

ÇİZGİLİ KASLARIN HİSTO-MORFOLOJİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ(x)

Dr. Sacide KARAKAŞ(xx)

ÖZET

Çalışmamız 16 hayvandan alınan çizgili kas örneklerinin, üç çeşit boyama yöntemiyle boyanarak kas liflerinin histolojik yapısının ve kas liflerini inerve eden sinirlerin durumunun incelenmesidir.

Amacımız çalışma, vücut hacmi, hareketleri farklı üç türde aynı kastan alınan parçalar üzerinde, kas lifinin glikojen içeriğine bağlı olarak histo-kimyasal ve in; invazyon yönünden türler arasındaki fark araştırmaya çalışmaktır.

GİRİŞ

İskelet kası lifleri çok nukleuslu, uzun silindirik yapılardır. Her lif sarkolemma denilen hücre membranı ile sarılıdır. Sarkoplazmaden stoplazma ise kontraktıl yapılar myoflamanlar yanında, glikogen ve myoglobilin gibi peraplazmatik inkluzyonlar içerir (7,11,12,20).

İskelet kasını oluşturan kas lifleri genelde sarkoplazmik içerikleri ve fizyolojilerine göre üç gruba ayrılırlar. Kırmızı lifler, yüksek oranda myoglobilin ve stekron içeriğine göre kırmızı görülen, fizyolojik olarak yavaş ve uzun süre kasılabilen liflerdir. Enerjileri oksidativ phosphorylasyon kaynaklıdır. Bunlar çok sayıda mitokondriyon içerirler, süratli kontraksiyon yapabilirler. Beyaz lifler, myoglobulin yönünden farklıdır. İntermadiet lifler ise ikisi arasında bir özelliğe sahiptir (4,19,20).

Farklı liflerin belirlenmesinde adenosin triphosfataz reaksiyonu kullanılmakta, ancak kas liflerinin çaplarında böyle bir ayırım için yeterli görülmemektedir (3,4,5, 13,19).

(x) Doktora tezinden alınmıştır.

(xx) Yardımcı Doçenti Dr. Atatürk Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu

Yaşayışları, karakterleri farklı türler arasında kasların morfolojisinde ayrılıkların beklenmesi doğaldır. Bu nedenle çalışmada vücut hacmi ve hareketleri farklı üç türde (Tavşan, Koyun, Sığır) aynı kas (M. tibialis anterior) alınarak kas lifinin glikojen içeriğine bağlı olarak histokimyasal ve inervasyon yönünden türler arasında kıyaslı inceleme yapıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

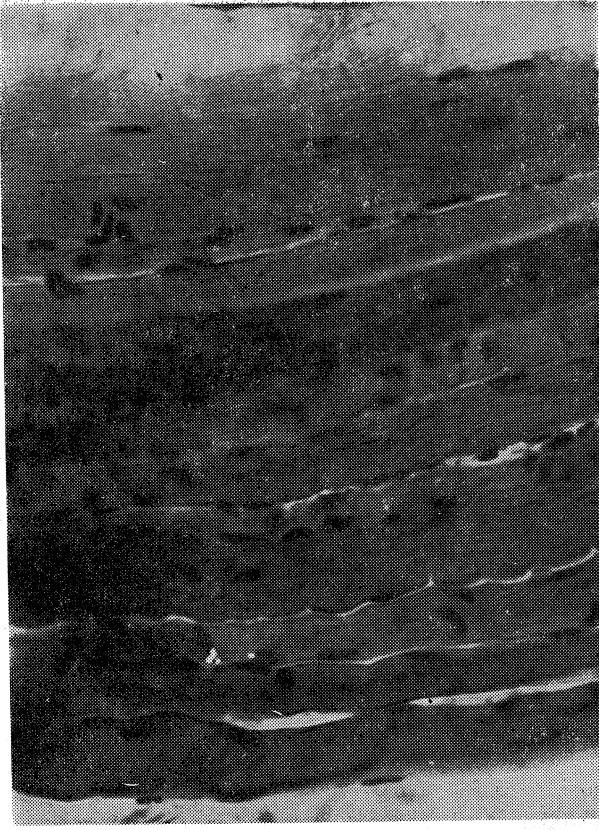
Araştırmada cinsiyet ayrımı yapılmaksızın 12 adet hayvandan alınan kas parçaları, 18-24 saat Nötral formalinde tesbit edildi. Dehidratasyon için alkol, temizlemek için ise xylol kullanılarak parçalar takip edilip parafinle mbloklandı. Elde edilen bloklardan 3-5 mm kalınlığındaki kesitlere rutin boya Hetatoxylin-Esoin yöntemi yanında, glikojen içeriğini görebilmek amacıyla periodic acid-Sohift (PAS) yöntemi ve ayrıca miyelinli sinir tellerini izleyebilmek amacıyla Demirli Hematoxylin boyama yöntemi uygulandı (1,2,18).

