

Tavşan Trakea ve Akciğerlerindeki Nöroendokrin Hücreler

Dr. Feral Öztürk¹, Dr. Ali Otlu¹

Bu araştırmada tavşan trakea ve akciğerlerindeki nöroendokrin hücreler ışık mikroskopik seviyede incelendi. Çalışmada 20 adet Yeni Zellanda albino cinsi tavşan kullanıldı. Nöroendokrin hücrelerin demonstrasyonu için gümüşleme metodlarından yararlanıldı. Bouin solusyonunda tespit edilen materyaller, Masson- Hamperl arjantaffin metodu, Grimelius gümüş nitrat arjirofil metodu, Churikian ve Schenk arjirofil metodu ve maskeli metakromazi metodu ile boyandı. Masson-Hamperl arjantaffin metodu ile kontrol kesitlerinde (duodenum) endokrin hücreler tespit edilirken, trakea ve akciğer kesitlerinde izlenmediler. Arjirofil metodlar ile trakea, bronş ve büyük bronşiolerde nöroendokrin hücreler kahverengi-siyah granülleri ile tespit edildiler. Nöroendokrin hücrelerin biraraya gelerek oluşturdukları nöroepitelyal cisimcikler (NEB) ise bronş ve büyük bronşiolerde izlendiler. Maskeli metakromazi metodu ile hücreler tespit edilemedi. Arjirofil metodlarla solunum sisteminde izlenen nöroendokrin hücreler bazal membrana oturmuş, prizmatik ya da piramidal şekilli hücreler olarak tespit edildi. Büyük, oval çekirdeklerinin, bazale yakın yerleştiği, sekretuar granüllerin hücrelerin sitoplazmasında dağıldığı gözlemlendi. NEB'leri oluşturan nöroendokrin hücrelerin buldukları havayolu seviyesine uygun olarak piramidal ya da yüksek kübik hücrelerden oluştuğu, lümenal yüzeylerinin çevre epitel hücreleri tarafından kapatıldığı izlendi. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1996;3(2):69-74]

Anahtar Kelimeler: Tavşan, nöroendokrin hücreler, trakea, akciğer, arjirofil

Neuroendocrine cells in the tracheal and intrapulmoner epithelium of adult rabbits

In the present study tracheas and lungs of 20 adult rabbits were investigated by light microscopy. Silver impregnation techniques were used to demonstrate intraepithelial neuroendocrine cells. Tissue sections were fixed in Bouin's solution, embedded in paraffin and stained with argentaffin (Masson-Hamperl argentaffin reaction), argyrophil (Grimelius argyrophil reaction, Churukian & Schenk argyrophil reaction) and masked metachromasia methods. The Masson-Hamperl argentaffin method yielded negative results in sections of trachea and lung, although numerous argentaffin cells were present in control samples of duodenum. In all sections of tracheas and lungs stained by argyrophilic methods, neuroendocrine cells were identified by the presence of black or dark brown cytoplasmic granules among other epithelial cells. Neuroepithelial bodies (NEB) were demonstrated among the bronchial and bronchiolar epithelial cells. None of the samples of trachea contained NEB. Masked metachromasia method yielded negative results in all sections including controls. The shape of argyrophilic cells were usually columnar or pyramidal with the base resting on the basement membrane. Their big nuclei were located basally. The granules were scattered in the cytoplasm. The neuroendocrine cells forming NEBs were pyramidal or high cubic in shape. The luminal surface of the NEB's were covered with the neighbouring epithelial cells. [Journal of Turgut Özal Medical Center 1996;3(2):69-74]

Key Words: Rabbit, neuroendocrine cells, trachea, lung, argyrophil

Nöroendokrin hücreler memeli solunum sisteminde tek tek veya gruplar halinde bulunurlar. Biraraya gelerek oluşturdukları gruplara "neuroepithelial bodies - NEB" (nöroepitelyal cisimcik) adı verilmektedir (1-3).

Bu hücreler ilk kez 1938 yılında Feyrter ve 1949 yılında Froelich tarafından tespit edilmiştir (1). 1965 yılında Bensch ve arkadaşları bu hücrelerin elektron mikroskopik olarak morfolojilerini açıklamışlardır (4). 1969 yılında Pearse (5) tarafından APUD (amine precursor

¹ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından (İÜAF 94/14) desteklenmiştir ve ilk yazarın Histoloji ve Embriyoloji uzmanlık tezinden hazırlanmıştır.

uptake and decarboxilation) sisteme dahil edilen solunum sistemi nöroendokrin hücreleri, günümüzde "diffuse neuroendocrine system - DNES" 'in bir üyesi olarak kabul edilmektedirler (6).

