

Metabolik Alkalozlu Sıçanlarda Böbrek Kortikal Toplayıcı Kanal İnterkalate Hücrelerdeki Ultrastrüktürel Değişiklikler

İsmail SEÇKİN¹, Gamze TANRIVERDİ¹, Bülent URULUER¹, Emine MAMAL¹, Şule AYLAA¹

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Kortikal toplayıcı kanallar (KTK) asid baz dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Fizyolojik çalışmalar bu toplayıcı kanal (TK) segmentinin, organizmanın asit baz durumuna bağlı olarak, H⁺ ve HCO₃⁻ sekrete ve reabsorbe ettiğini göstermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar da, KTK da esas ve interkalate hücreler olmak üzere iki farklı tip hücre bulunduğunu ve bu zıt transport işleminden, interkalate hücrelerin, A (A ICH) ve B (B ICH) olmak üzere iki subünitinin sorumlu olduğunu göstermiştir. Biz de bu çalışmamızda, böbreğin asit- baz homeostasisinin düzenlenmesinden sorumlu olduğu desteklenen KTK'nın bu farklı tip interkalate hücrelerinin, alkalozla vereceği cevabı ultrastrüktürel olarak değerlendirmeyi amaçladık. Alkaloz grubumuzda KTK hücrelerinin çoğunluğunun B tipi ICH olduğu görüldü. B tipi hücrelerinin bir kısmında, apikal yüzeye çok yakın yerleşimli irili ufaklı veziküller, multivesiküler cisimcikler (MVC) ve artmış mikrovilliler gözlemlendi. A tipi ICH'da, mikrovilli kaybı, sitoplazmada hücrenin orta ve bazal bölümlerinde yoğunlaşmış vezikül artışı ve bazal katlantılarda artış gözlemlendi. Kompense gruplarında normale dönmüş B Tipi hücrelere bol miktarda rastlandı. A tipi hücrelerin ise mikrovilluslarını yeniden kazandıkları ve apikal yüzeylerini genişlettikleri gözlemlendi. Bulgularımız bize, alkalozda kortikal toplayıcı kanallarda, B tipi interkalate hücrelerin HCO₃⁻ salgılayarak, artan idrar pH'ından esas sorumlu hücreler olduğunu düşündürmektedir. A tipi interkalate hücreler ise başlangıçta sadece H⁺ absorpsiyonu yaparak, daha sonra ise plastisite gösterip, B hücrelerine benzer fonksiyonel özellik kazanıp, alkalozun oluşumuna katkı sağladığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Metabolik alkaloz, böbrek tübülleri, Kortikal toplayıcı kanal

Cerrahpaşa Tıp Derg 2006; 37: 49 - 57

The Ultrastructural Changes of The Rat Kidney Cortical Collecting Duct Intercalated Cells Induced Metabolic Alkalosis

Abstract

Cortical collecting duct (CCD) has an important role in the regulation of acid-base balance. Physiological studies have indicated that this CCD is secreting and reabsorbing H⁺ and HCO₃⁻, depending on acid base situation of organism. In recent years, studies have indicated that CCD had two different kinds of cells which are known as principal and intercalated cells ICC and type A (A ICC) and B (B ICC) subunits of this intercalated cells are responsible for this reverse transportation. We aimed to investigate ultrastructurally, the reaction of these different types of intercalated cells on CCD toward alkalosis. In alkalosis group, It has been observed that the most of the CCD cells had been type B ICC. Large and small vesicles which are located near the apical surface, multivesicular body (MVB) and increased microvillus have been seen in some of type B cells. In A type ICC, it has been observed loosed of microvillus, loss increased vesicles in the middle and basement of the cells. There have been many of normal Bcell type ICC. In addition, it has been observed that A type ICC had regained their microvillus and enlarged their apical surface. Our findings have made us think that Type B intercalated cells which are located in the cortical collecting duct were responsible for the increased urine pH by secreting HCO₃⁻. In addition, we think that type A intercalated cells contribute to alkalosis which absorb H⁺ solely in the beginning and then gain similar functional characteristics as B cells by showing plasticity.

Key Words: Metabolic alkalosis, Intercalated cell, Cortical collecting duct

Cerrahpaşa J Med 2006; 37: 49 - 57

Kortikal toplayıcı kanallar (KTK), asid baz dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar [7,14,23]. Fizyolojik çalışmalar bu toplayıcı kanal (TK) segmentinin organizmanın asit-baz durumuna bağlı olarak H⁺ ve HCO₃⁻ sekrete ve reabsorbe ettiğini göstermektedir [8,16,23].

Yakın yıllarda yapılan çalışmalarda; toplayıcı kanallarda

(TK) da esas ve interkalate hücreler olmak üzere iki farklı tip hücre bulunduğunu [4,12,15] ve bu zıt transport işleminden yüksek karbonik anhidraz II aktivitesine sahip interkalate hücrelerin, A (A ICH) ve B (B ICH) olmak üzere iki subünitinin sorumlu olduğunu göstermiştir [6].

Tip A interkalate hücrelerinin, kortikal ve dış medüller TK segmentlerinde bulunduğu, apikal H-ATPaze ve bazolateral Cl / HCO₃ değişimciye sahip olup, H⁺ sekresyonu ve HCO₃⁻ reabsorpsiyonu yaptığı ve geniş yüzeyli apikal hücre membranında mikrovilli, apikal stoplazma içinde de bir çok spesifik tübüloveziküler yapılar ve mitokondri içerdiği bildirilmiştir [11,24,23].

Alındığı Tarih: 30 Mart 2006
Yazışma Adresi (Address): Prof.Dr. İsmail Seçkin
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
34098 Cerrahpaşa - İstanbul
E-posta : isseckin@istanbul.edu.tr

Tip B interkalate hücrelerin (Şekil 2), ise TK'nın sadece kortikal segmentinde bulunup, Cl^- / HCO_3^- değişimci ihtiva eden apikal plazma membranı ve multivesiküler cisimler ile H^+ / ATP aze ihtiva eden bazolateral plazma membranı ve yaygın sitoplazmik veziküller içerdikleri, böylelikle HCO_3^- sekresyonu ve H^+ reabsorpsiyonu yaptığı, genel olarak dar bir apikal yüzeye, kısa, küt, seyrek mikrovilliye ve bazolateral yerleşimli mitokondriumlara sahip oldukları gösterilmiştir [24, 25, 23].

