

FÖTÜS, YENİ DOĞMUŞ VE ERİŞKİN FAREDE ÖZEFAGUSUN HİSTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL KIYASLI YAPISI (x)

Dr. Birkan YAKAN (x)

ÖZET :

Çeşitli bölümlerinde sindirim işinin sürdürüldüğü sindirim kanalındaki yapılar beslenmeye bağlı değişimler gösterirler ve çeşitli çalışmalara konu olmuş ve olmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada sindirim kanalının özefagus bölümü fetal, neonatal ve erişkin farede kıyaslı incelendi.

Fareden alınan parçalar amaca uygun fiksatörlerle fikse edilip, parafin bloklardan elde edilen kesitlere Hematoksiyen-eosin (Hem-eo), Periyodik asit Schiff (PAS), Toluidin mavisi, Alcian mavisi ve Methyl green pyronin (MGP) boyama yöntemleri uygulandı.

Sindirim kanalının özefagus duvarındaki histolojik katları fütüsde ince olmasına veya görülememesine karşın giderek yeni doğmuşta kalınlaştı ve erişkinde ise belirgin hale geldi. Özefagusta erişkinde epitelin apikal yüzündeki keratin katı fütüsde gözlenememesine karşın, yeni doğmuşta beklenenin tersine daha kalındı.

Bulgularımız literatür verileriyle tartışılıp, saptadığımız yapıların olası işi yorumlanmaya çalışıldı.

GİRİŞ:

Ağızla anüs arasında yer alan sindirim kanalı duvan temelde 3 tunikadan oluşur. Bunlar tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika adventisya'dır. Tunika mukoza ise 4 laminalıdır. Bunlar lamina epitelyalis, lamina propriya, lamina muskularis mukaza ve submukoza'dır (10,12,18,20,22).

Yaklaşık 3-4 haftalık embriyoda gelişmeye başlayan primitif bağırsak kanalının duvarı, vitellus kesesinden boğumlanarak ayrılan endoderm ve dışında mezoderm'den köken alan mezenşimle döşelidir. Fötal dönemde gelişimini sürdüren bu kanalın endoderminden definitif sindirim kanalının örtü ve bezleri; mezenşiminden ise ektoderm köken alır. Giderek primitif bağırsak kanalının kranialindeki baş bağırsak bölümünden özefagus, distalinden mide ile onu takiben

(x) Uzmanlık tezinden alınmıştır.

(xx) Atatürk Ün. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Uzmanı

ince ve kalın bağırsaklar gelişir. Erişkinde izlenen katlar, intra uterin yaşamda henüz belirmemiştir, hatta gelişim neonatal yaşamda da devam eder (1,4,7,16,19,21,25,30,32,33,34). Ayrıca neonatal gelişimini tamamlamış yapıların erişkindeki fonksiyonel yapıları da doğumdan sonra beslenmeyle kazanılır (5,6,10,13,14,15,17). Sindirim kanalının değişik bölgelerinin embriyolojik gelişimi çeşitli araştırmacılar tarafından çeşitli hayvan türlerinde ve insanda incelenmektedir (1,13,14,24,26,33). Doğumdan sonra ise süt emme döneminde veya normal beslenmeyle sindirim işinin görüldüğü çeşitli hücreler değişik hayvan türlerinde yine araştırmalara konu olmaktadır (4,5,6,7,15,16,17).

Bu çalışmada da sindirim kanalının özefagus bölümü fetal dönemdeki prenatal, süt emme döneminde postnatal ve erişkindeki yapıları morfolojik ve histokimyasal yöntemlerle kıyaslı incelenmeye çalışıldı.

