

DENEYSEL ŞARTLARDA SIÇAN EOZİNOFİL GRANÜLOSİTLERİNİN MORFOLOJİK YAPILARI (x)

Dr. Sacide GAZİLERLİ (xx)

ÖZET

İntraperitoneal, at seromu enjekte edilen sıçanların duodenum mukozasındaki eozinofil granulositlerin ultrastrüktürel yapıları kontrolleriyle kıyaslı incelendi. Tekrarlanan yabancı protein enjeksiyonlarından sonra intestinal mukozanın eozinofil granülosit sayısında beklenen artma yanında, preparasyonlarımızda bu hücrelerin ultrastrüktürel yapılarıyla karakterize eozinofil granüllerinin ekstraselülüler ortama dağıldıkları (degranülasyon) görüldü. Bazı hücrelerin degranülasyonla granüllerini hücreler arası ortama boşaltmaları yanında bazı eozinofil granülositlerin normal yapılarını korutukları izlendi. Klasik bilgilerimize göre Eozinofil granülositlerin özelliği olmayan degranülasyon şeklinde izlenen bu morfolojik bulgu literatür bilgisiyle kıyaslandı.

GİRİŞ

Kanın granüler lökositlerinden olan eozinofil granülositler fizyolojik koşullarda bağ dokusunda özellikle mukozaların lamina propriasında bulunur ve aynı zamanda bağ dokusu hücresi de sayılırlar (resim: 1). Toparlak yaklaşık 10-14 mikron büyüklüğünde hücrelerdir. Nükleusları genellikle iki loblu olan bu hücreler ışık mikroskopik düzeyde azürofil (eozinofil veya asidofil) granülleriyle karakterizedirler. Bu granüller elektron mikroskop ile iri yaklaşık 0.6-0.8 mikron büyüklüğünde toparlak veya oval yapıdadır. Granüller elektron yoğun bir materyel içerir, ve genellikle santral bölümlerinde daha yoğun kristaloid bir materyel taşırlar. Büyük büyütmelemlerle düzenli lameller yapıda görülen kristaloid materyelin büyüklüğü ve şekli türe göre değişiklikler gösterir. Sıçanda bu kristaloid materyel, granülün santralinde longitudinal bir band olarak görülür. Bugünkü klasik bilgilerimiz hücrelerin eozinofil granüllerinin bir çeşit lizozomlar olduğu şeklindedir (1,2,5,11). Yine klasikleşen bilgilerimize göre eozino-

(x) Çalışma 1986 Atatürk Üniversitesi Genel Tıp kongresinde tebliğ edilmiştir.

(xx) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı öğretim üyesi.

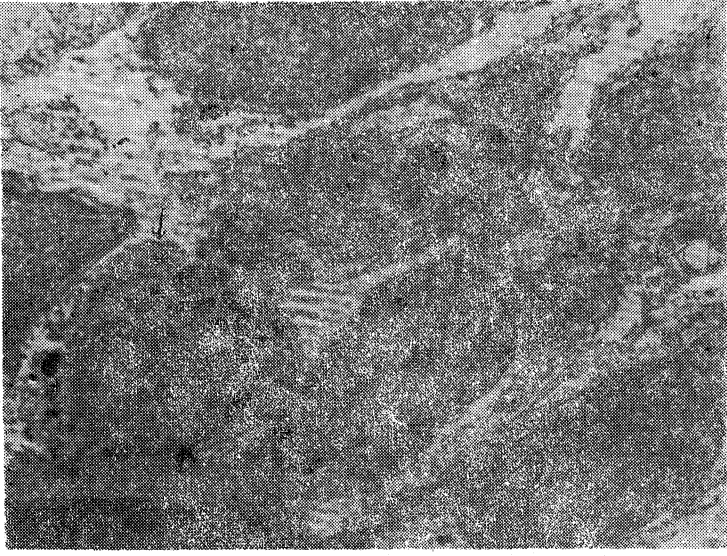
fil granülositler artijen-antikor kompleksini fagosite eder ve sitoplazması içindeki lizozomları aracılığıyla parçalar. Sitoplazmalarında histaminase, earylsulfata-se, spesifik bazik protein ve peroxidase içeren bu hücrelerin allerjik reaksiyonlarda, kuru ateşte, astımda, bazı deri hastalıklarında parazit enfeksiyonlarında oranlarında artma olduğu bilinir (1,2,5,11) Ancak sayılan patolojik olaylardaki rolleri hücrelerin fagositik etkisine ve histaminase içeriğine bağlanmakla birlikte eozinofil granülositlerin fonksiyonları veya fonksiyon mekanizması üzerinde bugün çeşitli morfolojik, fonksiyonel veya sitokimyasal birçok çalışma sürdürülmektedir. (3,4,7,9,10) Biz de bu çalışmamızda fonksiyonları ve sitokim yaları yönünden günümüzde pekçok araştırmaya konu olan eozinofil granülositlerin tekrarlanan yabancı protein enjeksiyonlarından sonra duodenum mukozasındaki fonksiyonlarına dayalı ultrastrüktürel yapılarını incelemeye çalıştık.