Yakın yıllarda yapılan çalışmalarda asid ve baz yüklenmesine bağlı olarak A ve B tipi ICH'de bir plastisitenin olabileceği yapılan immünohistokimyasal çalışmalarla desteklenmiştir [2]. Biz de bu çalışmamızda, böbreğin asit-baz homeostazisinin düzenlenmesinden sorumlu olduğu, desteklenen KTK'nın bu farklı tip interkalate hücrelerinin alkaloz vereceği cevabı, hücrelerin bazal ve apikal kutuplarının değişimi neticesi farklı strüktürel ve fonksiyonel karakter kazanmaları (plastisite) ile ilgili değişiklikleri ultrastrüktürel olarak değerlendirmeyi amaçladık.

YÖNTEM VE GEREÇLER

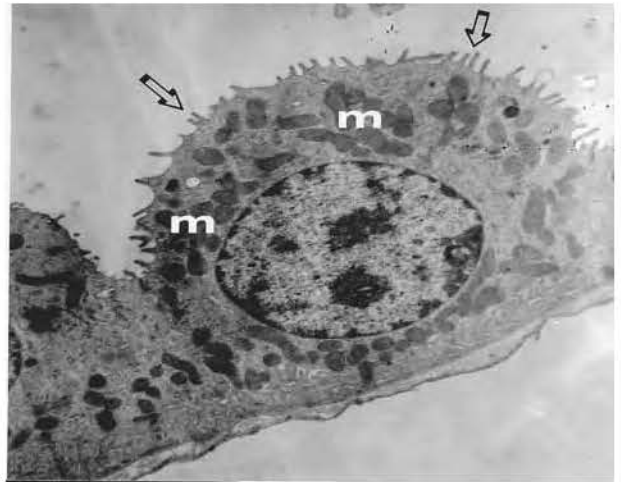
Çalışmamızda 150-180 gr ağırlığındaki erkek Wistar-Albino sıçanlardan altı tanesi bir grup oluşturacak şekilde üç grup oluşturuldu. Grup 1 kontrol grup olarak kullanıldı. Bu hayvanlara 20 gün gavaj ile serum fizyolojik verildi. Grup 2' lere ise 5 mmol / 100 gr $NaHCO_3$ serum fizyolojik içerisinde çözündürülüp gavaj ile verilerek alkaloz grubu oluşturuldu. Kompanse grubunu oluşturan Grup 3 hayvanlara da; alkaloz grubunda olduğu gibi aynı süre ve dozda $NaHCO_3$ verilerek, hayvanlar ilaç verilmeden bir hafta dinlenmeye bırakıldı. Deney süreleri sonunda tüm hayvanlardan pubise bası yapılarak idrar örnekleri alındı. Daha sonra 6.5 mg / kg Na pentobarbital verilerek uyutulan hayvanların sol ventrikülden kan örnekleri alındıktan sonra sol böbrek korteksi 1mm³lük parçalara bölündü. Bu parçalar fosfat tamponu ile hazırlanmış % 4'lük glutaraldehit ve daha sonra aynı tampon ile hazırlanmış % 1'lik OsO_4 ile fikse edilerek dehidratasyonu takiben araldit gömme ortamına alındı. Bu parçalardan Riechert UM2 ve UM3 ile 500° - 700° A'luk kesitler alındı. Bakır gridler üzerine alınan kesitlere uranyl acetate ve kurşun sitrat boyaları ile ikili boyama uygulandı. Bu kesitler Zeiss EM 9 ve EM10 elektron mikroskobu ile incelendi. Alınan idrar örnekleride her hayvan için ayrı ayrı ürün pH'ı saptandı. Kan örneklerinde ise HCO_3^- pH ölçümleri yapıldı.

BULGULAR

Kontrol grubunda, birçok mikrovilli içeren geniş yüzeyli apikal hücre membranına, apikal stoplazma içinde tübüloveziküler yapılar ve mitokondriye sahip hücreler A-ICH (Şekil 1,2), dar yüzeyli apikal hücre membranında kısa, küt, seyrek mikrovilli, bazolateral yerleşimli mitokondri ve tubuloveziküllere sahip hücrelerde B-ICH olarak



Şekil 1. Kontrol grubu kortikal toplayıcı kanalda A ICH (A), B ICH (B) ve Esas Hücreler (E) normal morfolojik özellikleri ile görülmektedir. Ok işareti: mikrovillus (x 1250).



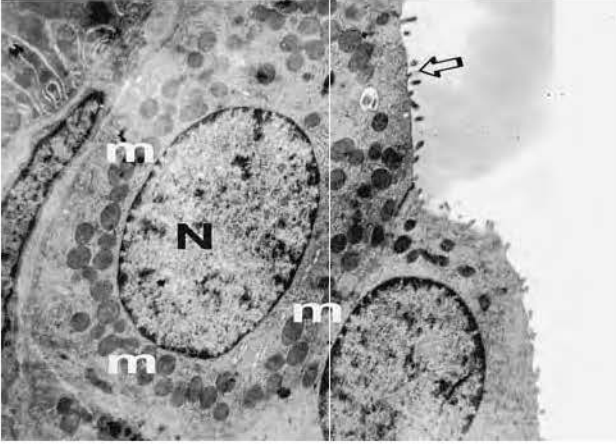
Şekil 2. Kontrol grubu apikal mikrovillileri (ok işaretli) ve apikal stoplazmaları içerisinde yoğunlaşmış mitokondrilere (m) sahip A ICH (x 6300).

değerlendirildi (Şekil 1,3).

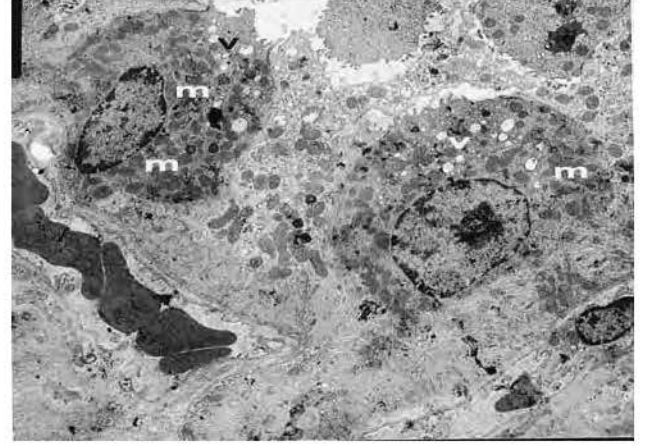
Alkaloz grubumuzda KTK hücrelerinin çoğunluğunun B tipi ICH olduğu görüldü. B tipi hücrelerinin bir kısmında dar bir apikal yüzey ve bu apikal yüzeye yakın mitokondri hiperplazisi ve yoğun yerleşimli irili ufaklı veziküller ve MCV'ler gözlemlendi. Bu hücrelerde fazlaca gelişmiş bazal katlantılar görülmeydi (Şekil 4,5,6).

