek parafine gömülmüştür. Kesitler hematoksin-eosin (HE) ve periyodik asit-Schiff (PAS) yöntemleri ile boyanmıştır. HE preparatlarında, öncelikle zona retiküleriste ve özellikle sinüzoidlerin yakınında, lipofussin pigmentinden zengin olduklarını gösterir şekilde sarımsı-kahverengi sitoplazmalı birçok makrofaj gözlenmiştir. Bu hücreler aynı zamanda PAS pozitifdir. Çini mürekkebi verilen hayvanların adrenallerinde, mürekkebi fagosit etmiş perisinüzoidal makrofajlar belirlenmiştir. Gebe olmayanlarla kıyaslandığında, gebe hayvanların adrenallerinde çok daha fazla sayıda makrofaj görülmüştür. Gebelik sırasında yükselen östrojen konsantrasyonlarına bağlı olarak insan makrofajlarının sayısının ve fagositik kapasitesinin arttığı daha önce rapor edilmiştir. Bu nedenle gebe hayvanlarda daha fazla makrofaj görülmesi beklenen bir sonuçtur. Makrofajlar, sitokinleri salgılayabildikleri için, nöro-endokrin organların immün sistem ile ilişkileri için de yararlı hücrelerdir. Medullar katekolaminler aracılığıyla makrofajlar tarafından salgılanan bazı sitokinlerin, adrenokortikotropik hormondan bağımsız olarak, adrenokortikal steroid sentezini uyardığı bildirilmektedir. Böylece makrofajlar, adrenal bezdeki immün-adrenokortikal ilişkilerde önemli bir role sahip olabilir. Sonuç olarak, adrenallerde yerleşik makrofajlar, kaynak kitaplarda yer almayı beklemektedir.

Anahtar sözcükler: Adrenal bez, makrofaj, mikroskopi, mononükleer fagositik sistem.

* Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

** Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

ABSTRACT: Macrophages as mononuclear phagocytes, function in removing foreign substances and in the initiation of the immune response. Although some tissue-specific macrophages such as Kupffer's cells and alveolar macrophages are well-known, any knowledge about the adrenal macrophages are not yet documented in the textbooks. The aim of this study was to demonstrate the resident macrophages in the adrenals of a total 16 (8 pregnant, 8 non-pregnant) guinea pigs. Four of the animals were injected with India ink (no intervention for the other animals), and after sacrificing all animals, removed adrenals were fixed in Bouin's solution, and embedded in paraffin. Sections were stained with haematoxylin-eosin (HE) and periodic acid-Schiff (PAS) methods. Many macrophages with yellowish-brown cytoplasm in HE slides, especially adjacent to sinusoids, were observed primarily in the zona reticularis, suggesting that they are rich in lipofuscin pigment. These cells were also PAS positive. Adrenals of India ink-injected animals demonstrated perisinusoidal macrophages phagocytosing the ink. Much more adrenal macrophages were seen in the pregnant animals in comparison with the non-pregnants. It has been previously reported that the number of human macrophages increases with rising concentrations of estrogen during pregnancy. Thus, higher number of adrenal macrophages in pregnant animals was an expected result. Since they secrete cytokines, macrophages are favorable cells in terms of interactions of the neuro-endocrine organs with the immune system. Some cytokines released by macrophages have been stated to induce adrenocortical steroidogenesis independent from adrenocorticotrophic hormone through medullary catecholamines. Thus, macrophages may have a significant role in the immune-adrenocortical communications within the adrenal. Finally, resident macrophages of the adrenals wait to be documented in the textbooks.

Key words: Adrenal gland, macrophage, microscopy, mononuclear phagocytotic system.