Kesitler olympas PM-10-A marka fotomikroskobuyla incelenip mikrofotografları çekildi.

BULGULAR

Hematoxylin-Eozin yöntemiyle boyuna kesitlerde, kas lifleri uzun, silindirik yatlar şeklinde görüldü. Nükleusları oval, uzun, uzun uçlarında künt şekilde idi. Nucleusları kromatin bazofil taneler şeklinde izleniyordu. Kas liflerinin çoğunda izotrop (İ) ve Anizotrop (A) bantları enine çizgilenmeler şeklinde görülüyordu. Bazı liflerin stoplazması eozinle homojen boyanmış yapıda izleniyordu. Böyle liflerde izotrop ve Anizotrop bölgeler (enine çizgilenme) çoğu kez zorlukla izleniyordu. Demetler içinde lifler çok sık, hatta interseluler aralıktaki ince bağ dokusu çoğu kez seçilemiyordu. Ancak lifler arasında, veya bazan kesit düzlemine göre lif üzerindeymiş izlenimi veren bağ dokusu hücrelerinin nükleusları izleniyordu. Resim 1.

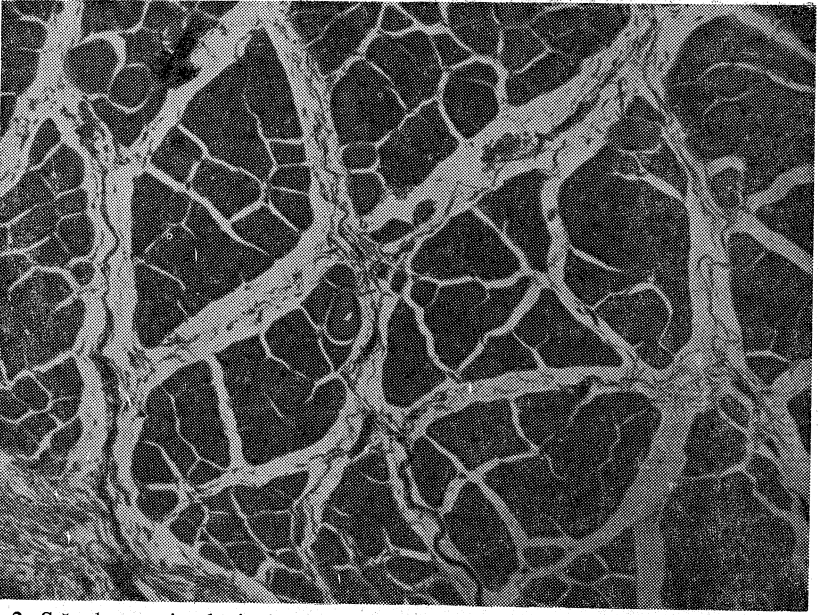
Kas lifi demetleri genişçe bağ dokusu ile sarılıydı (Perimysium). Demetleri saran bağ dokusu içinde çeşitli bağ dokusu hücreleri, lifleri, damar ve sinirler ayrılabilirdi. Bütünüyle kas saran epimysium daha çok fibröz bağ dokusu yapısındaydı. Yani sık kollagen lif demetleri ve arasında fibrositlerden oluşmuş yapıdaydı. Bağ dokusu hücreleri daha çok fuziform yapıdaydı. Bu hücreler bağ dokusunun mekik biçimi hücreleri veya fibrositleri olmalı. Yer yer mononükleer toparlak hücreler izleniyordu. Bunlar ise daha çok lenfositlerdi. Liflerin tendon ve fascia ile bağlandığı veya devam ettiği yerlerde ise tendon ve fascia düzenli sıkı fibröz bağ dokusu kas liflerine oranla daha açık renk boyanmış yapıda lif demetleri arasında tendon ve fascianın tipik kanallı hücreleri lenfositler belirgin olarak görülüyordu. Bağlantı bölgelerinde kas liflerinin birleşme hattı boyunca sık hücreli bir yapı izleniyordu.