Bir kısım B ICH'ler de ise hücre apikalinde veziküllerin yoğunluğunda azalma ile apikal membrana bağlanan veziküller ve apikal mikrovilluslarda artış gözlemlendi (Şekil 7,8,9). Yine bu hücrelerde bazolateral hücre membranına bağlanan veziküller ve bazal katlantıların fazlaca artmış olduğu görüntülere rastlandı (Şekil 10).

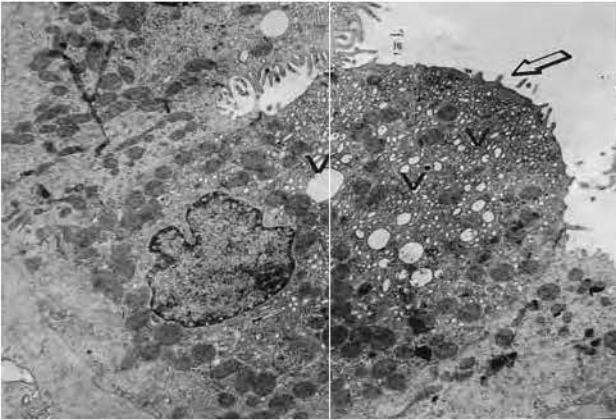
A tipi hücrelerde ise apikal mikrovillusların azaldığı



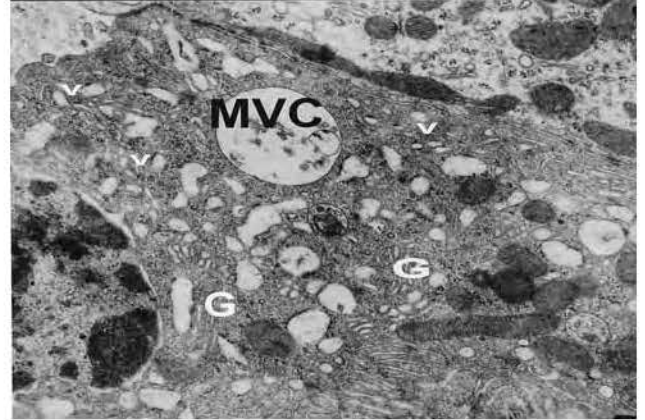
Şekil 3. Kontrol grubu apikal hücre membranında seyrek ve kısa mikrovillileri (ok işaretli) ve bazolateral yerleşimli mitokondrilere (m) sahip B ICH. N:Nüve (x 6300).



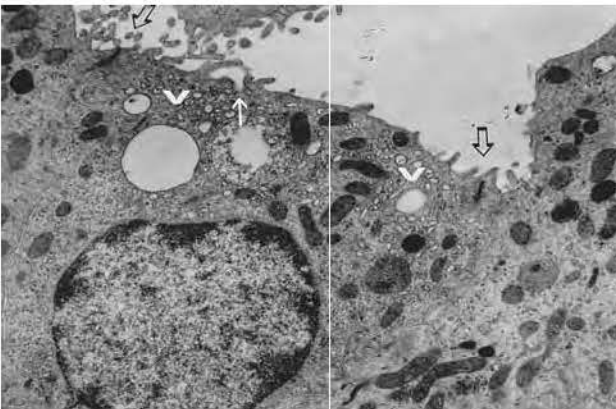
Şekil 4. Alkaloz grubunda mitokondri (m) hiperplazisi ve apikalde yoğun veziküller (v) gösteren B ICH (x 20000).



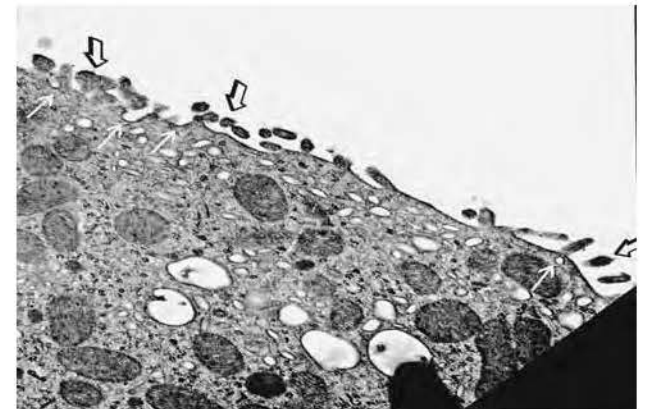
Şekil 5. Alkaloz grubunda apikalde fazla yoğunlukta irili ufaklı veziküller (v) ve apikal mikrovilli (ok işaretli) gösteren B ICH (x 6300).



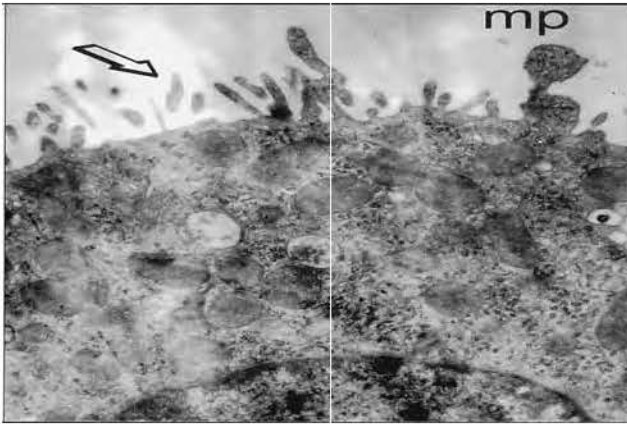
Şekil 6. Alkaloz grubunda B ICH'de gelişmiş Golgi (G) ve veziküller (v) görülmektedir. MVC: Multiveziküler cisimcik (x 16000).



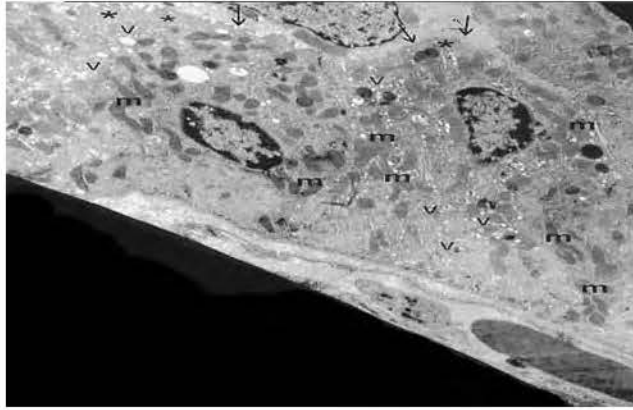
Şekil 7. Alkaloz grubunda B ICH'de apikaldeki veziküllerin apikal hücre membranına bağlanması (ince ok) neticesinde, artan mikrovilli (ok işaretli) ve azalan veziküller (v) dikkat çekmektedir (x 10000).