MATERYAL VE METOD:

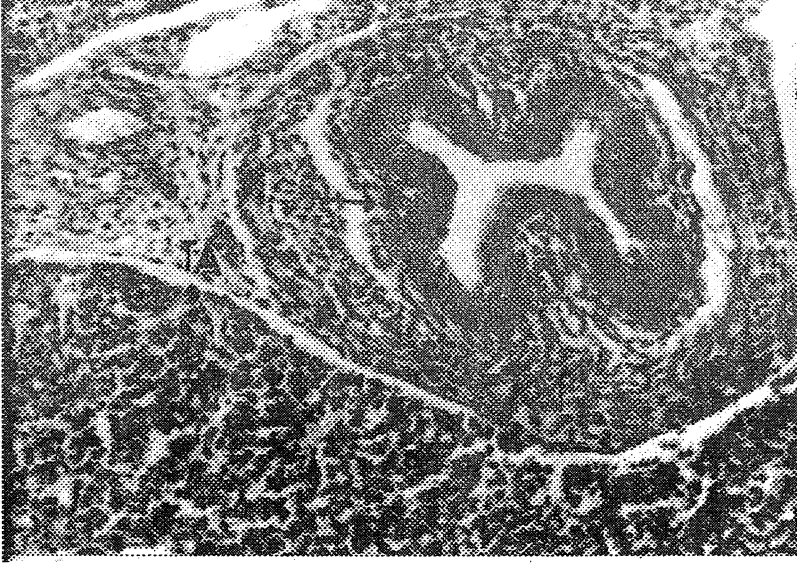
Bu çalışmada cinsiyet ayrımı yapılmadan 15-18 günlük fare fetal materyalleri, 1 haftalık yeni doğmuş fareler ve 6-8 haftalık erişkin fareler olmak üzere 3 grup deney hayvanı kullanıldı. Döllenmeden başlayarak intra uterin dönemi saptayabilmek amacıyla dişi ve erkek fareler önce aynı kafeslerde 21 gün beslendi. Erkek fareler kulakları kesilerek işaretlendi ve fertilizasyon için dişilerle 48 saat aynı kafese alındılar. Daha sonra dişi ve erkekler ayrı kafeslerde beslendiler. 15,18 gün sonra dişilerin bir kısmı açılarak fetalüsler ve annenin sindirim kanalı alındı. Diğer hamile farelerin doğumu izlendi. Doğumdan sonra 1 haftalık yeni doğmuş yavrulardan parçalar alındı. Her grup ortalama 6-8 hayvandan oluşuyordu. Alınan örnekler Carnoy, Bouin, % 10'luk formalin ve Nötral formalin fiksasyonlarıyla 24-48 saat tespit edildi (2,8,23,29).

Parafin bloklardan elde edilen 4-5 mikron'luk ince kesitlere; genel histolojik yapıyı gözleyebilmek amacıyla Hematoksilin-Eosin (Hem-co), karbonhidrat içeriğini saptayabilmek amacıyla Peryodik Asit Schiff (PAS), asit mukopolisakaritleri saptayabilmek amacıyla bazik-metakromatik boya toluidin mavisi, farklı münitleri saptayabilmek amacıyla alcian mavisi, sitoplazmik Ribonükleik asitleri (RNA) saptayabilmek amacıyla Methyl green pyronin (MGP) histokimyasal boyama yöntemleri uygulandı. Preparasyonların Olympus Vanox PM-10-A fotomikroskopuyla mikrofotografları çekildi.

BULGULAR :

Fetalüsde özefagus lümenini bazalde bir sıra prizmatik ve apikale doğru önce poligonal, sonra giderek yassılaşılan 3-5 sıra hücreden oluşan yassı epitel döşüyordu. Epitel altındaki doku çoğu mekik biçimi, bazen uzantılı hücrelerden oluşuyordu. Bu mezenşim veya mezenşimden farklılanan bağ dokusu hücreleri arasında lif içeriği, hücrelerin seyrek olduğu yerlerde çok az oranda izlendi. Ancak lamina propriyanın bağ dokusu içinde sık mitoz figürleri vardı. Bu doku çevresinde sirküler ve longitudinal kas hücre demetlerinden oluşan tunika muskularis katı ayrılabilirdi. Kas telası dışında adventisya tabakası yer yer izlenebili-