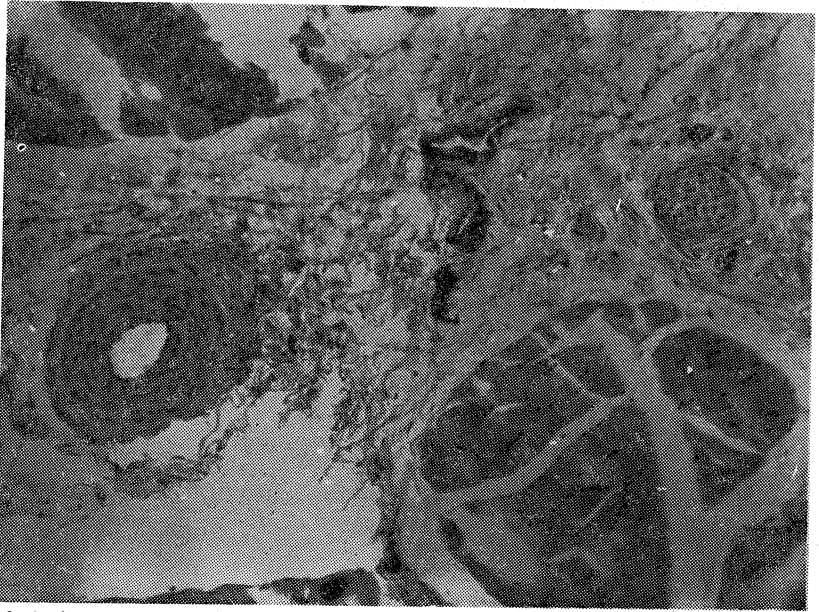
Resim 1: Koyun kasi, boyuna kesit Hem. -Eo, x500

Enine kesitlerde; Küçük büyültmelerle kas, bağ dokusu ile sarılı kas lifi demetlerinden yapılmış görülüyordu. Lif demetleri, demetlerinin çapları farklı olduğu gibi demetleri oluşturan lifleride heterojen görüldü. Yani oldukça geniş çaplı lifler yanında daha ince lifler bulunuyordu. Lif demetleri arasındaki bağ dokusu, gevşek bağ dokusu yapısındaydı. Çeşitli bağ dokusu hücreleri, damar ve sinirler izleniyordu. Kas lifi pirimer demetleri sıkı bir şekilde paketlenmiş lifler çevresindeki çok ince bağ dokusu bölgesinde, bağ dokusu hücreleri görülebiliyordu. Ayrıca yağ hücreleri de izleniyordu. Resim 2-3.

Demetlerdeki kas lifleri eozinle, eozinofil boyanmıştı. Büyük büyültmelerde stoplazma genelde ince granüllü görülüyordu. Stoplazma içinde gruplar oluşmuştu. Bu granül gurupları Cohnheim alarları olmalı. Bazı liflerin stoplazması eozinle daha açık renkte boyanıyordu. Bu liflerin stoplazmasında Cohnheim alanları çoğu kez ayrılmadığı gibi myofibriller de zorlukla seçilebiliyordu. Açık renk boyanan liflerin çapı genelde demet içindeki liflere oranla genişti.



Resim 2: Sığır kasi, enine kesit, kas lifi demetleri içindeki açık renk lifler (Tek okla işaretli). Koyu renk lifler (Çift okla işaretli) Hem. Eo.x150.