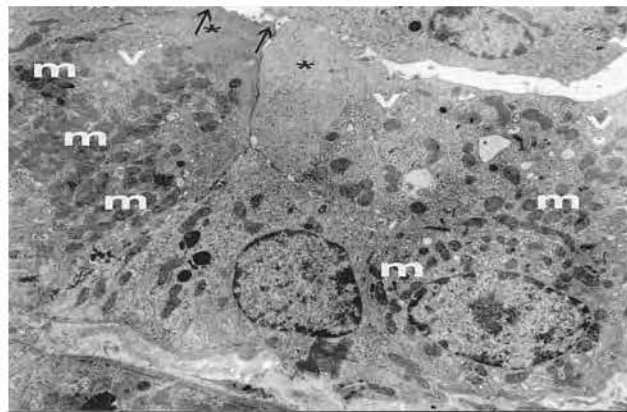
Şekil 8. Alkaloz grubunda B ICH apikalinden bir bölge. Apikal hücre membranına bağlanmış veziküller (ince ok işaretli) ve artmış mikrovilluslar (ok işaretli) (x 16000).



Şekil 9. Alkaloz grubunda apikalde fazlaca azalmış veziküller ve bu azalma ile orantılı şekilde artmış mikrovillus (ok işaretli) ve mikropiklikalar (mp) (x 16000).



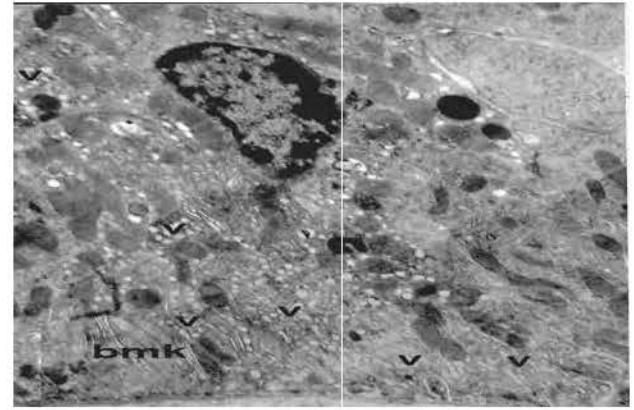
Şekil 11. Alkaloz grubunda 2 AICH görülmektedir. Bu hücrelerde mikrovilluslar fazlaca azalmış olup (ok işaretli), apikalde hemen membranın altında görülen, sütrüktürden fakir bir bölgeden (*) sonra bazale doğru yönelmiş veziküller (v) ve mitokondriler (m) dikkat çekicidir (x 5000).



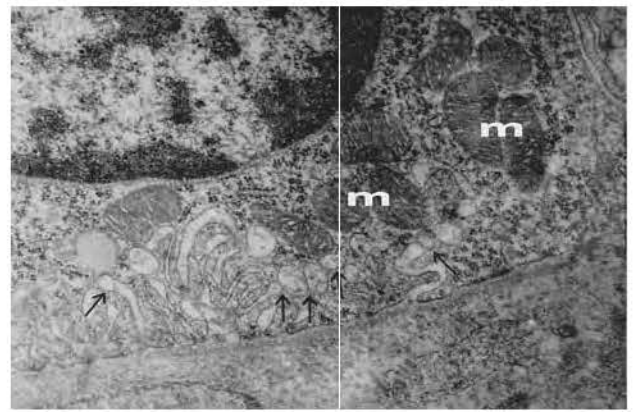
Şekil 13. Alkaloz grubunda apikal stoplazma içinde sütrüktürden fakir bir bölgeden sonra (*) lokal bir sahada toplanmış mitokondri (m) ve veziküllerin (v), apikal hücre membranından az ve çok uzaklaşıp giderek hücrenin orta kısımlarında yoğunlaştığı ve apikal hücre membranının giderek daraldığı (oklar arası) iki A ICH görülmektedir (x 5000).



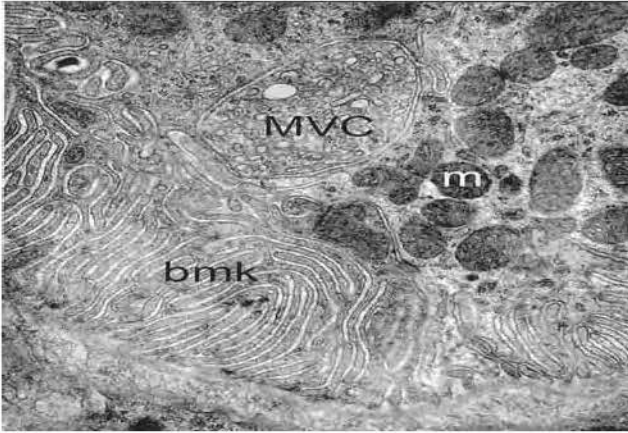
Şekil 10. Alkaloz grubunda B ICH'de artmış bazal membran katlanmaları (bmk) ve bunlarla temasta olan veziküller (ok işaretli) (x 20000).



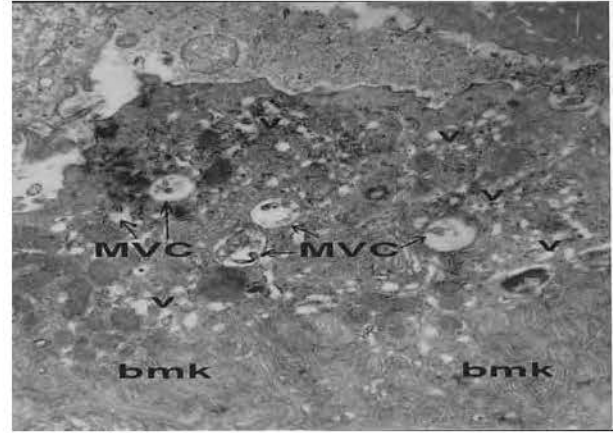
Şekil 12. Alkaloz grubunda A ICH'da bazale yönelmiş vezikül trafiği. Artmış bazal membran katlanmaları (bmk) ile birlikte bunlarla yakın temasta olan veziküller (v) dikkat çekmektedir (x 10000).