G İ R İ Ő

Mononükleer fagositik sistem; a) kemik iliğindeki hematopoetik öncülerden köken alarak sırasıyla monoblastlar, promonositler ve sonunda monositler şeklinde farklılaşan bazı kemik iliği hücrelerinden, b) kemik iliğinden kan dolaşımına geçmiş monositlerden, c) kan dolaşımını terk ederek dokulara geçen monositlerden kaynaklanan doku makrofajlarından oluşan bir hücreler topluluğudur¹⁻⁵. Makrofajlar antijenleri fagositoz ve hücre içi sindirim yoluyla aktif olarak ortadan kaldırarak vücudun immünolojik savunmasında önemli rol oynarlar. Makrofajlar ayrıca, immün yanıtın uyarı fazında lenfositlerle etkileşim içindedirler. Antijenlere Fab kısımlarıyla özgöl olarak bağlanan antikörler, Fc kısımlarıyla da makrofaj yüzeyindeki reseptörlere bağlandıklarında fagositoz kolaylaşmakta yani opsonizasyon gerçekleşmektedir. Makrofajların antijeni fagosite etmesini takiben, membranla sarılı bir endositik vakuol içinde sitoplazması içine aldığı fagositik materyali, içerdiği lizozomal enzimler aracılığı ile amino asitlere kadar parçalar ve daha sonra özel antijenik determinantlar taşıyan peptidi aynı vakuol içinde

class-II MHC molekülleriyle birleştirerek hücre yüzeyine geri gönderir. Makrofaj yüzeyinde sunulan bu antijen-MHC kompleksinin T-lenfositlerdeki reseptörler tarafından algılanması sonucu T-lenfositler aktive olarak lenfokinleri salgılar ve B-lenfositlerin antikor üretimi uyarılır. Makrofajlar tarafından sunulan antijenler iyi immünojenler olmalarına karşın, fagosite edilmemiş olanlar zayıf immünojenlerdir. Başka bir deyişle, bir antijenin makrofaj yüzeyine bağlanmış olan az bir miktarı, o antijenin orijinal olan serbest şeklinden çok daha güçlü immün yanıt oluşturur. Bu mekanizma, makrofajların antijen sunan hücreler olarak immün yanıtta üstlendiği önemli rolü açıklamaktadır^{1,3,6}.

Çok iyi bilinen doku makrofajları arasında; bağ dokusunun sabit makrofajları (histiyositler), akciğerlerdeki alveolar makrofajlar, karaciğerdeki perisinüzoidal makrofajlar (Kupffer hücreleri), merkezi sinir sistemindeki mikroglialar, lenfoid organlardaki makrofajlar, periton ve plevra gibi seröz boşlukların makrofajları ve kemik dokusunun osteoklastları sayılabilir^{1,2,7,8}. Bu çalışmanın amacı, alveolar makrofajlar ve Kupffer hücrelerine benzer şekilde, adrenal bezde de özelleşmiş doku makrofajlarının bulunup bulunmadığının ışık mikroskopik olarak araştırılmasıdır.

