

AKCİĞERDE HİSTOLOJİK VE HİSTOKİMYASAL İNCELEME*

Ergin Açıklan**

Akciğerlerin bilinen yapısına katılan hücrelerin nitelikleri saptanmış olmasına karşın (1,3) bazı araştırmacılar hem solunum yolları, hemde alveol duvarında bazı farklı hücre türleri belirtirler. Birçok araştırmacı tarafından incelenen bu hücreler bazısına göre ganglion hücrelerine benzer (19). Nörosekresyon yaptıklarını ileri sürenlerin (20) yanı sıra, nöroepitelyal (10,11,14) veya endokrin hücreler olabileceklerini savunanlarda vardır (2,8,9,13).

Bu çalışmada solunum yolları ve alveol epiteli arasında yer alan; farklı araştırmacıların farklı yapıda belirledikleri hücreleri saptayabilmek amacıyla, erişkin sıçanda, normal koşullarda akciğer çeşitli yöntemler uygulanarak incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada cinsiyet ayırımı yapılmadan, 12 adet, yaklaşık 250-300 gr. ağırlıklarında, erişkin sıçan kullanıldı. Uygulanan değişik tespit sıvılarından Nötral Formalin ve Bouin sıvıları göğüs kafesi açıldıktan sonra bronkustan enjekte edilerek akciğer normal büyüklüğüne erişinceye kadar şişirildi. Bronkus bağlandıktan sonra bütünüyle alınan akciğer aynı tespit sıvılarının içine kondu. Alışlagelmiş suyunu alma, temizleme ve parlatma işlemlerinden sonra parafinle bloklanan parçalardan alınan 3-5 mikronluk kesitlere değişik histokimyasal yöntemlerden : Periyodik Asit Schiff-PAS (6), doğrudan (6) ve asit hidrolizden sonra Toluidin Mavisi (16), Kurşunlu Hematoksilin (7), arjantafin reaksiyon için Masson-Fontana (7), arjirofil reaksiyon için Singh (15) yöntemleri uygulandı.

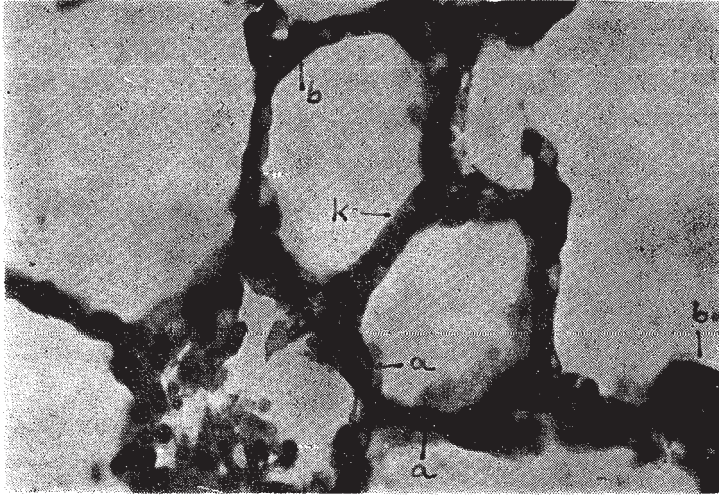
BULGULAR

Polisakkaritlerin gösterilmesinde kullanılan özel yöntem periyodik asit schiff-PAS boyası ile solunum yolları epiteli arasında görülen kalisiform hücrelerin özellikle apikal sitoplazması salgı içeriği nedeniyle koyu pembe-kırmızı renkte boyan-

* Uzmanlık tezinden kısaltılarak alınmıştır.

** Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü Uzman Asistanı.

dı. Solunum yolları duvarında bağ dokusu içinde sık görülen lenfoid hücrelerden aktif makrofajlar ve diğer fagositlerin belirgin olarak boyanmalarına karşın lökositler belirgin olmayan soluk renkte görüldü. Alveollerde ise epitel hücreleri arasında iri ve toparlak hücrelerin sitoplazmaları koyu pembe PAS pozitif olarak boyandı. Bu hücrelerin sitoplazmalarındaki reaksiyon bazı hücrelerde homojen PAS pozitif iken, bazı hücrelerde ince granüler yapıda görüldü. PAS reaksiyonu vermeyen soluk epitel hücreleri arasındaki bu pozitif PAS reaksiyonu veren, iri ve toparlak hücreler tip 11 hücreler olarak tanımlandı. Alveol duvarında genellikle oval, hafif düzensiz uzantılar gösteren hücrelerin sitoplazmalarında da iri, granüler yapıda PAS pozitif reaksiyon görüldü. Bazan lümen içinde bazanda alveol duvarında görülen bu hücrelerden : Makrofojlar olarak belirlenebiliyor (Resim 1).

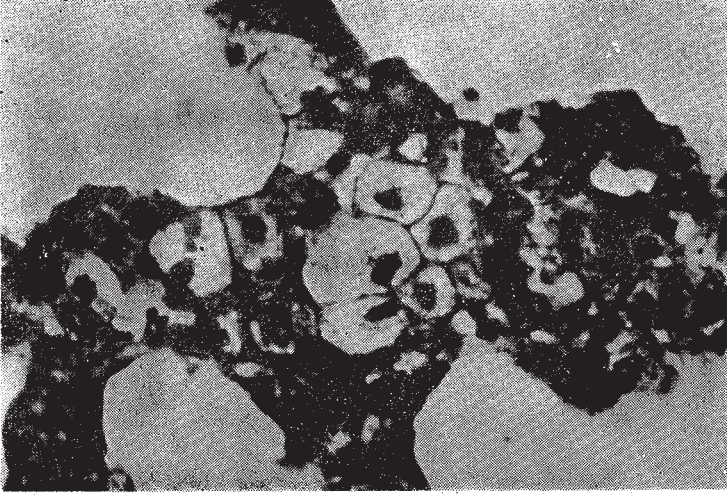


Resim 1 : Alveoller. a-Tek katlı yassı epitel (Tip I), b-İri, toparlak hücreler (Tip II), k-Kan kapillerleri. PAS+Hem. X 500.

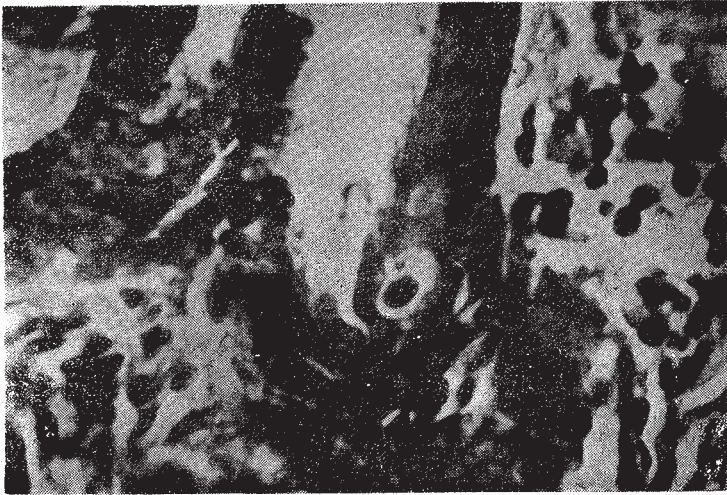
Kurşunlu Hematoksilin yöntemi ile boyanan bazı kesitlerde alveol duvarında seyrek olarak, bazan tek tek, bazanda 3-5 li gruplar halinde lümene doğru sarkan, iri, toparlak hücrelerin sitoplazmalarında bazofil tanecikler veya ağ yapısını andıran bazofil boyanma görüldü. (Resim 2).

Asit hidroliz uygulamasından sonra Toluidin Mavisi ile boyanan preparatlarda tek tek ve seyrek olarak alveol duvarı ve solunum yolları epiteli arasında soluk sitoplazmalı, granülleri metakromatik boyanmış, iri, toparlak hücreler görüldü (Resim 3). Asit hidroliz uygulamadan doğrudan Toluidin Mavisi ile boyanan kesitlerde bu özellikleri taşıyan hücreler saptanamadı.