Resim 3: Enine kesitte bağ dokusunda damar (Tek okla işaretli), sinir (Çift okla işaretli). K: Kas Hem-Eo.x150.

Özellikle enine kesitlerde lif demetleri arasındaki genişçe bağ dokusu bölmelerde damar, sinir dallanmaları görülüyordu. Böylece muskuler tip arter, özellikle eozinle homojen boyanmış membrana elastica internaları ve belirgin media ve adventialarıyla görülüyordu. Venler daha ince çapta ve ince duvarlı görülüyordu. Resim : 4.



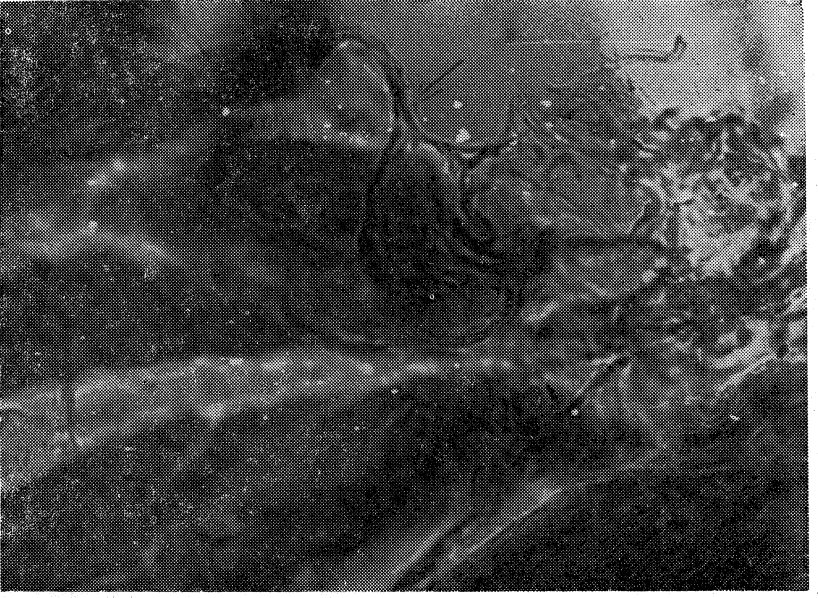
Resim 4: Enine kesitte kas lifi demetleri arasındaki bağ dokusu K: Kas, A: Arter, V: Ven Hem. -Eo.x300.

İnervasyonu izleyebilmek amacıyla özel boya Heidenhoinin Demirli Haematoxylin yöntemiyle akson çevresindeki miyelin kılıf mor renkte ince çizgiler şeklinde görüldü. Bağ dokusu bölmelerindeki sinirlerde, siniri oluşturan miyelinli sinir telleri çevresinde miyelin kılıf yanında Shwan hücrelerinin nucleusları da belirgin boyanmış görülüyordu.

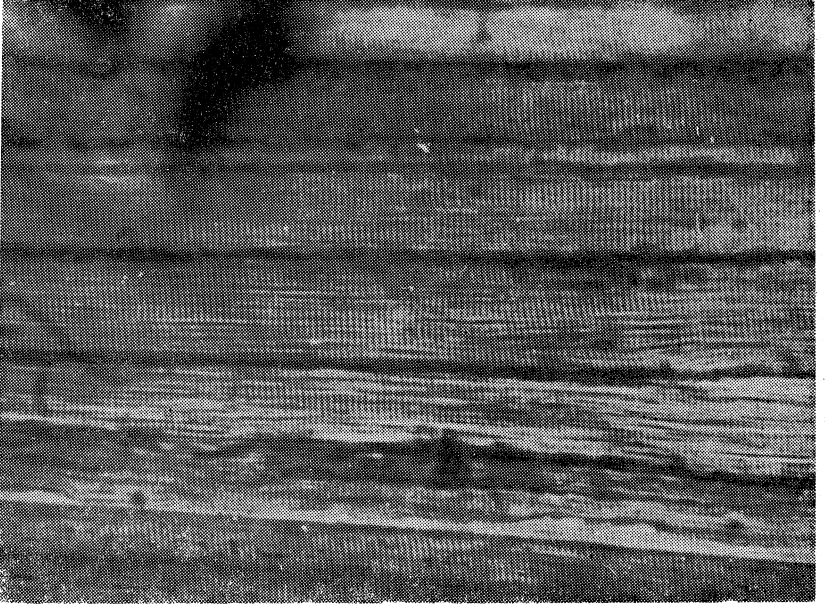
Boyuna uzanan kas lifleri arasında kas lifine yaklaşan ve ince dallara ayrılan sinirlerin ince dalları kas yüzeyinde görülüyordu. Resim 5.