MATERYEL-METOD

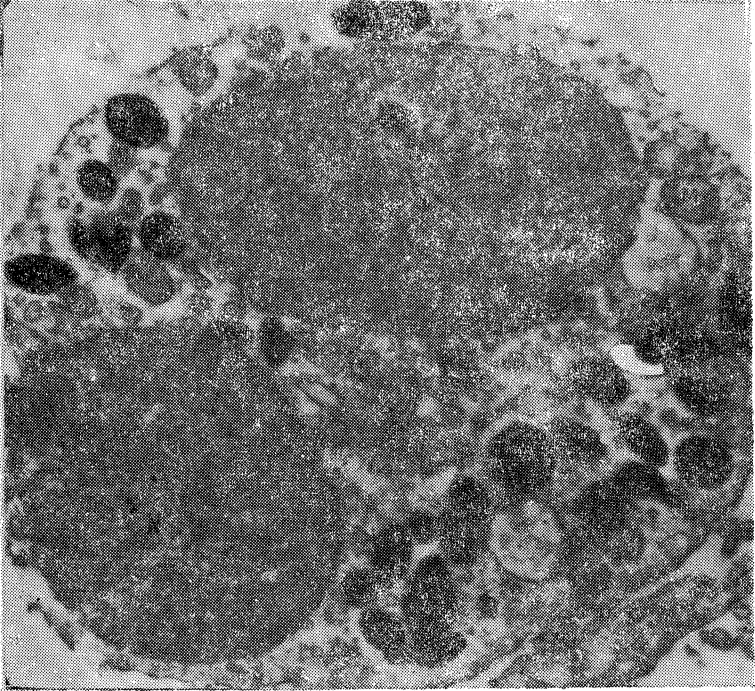
Deney için 8 erişkin, erkek kobay kullanıldı. İki hayvan kontrol olarak ayrılıp, hayvanlar ayrı kafeslerde normal beslendi. 6 koybaya bir hafta ara ile iki kere Ankara Hıfzıssıhha Enstitüsünden alınan at serumundan 1 cc. intraperitoneal verildi. Bir hafta sonra hayvanların üçünden, ikinci haftanın sonunda da diğer üçünden duodenumları alındı. Her grupta bir tane de kontrol için sadece serum fizyolojik enjekte edilen kobaydan duodenum alındı. Parçalar veronal asatat ile tamponlanmış PH sı 7.4 olan % 2 lik osmium tetroksitle tesbit edildi. Dehidratasyon aseton ile yapıldı ve vestopal W ile bloklar hazırlandı. (13). 200-300 Angstromluk ince kesitler uranil asetat ile kontrastlandı ve Zeiss EM 8 ve Zeiss EM 9 elektron mikroskop ile gözlem yapıp elektron mikrograflar çekildi.

BULGULAR

Preparasyonlarda duodenum mukozasının lamina propriasında, özellikle Leiberkühn kriptalarının dip bölümleri ile muscularis mucosa arasında kalan genişçe bağ dokusu bölüm, gözleme daha uygun görülerek inceleme bu bölümde yapıldı. Kontrol olarak incelenen sıçanların duodenum mukozasında diğer bağ dokusu hücreleri arasında eozinofil granülositler plazmalemma ile salırlı top-parlak hücreler olarak görüldü (Resim: 1). Bu hücreler lopluk nükleusları ve sitoplazmalarındaki tipik granüllerle, kolaylıkla diğer hücrelerden ayrılabilirler. Büyük büyütmeyle hücrelerde, ortasında yoğun bant şeklinde bir materyel taşıyan granülleri ve diğer hücre organelleri, böylece endoplazma retikulumu, mitokondriyonlar, serbest ribozomlar, Golgi, hatta sentriyol seçilebiliyordu (Resim: 2). Kontrollarıyla kıyaslı incelenen deney gruplarının preparatlarında, ikinci enjeksiyondan bir hafta sonra alınan örneklerde beklenen eozinofil granülosit oranındaki artma yanında, ilk bakışta dikkati çeken

