

SİNDİRİM KANALI DUVARININ ÇEŞİTLİ BÖLGELERİNDE GEVŞEK BAĞ DOKU HÜCRELERİNİN TESPİT-BOYAMA YAPI VE LOKALİZASYON ÖZELLİKLERİ x

Uz. Yusuf ERSAN (xx)

ÖZET :

Bu çalışmada cinsiyet ayrımı yapılmaksızın beş kedi de gevşek bağ dokusu hücreleri özofagus, mide fundus ve jejunum mukozasının lamina propriası ve submukoza bölümlerinde incelendi. Preparasyonlar formalin, carnoy ve mota fiksatifleriyle tespit edilerek H-E, MG-P, T-M'si ve A-M'si yöntemiyle boyanarak hazırlandı.

Böylece bağ dokusunun fibrositleri, histiyositleri, lenfositleri, monositleri, eozinofil ve nötrofil granülositleri H-E'le gözlenmesine karşın, plazmositleri MG-P boyama yöntemiyle, mastositleri ise, T-M'si ve A-M'si yöntemleriyle saptandı. Hücrelerin fiksasyonu için kullanılan fiksatiflerden carnoy fiksatifinin her tür hücrenin sitoplazmasında yoğun bir boyama sağlandığı, ayrıca bu fiksatörün mast hücrelerinde T-M'siyle farklı iki subgrup belirlenmesinde etkili olduğu gözlemlendi. Bunun yanında genelde metakromatik boya olarak kullanılmayan MG-P bazik boyasının mast hücrelerinin gösterilmesinde T-M'si kadar başarılı olarak kullanılabileceği saptandı.

GİRİŞ :

İnsan organizmasının gevşek bağ dokusunda yapı ve fonksiyon yönünden çeşitli hücreler bulunur. Bu tür bağ dokusu sindirim kanalı mukozasının lamina propriası ve submukoza katında vardır. Gevşek bağ dokusu hücreleri başta fibrositler olmak üzere histiyositler, plazmositler, mastositler ile hem kanın hem de gevşek bağ dokusunun hücreleri olan monositler, lenfositler, eozinofil ve nötrofil granülositlerdir (5,6,8,9). Bu hücrelerden fibrositler, ince uzun mekik biçimi hücrelerdir ve bağ dokusu hücreler arası ortamının şekilsiz ara maddesi ve lif yapımından sorumludur. Mekik biçimli histiyositler, toparlak olan monositler eozinofil

x) Uzmanlık tezinin kısaltılmış şeklidir, Atatürk. Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsüne sunulmuştur (1989).

xx) Atatürk Üniv. Tıp Fak Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Arş. Görv.

ve nötrofil granülositler, fagositoz yoluyla organizma için yabancı ve zararlı partikülleri yok ederler. Ufak ve toparlak lenfositler ve onlardan değişen plazmositler immün cevabın verilmesinden sorumlu hücrelerdir (5,6,8,9). Mastosiler ise içerdikleri başlıca heparin, histamin ve bol sitoplazmik enzimleri aracılığıyla kan damarlarının geçirgenliğini artırır, kanın koagülasyonunu önler ve bağ doku sıvısının temizlenmesinde enzimler aracılığıyla iş görür (6,8,9).

Böyle farklı yapıda ve farklı işe yönelik hücrelerin sitoplazmik içerikleride birbirinden farklıdır. Çeşitli hücrelerin farklı sitoplazmik yapılarını izlemek farklı histolojik ve histokimyasal yöntemlerle sağlanır(2,3). Bunun için önce histokimyasal yapının hücrede tespit edilmesi gerekir. Bu amaçla rutin kullanılan formalin fiksatörü dışında asitli, alkollü veya osmium civa gibi ağır metal tuzlu fiksatörler kullanılır (8,12).

Bu çalışmada yapıları ve işleri kısaca belirlenen yukardaki çeşitli gevşek bağ dokusu hücreleri sindirim kanalının özofagus, mide fundus ve bağırsakların jejunum bölümünde lamina propria ve tela submukozalarında lokalizasyon, tespit, boyama ve yapıları yönünden kıyasla incelendi.