Hücrelerdeki arjantafin granülleri göstermek için kullandığımız Masson-Fontana yönteminde Safranin bütün nükleusları kırmızı renkte boyarken, sitoplazma-



Resim 2 : Alveol duvarında iri, toparlak hücreler (okla işaretli). Kurşunlu Hem. X 500.

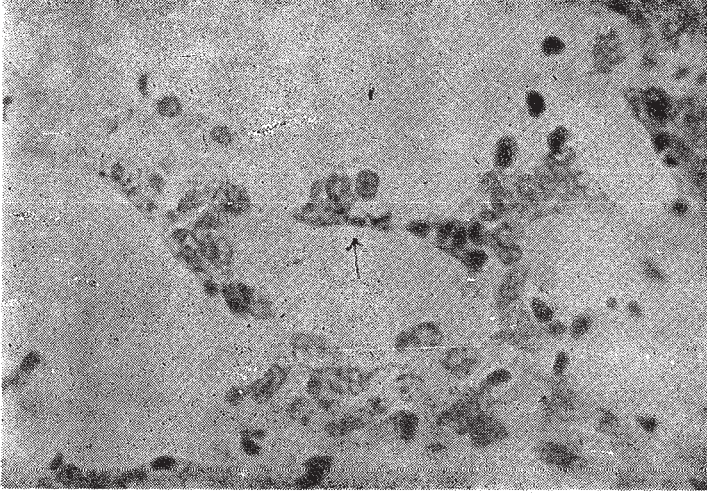


Resim 3 : Solunum yolları duvarında, örtü epiteli içinde, iri, toparlak hücreler (okla işaretli). Asit hidrolizden sonra Toluidin Mavisi. X 500.

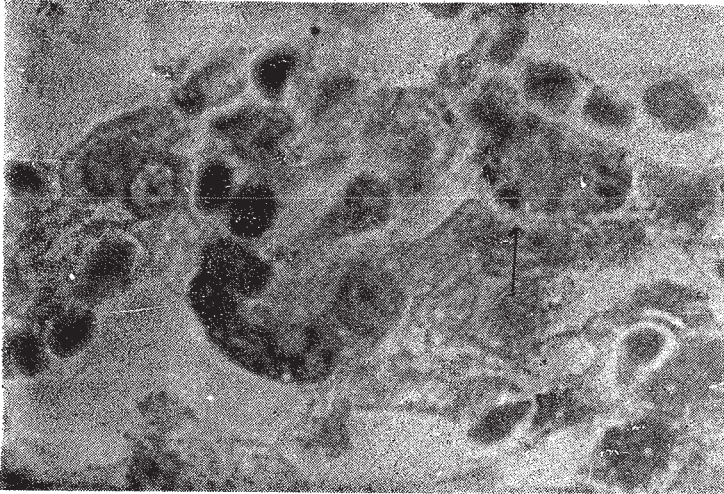
lar çoğu kez boyasız, bazanda spesifik olmayan soluk pembe renkte görüldü. Damar kesitleri içindeki eritrositler açık sarı ile kahverengi arasında değişen tonlarda belirdi. Ancak ne solunum yolları nede alveol epiteli arasında arjantafin granül içeren hücre saptanamadı.

Arjirofil granülleri belirlemek amacıyla uygulanan Singh yöntemi ile nükleuslar gene Safranin ile kırmızı boyandılar. Eritrositler bu yöntemle kahverengi

görüldü. Alveol duvarında kırmızı nükleuslu, iri, toparlak yapıdaki bazı hücrelerin sitoplazmalarında koyu kahverengi, siyah renkte granüller görüldü. Bu hücrelerin arjirofil granülleri genellikle aynı büyüklükte ve yuvarlaktı. Hücrelerde daha çok periferik sitoplazmada, bazan tek tek, bazanda kümeler halinde yığılmışlardı. Aynı yapıdaki arjirofil granüllü hücreler solunum yolları duvarındaki epitel arasında da görüldü. Bu hücreler solunum yolları arasında bazal membrana yakın konumda yerleşmişlerdi. (Resim 4 ve 5).



Resim 4 : Akciğerde alveol duvarında arjirofil granüllü hücre (okla işaretli). Arjirofil Reaksyon. X 500.



Reim 5 : Alveol duvarında arjirofil, arjirofil granüllü hücre (okla işaretli). Arjirofil Reaksiyon. X 1200.