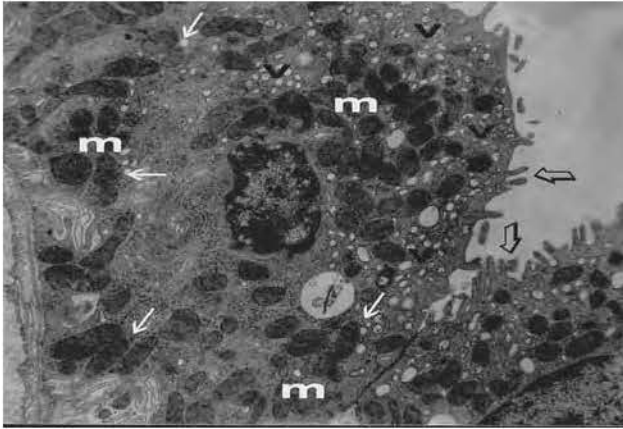
Şekil 14. Alkaloz grubunda A ICH'de bazal bölgeden bir görüntü. Bazal membran katlanmalarından kopup ayrılan veziküller (ince oklar) belirgindir. (m: Mitokondri) (x 20000).



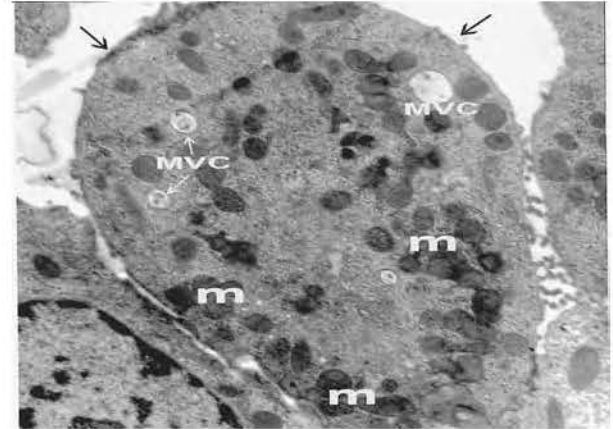
Şekil 15. Alkaloz grubunda A ICH'nin bazal bölgesinden bir görünüm. Artmış bazal membran katlanmalarına (bmk) yakın gelişmiş bir multiveziküler cisimcik (MVC) dikkat çekicidir. m:mitokondri (x 2892).



Şekil 16. Alkaloz grubunda A ICH den bir görünüm. Hücre içerisinde değişik seviyelerde lokalize olmuş multiveziküler cisimcikler (MVC) ve bazaldan apikale yönlendirilmiş veziküller (v) dikkat çekicidir (x 12500).



Şekil 17. Alkalozda artmış mikrovilli gösteren (ok işareti) iki A ICH (I ve II). B u hücrelerde apikalde yoğunlaşma gösteren ve bunların yer yer apikal hücre membranı ile bağlantıları dikkat çekmektedir. Mitokondrilerde (m) yer yer bazolaterale doğru bir yöneliş görülmektedir (x 10000).



Şekil 18. Kompense grubunda B ICH'de, apikalde düzleşmiş hücre membranı (ok işareti) ile bazolateral yerleşimli mitokondri (m) ve bazale doğru yönelmiş multiveziküler cisimcikler (MVC) bulunmaktadır (x 10000).

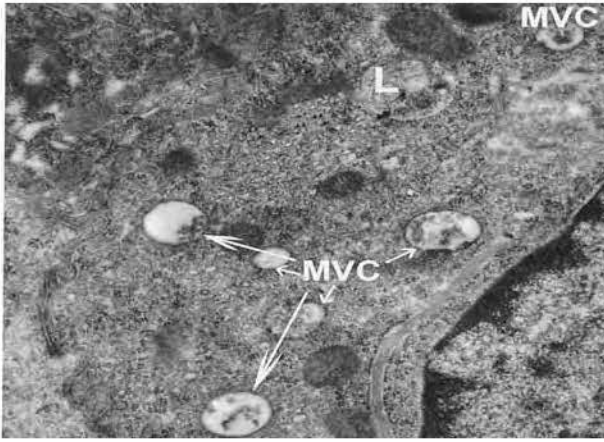
ve çok seyrek basit çıkıntılar şeklinde görüldüğü görüntülere rastlandı. Daralmış bir apikal yüzeye sahip olan bu hücreler boyca da uzamıştı. Bu hücrelerde apikal membran altındaki strüktürden fakir bir bölgeden sonra vezikül ve mitokondrilerin lokal bir sahada yoğunlaştığı ve bu yapıların yer yer bazal katlantılara doğru yönlendiği ve bazal katlantıların arttığı görüntülere rastlandı (Şekil 13). Bir kısım A ICH'lar da ise bazal katlantılardan tomurcuklanan ve kopup ayrılan veziküller sıklıkla gözlemlendi (Şekil 14,15). Yine bu hücrelerde genellikle bazal katlantılara yakın ve yer yer değişik seviyelerde lokalize olmuş MVC'ler dikkat çekiciydi (Şekil 16,17).

Kompense gruplarındaki hücrelerin kontrol gruplarındaki hücreler ile benzerlik gösterdiği saptandı. Bu gruptaki

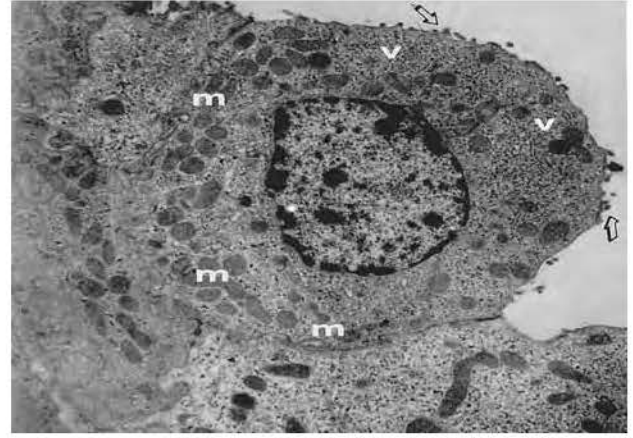
A-ICH'larda apikal bölgede azalmış ve hücre membranı ile yakın temasta olan veziküller ile fazlaca artmış mikrovilluslar ve apikal yüzey genişlemesi dikkat çekiciydi (Şekil 21).

B tipi ICH'larda ise apikalde çok seyrekleşmiş mikrovillusları ve düzleşmiş apikal hücre membranı ile bazolateral yerleşimli mitokondriler, bazale doğru yönelmiş MVC'ler ve onlara yakın irili ufaklı lizozomlar gözlemlendi (Şekil 18,19). Yine bu grupta normal formuna ulaşmış B-ICH'lar da görüldü (Şekil 20).

