

İNSAN MİDE MUKOZASININ ERKEN VE GEÇ FETAL GELİŞİM SÜRECİNDEKİ HİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

Dr. Süreyya CEYLAN¹, Dr. G YEGİNOĞLU², Dr. Melda YARDIMOĞLU¹, Dr. S KÖKTÜRK¹,
KOÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji¹ ve KTÜ tıp Fak. Anatomi ABD² Kocaeli

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Araştırma Fonunca Desteklenmiştir. (Kod No: 89-114.0002.2)

ÖZET

Bu çalışmada 7 fetal mide antrum biyopsi örneklerinde mide mukoza bezlerinin histoşimik özellikleri araştırıldı. PAS (Periyodik Asid Schiff), AB (Alcian Blue) pH 2.5 ve HID (Yükseltgenmiş Demir Diamin Aktivitesi) histokimyasal reaksiyonları ile mide mukoza bezlerinde mukosubstansların gelişim sürecindeki diferansiyasyon ve matürasyon ile ilişkisi araştırıldı. PAS (pH 7) nötr mukopolisakkaritlerin, HID ve AB (pH 2.5) asit mukopolisakkaritlerin bez epitel hücrelerinde ışık mikroskopunda gösterilebilmesi için kullanıldı. CEA (Carcinoembryonic Antigen) proliferasyon bildiren bir antigen olduğu ve bunun fetal gelişimdeki araştırma tekniği olarak değeri tartışıldı. Embryonal proliferasyonun bir kriteri olması nedeniyle CEA fetal matürasyon sürecinde azalmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fetal Mide Antrumu, Karsinoembryonik Antijen, Periyodik Asid Schiff, Alcian Blue, Yükseltgenmiş Demir Diamin Aktivitesi

HİSTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF EARLY AND LATE FETAL PERIOD OF HUMAN STOMACH MUCOSA

SUMMARY

In this study, histochemical characteristics of mucous glands of the seven fetal gastric antrum are investigated. The relation between the presence of gastric acid mucosubstances by PAS, AB (pH 2.5), HID staining techniques and differentiation and maturation is searched. PAS, HID and AB (pH 2.5) staining techniques as indicator on the neutral and acid mucopolysaccharides demonstration of gland epithelial are used. CEA is known as proliferation antigen and value of CEA as a research techniques is discussed in the fetal maturation. CEA as criterion of embryonic proliferation decreases on the fetal maturation.

Key Words: AB (pH 2.5), CEA, HID, PAS, Fetal Stomach

Mide, salgılama niteliğine göre, bezleri açısından birbirinden farklı üç ayrı (kardia, fundus, antrum) kısma ayrılarak incelenir (1, 2). Bu bölgelerden kardiya ve pilorda ortak yapısal nitelikler (saf müköz salgı) buna karşın korpusda ayrıca ek olarak mideye özgü salgı bezleri yer alır (1, 2).

İntrauterin gelişim sürecinde bezlerin yapısal gelişimlerinin yanısıra histokimyasal niteliklerinde de belirgin farklar görülür. Mide mukozası bez epitel hücrelerinin salgılarındaki mukosubstansların gelişim sürecindeki farklılıkları boyama teknikleriyle tesbit edilmeye çalışılmıştır. Embryonik ve fetal dokularda CEA'nın immunohistokimyasal lokalizasyonu ile ilgili çalışmalar literatürde sınırlıdır (3, 4). Yapılan çalışmalarda embriyonik ve erken fetal devredeki karsinoembriyogenik antijen (CEA) dağılımını kapsamaktadır (4, 5). Bundan dolayı bu çalışmamızda erken ve geç fetal dönemde mide mukozasında CEA dağılımı gösterilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Trabzon Doğumevi Hastanesi ve K T Ü Tıp Fakültesi Kadın-Doğum servisinde Patoloji ABD'na gönderilen 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9 aylık 7 adet fötüs midelerinde yapılmıştır. Alınan biyopsi örnekleri parafin tekniğine göre Işık Mikroskobu düzeyinde incelenmek üzere hazırlandı. Histokimyasal ve yapısal olarak değerlendirildi. Biyopsi örnekleri yapısal olarak H.E (Hematoksilen-Eozin), histokimyasal olarak; PAS AB (pH 2.5), HID ve CEA ile de PAP (Peroksidaz-Antiperoksidaz) yöntemi ile tüm reaksiyonlar kıyaslanarak yorumlandı.