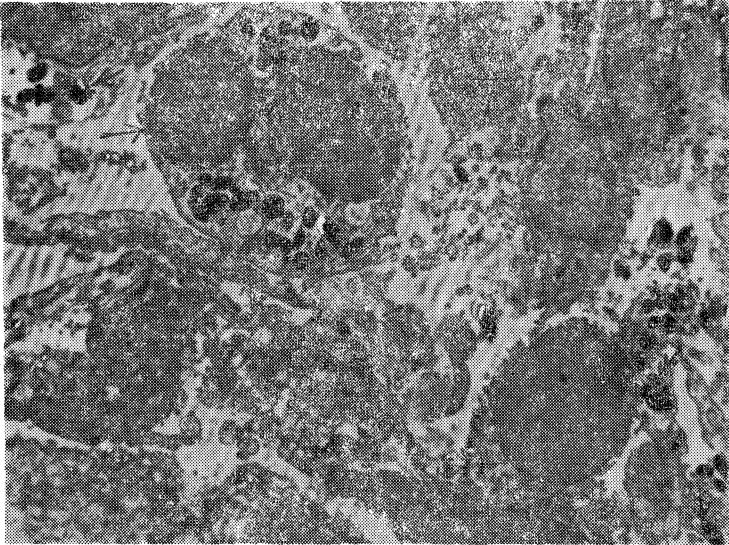


1 - Kontrol siçan duodenum mukozası lamina propriyasında bağ dokusu hücreleri arasında eozinofil gramüositler (okla işaretli) X 5.000.

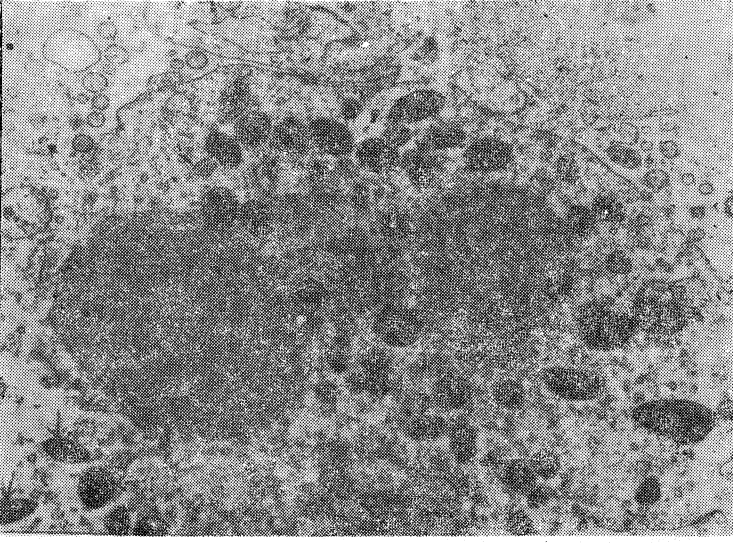


2 - Kontrol siçan eozinofil granulositi. N: nucleus, G: golgi organeli, M: Mitokondriyon, eozinofil granüller (okla işaretli) X 10.000