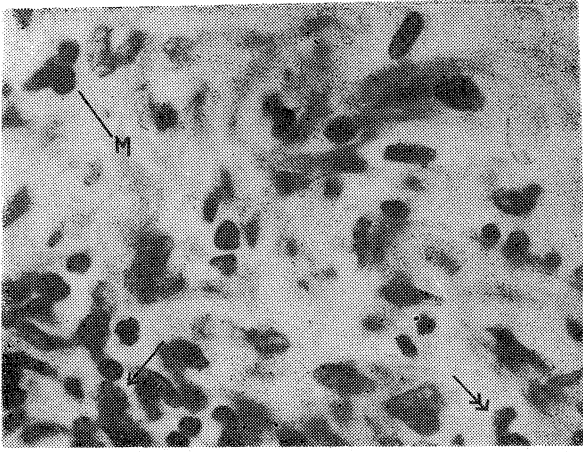
GEREÇ VE YÖNTEM :

Bu çalışmada sağlıklı normal beş kedi kullanıldı. Alınan örnekler (% 10'luk formalin, Carnoy (glasial asetik asit-kloroform ethanol) ve mota (% 1'lik kurşun asetat, ethanol-asetikasit) fiksatörleriyle 18-24 saat tespit edildi (2,3). Parafin bloklardan elde edilen 3-5 mikron kalınlığındaki kesitler hematoksilin-Eozin (H-E), Metilgreen-pironin (MG-P) (2,3). Toluidin mavisi (T-M) (2,3) ve Alcian mavisi (A-M) yöntemleriyle boyandı, Boyalı kesitlerin Olympus PM-10-A foto mikroskopuyla mikrofotografaları elde edildi.

BULGULAR :

Kullanılan boyama yöntemlerinden H-E ile genelde bağ doku lifleri ve hücreleri izlenebilir. Bu boyama ile kedide özofagus, mide ve jejunuma ait preparasyonlarda bağ dokusunun fibrositleri uzun fuziform biçimde fibroblastları ise oval az kromatinli nukleuslarıyla lif demetleri arasında yer almaktadırlar.

H-E boyasında bağ dokusunun histiyositleri de mekik biçiminde izlenmektedir. Ancak histiyositler fibrositlere oranla daha kısa ve nukleusları daha koyu boyanmaktadır. Diğer bağ dokusu hücrelerinden lenfositler H-E boyama yöntemiyle özofagusta özellikle örtü epiteli altında mide ve jejunumda ise mukozada yaygındı veya folliküller yapıyordu. Sindirim kanalının incelenen her üç bölgesinde de lenfositler gibi hem kanın hem de bağ dokusunun hücresi olan eozinofil granülositler, çoğunlukta olmak üzere monositler ve nötrofil granülositler, daha çok damarlar çevresinde sık rastlanıyorlardı (Resim. 1).

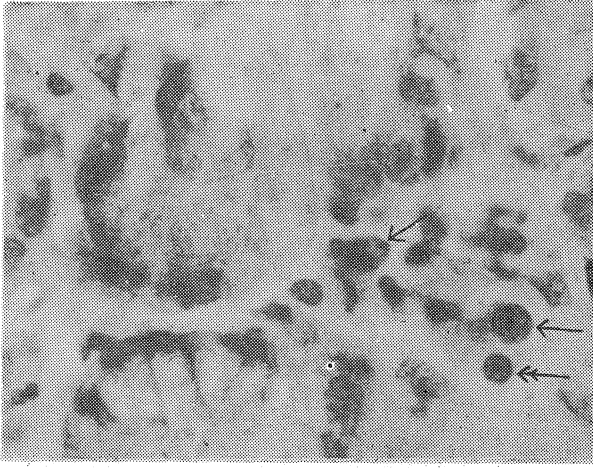


1- İnce bağırsak jejunumda kan damarları çevresinde eozinofi (tek oklar), nötrofil granulosit (çift oklar) ve monosit (M) görülüyor Hematoksilen-Eoin boyası x750