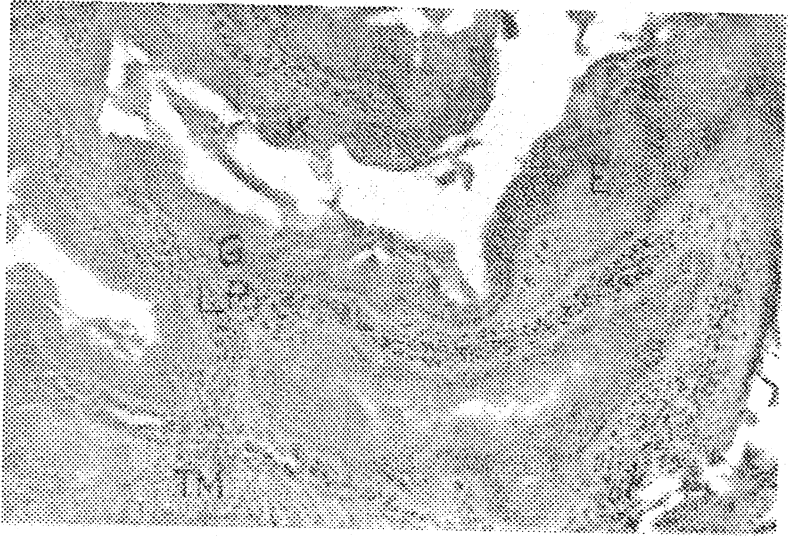
yordu. (Resim 1).



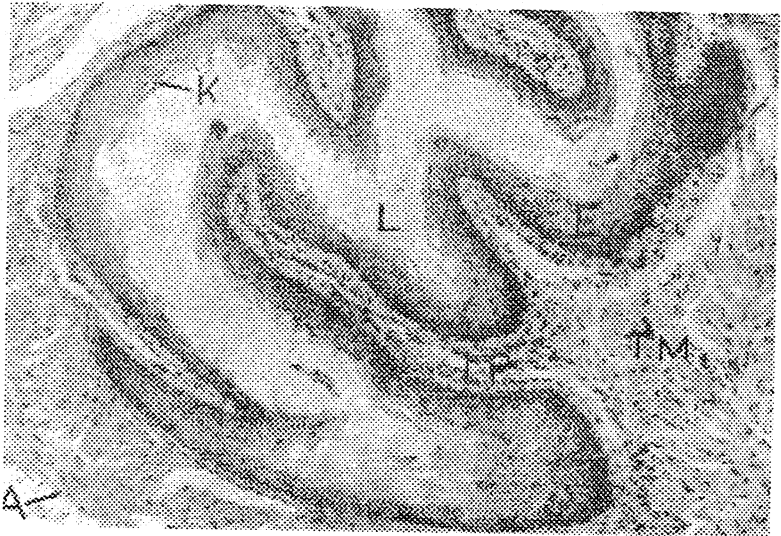
Resim 1: Fötüs özefagusu. E: Epitel, L.P.: Lamina Propriya, T.M.: Tunika muskularis, T.A.: Tunika adventisya ve mitozlar (okla işaretli), Hem. - eo x 250.

Yeni doğmuş farede organın lümeni fötüse oranla daha genişti ve duvarı ileri derecede kıvrımlar oluştırıyordu. Organın lümenini bazalde bir sıra prizmatik ve apikale doğru önce poligonal, sonra giderek yassılaşılan hücrelerden oluşan yassı epitel döşüyordu. Bu epitel, fötüsten farklı olarak apikal yüzünde kalın keratin katı içeriyordu. Epitel altındaki doku bol hücreli olarak izleniyordu. Çoğu mononükleer bu hücreler arasında yer yer çok nükleuslu ve loblu nükleuslu hücrelere de rastlanıyordu. İki tabakalı kas telası dışında adventisya katı yer yer izlenebiliyordu (Resim 2).