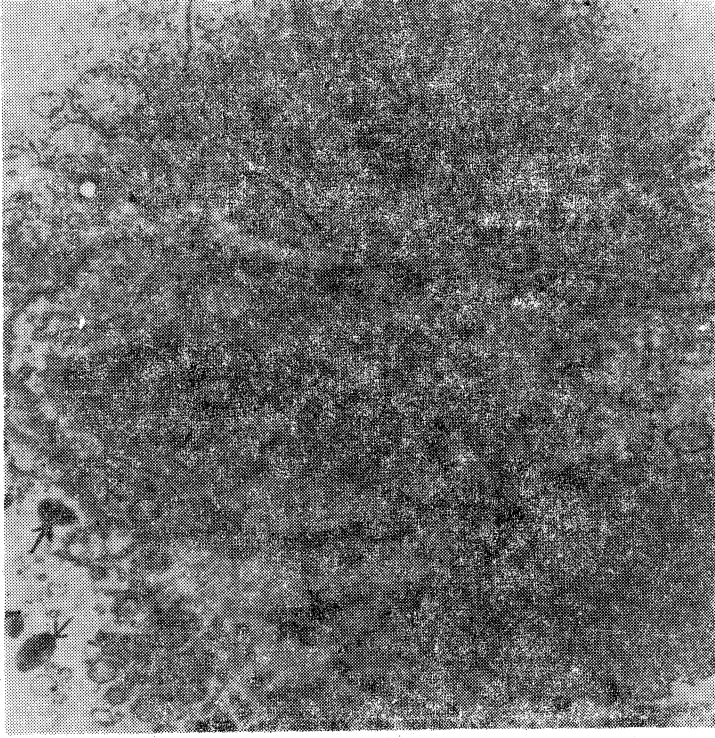
morfolojik yapı, bazı granülositlerin normal morfolojik yapılarını korurken bazılarının seitoplazmik granüllerinin intersellüler ortama dağılmış oldukları idi (Resim: 3). Eozinofil granülositler için karakteristik olmayan bu degranülasyon bu hücrelerin plazmalammalarının yer yer yokluğu ve hücre içeriğinin özellikle eozinofil granüllerin intersellüler ortalma dağılması şeklinde görülüyordu (Resim: 4). Ancak preparatta izlenen diğer yapılarda, örneğin kapiller endoteli veya Leiberkühn kriptalarının salgı hücreleri normal yapıda membranla sarılı hücreler şeklinde görülürken, intersellüler ortamda dağınık eozinofil granüller izleniyordu (Resim: 5). Kapillerlerin endotel hücreleri plazmalemma ile sarılı düzenli yapılar şeklinde izlenirken, kapillerler çevresinde dağınık eozinofil granüller görülüyordu. Degranüle eozinofil granüller kapillerler çevresinde görülmekle birlikte kapillerlerin lümeninde görülemedi (Resim: 5). Degranülasyon gözlenen eozinofil granülositlerin nükleuslarında membran kaybı veya kromatin içeriğinde belirgin bir ayrıcalık gözlenemedi. Diğer hücre organelleri nükleus yakınında normal yapılarını koruyorlardı. Böylece nükleus yakınında membranla sarılı veziküller, endoplazma retikulumu keseleri ve tubulusları seçilebiliyordu (Resim: 4). Plazma membranında yırtılma olan periferik bölümlerde ise intersellüler ortama dağılan sitoplazma içeriği, yine oldukça normal yapıda idi. Yani dağılan granüller arasında yer yer membranla sarılı veziküller ve hatta yer yer mitokondrionlara rastlanabiliyordu (Resim: 4). Daha periferde ise ancak intersellüler ortamda saçılmış eozinofil granüller seçilebiliyordu. İkinci enjeksiyondan sonra alınan örneklerde eozinofil granülositlerde deg-



3 - At seromu enjeksiyonundan bir hafta sonra alınan duodenum mukozası lamina propriyası. Normal yapısını koruyan eozinofil granülositler (tek okla işaretli) yanında intersellüler ortamda dağınık eozinofil granüller (çift okla işaretli) görünüyor. X 5.000

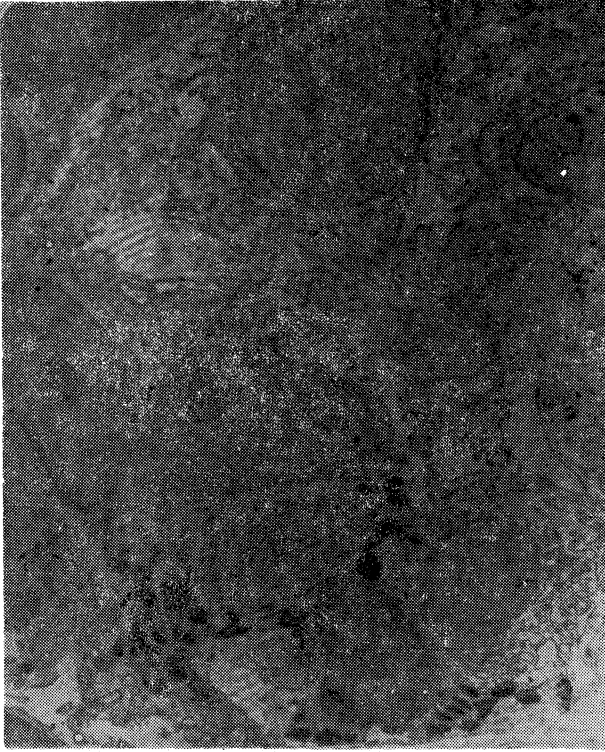


4 - At serumu enjeksiyonundan bir hafta sonra alınan sıçan duodenumunda degranule eozihofil granülosit. Ekstraselluler ortamdaki granüller (okla işaretli). X 8.000