Alınan idrar örneklerindeki ürin pH'larında her iki grupta da giderek anlamlı bir artış (Tablo 1,2), kan örneklerinde ise HCO₃ ve pH'ta anlamlı artış görüldü (Tablo1,2).



Şekil 19. Kompanse grubunda B ICH'de multiveziküler cisimcikler (MVC) ve onlara yakın irili ufaklı lizozomlar (L) dikkat çekicidir (x 20000).



Şekil 20. Kompanse grubunda Bazolateral yerleşimli mitokondri-leri (m) ve apikalde seyrek yerleşimli, kısa küt mikrovillileri (ok işaretli) ile normal formuna ulaşmış B ICH. (v:vezikül), (x 6600).

Tablo 1. Deneklerimizin deney öncesine ait kan parametreleri.

Deney Öncesi

Gruplar	İdrar pH	Kan pH	Kan H ⁺ CO ₃ ⁻
Grup 1	6.7500±0.4183 p = 1	6.8253±1.1848 p = 0.395	22.8167±1.0342 p = 0.793
Grup 2	6.7500±0.4183 p = 1	7.3292±7.280E-02 p = 0.395	22.6333±1.0875 p = 0.793
Grup 3	6.7500±0.2739 p = 1	7.2842±7.300E-02 p = 0.395	23.0000±0.5586 p = 0.793

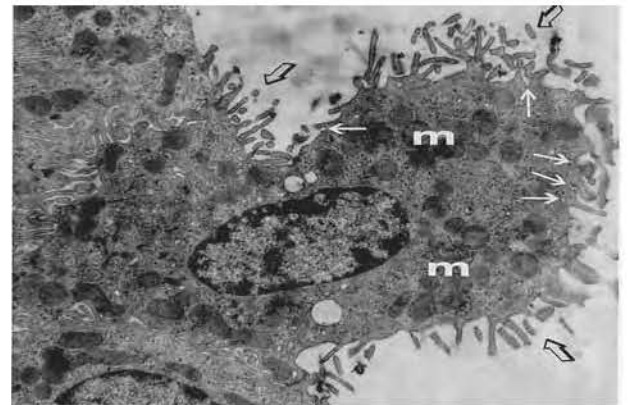
Tablo 2. Deneklerimizin deney sonrasına ait kan parametreleri.

Deney Sonrası

Gruplar	İdrar pH	Kan pH	Kan H ⁺ CO ₃ ⁻
Grup 1	6.7500±0.4183 p < 0.01	7.3220 ± 8.944E-02 p < 0.01	22.2667 ± 5.164E-02 p < 0.01
Grup 2	9.0000±0.3165 p < 0.01	7.4227±6.376E-02 p < 0.01	30.5000±2.2978 p < 0.01
Grup 3	6.6667±0.4082 p < 0.01	7.1750±4.046E-02 p < 0.01	27.6667±2.9669 p < 0.01

TARTIŞMA

Kortikal toplayıcı kanallar H⁺ ve HCO₃⁻ sekresyonu ve reabsorpsiyonu yaparak asid baz dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar [7,14,23]. Yakın yıllarda yapılan ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal çalışmalar bu iş-



Şekil 21. Kompanse grubunda Genişlemiş apikal yüzeyinde fazlaca mikrovilli (ok işaretli) ve apikal stoplazma içerisinde, yer yer apikal hücre membranına bağlanmış veziküller (ince ok işaretli) gösteren A ICH. (m:mitokondri), (x 10000).

lemlerden, bu segmentte yerleşmiş olan interkalate hücrelerinin A ve B tiplerinin sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Yapılan çok yeni çalışmalarda, farklı lokalizasyonlarda çok sayıda mitokondri ve tubuloveziküller içeren, apikal ve bazolateral membran sahalarında birbirine zıt fonksiyona sahip olduğu desteklenen bu hücrelerin, polarite ve plastisite göstermekte olduğu belirtilmiştir [4,7,21,26].

A-ICH'ler, karbonikhidraz II (k5, k11), apikal H⁺-ATPaz [24] ve bazolateral band 3 proteini lokalizasyonu; apikal H⁺ sekresyonunun, bazolateral Cl⁻/HCO₃ değişimcisinin ve diffüz stoplazmik karbonikhidraz aktivitesinin var olduğu bir asit sekresyon modeli ile uyumludur.

B-ICH'leri de yüksek karbonikhidraz II aktivitesine sahiptirler. Bazolateral plazma membranlarında ve hücre içerisindeki stoplazmik vezikülleri içerisinde vakuoler H⁺-ATPaze bulundururlar [10,17,18]. İntraselüler mikroelektrot kullanılarak yapılan çalışmalar ve intraselüler pH ölçümleri

bu hücrelerin apikal Cl^- / HCO_3^- değişimcisi ile bikarbonat transportu yaptıklarını göstermektedir [10,19,22]. Fakat bu değişimcileri A-ICH'lerin aksine band 3 proteinine spesifik antikorlar ile işaretlenemediği ve disülfonik ajanlarla inhibe edilemediği belirtilmiştir [10,19,22]. Bazı araştırmacılar da bu hücrelerin apikal peanot lectin ekspresyonu da gösterdiklerini bildirmişlerdir [21].

Çalışmamızda intragastrik yolla verdiğimiz $NaHCO_3$ 'ün, barsaklardan hızla emilerek kana karıştığı, burada Na ve HCO_3^- 'e metabolize olduğu, açığa çıkan HCO_3^- 'ün, kanda bulunan H ile birleşerek H_2CO_3 'ü oluşturduğu. H_2CO_3 'ün de CO_2 ve H_2O 'ya dönüşmesi ile her iki hücreye CO_2 hızla diffüze olmaya başladığı, bunları takiben hücre içi tampon sistemleri devreye girerek, konsantrasyonu hızla yükselmeye başlayan CO_2 'in, hücre içinde bulunan H_2O ile reaksiyona girerek H_2CO_3 'ü oluşturduğu ve karbonik anhidraz 2 enzimi vasıtası ile de H_2CO_3 ; HCO_3^- ve H^+ ya dissosiyeye olduğu bilinmektedir [9].