TARTIŞMA

Solunum yollarını döşeyen epitel yerine göre farklı hücreler içerir. Bunlar bilindiği gibi kinosilyalı prizmatik hücreler, aralarında müköz salgı yapan kalisi-form hücreler, bazal hücreler, fırçamsı kenarlı hücrelerdir. Bunlardan ayrı olarak görülen bir hücre türü de üzerlerinde çok çalışan araştırmacının anısına Clara hücreleri olarak isimlendirilen hücrelerdir. Daha çok terminal bronkiol duvarında rastlanan, komşu epitelyal hücrelerden daha uzun boylu, kinosilyasız, apikal yüzleri lümene doğru kabartı yapan, santral nükleuslu ve soluk sitoplazmalı bu hücrelerin gerek ultrasüruktürel düzeydeki sitoplazmik yapıları, gerekse histokimyasal verileri lipid yapıda bir madde sentez edip salgıladıklarını düşündürmektedir. Ancak bu hücrelerin fonksiyonları bugün için kesinlik kazanmış değildir (2,5,12).

Alveol duvarını döşeyen hücrelerden tip 1 hücreler endoteli andıran yassı epitel görünümünde, tip 11 hücreler ise iri, toparlak veya prizmatikçe yakın görünümündedir. Bu hücrelerin salgıladıkları Sürfaktan denen Lechitin di Palmitat yapısındaki bir madde ile alveollerin yüzey gerilimini azalttıkları bilinir (1,3,18).

Bu hücre tiplerinden ayrı olarak birçok araştırmacı gerek alveol duvarında, gerekse solunum yolları epiteli arasında morfolojik histokimyasal ve ultrasüruktürel yönden bazı özel yapılar gösteren hücrelerin varlığını belirlemişlerdir. Bu hücrelerden bazılarının kökeni bazı araştırmacılara göre nöral kristadır (4,13,19).

Tateishi (19) bazı hücreleri morfolojileri yönünden ganglion hücrelerine benzetmekte ve uzantıları olduğunu bildirmektedir. Bazı araştırmacılar ise akciğerde sinir telleri ile ilişkili nöroepitelyal hücreler olduğunu savunur (10,11,14). Diğer bazı araştırmacılar epitel arasında arjirofil ve floresan granül içeren hücrelerin nörosekresyon yaptıklarını ileri sürerler (20). Aynı yapıda, arjirofil ve floresan granül içeren hücreleri diğer bir grup araştırmacı polipeptid yapıda hormon üreten endokrin hücreler olarak nitelendirirler (2,4,8,9,13,17).

Pearse (13) 1969 daki çalışması ile organizmada çeşitli yerlere dağılmış bazı hücreleri gerek salgıladıkları hormonun kimyasal niteliği, gerekse hücrelerin ince yapıları arasındaki bazı ortak özellikler nedeniyle bir grup altında toplamak fikrini savundu ve belirgin ortak özelliklerin baş harflerini bir araya getirerek APUD sistem denilmesini teklif etti. Bu ortak özellikler : Florojenik amin içeriği, Prekürsör amin yakalama, Amino asit dekarboksilasyonu, Yüksek esteraz ve kolins-teaz, Yüksek alfa-gliserol-fosfat ve menadion redüktaz, Maskeli metakromazi, spesifik immüno-floresanstır. Bu çalışmasında araştırmacı akciğerde epitel hücreleri arasındaki hücrelerden salgılanan hormonu Pnöminin olarak isimlendirmişse de bu hormon bu gün için dahi izole edilmiş değildir.

Uyguladığımız gümüşleme yöntemlerinden arjantafin reaksiyonla bu türde bir granül yapısı içeren hücre saptayamadık. Arjirofil granül içeren hücreler ise

hem solunum yolları, hemde alveol epiteli arasında görüldü. Birçok araştırmacı da bu hücrelerin granüllerinin arjantafin olmayıp arjirofil olduklarını bildirirler (2,4, 9).