5 - At serumu enjeksiyonundan bir hafta sonra alınan sıçan duodenum mukozası lamina propriyası E: Kapiller endoteli, L: leiberkühn kriptası, interselluler ortamdaki eozinofil granüller (okla işaretli). X 8.000

ranülasyon benzer görünümde idi. (Resim: 6). Hem bir hafta hem de iki hafta sonra alınan örneklerde dağılan granüllerde strüktür yönünden belirgin bir değişiklik gözlenemedi. Yani ne granül şeklinde büzülme veya şişmeyi belirleyen morfolojik bir değişme ne de içeriğinde yoğunlaşma veya dejenerasyon görülemedi.



6 - At serumu ikinci enjeksiyonundan sonra alınan sıçan duodenum mukozası lamina proprilya. Degranüle eozinofil granüller (okla işaretli). X 6.000

TARTIŞMA

Eozinofil granülerin vücut savunmasındaki işlerini, daha çok antijen-antikor kompleksini fagosite etmek ve lizozomları ile yok etmek şeklinde gördükleri kabul edilir. (1,2,5,11). Eozinofil granüositlerin histaminase, arylsulfatase, spesifik bazik protein ve peroksidase içerdiği de bilinir. (4,7,8,9,10,11,12,14) Bu hücrelerin lizoamal granüllerinin genelde hücre içinde iş gördüğü kabul edilmekle birlikte, bunların ekstraselluler ortama granül içeriklerini boşalttıkları (6,9,12) da söylenmektedir. Ancak bu hücrelerde degranülasyona az sayıda araştırmada rastlanmaktadır. (3,15,16) Yamashima ve arkadaşlarının (1985) çalışmalarında kronik subdural hematomlarda eozinofil granüositlerde izledikleri degranülasyon, hücrelerden granüllerin intersellüler ortalma dağılması, bi-

zim preparasyonlarımızda da benzer yapıda izlenmekle birlikte, araştırmacıların degranülasyona giden eozinofil granüositlerde izledikleri piknotik nükleusu biz gözleyemedik. (16) Yani bizim preparasyonlarımızda degranüle eozinofil granüositlerin nükleusları normal yapıda idi. Piknozu yansıtan ne kromatin içeriğinde yoğunluk, ne de nukleus membranında düzensizlik görülmedi. Biz preparasyonlarımızda saçılan granülleri damarlar çevresinde izledik. Ancak Yamashima ve arkadaşları (1985) vasküler lümen içinde de serbest eozinofil granüller göstermektedirler. (16) Eozinofil granüositlerin degranülasyonunu izleyen diğer ultrastrüktürel az sayıdaki gözlemler ise, kültür ortamında parazitik helmit enfeksiyonunda veya kalsiyum ionophore A 23187 gibi sitümölanlarla in-vitro olarak gösterilmektedir. (3,15) Bizim de eozinofil granüositlerin fonksiyonlarını uyaran koşullarda gözlediğimiz bu hücrelerin granüllerinin intersellüler ortamda saçılmış olarak görülmesi, kanımızca bu hücrelerin fonksiyonlarıyla ilgili olmalıdır. Bugün klasik bilgilerimize göre hücrelerin fagosite ettikleri materyeli parçalamakta etkili olduğu kabul edilen eozinofil granüller, sadece hücre içinde lizozomlar olarak değil, mast hücreleri veya bazofil granüositlerin granülleri gibi intersellüler ortamda da iş görüyor olabilirler. Ancak bu hücrelerin saçılan granüllerinin intersellüler ortamdaki işleri, Henderson ve arkadaşlarının (1983) hipotezlerine göre hücreler arası ortamdaki antijen-antikor kompleksinin eozinofil granüositleri eksositoza ittiği ve böylece bu hücrelerin fagositozdan sonra peroksidazdan zengin granüllerini tıpkı bazofiller veya mast hücreleri gibi intersellüler ortama boşalttıkları şeklinde olabileceği gibi (3), Yamashima ve arkadaşlarının (1985) öne sürdükleri şekilde uyarılan koşullarda değişen intersellüler ortamın yapısını özellikle biriken fibrin içeriğini yok etmeye yönelik granüllerinde bulunan plasminogen içeriğini intersellüler ortama vermek ve böylece aktif enzim plazmin aracılığıyla, intersellüler ortamın akıcılığını düzenlemek şeklinde de olabilir. Ancak çalışmamız morfolojik düzeyde yapıldığı için hücrelerin intersellüler ortama boşalan granülleri açıkça görülebilmıştır. Bu granüllerin intersellüler ortamdaki işleri hakkındaki teorilerin aydınlatılması kanımızca açıklanmayı bekleyen bir konudur.