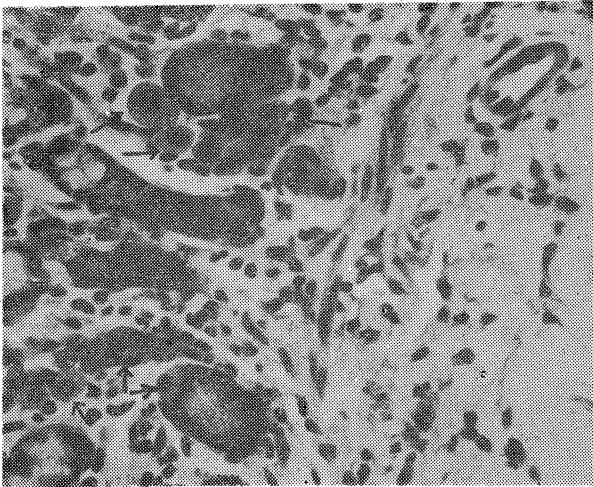
Diğer bağ dokusu hücrelerinden mastositler ve plazmositler de H-E boyama yöntemiyle ancak büyük büyültme ile birbirlerinden ayırtediliyordu. Böylece mastositler plazmositlere oranla biraz daha iri oval ve sitoplazmaları ince granüller yapıdaydı. Bu hücrelerin nukleusları ise, hücre şekline uygun olarak toparlak veya ovaldı ve nukleus kromatini belirgin bir kümeleşme yapmıyordu. Plazmositler ise çoğu kere toparlak ancak bazen özellikle lifler arasına sıkıştıkları zaman oval yapıdaydı. Bu hücrelerin sitoplazmaları hafif bazofil ve nukleusları eksentrik olup nukleus kromatini karakteristik bir dağılma gösteriyordu.

MG-P yöntemiyle hazırlanan preparasyonlarımızda RNA içeriği fazla olan yapılar yanında plazmositler belirgin olarak boyandı. Böylece genelde her hücrenin sitoplazmik RNA içeriğine bağlı açık pembe boyanan sitoplazma yanında plazmositler koyu kırmızı-viole renkte sitoplazma ve eksentrik özel keratin tertiplenmesi gösteren nukleuslarıyla kolayca saptandı (Resim:2). Gözlemlerimize göre mast hücreleri MG-P yöntemiyle hem lamina propriada hemde tela submukozada oval bazan ince uzun hücrelerin sitoplazmalarında kırmızı renkli granülleriyle metakromatik olarak gözlenmektedir. Ayrıca mide preparatlarında mide bezlerinin kenar hücrelerinde plazmositler kadar belirgin boyanan kırmızı-viole sitoplazmalarıyla izledik (Resim: 3).

Bağ dokusunun mastositleri ise sitoplazmik granüllerinin kimyasal içeriği nedeniyle genelde bazik boyalarla matakromatik olarak boyanırlar. Bizde bu hücreleri saptayabilmek amacıyla, bazik ve metakromatik boya T-M'sini ve A-M'sini ayrı ayrı kullandık. Her iki boyama yöntemiyle de, mastositler, belirgin boyanan sitoplazmik granülleriyle kolayca saptanabildi. Böylece mast hücreleri bazen oval, bazan fibrositler kadar ince uzun ve sitoplazmalarında T-M siyle kırmızı-



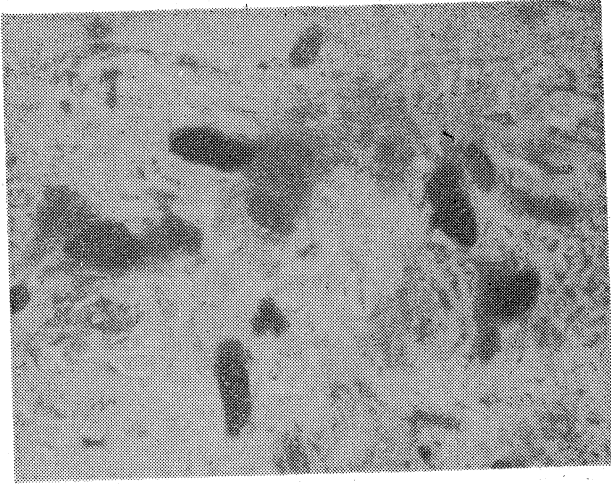
2- Mide fundusu Gevşek bağ dokusu hücrelerinden plazmosit (tek oklar), lenfosit (çiftli oklar) görülüyor. Hematoksilen Eozin boyası x 900



3- Mide fudusundaki bezlerin esas hücreleri (tek oklar) görülüyor Metilgreen-prironin boyası x300.