PAS yöntemi ile kalisiform hücreler pozitif boyandı. Ancak Clara hücreleri de içerikleri nedeniyle PAS pozitif olarak görülebilirler (12). Ayrıca bağ dokusu içindeki hücrelerden makrofajlarda içerdikleri lizozomal granüllerin glikoprotein yapısında olması nedeniyle PAS pozitif reaksiyon verirler. Kesitlerimizde alveol duvarında PAS pozitif boyanan hücrelerden oval, uzantılı ve iri granüllü hücreler makrofajlar olabilir. İri, toparlak şekilli, daha ince PAS pozitif granüller içeren, bazanda yaygın sitoplazma, boyanması şeklinde pozitif PAS reaksiyonu veren hücreler ise tip 11 hücreler olabilir (12). Bu gözlemlere uygun olarak bazı çift bağlı doymamış radikaller içeren lipidlerin; özellikle Linoleik Asit, Fosfolipid, Glikoproteinlerin oksidasyondan sonra Schiff reaktifi ile boyandığı belirtilmiştir (7).

Yapılan histokimyasal çalışmalarda akciğerde epitel arasındaki arjirofil ve floresan granüllü hücrelerin salgılarının genellikle polipeptid yapısında olduğu söylenir (2,4,13,17,22). Bu nedenle uyguladığımız Kurşunlu Hematoksilin yöntemi ile bazı preparatlarımızda seyrek olarak, granüler ve ağ yapısında bazofili gösteren hücreler saptadık. Kanımızca ağ yapısındaki bazofili ergastoplazma nedeniyle olabilir. Granüler bazofili ise bazı araştırmacılarında düşündüğü gibi polipeptid yapıdaki salgı ürününe bağlı olabilir.

Solcia ya göre (16) asit hidrolizden sonra Toluidin Mavisi uygulandığında : RNA, Polisakkaritlere bağlı bazofiliyi ortadan kaldırarak protein yapısını belirler. Bizde preparasyonlarımızda bu yöntemle solunum yolları ve alveol duvarında, epitel hücreleri arasında, çok seyrek olarak, iri, toparlak hücrelerin sitoplazmalarında maskeli metakromaziye rastladık.

Işık mikroskopik düzeydeki histokimyasal yöntemlerle incelemelerimize göre arjirofil, bazofil ve asit hidrolizden sonra metakromatik granüller içeren bu hücreler : Protein yapısında madde sentezleyen, organizmanın diğer kısımlarına da dağılmış, ortak yapılar içeren parakrinik (APUD) sistemin üyeleri olabilirler.

ÖZET

Bu çalışmada sıçan akciğeri daha çok epitel yapıları üzerinde durularak incelendi. Morfofonksiyonel nitelikleri kesin bilinmeyen bazı hücre tiplerini göstermek için özel histolojik ve histokimyasal yöntemler uygulandı. Alveol duvarının çoğunlukta olan yassı epitel hücrelerin (Tip 1) aralarında yer yer, daha çok lümene yakın konumda, iri, olağan histolojik yöntemlerle açık renk sitoplazmalı hücreler (Tip II) ve alveoler fagositler gözlemlendi. PAS yöntemiyle hem makrofajlar, hemde

tip 11 hücrelerin sitoplazmalarında PAS pozitif granüller ortaya çıktı. Solunum yolları ve alveol epiteli içinde özel yöntemlerle (Arjirofil reaksiyon, Asit hidrolizden sonra bazofili, Kurşunlu hematoksin) belirgin granüllü hücreler görüldü. APUD sistemin genel yöntemleriyle ortaya çıkan bu hücrelerin polipeptid yapıda hormon sentezleyen, endokrin olası hücreler olabileceği kanısına varıldı.

SUMMARY

Histological And Histochemical Investigation In Lung

In this study, it has been more examined the epithelial structures of rat's lung. It has been applied the histological and histochemical methods to determine some type of cell, whose morphofunctional qualities are not definitely known. It has been seen that the epithelial cells (Type 1) of alveolar wall, are in majority, between these cells, at the place near to the lumen, the big cells with pale cytoplasm (Type 11) when they are stained with usual histological methods and also the alveolar phagocytes are seen. With the PAS method, it has been appeared PAS positive granules in the cytoplasm of macrophages and also in the cytoplasm of type 11. In the pulmonar airway and the alveolar epithelium are observed the cells had prominent granules with the special methods (Argyrophil reaction, Basophilie after acide hydrolysis, Lead hematoxylin). These cells that are determined with the general methods of APUD system, are thought to be endocrine cells that synthesise with polypeptied structure.