SUMMARY

MORPHOLOGY OF RAT EOSINOPHILS UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS.

The ultrastructure of eosinophilic granulocytes from the duodenal mucosa of rats injected horse serum intraperitoneally, were investigated and compared with the ones of the control group. Following repeated enjections, in addition to the expected increase in the number of eosinophils, some of these cells showed degranulation as evidenced by the visualisation of granules scattered into the extracellular space. This unusual degranulation phenomenon that we found, is compared with similar observations in the literature.

KAYNAKLAK

- 1- Bloom W., Fawcett D.W.: A Textbook of Histology, 10th edition, 1975. WB Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto.
- 2- Erkoçak A.: Genel Histoloji, 3. Baskı, 1980 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları Sayı: 405, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- 3- Henderson W.R., Chi, E.Y., Jörg A., Klebanoff S.J.: Horse Eosinophil Degranulation Induced by the Ionophore A 23187. Amer. J. Pathol. 111: 341-349, 1983.
- 4- Henderson W.R., Jörg A., Klebanoff S.J.: Eosinophil Peroxidase-Mediated Inactivation of Leukotrienes B₄, C₄ and D₄. J. Immunol. 128: 2609-2613, 1982.
- 5- Jungueira L.C., Carneire J.: Basic Histology, 4th Edition, 1983, Lange Medical Publications, Los Altos-California 94022.
- 6- Jong E.C. Henderson W.R., Klebanoff S.J.: Bactericidal Activity of Eosinophil Peroxidase. J. Immunol. 124: 1378-1382, 1980.
- 7- Jong E.C., Klebanoff S.J.: Eosinophil-Mediated Mammalian Tumor Cell Cytotoxicity: Role of the Peroxidase System. J. Immunol. 124: 1949-1953, 1980.
- 8- Jong E.C., Mahmoud A.A.F., Klebanoff S.J.: Peroxidase-Mediated Toxicity to Schistosomula of Schistosoma Monsoni. J. Immunol. 126: 468-471, 1981.
- 9- Jörg A., Henderson W.R., Murphy R.C., Klebanoff S.J.: Leukotriene Generation by Eosinophils. J. Exp. Med., 155: 390-402., 1982.
- 10- Jörg A., Pasquier J.M., Klebanoff S.J.: Purification of Horse Eosinophil Peroxidase. Biochim. Biophys. Acta. 701: 185-191, 1982.
- 11- Kelly, D.E., Word, R.L., Enders A.C.: Bailey's Textbook of Microscopic Anatomy. Eighteenth Edition, 1984. Willams., Wilkins, Baltimore- London.
- 12- Mc Laren D.J., Mackenzie C.D., Ramalho-Pinto F.J.: Ultrastructural Observations on the In vitro Interaction between Rat Eosinophils and some Parasitic Helminths. Cilin. Exp. Immunol. 30: 105-118, 1977.
- 13- Pease D.C.: Histological Techniques for Elektron Microscopy, 2 th Edition, 1964, Academic Press, NewYork-London.
- 14- Riddle J.M., Barnhart M.I.: The Eosinophil as a Source of Profibrinolytin in Acute Inflammation . Blood, 25: 776-794, 1965.
- 15- Skinnider L.F., Ghadially F.N.: Secretion of Granule Content by Eosinophils. Arch. Pathol. 98: 58-61, 1974.
- 16- Yamashima T., Kubota T., Yamamoto S.: Eosinophil Degranulation in the Capsule of Chronic Subdural Hematomas. J. Neurosurg., 62: 257 260, 1985.