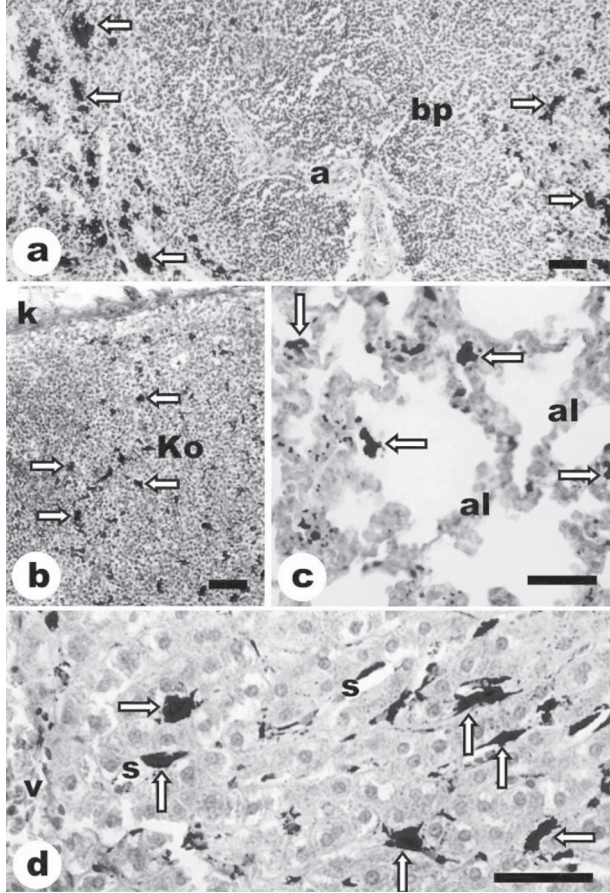
GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada 8 adet gebe ve 8 adet gebe olmayan toplam 16 adet erişkin dişi kobay kullanıldı. Gebe olmayan kobaylardan 4 tanesine, öldürmeden 36 saat önce, eter anestezisi altında kulak veninden çini mürekkebi enjekte edildi. Diğer 12 kobaya herhangi bir müdahalede bulunulmadı. Bütün kobaylar dekapitasyonla öldürüldükten sonra adrenal bezleri çıkarıldı. Çini mürekkebi verilen kobaylardan adrenal bezlerin yanı sıra, mononükleer fagositik sistem içinde değerlendirilen ve en çok bilinen organa özgül doku makrofajlarını kısmen gösterebilmek amacıyla karaciğer, akciğer, lenf düğümü ve dalaktan da doku örnekleri alındı. Adrenal bezler ve diğer doku örnekleri Bouin solüsyonunda (pikrik asit, formalin, asetik asit) 36–48 saat süreyle fikse edildi⁹. Bütün doku örnekleri dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidratasyon sağlandı. Ksilol ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra parafinde bloklanan doku parçalarından 5–6 mikrometre kalınlığında kesitler elde edildi. Lam üzerine alınan kesitlere rutin ışık mikroskopik inceleme için hematoksilin-eosin (HE) boyama yöntemi ve Periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu uygulandı⁹. Preparatlar Nikon Eclipse E600 marka ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

BULGULAR

Bu çalışmada, çini mürekkebi enjekte edilen kobaylarda iyi bilinen bazı doku makrofajlarının yanı sıra adrenal bezde de boyayı fagosite etmiş makrofajların varlığı araştırılmıştır. Dalak kesitlerinin incelenmesinde, özellikle Billroth kordonlarında (kırmızı pulpa) ve lenf düğümünün retiküler çatısı içinde yuvalanmış konumda bulunan düzensiz şekilli, ince ya da kalın, uzun ya da kısa birkaç sitoplazmik uzantısı bulunabilen, çini mürekkebinin fagosite edildiğini gösterir şekilde intrasitoplazmik siyah granüller ya da vakuoller içeren ve hatta tamamen yoğun siyah renkte görülen makrofajlar saptanmıştır (Resim 1a, 1b). Akciğer kesitleri

incelendiğinde interalveoler bağ dokusu bölümlerde, alveollerin duvarında ve bazen alveol boşluğuna düşmüş durumda, yine mürekkebi hücre içine aldığından siyah renkte görülen alveoler makrofajlar görülmüştür (Resim 1c). Karaciğer kesitlerinde, hepatosit kordonları arasındaki sinüzoidlerin duvarında lümeneye doğru çıkıntı yapmış şekilde, uzantılı, siyah Kupffer hücreleri gözlenmiştir (Resim 1d).