PAS ve AB (pH 2.5) reaksiyonunda nötral yapıda olan mukosubstanslar kırmızı renk alırken, asit yapıdakiler mavi renkte boyanma gösterdiler.

HID ve AB (pH 2.5) reaksiyonunda ise asit yapıdaki sialamüsin ve sülfamüsin mukosubstanslarının ayırımı gerçekleştirildi. İlk elde parafin bloklardan hazırlanan kesitler

deparafinize ve dehidrate edilmiştir.Yani 58-80 C arasında en az 2, en çok 16 saat bekletilerek %99,9 ile %95'lik ethanol serilerinden geçirildi.



Resim 1. Üç aylık fetal mide antrumunun yapısal görünümü (H.Ex10)



Resim 2.Üç aylık fetal mide antrumunda PAS pozitifliği gösteren ışık mikroskopundaki görünümü (PASx10)

İmmünperoksidaz yöntemine geçmeden önce bir süre PBS (Fosfat buffer solüsyonu) tampon eriyiğinde tutuldu.İmmünperoksidaz yönteminde kullanılan antiserumlar CRL (Cambridge Research Laboratory) ürünleri olup, PAP tekniğine göre boyama yapılmıştır (6, 7).Daha sonra zıt boyama gerçekleştirilmiş, Hematoksilenle boyanmış, amonyaklı suya batırılmış ve yıkanmıştır.Örnekler nemli olarak jöle ile kapatılmıştır.Olumlu boyama olup olmadığını belirleyebilmek için pozitif kontrol yapılarak tüm boyama aşamaları kontrol olarak alınan kolon kanseri preparatlarına uygulanmıştır (6, 7).

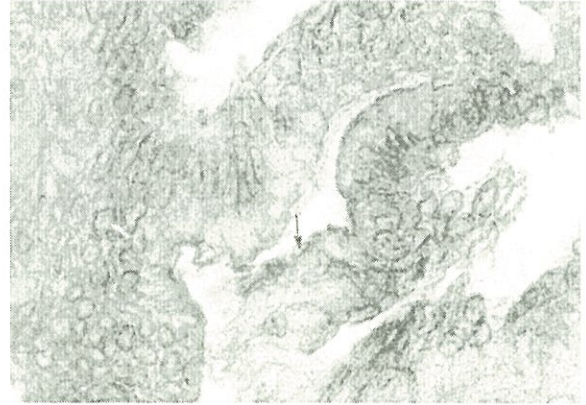
Daha sonraki aşamada histokimyasal reaksiyonlarla PAP reaksiyonu çeşitli işaretleyicilerin varlığı nitelik yönünden değerlendirilmiştir.

BULGULAR

İntrauterin gelişim sürecindeki mide mukoza örneği intrauterin yaşamın 3-9 aylar arasında her ay için birer örnekle izlendi.H.E incelenmesinde 3 aydan 9 aya doğru giderek daha gelişen antrum bez örnekleri görüldü (Resim 1).

Histokimyasal Reaksiyon Bulguları

PAS reaksiyonunda tüm örneklerde bez epitellerinde nötr mukopolisakkaritlerin pozitif boyandığı saptandı (Resim 2).AB (pH 2.5) reaksiyonu asit mukopolisakkarid varlığını göstermek üzere araştırıldığında; intrauterin gelişim sürecinde tesbit edilemediği, HID ve AB (pH 2.5) tekniği ile sülfamisin içeren asit mukosubstanların fetal dönem biyopsi örneklerinde yer almadıkları görüldü.



Resim 3.Üç aylık fetal mide antrumundaki CEA pozitifliğinin ışık mikroskopundaki görünümü (CEA-Hematoksilen x100)

CEA'nın pozitifliği, kolon kanseri preparatlarının pozitif kontrolleri ile değerlendirildi.CEA intrauterin gelişim sürecinde bezlerde matürasyonla ters orantılı olarak 3-9 aylara doğru geçiş sırasında azalmakta ve sonuçta kaybolmaktadır.İntrauterin gelişim sürecinde 3.ayda CEA pozitif bulundu ve 7.aya kadar bu pozitiflik tesbit edilebildi.Daha sonra izlenemedi (Resim 3, 4).