KAYNAKLAR

- 1 - Bloom W, Fawcett D. : Textbook of Histology. Tenth Edition. W B Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, 1975
- 2 - Breeze R. G, Wheldon E B : The Cells of The Pulmonary Airways. Am. Rev. Resp. Dis. 116 : 705. 1977
- 3 - Copenhaver W M, Douglas E K, Richard L W : Bailey's Textbook of Histology. Seventeenth Edition. The Williams Wilkins Comp. Baltimore, 1978.
- 4 - Cutz E ve ark : Ultrastructure and Fluorescence Histochemistry of Endocrine (APUD-Type) Cells in the Tracheal Mucosa of Human and various Animal Species. Cell and Tissue Res. 158 : 425, 1975.
- 5 - Etherton E J, Conning D M, Corrin B : Autoradiographical and Morphological Evidence for Apocrine Secretion of Dipolmitoyl Lechitin in the Terminal Bronchiole of Mouse Lung Am. J. Anat. 138 : 11, 1973.

- 6 - Gabe M : Histological Techniques. Masson Springer Verlag. Paris, Newyork, Barcelone Heidelberg, Berlin, Milan 1976.
- 7 - Ganter P, Jolles G : Histoçhimie Normale et Pathologique. Gauthier Villars. Paris, 1969.
- 8 - Goniakowska L : Endocrine-Like Cells in the Lungs of the Newt. Cell. Tiss. Res. 210 : 521, 1980
- 9 - Hage E, Hage J, Juel G : Endocrine-Like Cells of the Pulmonary Epithelium of the the Human Adult Lung. Cell and Tiss. Res. 178 : 39, 1977
- 10 - Hung K S, Loosli C G : Bronchiolar Neuroepithelial Bodies in the Neonatal Mouse Lung. Am. J. Anat. 140 : 191, 1974.
- 11 - Lauwerynes J M ve ark. : Neuroepithelial Bodies in the Respiratory Mucosa of Various Mammals a Light Optical, Histochemical and Ultrastructural investigation. Cell Tis. Res. 135 : 569, 1972.
- 12 - Pack R J ve ark : The Distribution and Structure of Cells in the Tracheal Epithelium of the Mouse. Cell Tis. Res. 208 : 65, 1980.
- 13 - Pearse A.G.E. : The Cytochemistry and Ultrastructure of Polypeptide Hormone Producing Cells of the APUD Series and the Embriyologic, Physiologic and Pathologic İmplications of the Concept. The of Cytochem and Histochem. 17 : 303, 1969.
- 14 - Rogers D C, Haller C J : The Ultrastructural Characteristics of the Apical Cell in the Neuroepithelial Bodies of the Toad Lung. Cell Tis Res 209 : 485, 1980
- 15 - Singh I : A New Argyrophille Method for the Rapid Staining of Enterochromaffin Cells in Paraffin Sections. Acta Anat. 59 : 290, 1964.
- 16 - Solcia E, Vassalo G, Capella C : Staining of Endocrine Cells by Basic Dyes After Acide Hydrolysis. Stain Tech. 43 : 257, 1968
- 17 - Sonstegard K S, Cutz E, Wong V : Dissociation of Epithelial Cells from Rabbit Trachea and Small Intestine with Demonstration of APUD Endocrine Cells. Am. J. Anat. 147 : 357, 1976.
- 18 - Stratton C J : Multilamellar Bodies Formation in Mammalian Lung. J. Ult Res 52 : 309, 1975.
- 19 - Tateishi R : Distrubution of Argyrophil Cells in Adult Human Lung. J. Pathol. 96 : 198, 1973.
- 20 - Terzakis J A : Neurosecretory Appearing Cells of Human Segmental Bronchl. Lab. Invest. 26 : 127, 1972.
- 21 - Wassono K, Yamamoto T : APUD Type Recepto-Secretory Cells in the Chicken Lung, Cell Tis. Res. 201 : 197, 1979.