Alkalozda B ICH'ların mitokondri hiperplazisi fazlaca gelişmiş golgi kompleksi bazolateral membranlarda artış ve bu sahalara yakın veziküller apikal hücre membranında artmış mikrovilli ve apikal stoplazma içinde yer yer apikal hücre membranı ile temasta olan, yoğun veziküllere sahip çeşitli görüntülerine rastladık. Bulgularımız bir arada değerlendirildiğinde, bu hücrelerin alkalozda başlangıçta mitokondri hiperplazisi ve fazlaca gelişmiş Golgi kompleksi ve veziküller ile fazlaca aktive olduklarını ve yukarıda bahsedilen işlevler sonucu oluşan H^+ 'i transport vezikülleri ile bazolateral membranlara taşıyarak bazal bölgeden atılmasına ve böylelikle bazolateral membranların artmasına neden olduğunu, hücreden atılan her H^+ 'e karşı bir HCO_3^- molekülü apikal bölgeden sekrete edileceği için [4,5,20] HCO_3^- 'ün de transport vezikülleri vasıtasıyla apikal hücre membranına taşınarak sekrete edildiğini ve böylelikle de apikal membrana katılan bu transport veziküllerinin, B ICH'larda mikrovilli artışına neden olduğunu düşündürdü. Alkalozda bu hücreler ile ilgili ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal çalışmalar oldukça azdır. Bu çalışmalarda proton pompalarının (H^+) bazolateral membrana katılımı ile bazolateral membranda ve H^+ -ATPazda artış [24,4] mitokondriyel hiperplazi ile apikal membrana HCO_3^- taşıyıcı vezikül membranının ilave edildiği belirtilmiştir [22,1,19,25].

Alkalozda A tipi hücreler ile ilgili az sayıda ultrastrüktürel çalışmalar, bu hücrelerin apikal plazma membranındaki H^+ -ATPaz içeren proton pompalarının geri çekilerek, apikal stoplazmik veziküllerde biriktiğini ancak bu veziküllerin hücrenin bazolateral membranlarına transfer edilmediğini ve böylelikle yalnızca inaktif formlar oluşturduğunu desteklemektedir [24]. Ancak biz A ICH'lardaki inaktif bu görüntülerin yanında, bu hücrelerde apikal bölgede yerleşmiş yoğun veziküllerin bazolateral membranlara doğru yöneldiği ve onlarla temas kurduğu, yoğun bir vezikül trafiği gözledik. Bu görüntüleri, bu hücrelerde plastisitenin başlangıcı olarak değerlendirdik. Gerçekte yakın yıllarda yapılan çalışmalarda da bizi destekler şekilde IC hücrelerinin plastisite gösterebildikleri belirtilmiştir [2,1]. Ancak

IC hücrelerinin transporterlerinin hücrenin yeniden şekillenmesine ve polaritenin tersine dönüşüne böylece A ICH'ların B ICH'lara veya tam tersinin olmasına katılımları pek açık değildir. Bu konu araştırmaların önemli bir alanıdır. Şayet A ICH'lar bir plastisite göstereceklerse bunun belirgin ara safhalardan geçerek, bir takım subtipler oluşturması muhakkaktır. Biz de bu grupta çok değişik morfolojik özellikler gösteren A ICH'lara rastladık. Bu A ICH'ların bir kısmında yukarıda bahsettiğimiz luminal membrandan oluşan veziküllerin, bazolateral membranlara eklenmesi görüntüleri yanında, Cl^- / HCO_3^- değişimci ihtiva eden [13,27] bazolateral membranlardan tomurcuklanarak kopup ayrılan veziküllerin apikal bölgede yoğunlaştığını ve apikal membrana katıldığını gözledik. Bu hücrelerde artmış mikrovilli, B ICH'lara benzer şekilde bazolateral membranlara yönelmiş mitokondri, fazlaca artmış MVB'ler dikkat çekiciydi. Bu görüntüdeki hücrelerin de plastisitenin son aşamasında olan ve böylelikle polaritesini tersine çevirerek, HCO_3^- sekret eden hücrelere (B ICH'lara) A ICH'lar olduklarını düşündük. Yakın yıllarda A ICH'lar ile yapılan immünohistokimyasal doku kültürü çalışmaları da bizim bu bulgularımızı destekler şekilde, bu hücrelerin bazı ortamlarda band 3 protein (Cl^- / HCO_3^- değişimciyi gösteren) polaritesini tersine döndürerek, bir plastisite gösterdikleri belirtilmiştir [1]. Yine yakın yıllarda ebeveynleri alkali ile beslenmiş yeni doğan sıçanlarda yapılan çalışmalar da, bu hayvanlarda plastisiteyi destekler şekilde B ICH sayısının arttığını, buna karşılık A-ICH sayısının ise azaldığını göstermiştir [22]. Bu AICH'larda gözlediğimiz MVB'lerin yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda band 3 protein ekspresyonu gösterdikleri ve lizozom olmadıklarını destekler şekilde asit fosfataz aktivitesinin negatif olduğu belirtilmiştir [13,27]. Böylelikle bu yapıların ya degradasyon için, içindeki ürünlerini lizozomal sisteme transfer edebileceği ya da plazma membranından türeyen endozomları bünyesine katarak, yeniden plazma membranına ilave edebileceği ihtimalinin gözden uzak tutulmaması gerektiği bildirilmiştir [27]. Böylelikle HCO_3^- içeren endozomlara sahip MVB'lerin, fonksiyonel rollerine ilişkin yapılacak çalışmaların, bu hücrelerin transport aktivitesine daha çok katkıda bulunacağı düşüncesindeyiz. Şayet bu MVC'ler, böyle bir fonksiyona sahiplerse A ICH'larda plastisiteye neden olan polaritenin tersine dönüşümüne fazlaca katkıları olacağı muhakkaktır. Ancak yapılan çok yakın çalışmalarda henüz bu hücrelerin bu tip fonksiyonlarına tam bir destek bulunamamıştır [3].

Kompanse gruplarındaki B ICH'larda azalmış mikrovilli, apikalde artmış MVB'ler ve bunlara yakın artmış lizozom içeren görüntüler ile birlikte bu hücrelerin normale dönmüş görüntülerine bol miktarda rastladık. Bu bulgularımız bize, B ICH'ların kompanse grupta, üriner lümendeki HCO_3^- 'ü endositotik yollar ile alıp, MVC'ler vasıtasıyla erken endozomlara taşıyarak parçalandığını ve bu işlev esnasında da apikal hücre membranından kopup ayrılan bu endositotik veziküller ile giderek mikrovilluslarını kaybederek, dar düzgün yüzeye sahip normal morfolojilerine döndüğünü

düşündürdü.