PAS yöntemiyle genellikle kas lifleri boyanın spesifik renginden daha açık ve İzotrop, Anizotrop bölgeler belirgin boyandı.

Hem enine hem de boyuna kesitler çevresinde kas lifleri PAS pozitif ince bir materyelle kaplıydı. Ay şeklinde büyük çaplı masculer arterler çevresindeki medianın düz kasları, iskelet kasları gibi açık renk stoplazmalı görülürken, kas hücreleri çevresindeki PAS pozitif materyel bütün kasta da görülüyordu. Kas hücrelerinin glikojen içeriğini belirlemek için yapılan boyama yöntemiyle tendon ve fasianın kollagen lifleri boyanın spesifik renğinde ve kas liflerine oranla daha koyu PAS pozitifliği. Resim 6.

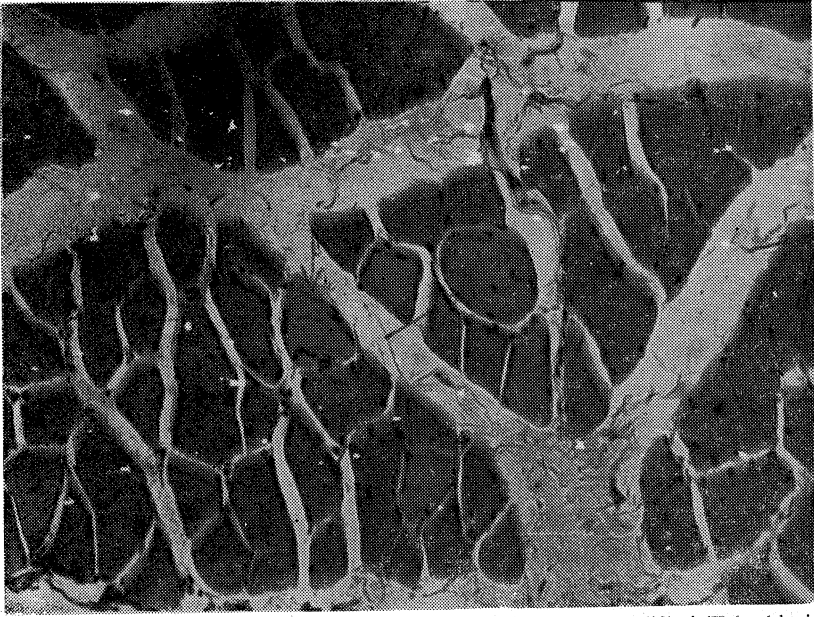


Resim 5: Boyuna kesitte kas lifine yaklaşan ve dallara ayrılan miyelinli sinir telleri (okla işaretli)
Haidenhoinin Demirli Heamatoxylin x 750



Resim 6: Boyuna kesitte İzotrop, Anizotrop bölgeler periadic asid Schif (PAS (x 500.

Çeşitli boyama yöntemiyle türlere göre kıyaslı gözlemlerde morfolojik olarak genelde bir farklılık gözlenemedi. Hematoxylen-Eozin boyama yöntemiyle her üç türde de enine kesitlerde kas lifi demetleri içinde stoplazması eozinle daha yoğun ve buna oranla daha açık boyanan kas liflerinin görünmesine karşın, periodic acid Schiff (PAS) yöntemiyle liflerdeki bu boyama farkı sadece tavşanda izlenebildi. Resim 7.



Resim 7: Tavşan kasından enine kesitte lif demetleri içinde açık renk kas lifleri (Tek okla işaretli)
Periodic acid Schiff (PAS) x 300.