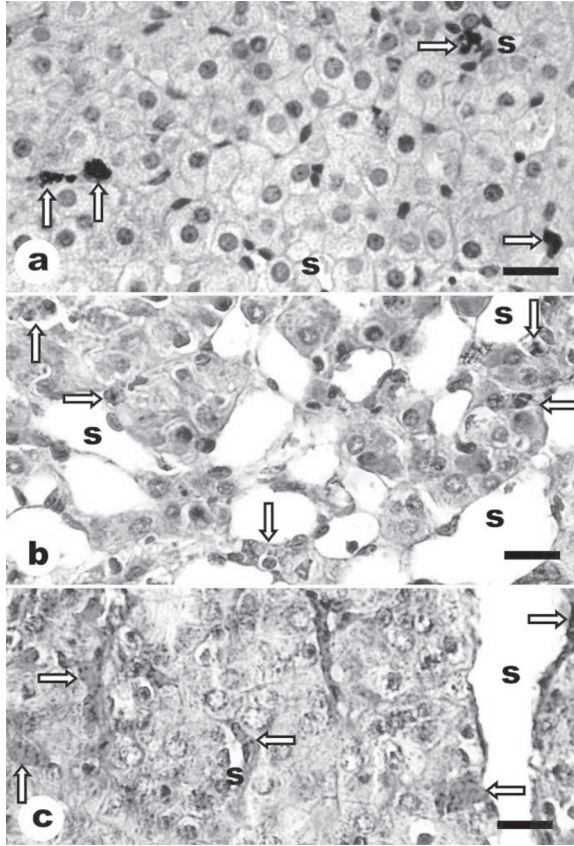


Resim 1: Çini mürekkebi enjekte edilmiş erişkin koblardan alınan dalak (a), lenf düğümü (b), akciğer (c) ve karaciğer (d) örneklerinin ışık mikroskopik kesitleri. Bütün kesitlerdeki makrofajlar ok ile gösterilmiştir. bp: beyaz pulpa, a: arteria sentralis, k: kapsül, Ko: korteks, al: alveol duvarı, s: sinüzoid, v: portal alanda vena portanın dalı.

Boya: HE. Barların uzunluğu = 60 mikrometre.

Çini mürekkebi verilen ve verilmeyen koblaların adrenal bez preparatlarının incelenmesinde ise; mürekkep enjekte edilen koblalarda adrenal bez korteksinin her üç tabakasında da gerek steroid sentezleyen parankimal hücre kümeleri ve kordonları arasında gerekse kortikal sinüzoidlerin duvarına yakın yerleşimli, mürekkebi fagosite etmesi sonucunda sitoplazması içinde siyah granüller

sergileyen ya da tamamen yoğun siyah renkte görülen, düzensiz şekilli hücreler saptanmıştır (Resim 2a). Bunların yanı sıra, mürekkep verilmeyen kobaylardan alınan adrenal bezlerin HE ile boyanmış kesitlerinde, adrenal korteksin tüm zonlarında rastlanmakla birlikte zona retiküleriste daha fazla olmak üzere, asidofilik boyanmış parankim hücreleri arasında sarı-kahverengi lipofuksin pigment granülleriyle dolu sitoplazmaları ile kendini belli eden, belirgin bir şekli olmayıp kimi yerde toparlak kimi yerde uzantılı görünümüne sahip olan hücreler izlenmiştir. Bu tip hücrelere gebe kobayların adrenal bezlerinde daha çok rastlanmıştır. Bu hücrelerin özellikle sinüzoid damarların duvarına yakın yerleşmiş olmaları dikkat çekici bulunmuştur (Resim 2b). PAS reaksiyonu uygulanan kesitlerin ışık mikroskopisinde ise, HE kesitlerindeki kahverengi hücrelere benzer görünümde düzensiz şekilli, koyu pembe-kırmızı tonlarında PAS pozitif boyanmış ve yine özellikle perisinüzoidal yerleşimli olan hücreler gözlenmiştir (Resim 2c).



Resim 2: (a) Çini mürekkebi enjekte edilmiş kobaydan alınan adrenal bezin zona fasikülatası, (b) Çini mürekkebi verilmemiş gebe kobaydan alınan adrenal bezin medullaya komşu zona retikularisi, (c) Çini mürekkebi verilmemiş erişkin kobaya ait adrenal bezin derin zona fasikülatası. Bütün kesitlerdeki makrofaj olası perisinüzoidal hücreler ok ile gösterilmiştir; s: sinüzoid damar. Boyalar: H- (a ve b), PAS (c). Barların uzunluğu = 30 mikrometre.