Hem-eo. boyama yöntemiyle erişkin fareye ait özefagusun lümeni düzensiz girinti ve çıkıntılarla doluydu. Organın lümeni ve duvar kalınlığı hem yeni doğmuş, hem de fötüse oranla çok daha genişti (Resim 3). Lümeni bazalde 1-2 sıra prizmatik ve apikale doğru 4-5 sıra poligonal ve giderek yassılaşılan birkaç sıra yassı hücireden oluşan çok katlı yassı epitel döşüyordu. Bu epitel fötüs ve yeni doğmuş özefagusundan farklı bir yapıdaydı. Küçük büyültmelerde epitelin apikal yüzündeki keratin katı, yeni doğmuş özefagusuna kıyasla (Resim 2) daha inceydi. Fötüsde ise keratin katına rastlanmıyordu (Resim 1). Epitel altındaki doku gevşek bağ dokusu yapısındaydı. Bu dokunun hücreleri ve nukleusları şekil ve büyüklük yönünden heterojendi. Erişkin özefagusunda da muskularis mukoza ve submukoza katları ayrılmadı. Gevşek bağ dokusu tabakasının altında sirküler, yer yer longitudinal düz kas demetleri vardı. Bu kas kesitlerinin dışında nadiren adventisya tabakasına uyan bağ dokusu hücreleri izlenebildi (Resim 3).



Resim 2: Yeni doğmuş fare özefagusu. E: Yassı epitel K: Kalın keratin tabakası, G: Stratum granulosum katı, L.P.: Lamina Propriya, T.M.: Tunika muskularis (içte sirküler, dışta longitudinal) Hem. -eo. x 250.



Resim 3: Erişkin fare özefagusu. E: Çok katlı keratinli yassı epitel, L: Lümen, K.: Keratin katı, L.P.: Lamina Propriya, T.M.: Tunika muskularis (içte sirküler, dışta longitudinal, yer yer oblik kas telası), T.A.: Tunika adventisya, Hem. -eo. x 125.

Karbonhidrat içeriğini belirlemek amacıyla kullanılan Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemiyle f t sde özefagus duvarında belirgin pozitif reaksiyon izlendi (Resim 4). Yeni doğmuşta, f t sde izlenmeyen özefagus epitelindeki keratin katı da PAS pozitif reaksiyon verdi (Resim 5). Erişkinde  zefagus, PAS reaksiyonu yönünden yeni doğmuşa benziyordu.



Resim 4: Fötüs  zefagusu. Bazal membran (tek okla), kas telleri çevresindeki PAS pozitif materyal ( ift okla) iřarelli, PAS reaksiyonu. x 250

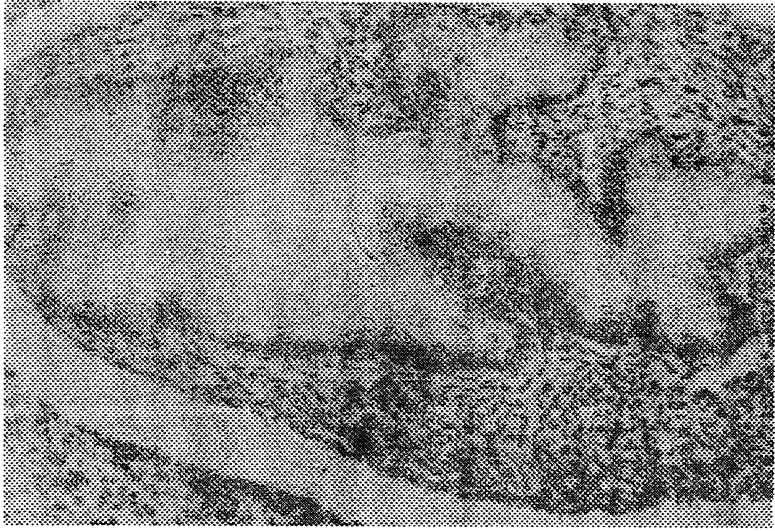


Resim 5: Yeni doğmuş fare özefagusu. PAS pozitif reaksiyon veren keratin katı (oklar) görülüyor. PAS reaksiyonu. x 250

Değişik asit musin türlerini saptamak amacıyla kullanılan Alcian mavisi yöntemiyle boya karışımındaki nötral kırmızı ile nukleuslar pembe, boyamayı amaçladığımız yapılar ise mavi renkte boyanması gerekirdi. Ancak her üç grup hayvanda da özefagusda musin içeriğine bağlı bir yapı saptanamadı.