Tablo 1:CEA ve Mukopolisakaridlerin fetal periyod mide mukozasındaki lokalizasyonu

Periyod	n	PAS	AB (pH2.5)	HID	CEA
3 Aylık	1	+	-	-	+
4 Aylık	1	+	-	-	+
5 Aylık	1	+	-	-	(+)
6 Aylık	1	+	-	-	(+)
7 Aylık	1	+	-	-	(+)
8 Aylık	1	+	-	-	-
9 Aylık	1	+	-	-	-

-=Boyanmamış, (+)=Hafif Boyanmış +=İyi Boyanmış

7 aylık fütusta özefagusda CEA pozitif bulunmuştur.Proliferasyon gösteren dokularda CEA pozitifliğini bildirir örnek olarak alındı (Resim 5).



Resim 4.Yedi aylık fetal mide antrumundaki CEA pozitifliğinin ışık mikroskopundaki görünümü (CEA-Hematoksilen x100)

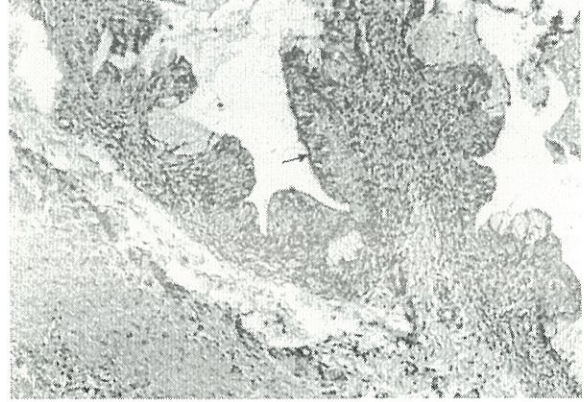
TARTIŞMA

Mide mukozası birbirlerinin bez yapısı niteliklerine göre 3 ayrı bölüme ayrılırlar (Kardiya, fundus, antrum).Bunlardan antrum en fazla patolojik değişikliğin görüldüğü kısımdır.Antrumun yapısal ve histoşimik özellikleri intrauterin yaşamdan başlayarak yaşlanma sürecinin ileri evrelerine doğru sürekli değişim gösterir.Çalışmalarımızda asit mukosubstansların erken ve geç fetal dönemde içermek üzere yaşam boyu antrumda yer almadığı ancak tek tek bazı hücrelerde hafif şiddetde görülebildiği saptandı.

Mide antrumundaki bezlerin fetal dönemde klasik bilgiler ve literatür verileriyle

uyumlu bir gelişim süreci gösterdiği gözlemlendi (4).Bezlerin gelişimi yanısıra bez epitellerinde de histokimyasal düzeyde 3-7 ay arasında konu ile ilgili yayınlarla uyumlu olmak üzere yetişkin niteliği kazandığı görüldü (4).

Bu amaçla PAS ve AB (pH 2.5) ve HID ve AB (pH 2.5) histokimyasal ve CEA ile de immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirmeler yapıldı.



Resim 5. Yedi aylık fetal özofagusundaki CEA pozitifliğinin ışık mikroskopundaki görünümü (CEA-Hematoksilen x20)

Fetal gelişimde PAS + lik her dönemde olmasına karşın HID ve AB (pH 2.5) (+) her dönemde tesbit edilemedi.Fetal gelişimde CEA'nın başlangıçta yoğun olup giderek azalması ve daha sonra tespit edilememesi matürasyona bağlı olarak ve buna koşut olmak üzere fetal gelişim sürecinde, proliferasyonda giderek azalmakta ve literatürlerde de belirtildiği gibi CEA azlığı ile birlikte gitmektedir.Buna göre CEA bir onkofetal antijen değil, proliferasyon gösteren bir antijendir (5).Bu nitelikleriyle CEA embriyolojide hücre, proliferasyon ve matürasyon araştırmalarında büyük önem taşımaktadır.

Çalışma sonucunda fetal gelişim sürecinde mide antrum bezlerinin gelişimini örnekleme yapılan 3-9 aylar arasında giderek yetişkindeki niteliğini kazandığı, proliferasyon bulgularının 7. aya kadar erken fetagenez düzeyinde durduğu ve ancak belirli düzeyde, yetişkinlerde de görülen şekilde yaşam boyu sürdürmeye başladığı saptanmıştır.Asit