T A R T I Ş M A

Kan monositleri, bağ dokusunun ve lenfoid organların sabit makrofajları, akciğerlerin alveolar makrofajları ve karaciğerin Kupffer hücreleri mononükleer fagositik sistemin üyeleri arasında sayılabilecek hücrelerden bazılarıdır^{1,2,7,8}. Mononükleer fagositik sistemi oluşturan hücrelerin en belirgin ortak özelliği, hem vücudun kendi hasarlanmış ve yaşlanmış hücrelerini ve hücre artıklarını hem de vücuda yabancı ve zararlı ekzojen maddeleri fagosite edip sindirebilme yeteneğine sahip olmalarıdır¹⁻⁸. Bu oldukça fagositik hücreler, tripan mavisi ve çini mürekkebi gibi vital boya uygulamalarından sonra dokularda rahatlıkla gösterilebilir ve tanımlanabilirler^{1,8}. Çalışmamızda, çini mürekkebi enjekte edilen kobayların dalak, lenf düğümü, akciğer ve karaciğer kesitlerinde, mürekkebi fagosite etmelerinden dolayı sitoplazmalarındaki siyah granüler yapılarla ve yoğun siyah pigmentasyonla belirgin hale gelen makrofajlar gösterilmiştir. Ayrıca, aynı kobayların adrenal bezlerinde de, dalak, lenf düğümü, akciğer ve karaciğerde görülen makrofajlarınkine benzer morfolojik özellikler sergileyen hücreler saptanmıştır. Bu granüler ya da yoğun tarzda siyah pigmentasyon gösteren, düzensiz şekilli ve genellikle sinüzoidlere yakın yerleşimli hücrelerin adrenal bezde yerleşmiş makrofajlar olabileceği düşünülmüştür.

Bilindiği gibi, adrenal bezde korteksin periferik bölümlerinden medullaya komşu derin bölümlerine doğru bir hücre göçü (sentripetal migrasyon) vardır¹⁰. Zona retikülariste, özellikle medulla yakınında, piknotik nükleuslu ve elektron-yoğun sitoplazmalı, dejenere olmuş parankim hücrelerinin bolca bulunduğu bildirilmiştir^{1,8}. Buradaki dejenerasyonu izleyen hücre kayıpları, korteksin periferindeki hücre çoğalmaları ve sentripetal hücre göçüyle yerine konmaya çalışılır¹⁰. Kanımızca, adrenal kortekste sürekli hücre değişimi ve yenilenmesi (turnover) sırasında ortaya çıkan yaşlanmış ve yıpranmış hücrelerin ve hücre artıklarının (debris) ortadan kaldırılması amacıyla kortekste yerleşik makrofajların bulunması doğaldır. Makrofajlar, fagositozla sitoplazma içine alınan maddelerin sindiriminde iş gören lizozomal enzimlerden zengindir^{1-3,6-8}. Bu çalışmada, HE ile boyanmış adrenal bez preparatlarındaki sinüzoidlere yakın yerleşmiş düzensiz şekilli hücrelerde gözlenen sarı-kahverengi lipofussin pigmenti, sekonder lizozomal yapıların hücre içinde artık cisim olarak birikmesinden kaynaklanır ve hücre içi sindirimin yoğun olarak gerçekleştiği makrofajlarda bolca bulunur⁸. PAS reaksiyonu uygulanan adrenal bez kesitlerinde, perisinüzoidal yerleşimli uzantılı hücrelerin PAS pozitif boyanması, bu hücrelerin lizozomal enzim içeriğinden kaynaklanıyor olabilir. Yine, erken dönemdeki lipofussin granüllerinin PAS pozitif boyandığı bilinmektedir⁹.

Tüm bu veriler ışığında, çini mürekkebi enjekte edilen kobayların adrenal bezinde siyah renkte izlenen, HE preparatlarında sarı-kahverengi lipofussin pigmentini bolca içerdiği gözlenen ve PAS reaksiyonu uygulanan kesitlerde pembe-kırmızı tonlarında PAS pozitif boyanmış olan hücrelerin adrenal bezde yerleşik makrofajlar olduğu düşünülmüştür. Nitekim farelerde yapılan bir çalışmada, adrenal bezde makrofaja özgül antijen içeren hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir¹¹. Ayrıca, Gonzalez-Hernandez ve arkadaşları insan adrenal bezinde, özellikle korteksten medullaya geçiş zonunda, yerleşik makrofajların bulunduğunu bildirmişlerdir^{12,13}.