TARTIŞMA

İskelet kasında, kas lifi demetleri çevresinde yer alan ince bağ dokusu (Perimysium) demetleri içindeki ince bağ dokusu (Endomysium) ve bütünüyle kası saran bağ dokusunun (epimysium) kas kontraksiyonunda bütünlüğü sağlayan yapılar olduğu bilinir. Ancak kasın fonksiyonunda kas, tendon bağlantısının önemi büyük olmalıdır (6,11,12,20).

Preparasyonlarımızda kas tendon bağlantı bölgeleri düzenlenişiyle olduğu kadar tendon ve kas, bağ dokusu bölmelerine devam eden yapılardada belirgin görüldü. Kas tendon bağlantısı hizasında, kas liflerinin tendonun kollagen lif demetleri arasına sokularak sonlandığı bilinir. Ancak bu hizalarda kasın tendona sıkıca tutunmasını kas lifi demetleri arasında yer alan gevşekbağ dokusu sağlar. Böylece bu bağ dokusu liflerinin tendon içinde devam etmesi söz konusudur. Bu devamlı liflerin genelde gevşek bağ dokusunun ince kollagen lifleri olduğu kabul edilir. PAS yöntemiyle preparasyonlarımızda bağ dokusunun PAS pozitif olduğunu

gördük. Periodic-acid Schiff (PAS) uygulanmış preparasyonlarımızda, pozitif boyanma veren bağ dokusu lifleri kas lif demetleri arasında, içinde ve tendonda izlendi. Ancak periodic-acid Schiff yöntemiyle böylepozitif boyanma bağ dokusu lifleri içinde kollagen liflerden çok reticulum liflerinde görüldü. Bu pozitif boyanmayı, kollagen liflerde fibroz protein, kollagenin yataklandığı kit maddesi ile argirofil liflerdeki fibröz proteinin yataklandığı kit maddesinin verdiği ve bunun reticulum argirofil liflerinde kollagen liflere oranla daha bol olması nedeniyle PAS pozitif olduğu söylenmektedir (18). Yani PAS pozitif reaksiyon veren lifler kollagen liflerden çok reticulum lifleridir. Çünkü kit maddesi kollagen liflerde çok azdır. Bu lifler zayıf PAS pozitif reaksiyon verirler. Buna göre preparasyonlarımızda belirgin PAS pozitif gördüğümüz bağ dokusu liflerinin fibröz proteinleri arasındaki yatak (kit) maddesi oldukça bol olmaktadır. Diğer taraftan tek tek kas lifleri çevresinde da PAS pozitif materyal vardır. Araştırmacılara göre bu materyal bazal membran yapısındadır. Yani glikoprotein ve reticulum liflerinden oluşmaktadır (6,7,11,12,14).

Kas tendon ve fascia ile bağlantı bölgesinde preparasyonlarımızda bağ dokusunun böyle pozitif PAS reaksiyonu veren lifleri yanında hematoxylin-Eozin yöntemiyle bağ dokusunun fibrositleri ve lenfositlerinin oldukça yoğun olduğu izlendi. Hem tendonun kollagen lif demetleri arasında, hem de kasın ince bağ dokusu bölmelerinde daha seyrek olan bu hücrelerin her iki dokunun bağlantı bölgesinde böyle yoğun görülmeleri her iki dokunun sınırlanmasından çok bu hücrelerin işi gereği olmalı.

Kas hücrelerinin fonksiyonu gereği glikojen içerdiği bilinir (5,8,9). Bizde preparasyonlarımızda kas dokusunun stoplazmik içeriği glikojeni gösterebilmek amacıyla karbonhidratların genel boyama yöntemi olan periodic-acid Schiff (PAS) yöntemini uyguladık. Her üç türde de bu yöntemle kas stoplazması çok hafif boyanma gösterdi. Lifler boyanın spesifik renginden açık renkte boyandı. Bunun yanında liflerin çevresi veya tendonun kas bağlantı bölgesindeki bağ dokusu lifleri daha belirgin PAS pozitif reaksiyon verdi. Lifler çevresinde ve tendonla bağlantı bölgesinde izlenen bu PAS pozitif materyal glikoprotein yapısındaki substantia fundamentalis ve liflerin yapısındaki aynı kimyasal materyal olabilir. Ancak çizgili kas liflerinde de glikojene bağlı boyama beklenirdi. Böyle bir boyanmayı arter duvarındaki düz kaslarda da göremedik. Bu boyama kanımızca kasın fonksiyon periyoduna bağlı olabilir. Yani kontraksiyon yaparak enerji maddesini harcamış olabilir (6,11,12,20).