Asit mukopolisakkaritleri belirlemek amacıyla uygulanan toluidin mavisi yöntemiyle de fötüs, yeni doğmuş ve erişkin özefagusunda metakromatik bir boyanma saptanamadı.

Hücrelerin Ribonükleik asit (RNA) içeriğini belirlemek amacıyla uygulanan Methyl green pyronin (MGP) boyama yöntemiyle boya karışımındaki methyl green ile nukleuslar yeşil, RNA içeriği ise pembe renkte belirdi. Fötüs özefagusunda nukleusların methyl green ile belirgin olarak yeşil boyanmasına karşın, sitoplazmik RNA içeriği açık pembe tonda belirsiz görüldü (Resim 6). Yeni doğmuşta ise sitoplazmik RNA içeriği özefagusda çok katlı yassı örtü epitelinin bazal katındaki hücrelerde belirgin olarak gözlendi (Resim 7). Erişkin özefagusunda ise yeni doğmuşa benzer şekilde hücresel RNA içeriği saptandı.



Resim 6: Fötüs özefagusu. Methyl green pyronin (MGP). x 250



Resim 7: Yeni doğmuş özefagusu. Örtü epitelinin bazal katındaki hücreler kuvvetli pembe görülüyor. MGP. x 250.

TARTIŞMA :

Sindirim kanalının definitif yapılarının köken aldığı primitif bağırsak kanalı, endoderm ve dışında mezenşimle döşeli, membrana bucofaringea ile membrana kloaka arasında uzanan bir borudur. Sindirim kanalının değişik bölümlerindeki örtü ve bez epiteli bu kanalın endoderminden, bağ dokusu ve kasları ise mezenşim'den gelişir. Bütün organların innervasyonunun ise ektoderm'den köken alması doğaldır. Sindirim sisteminin özefagus, mide ve bağırsaklardan oluşan sindirim tüpü, böylece primitif bağırsak kanalının belirlenen yapılarından köken alarak fetal dönemde şekillenir. Doğuma kadar gelişimini definitif şeklini almak ve hacmini artırmakla sürdüren bu yapılarda bu süre içerisinde morfolojik değişimler gözlenir (19,21,25,30,32,34). Nitekim biz de fütüsle yeni doğmuş arasında özefagusda hem hacim ve hem de şekil yönünden belirgin farklar izledik. Böylece özefagusda fütüsde lümenin dar, duvarın daha ince olmasına karşın; yeni doğmuşta organın lümeni daha geniş ve duvarı daha kalındı.

Beklenen bu görünüm dışında fütüsde izlenmeyen epitelin apikal yüzündeki keratin katı yeni doğmuşta görüldü. Kanımızca kemiricilerin özefagusunda gözlenen bu keratin katı (3,27,31) alınan besine bağlı bir görünüm olmalıdır. Erişkinde ise postnatal gelişime bağlı olarak organ hacminde ve duvar kalınlığında artma doğal olarak izlendi. Ancak preparasyonlarımızda örtü epitelinin apikal yüzündeki keratin katı, beklenenin aksine yeni doğmuştakinden daha inceydi. Kanımızca erişkinde bu keratin katının daha ince görülmesi, hacimce artışı sağlamak üzere hücre sayısının artması ve bu arada keratinizasyonun yavaşlama-

sından kaynaklanıyor olabilir.