Bu çalışmada, gebe kobayların adrenal bezlerinde, makrofaj olası bu uzantılı, perisinüzoidal yerleşimli, kahverengi pigment granülleri içeren hücrelere daha çok rastlanmıştır. Gebelik sırasında adrenal bezin, özellikle zona retikülarisin fonksiyonunun artması sonucunda, metabolizma artık ürünlerinin de artması ve bu artıkları ortadan kaldırmak amacıyla makrofajların çoğalması şaşırtıcı değildir^{14,15}. Ayrıca gebelik boyunca yükselen östrojen hormonunun etkisiyle, insan makrofajlarının sayısının ve fagositik aktivitesinin arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır⁵.

Makrofajlar, fagositöz yapabilme fonksiyonlarının yanı sıra, salgıladıkları sitokinler aracılığıyla da immün yanıtta rol alan hücrelerdir^{1,3}. Makrofajlardan salgılanan ve immünolojik yönden önemli olan sitokinlerden bazıları tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa), transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF-beta), interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve IL-12'dir^{3,5,13,16-19}. İmmün yanıt sürecinde, bütün vücudun etkilendiğini gösterecek şekilde birçok metabolik ve nöro-endokrin değişiklikler oluşur. Örneğin, immün uyarının etkilerinden biri kan glukokortikoid seviyelerinin yükselmesidir²⁰. Bilindiği gibi, glukokortikoid hormonlar adrenokortikal hücreler tarafından sentezlenip salgılanır^{1,2,8}. Bazı araştırmacılar adrenal bezde adrenokortikotropik hormon (ACTH)'dan bağımsız kortikosteroid sentezinin olabileceğini bildirirken, bazıları da hipofizden bağımsız olarak intraadrenal ACTH sentezinin gerçekleşebildiğini rapor etmişlerdir^{17,19,21}. Birinci görüşü destekler biçimde, monositlerin ACTH'dan farklı bir faktör aracılığıyla insan hücrelerinden kortizol üretimini uyarabileceğini ve ayrıca hipofizi çıkarılmış sıçanlarda, IL-1, IL-2, IL-6 ve TNF-alfa'nın ACTH'dan bağımsız olarak kortikosteron sekresyonu üzerine direk uyarıcı etki yapabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır¹⁹. Bunlara ek olarak, makrofajların sempatik uyarıya duyarlı olan çok sayıda beta-adrenerjik reseptör içerdiği rapor edilmiştir¹⁹. Böylece, "parakrin yoldan medullar katekolaminler aracılığıyla adrenal makrofajlardan başlatılan sitokin (IL-1, IL-6, TNF-alfa, vb.) sekresyonu ile adrenokortikal hücrelerin glukokortikoid salgılaması uyarılabilir" şeklinde bir hipotez ileri sürülebilir^{19,20}. Ayrıca adrenokortikal hücrelerin parakrin mekanizmayla sempatik uyarıya direk yanıt vererek glukokortikoidleri salgılayabileceği ve korteksteki immün hücreler tarafından yapılan antijen sunumunun ve sitokin sekresyonunun bu kortikosteroidlere duyarlı olduğu da bildirilmektedir²⁰. Hipofizden bağımsız intraadrenal ACTH sentezinden söz eden ikinci görüşü açıklar şekilde, adrenal bezde yerleşik makrofajlar tarafından ACTH salgılabileceğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır¹⁷. Bu bilgiler ışığında makrofajlar, adrenal bez içinde iki yönlü immün-adrenokortikal iletişimde anahtar rol oynuyor görünmektedir^{19,20}.