Fizyolojik ve Morfolojik olarak kas liflerinin boyanma özelliği ve çap farkına göre ayırım genelde 3 grupta yapılmaktadır.

- 1- Kırmızı lifler,
- 2- Beyaz lifler,
- 3- İntermadiler lifler (5,10,11,12,15,20).

Bizde preparasyonlarımızda kas liflerini boyanma yönünden olduğu kadar, çap yönünden de birbirinden farklı gördük. Sadece morfolojik gözleme dayanarak çalışmamızda açık renk ve daha büyük çaplı gördüğümüz lifler kanımızca sür'atli çalışan beyaz lifler, diğerleri ise kırmızı lifler olabilir (6,11,12,15,16,17,20,21).

Kas liflerindeki ayrım, ultrastrüktürel düzeyde ise liflerin invazyonuna göre morfolojik olarak yapılabilmektedir. Böylece motor plakta supnör al aparat beyaz kas tellerinde oluşmakta, kırmızı kas liflerinde ise supnör al aparat bulunmaktadır (20). Bu çalışmada ışık mikroskopik düzeyde miyelin kılıfını boyuyarak sinirler izlenmeye çalışıldı. Ancak beyaz ve kırmızı liflerin invazyonu konusunda bir ayrım yapılamadı.

Beyaz kas tellerinin daha az kapiller ile beslenmesi yanında kırmızı kas tellerinin kapillerden zengin olduğu belirtilmektedir (20). Preparasyonlarımızda kapillerler çeşitli yöntemlerle izlenebilmesine karşın lifler arasında damarlanmaya dayalı böyle bir ayrım yapılamadı. Ancak geniş çaplı, açık renk boyanan, kanımızca beyaz lifler diyebileceğimiz lifler çevresinde bağ dokusu oldukça yoğundu (6,11,12,20). Kas lifleri çevresindeki bağ dokusu (endomysium) başlıca damar ve sinirleri taşımaya hizmet ettiğine göre yukarıda tarif edilen lifler çevresinde damar dalları daha bol görülmeliydi. Ancak bu genişçe bağ dokusu içinde böyle zengin damar ağı izlenemedi.

SONUÇ :

Koyun, tavşan, sığırdan alınan kaslardan elde edilen kesitlere Hematoxylin-Eozin, Periodic-acid Schiff (PAS) , Demirli Hematoxylin yöntemleri uygulandı.

Morfolojik olarak her üç türde de kas dokusu aynı yapıda görüldü. Ancak boyama yöntemleriyle aynı tür kas lifi demetleri içinde bazı kas lifleri daha açık renk görüldü. Bu lifler daha geniş çaplıydı.

Histokimyasal olarak glikojeni saptayabilmek amacıyla yapılan periodic-acid Schiff (PAS) yöntemiyle her üç türde dekas lifleri tendonun kollagen liflerine oranla daha az PAS pozitif reaksiyon verdi.

İnvazyonu saptayabilmek amacıyla sinir teli çevresindeki miyelin boyanarak (Demirli Hematoxylin) sinirler izlenmeye çalışıldı.

Comparative invetsigation of the Histo-Morfologies of stariated Musculls

Summary :

İnthis study, the, triated muscle samples obtained from 16 animals werestained with three different technies, and the histologic structures and innervaton of muscle fibers were evaluated.

This study was aimed at in order to investiojate the difference between kinds with respect to histochemical and innevrational properties due to glycogentontent of muscle fibers obtained from three. Different kinds of different body size and movement.