Işık mikroskopik düzeyde pironinofili gösteren sitoplazmik RNA, ultrastrüktürel düzeydeki sitoplazmanın bağlı ve serbest ribozomlarından kaynaklanır. Sitoplazmanın RNA içeriği ise hücrenin protein sentezi fonksiyonuna bağlı olarak artar (9,11,12,18,20,22,28) İntra uterin yaşamda hücrelerin fonksiyondan çok fonksiyona yönelik yapıları kazanmaları söz konusu olduğuna göre, fonksiyona dayalı RNA içeriğinin henüz belirginleşmemesi beklenir. Biz de preparasyonlarımızda fötüsde gelişmekte olan özefagus hücrelerinde belirgin pironinofili saptayamazken, yeni doğmuş ve erişkinde protein sentezi başlamış hücrelerde pironinofili izledik. Böylece özefagusun çok katlı epitelinde belirgin pironinofili vardı. Bu nedenle yeni doğmuş ve erişkinde özefagus çok katlı yassı epitelinin bazal tabakasındaki mitoz indeksinin fötüse oranla daha fazla olduğu söylenebilir.

SUMMARY:

THE HISTOLOGIC AND HISTOCHEMICAL STRUCTURE OF ESOPHAGUS IN FETUS, NEWBORN AND ADULT MICE WITH COMPARISON

The gastrointestinal tract which is responsible for digestive process may show some changes in relation with dietary customs. In this study, esophageal part of gastrointestinal tract of fetus, newborn and adult was examined with comparison.

Pieces taken from mice were fixed with suitable fixators and sections were dyed with H X E, PAS, Toluidin blue Alcian blue and MGP.

The histologic layers of esophagus in gastrointestinal tract were thin and hardly seen in fetus, but they became thicker in newborn and easily seen in adults. The keratin layer of adult, esophagus in apical surface, was not seen in fetus while it was thicker than expected in newborn.

Our data were compared with literature and comments of duties of these structures were discussed.

KAYNAKLAR :

- 1- Alan, G., Erdoğan, D., Kadioğlu, D.: Mide mukozası ve salgı bezi epitelinin çeşitli gelişim evrelerinde yapısal olarak incelenmesi Gazi Tıp Dergisi. 2: 57-60, 1990.
- 2- Bancroft, J.D., Cook, H.C.: Manual of histological techniques, First edition. Churchill Livingstone, Edinburgh-London-Melbourne and New York, 1984.p. 91-96, pp 109-110, 256-257.

- 3- Bezerra, M.S.F.: Some histochemical aspects of keratinization of oral, esophageal and gastric membrane of the albino rat, *Histochem. Cytochem* 1979. 17/4 (385-394).
- 4- Bjerknes, M., and Cheng, H.: The Stem-cell zone of the small intestinal epithelium, II. Evidence from Paneth cells in the newborn mouse. *The Am. J. of Anat*, 1981. 160: 65-75.
- 5- Cairnie, A.B.: Renewal of goblet and paneth cells in the small intestine. *Cell Tissue Kinet.* 1970. 3: 35-45
- 6- Cheng, H., and Bjerknes, M.: Whole population cell kinetics and postnatal development of the mouse intestinal epithelium. *The Anat Record.* 1985. 211: 420-426.
- 7- Clarke, R.M.: The effects of age on mucosal morphology and epithelial cell production in rat small intestine. *J. Anat.* 1977. 123: 805-811.
- 8- Drury, R.A.B., Wallington, E.A.: *Carleton's histological technique. Fourth edition.* Oxford University Press, New York-Toronto, 1967. p. 212-215, pp. 35-47.
- 9- Erbençi, T.: *Histoloji-1. Birinci baskı. Beta basım yayım dağıtım A.Ş. 1984. İstanbul. s. 12-16.*
- 10- Erbençi, T.: *Histoloji-2 Birinci baskı. Beta basım yayım dağıtım A.Ş. 1985. İstanbul s. 49-120.*
- 11- Erkoçak, A.: *Genel histoloji. 4. baskı Kan dağıtım yayıncılık Ltd. Şti. 1983. İstanbul. s. 52-61.*
- 12- Fawcett, D.W.: Bloom and Fawcett. A. textbook of histology. Eleventh. edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia-London -Toronto-Mexico City-Rio de Janeiro-Sydney-Tokyo-HongKong. 1986. p. 6-7, p.p. 619-641.
- 13- Hayward, A.F.: Changes in fine structure of developing intestinal epithelium associated with pinocytosis. *J. Anat.* 1967. 102: 1 (57-70).
- 14- Helander, H.F.: Ultrastructure and function of gastric parietal cells in the rat during development. *Gastroenterology* 1969. 56: 35-52.
- 15- Helander, H.F.: Ultrastructure and function gastric mucoid and zymogen cells in the rat during development. *Gastroenterology.* 1969. 56: 53-70.
- 16- Herbst, J.J., and Sunshine, P.: Postnatal development of the small intestine of the rat. *pediatr. Res.* 1969. 3: 27-33
- 17- Johnson, L.R.: Functional development of the stomach. *Ann. Rev. Physiol.* 1985. 47: 199-215.