Sonuç olarak, çalışmamızda histokimyasal yöntemlerle adrenal kortekste varlığı gösterilen adrenal makrofajlar, kanımızca, histoloji ve immünoloji kaynak kitaplarında yer almayı hak etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology a Text and Atlas, pp: 142-4, 661-8. 2003, 4th ed. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia.
2. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology, pp: 32-36, 120-2, 316-20. 2001, 2nd ed. WB Saunders Company, Philadelphia.
3. Peakman M, Vergani D. Basic and Clinical Immunology, pp: 67-71. 1997, 1st ed. Churchill Livingstone, New York.

4. Sasmono RT, Oceandy D, Pollard JW, et al. A macrophage colony-stimulating factor receptor-green fluorescent protein transgene is expressed throughout the mononuclear phagocyte system of the mouse. *Blood* 2003; 101: 1155-63.
5. Miller L, Hunt JS. Sex steroid hormones and macrophage function. *Life Sci* 1996; 59: 1-14.
6. Sompayrac L. How the immune system works, pp: 4-11, 18-23, 46-50. 2003, 2nd ed. Blackwell Publishing, Oxford.
7. Atlas RM. Principles of Microbiology, pp: 515-520. 1997, 2nd ed. WBC/McGraw-Hill Co, New York.
8. Aytekin Y, Solakoğlu S (çeviri editörleri): Temel Histoloji (Junqueira LC, Carneiro J: Basic Histology), s: 97-100, 413-9. 2006, Nobel Tip Kitabevleri, İstanbul.
9. Bancroft JD, Cook HC. Manual of Histological Techniques, pp: 19-20, 102-3, 256. 1984, 1st ed. Churchill Livingstone, New York.
10. Belloni AS, Mazzocchi G, Meneghelli V, Nussdorfer GG. Cytogenesis in the rat adrenal cortex: evidence for an ACTH-induced centripetal cell migration from the zona glomerulosa. *Arch Anat Histol Embryol* 1978; 61: 195-206.
11. Hume DA, Halpin D, Charlton H, Gordon S. The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80: macrophages of endocrine organs. *Proc Natl Acad Sci* 1984; 81: 4174-7.
12. Gonzalez-Hernandez JA, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Geschwend JE, Adler G, Scherbaum WA. Macrophages within the human adrenal gland. *Cell Tissue Res* 1994; 278: 201-5.
13. Gonzalez-Hernandez JA, Ehrhart-Bornstein M, Spath-Schwalbe E, Scherbaum WA, Bornstein SR. Human adrenal cells express tumor necrosis factor- α messenger ribonucleic acid: evidence for paracrine control of adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 807-13.
14. Creasy RK, Resnik R. Maternal-Fetal Medicine, pp: 375-91. 1989, WB Saunders, Philadelphia.
15. Yen SSC, Jaffe RB. Reproductive Endocrinology, pp: 739-80. 1986, WB Saunders, Philadelphia.
16. Gonzalez-Hernandez JA, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, et al. IL-1 is expressed in human adrenal gland in vivo. Possible role in a local immune-adrenal axis. *Clin Exp Immunol* 1995; 99: 137-41.
17. You-Ten KE, Itie A, Seemaver TA, Palfree RG, Lapp WS. Increased expression of proopiomelanocortin (POMC) mRNA in adrenal glands of mice undergoing graft-versus-host disease (GVHD): association with persistent elevated plasma corticosterone levels. *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 596-602.
18. Shurety W, Merino-Trigo A, Brown D, Hume DA, Stow JL. Localization and post-golgi trafficking of tumor necrosis factor- α in macrophages. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20: 427-38.
19. Ehrhart-Bornstein M, Hinson JP, Bornstein SR, Scherbaum WA, Vinson GP. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocrine Rev* 1998; 19: 101-43.
20. Sato T. Microscopy view of dendritic cells in the pituitary-adrenal axis, pp: 571-87. In: Sciences, Technology and Education of Microscopy: An Overview. 2003, Formatex, Spain.
21. Jones CT, Edwards AV. Release of adrenocorticotropin from the adrenal gland in the conscious calf. *J Physiol (Lond.)* 1990; 426: 397-407.