KAYNAKLAR :

- 1- Alker Osman Nuri: Labratuvar el kitabı. Hususi Boyama Teknikleri, Gülhane As. Tıp Akademisi Patolojik Anatomi Enstitüsü Yayınlarından No: 1, Örnek Matbaası-Ankara, 1954.
- 2- Bancroft, John D., Stevens Alan, Theory and Pructive of Histological Techniques,
- 3- Bozenci Zawadowska and Wincenty Kılarski, Histochemical Characterization of the Muscle Fiber Types Acta Histochem. 75, 91-100, 1984.
- 4- Brooke, M.H. and K.K. Kaiser. Three Myosin ATP'ase Systems: The nature of their plt liability and sulphydral dependence. J. Histochem. Cytochem. 1970.
- 5- Dorabeth Parsons, Timoty I. Musch, Russell L. Moore, Georye C. Haidet and Georye A Ordway Dymnic Exerciss-Truinihy in Foxhovnds II. Analysis of Skeletul Muscle American Physiological Society 0161-7567/85 Compy-riyht, 1985.
- 6- Erbenği, Cunberk Y.: Histoloji, İstanbul Matbaası Manifaturacılar Çarşısı, 2. Blok, No: 2274 Unkapanı-İstanbul.
- 7- Erkoç A.: Genel Histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları Ankara Üni. Matbaası Ankara-1980.
- 8- Gonyea, W.S.: Fiber size Distribution in the Flexor Carpi Radialis Muscle of the Cat. Anat. Rec., 1a5: 447-454- 1979.
- 9- Gürtan K.: İstatistik ve Araştırma Metodları, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 1977.
- 10- Heriksson Larsen, K., Lexell., J. Slöström. M. Distribution of Different Fibre Thytypes in Human Skeletal Muscles. I. Method for the preparation and Analysis of Crooss-Secti onsof Whole Tibialis Anterior Histochem J. 15: 167-178, 1983,
- 11- Junqueira L. C., Carneire J.: Basic Histology Znd end. Editora Guanabara Kooyan S.A., Riacle Janeira, Brazil-1971.
- 12- Kalaycı Ş.: Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi Bursa- 1986.

- 13- Karin B., Henriksson -Larsen, Jan Ixell and Michael Sjöström: Distribution of Different Fibre Types in Human Skeletal Muscles. I. Method for the preparation and Analysis of Cross-Sections of Whole Tibialis Anterior. *Histochemical Journal* 15: 167-178-1983.
- 14- Kelly D.E., Wood R.L., Ender A.C.: *Microscopic Anatomy* 18th ed. Williams and Wilkins Comp. Baltimore-London, 1984
- 15- Khenriksson-Larsen, J. Friden and M. Wretling: Distribution of Fibre Sizes in Human Skeletal Muscle An Enzyme Histochemical Study in M. Tibialis Anterior. *The physiol scand*, 123: 171-177, 1985.
- 16- Larsson, I.: Histochemical Characteristics of Human Skeletal Muscle during ageing. *Acta Physiol Scand* 117, 469-471, 1983.
- 17- Nygaard, E., and J. Sanchez: Intramuscular Variation of Fibre Types in the Brachial Beiceps and the lateral vastus muscles of Elderly Men: How representative is a Small Biopsy Sample? *J. Anat.*, 203: 451-459, 1982.
- 18- Peurse, A.G.E.: *Histochemistry. Theoretical and Applied*. Second Edition. C. C. Brown Comp., Boston, 1961.
- 19- Petters, S.E., Malkey R., Rasmussen S.A., G.E. Groslof, J.R.: Motar Units of the Primary Ankle Extensor Muscles of the Opossum (Didelphis Types J. Morph., 181: 305-317, 1984.
- 20- Sağlam M.: *Genel Histoloji*, 2. Baskı, Onyun Kardeşler Matbaacılık Sanayi, Ankara, 1984.
- 21- Shorey C.D. and Cleland K.W.: Problems Associated With the Morphometric Measurement of Transvers Skeletal Muscle Fibers:
I. Analysis of Frozen Sections the *Anatomical Record*, 207: 523-531, 1983.