- 18- Junquera, L.C., and Carneiro, J.: Basic histology. Fourth edition. Lange medical publications. 1983. p. 37-38. pp. 319-320.
- 19- Kayalı, H., Şatıroğlu, G., Taşyürekli, M.: İnsan embriyolojisi. 6. Baskı. Evrim basım yayım. İstanbul, 1989. s. 175-195.
- 20- Kelly, D.E., Wood, R.L., Enders, A.C.: Bailey's textbook of microscopic anatomy, Eighteenth edition. Williams and Wilkins, Baltimore-London. 1984. p. 31-41, pp. 506-507.
- 21- Langman, J.: Medical embriyology. Second edition. The Williams and Wilkins Company. Baltimore. 1969. p. 237-289.
- 22- Leeson, T.S., Leeson, C.R., and Paparo, A.A.: Text/Atlas of histology. First edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo. 1988. p. 34-42, pp. 418-420.
- 23- Lillie, R.D.: H.J. Conn's Biological Stains Eighth edition. The Williams and Wilkins Company. Baltimore. 1969.
- 24- Mathan, M., Moxey, P.C., and Trier J.S.: Morphogenesis of fetal rat duodenal villi. Am. J. Anat. 1976. 146: 73-92.
- 25- Moore, K.L.: The developing human. Fourth edition W.B. Saunders Company. Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo. 1988. p. 217-245.
- 26- O' Connor, T.M.: Cell dynamics in the intestine of the mouse from late fetal life to maturity. Am. J. Anat. 1966. 118: 525-536.
- 27- Parakkal, P.F.: An electron Microscopic. Study of esophageal epithelium in the newborn and adult mouse. Am J. Anat. 1967. 121/2 (175-195).
- 28- Paulsen, D.F.: Basic histology. First edition. Prentice-Hall international inc, international edition. 1990. p. 25-27.
- 29- Pearse, A.G.E.: Histochemistry theoretical and applied. Third edition. Vol. 1. Williams and Wilkins Company. Baltimore. 1968. p. 344-349. pp. 70-102.
- 30- Petorak, İ.: Medikal embriyoloji 2. Baskı. Beta basım yayım dağıtım. A.Ş. İstanbul. 1986. s. 194-209.
- 31- Pipan, N.: Electron microscope studies on the keratinized epithelium in the anstestomach of embryonal young adult mice. Z. Zellforsch. 1968. 86/4 (546-558).
- 32- Sadler, T.W.: Langman's medical embriyology. Sixth edition. Williams and Wilkins. Baltimore-Hong Kong-London-Sydney. 1990. p. 237-259.

- 33- Sbarbati, R.: Morphogenesis of the intestinal villi of the mouse embryo: Chance and spatial necessity. J. Anat. 1982. 135: 3 (477-499).
- 34- Şeftalioğlu, A.: Genç insan embriyolojisi. 1. Baskı: Ankara Üniv. Basımevi. Ankara. 1991. s. 99-103