Kompanse grubundaki A tipi hücrelerde ise fazlaca artmış iri mikrovilluslar ve hücrelerin yeniden artmış geniş yüzeyine rastladık. Bu şekilde metabolik alkaloz oluşumunda B tipine modifiye olmak için gerekli apikal ve bazolateral membran transportunu gerçekleştiren hücrelerin bu transport işlemlerini bu grupta tersine çevirerek normal A ICH görünümü kazandıklarını ve tübül lümenine H⁺ sekrete ederek alkalozun düzelmesine katkıda bulduklarını düşündük. Araştırmacılar da A ICH'ların alkalozda apikal hücre membranlarından oluşan endositotik veziküllerini apikal stoplazma içinde biriktirerek, inaktif form oluşturdıklarını ve alkalozun düzelmesi esnasında da bu veziküllerini apikal hücre membranına katarak katkı sağladıklarını belirtmişlerdir [24].

Yapılacak immünohistokimyasal çalışmaların, bu konuya daha fazlaca açıklık getireceğini düşünmekteyiz.

Bulgularımız, alkalozun B ICH'larda mikrovilli ve bazolateral membran artışına A ICH'larda ise apikal ve bazolateral membran sahalarına yönelen zıt bir vezikül transportu oluşturup polariteyi tersine çevirerek, plastisiteye neden olduğunu, böylelikle her iki tip hücrenin de, HCO₃⁻ sekrete ederek alkaloz oluşumuna katkı sağladığı, alkalozun kompensasyonunda ise bu hücrelerin tekrar normal formlarına dönüşüm gösterdiklerini desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Adelsberg J.V, Edwards J.C., Takito J., Kiss.B., Al-Awqati. An Induced Extracellular Matrix Protein Reverse the Polarity of Band 3 in Intercalated Epithelial Cells. *Cell* 1994;76: 1053-1061.
2. Al-Awqati Q. Plasticity in epithelial polarity of renal intercalated cells: targeting of the H(+)-ATPase and band 3. *Am J Physiol* 1996; 270: 1571-1580.
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the cell*. 4.ed. Garland Science. New-York, 2002.
4. Brown D., Gluck S., Hartwig J. Structure of the novel membrane-coating material in proton secreting epithelial cell an identification as an H-ATPase. *Cell Biol* 1987; 105: 1637-1648.
5. Brown D., Gluck S., Hirsch S., Gluck S. Localization of a proton-pumping ATPase in rat kidney. *J Clin Invest* 1988; 82: 2114-2126.
6. Brown D., Hirsch S. and Gluck S. An H+-ATPase in opposite plasma membrane domains in kidney epithelial cell subpopulations. *Nature* 1998; 331: 622-624.
7. Fejes-Toth G, and Fejes-Toth A. Effect of acid/ base balance on H-ATPase 31 kD subunit mRNA levels in collecting duct cells. *Kidney Int* 1995; 48 :1420-1426.
8. Gifford JD, Rome L and Galla JH. H-K-ATPase activity in rat collecting duct segments. *Am J Physiol* 263 1993: 435-440.
9. Guyton A.C.,Hall J.E.Tıbbi Fizyoloji. Dokuzuncu baskı.Yüce Yayım. İstanbul,1992.
10. Jin C.K.,Tisher C., Madsen K. Differentiation of intercalated cells in developing rat kidney: an immunohistochemical study. *Am J Physiol* 1994; 264: 977-990.
11. Kim J, Tisher CC, Linser PJ, and Madsen KM. Ultrastructural localization of Carbonic anhidraz 2 in subpopulations of intercalated cells of the rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 245-256.
12. Kriz, W., and B. Kaissling.Structural organisation of the mammalian kidney.In: The Kidney: Physiology and pathophysiology (2nd ed.), edited by D. Seldin and G. Giebish. New York: Raven,1992; 707-777.
13. Madsen K.M., Kim J., Tisher C.C. Intracellular band 3 immunostaining in type A intercalated cells of rabbit kidney. *Am J Physiol* 1992; 262: 1015-1022.
14. Madsen KM, Verlender JW, Kim J, and Tisher CC. Morphological adaptation of the collecting duct to acid / base disturbances. *Kidney Int* 1992; 40 (supply): 33-57
15. Madsen, K. M., and C. C. Tisher. Structurel-funcional relationship along the distal nephron. *Am J Physiol* 1986; 250: 1-15.
16. Mc Kinney TD, Burg MB. Bicarbonate absorbtion by rabbit cortical collecting tubules in vitro. *Am J Physiol* 1978; 234:141-145.
17. Narbaitz R., Vandorpe D., Levine D.Z. Differentiation of renal intercalated cells in fetal and postnatal rats. *Anat Embryol* 1991;183:353-361.
18. Neiss W.F. Morphogenesis and histogenesis of the connecting tubule in rat kidney. *Anat Embryol* 1982;165: 81-95.
19. Raymond J.R., Kim J., Beach R.E., Tisher C.C. Morphogenesis and histogenesis of the connecting tubule in the rat kidney. *Anat Embryol* 1982;165: 81-95.
20. Schuster V.L., Bonsib S.M., Jennings.,M.L. Two types of collecting duct mitochondria rich (intercalated) cells: Lectin and band 3 cytochemistry. *Am J Physiol* 1986; 251: 347-355.
21. Schuster V.L., Fejes-toths G., Fejes-toths N., Gluck S. Colocalization of H(+)-ATPase and band 3 anion exchanger in rabbit collecting duct intercalated cells. *Am. J. Physiol* 1991; 260: 506-517.
22. Schwartz G.J. Acid-base homeostasis. In: *Pediatric Kidney Disease* (2 nd.), edited by C M. Edelman. Boston: Little Brown 1992; 201-230.
23. Seçkin İ., Uruluer B., Uzunalan M., Köktürk S., Kuruş M., Şatroğlu G. Solunumsal Asidozlu Siçanlarda Böbrek Kortikal Toplayıcı Kanal İnterkalate Hücrelerdeki Ultrastüktürel Değişiklikler. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 2002; 33: 110 -117.
24. Verlender JW., Madsen KM., Tisher CC. Effect of acut

- respiratory acidosis on two populations of intercalated cells in rat cortical collecting duct. *Am J Physiol* 1987; 253: 1142-1156.
25. Verlander JW, Madsen KM, Tisher CC. Two populations of intercalated cells exist in the cortical collecting duct of the rat. *Clin Res* 1995;33:501A.
26. Verlander JW, Madsen KM, Galla JH, Luke RG and Tisher CC. Response of intercalated cells to chloride depletion metabolic alkalosis. *Am J Physiol* 1992; 262: 309-319.
27. Verlander, J.W., Madsen K.M., Canon J.K., Tisher C.C. Activation of acid-secreting intercalated cells in rabbit collecting duct with ammonium chloride loading. *Am J Physiol* 1994; 264:6127.