mor, A-M'siyle kahverengi-kırmızı granüller taşıyan hücreler şeklinde görüldü. Kullanılan fiksätörler kıyaslandığında formalinde tespit edilmiş dokulara göre Carnoy ve mota ile fikse edilen dokuların kullanılan tüm boyama yöntemlerinde daha iyi netice verdiği görüldü. Örneğin; Carnoy ve motayla tespit edilmiş ve H-E boyalı preparasyonlarda fibrositler, histiyositler veya diğer bağ dokusu hücrelerinin sitoplazması formalinle tespit edilmiş bloklara oranla daha belirgindi. Ayrıca

mastositleri izlemek amacıyla uyguladığımız T-M'si boyama yönteminde carnoyla fikse edilmiş preparasyonlarda hem hücre sayısı hemde sitoplazmik granül yoğunluğu yönünden preparasyonlar incelendiğinde, mast hücre sayısı ve hücre sitoplazmasındaki granül yoğunluğu, formalinle fikse edilmiş preparasyonlardan daha fazlaydı. Bu fark mota ile fikse edilmiş preparasyonlarda da formaline kıyasla oldukça beligindi. Ayrıca carnoy ile fikse edilmiş mide ve bağırsak preparasyonlarında lamina propriada yaklaşık plazmosit büyüklüğüne eşit oval veya ince uzun biçimde metakromatik granüllü mastositler izlenirken, tela submukozada da daha çok oval biçimli ve lamina propriadakilere kıyasla daha iri mastositler izlendi. Ancak böyle farklı yapıda mastositler sadece carnoy fiksatifleriyle ve T-M'si boyamayla saptandı (Resim: 4).



4- Özofagus, lamina propriası. Gevşek bağ dokusu hücrelerinden mastositler görülüyor. Toluidin mavisi boyası x 900.,

TARTIŞMA :

Fibrositler bağ dokusunun hücreler arası ortamını oluşturan esas madde ve liflerin yapımından sorumlu hücrelerdir. Bu nedenle bu hücrelere her tür bağ dokusunda rastlanır. Bu hücreler gerektiğinde aktif hale geçip bağ dokusunun rejenerasyonunu sağlar. Fibrositlerin aktif tipine bazı otörler fibroblast der (5,6,8). Fibroblastların sitoplazmasında aktif protein sentezi yapan hücreler de olduğu gibi GER ve golgi organeli iyi gelişmiştir dolayısıyla sitoplazması koyu boyanır. Buna karşın inaktif durumdaki fibrositlerin sitoplazması organellerden fakir olduğu için preparatlarda açık renk boyanır (5,6).

Bağ dokusunun diğer hücreleri genelde, vücut savunmasında iş gören hücrelerdir. Bunlar histiyositler, lenfositler, plazmositler, monositler, nötrofil ve eozinofil granülositler ile mastositlerdir. Sindirim kanalı dış ortama açıldığı için

duvarındaki doku sıvısının kirlenmesi veya enfeksiyona uğraması söz konusudur. Bu nedenle savunmada görevli hücrelerin bulunması doğaldır. Böylece fagositoz yeteneği olan histiyositleri bunların aktif tipi makrofajları ile lenfosit, monosit, granülositler ve mast hücrelerinin görülmesi gerekir (5,6,8).

Mastositler sitoplazmalarında histamin, heparin, serotonin ve çeşitli enzimler içerirler(1,3,5,6,8,9,12). Dolayısıyla bunların doku sıvısının temizlenmesinde (5,9) ve immun reaksiyonda rolü olduğu bildirilmiştir(4,10). Bu hücrelerin zengin sitoplazma içeriğinin korunmasında özel fiksatörler kullanılır. Bu fiksatörler asitli, alkollü veya ağır metal tuzlu fiksatörlerdir (2,12). Bizde alkollü fiksatör (carnoy) ile ağır metal tuzlu (mota) solusyonlarını kullandık. Gözlemlerimize göre mast hücreleri ve sitoplazmik granülleri en iyi şekilde carnoy fiksatörü ve T-M siyle korundu. MG-P boyası sitoplazmik RNA'nın spesifik boyasıdır ve hücrelerin RNA'dan zengin bölümleri pironinofili gösterir (2,3,5,6,8,9). Bizde preparasyonlarımızda plazmositlerin pironin ile spesifik olarak boyandığını saptadık. Preparasyonlarımızda mide fundus bezlerinin mitokondriadan zengin kenar hücreleri de pironinle kuvvetle boyandı.

Ayrıca hem lamina propriada hemde submukozada oval bazen ince uzun hücrelerin sitoplazmalarında kırmızı renkli granüller gözlemlendi. Kanaatimizce bu hücreler mastositler olabilir (5,8). Çünkü mastositler asit mukopolisakkarit içerikleri nedeniyle bazofili ve metakromazi gösterir (1,3,5,6,8,9). Gözlemlerimize göre mastositler MG-P ile boyanmasına ilişkin pek az literatür vardır (2,12). Bizde bu verilere dayanarak metilgreenin mast hücrelerinin gösterilmesinde kullanılabileceğini saptadık.

SUMMARY :

FIXATION, STAINING, STRUCTURAL AND LOCALISATION PROPERTIES OF THE LOOSE CONNECTIVE TISSUE CELLS IN THE SEVERAL AREAN OF GASTRO İNTESTİNAL TRACT WALLS.

In this study loose connective tissue cels of five cats were examined in oesaphagial, gastric and jejunal mucosa and submucosa. Tissues were fixed in formalin, carnoy and mota fixatives and stained with Hematoxylen-eosin, methyl green-pyronin, Toluidine blue and Alcian blue.

Fibrocytes, histiocytes, lymphocytes, monocytes, eosinophil and neutrophil granulocytes could be observed with hemotoxylen-eosin, but plasmocytes were seen with methyl green-pyronin, mastocytes with toluidine blue and alcian blue stains. Carnoy fixative was found to yield a stronger staining property in the cytoplasm of all cells and also abled us to distinguish two subgroups of mast cells with toluidine blue staining furthermore methyl green-pyronin staining which is not genarally used as a metachromatic dye was found to show mast cells as successfully as toluidine blue staining.

KAYNAKLAR

- 1- Arizono, N., et al.: A combined alcian blue-PAS-ABC method for differential staining of mast cells. *Acta. Histochem. Cytochem.* 20:101-104, 1987.
- 2- Bancroft, J.D., Stevens, A.: *Theory and practice of histological techniques.* second ed., Churchill Livingstone, Edinburgh-London-Melbourne and New York, 1982.
- 3- Bancroft, J.D., Cook, H.C.: *Manual of histological techniques.*, first ed., Churchill Livingstone, Edinburgh-London-Melbourne and New York, 1984.
- 4- Befus, A.D., et al.: Mucosal mast cells. *The Journal of Immunology.* 128: 2475-2486, 1982.
- 5- Erkoçak, A. Genel Histoloji., 4. Baskı., Okan Dağıtımçılık ve yayıncılık ltd. şti., İstanbul, 1983.
- 6- Fawcett, D.W.: *A Textbook of Histology.*, eleventh ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia-London-Toronto., pp. 117-137, 136-169, 619-660, 1986.
- 7- Guy-Grand, D. et al: Gut mucosal mast cell. *J. Exp. Med.* 160: 12-28, 1984.
- 8- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Contopoulos, A.N.: *Basic Histology.* fifth ed., Librairie du liban, Beirut, Libanon., pp. 93-123, 275-284, 334-352, 1986.
- 9- Kelly, D.E., Wood, R.L., Enders, A.C.: *Microscopic Anatomy.* eighteenth ed., Williams-wilkins, Baltimore-London. pp. 160-172, 237-249, 526-565, 1984.
- 10- Kida, J., et al : Cytochemical analysis of sulfated glycosaminoglycans in mast cell granules of certain mammalian species *Acta. Histochem. Cytochem.* 19: 497-505, 1986.
- 11- Sonoda, S., et al.: Development of mucosal mast cells after injection of a single connective tissue-type mast cell in the stomach of genetically mast cell deficient W/W^v mice. *The Journal of Immunology.* 137:1319-1321, 1986.
- 12- Vlkicky, V., Baga ova I : Mast cells in the spleen of mice of the strain A/Ph. The effect of fixation on their stainability. *Acta Histochem.* 32: 324-330, 1969.