Solunum sistemini döşeyen epitel hücreleri arasında tek tek bulunan nöroendokrin hücreler larinksden alveollere kadar yerleşim gösterirler (7). Çoğunlukla bazal membrana oturmuş, piramidal veya prizmatik şekilli hücrelerdir. Piramidal olanların ince apikal sitoplazmaları lümene ulaşmayabilir (1,2,4). Çekirdekleri oval veya yuvarlak, sıklıkla merkezi yerleşimlidir. Belirgin çekirdekçik içerirler (8). Nöroendokrin hücrelerin morfolojik özellikleri yoğun merkezli veziküller (dense-cored vesicles DCV) adı verilen sitoplazmik salgı granülleridir. Bütün sitoplazmaya dağılmış olabilirler fakat sıklıkla hücrenin bazalinde yoğunlaşmışlardır. Bunlar değişik memelilerde 100-300 nm arasında değişen büyüklüklerde dirler (1). Solunum sistemi nöroendokrin hücrelerinin salgı granüllerini hücrenin bazalinden intersellüler bölgeye ve kana salgılayarak endokrin-parakrin fonksiyon gördükleri görüşü hakimdir (2,9). Bu hücreler çeşitli amin ve peptidler salgılamaktadırlar. Bunlar içinde serotonin, bombesin, (gastrin serbestleştirici peptid), kalsitonin sayılabilir (1,2,8).

Nöroepitelyal cisimcikler (NEB) solunum sistemi epitel hücreleri arasında değişik sayıda nöroendokrin hücrenin bir araya gelmesi ile oluşmuş korpüsküler yapılardır. Sadece intrapulmoner havayollarında ve özellikle bifurkasyon bölgelerinde izlenirler (2,7). Sekretuar granüller içeren prizmatik hücrelerden oluşmuşlardır. Lüminal yüzeyleri çevrelerindeki epitel hücreler tarafından büyük ölçüde kapatılmıştır (3). NEB'lerin duyuşal fonksiyonları olduğu düşünülmektedir. Bu yapılara subepitelyal sinir pleksuslarından serbest sinir uçlarının uzandığı tespit edilmiştir (3,10,11). Yapılan çalışmalar NEB'lerin solunum havasındaki O₂ ve CO₂ konsantrasyonlarına duyarlı intrapulmoner kemoreseptör olarak görev yaptığını göstermektedir. Deneysel hipoksi (O₂ azlığı) ve hiperkapninin (CO₂ fazlalığı) serotonin içeren granüllerin sekresyonunu artırdığı tespit edilmiştir (12-14).

Solunum sisteminde bulunan nöroendokrin hücrelerin insanlarda klinik önemi vardır. Bronşial

karsinoid tümörlerin ve küçük hücreli karsinomanın içerdikleri sekretuar granüller ve salgıladıkları ektojik hormonlar (örn. gastrin serbestleştirici peptid-bombesin) nedeniyle nöroendokrin hücrelerden köken aldıklarına inanılmaktadır (4,15).

Bu çalışmada tavşan trakea ve akciğerlerindeki nöroendokrin hücrelerin farklı tespit ve boya yöntemleri kullanılarak, ışık mikroskopik düzeyde incelenmeleri amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 2-3 aylık 20 adet Yeni Zellanda albino cinsi sağlıklı erkek tavşan materyal olarak kullanıldı. Tavşanlar Ankara Hıfzıssıhha Enstitüsü Serum Üretme Çiftliğinden alındı. Ağırlıkları 2100-2700 gram arasında değişmekteydi. Tavşanlar intraperitoneal thiopental ile öldürüldükten sonra trakea orta kısmından, sağ akciğer hilus ve periferik kısmından, kontrol için duodenum ve pankreasdan doku örnekleri alındı. Alınan örnekler ikiye bölünerek Bouin solusyonu (16) ve %4'lük paraformaldehit (17) solusyonları içinde tespit edildiler. Bouin solusyonu içinde 18 saat (bir gece) 4°C'de tutulan doku örnekleri daha sonra içine lityum karbonat eklenmiş %70'lik alkollerde iki kez 12'şer saat 4°C'de tutuldu (18). Oda ısısında dereceli alkollerden ve ksilolden geçirilen doku örnekleri parafinle bloklandılar. %4'lük paraformaldehit solusyonunda (4g paraformaldehit, 100 ml 0.1M fosfat tamponu içinde çözündürülerek) ise oda ısısında 48 saat tespit edildiler (17). Daha sonra doku örnekleri dereceli alkollerden ve ksilolden geçirilerek parafinle bloklandı.

Parafin blokların herbirinden 6 µm kalınlığında beş seri kesit alındı. İlk kesitlere dokuların histolojik görünümelerini saptayabilmek için Crossmann'ın üçlü boyama metodu uygulandı (19). Bu metodla boyanan kesitler incelendi. Bouin solusyonunda bekletilen doku örneklerinde yeterli tespit izlendi ve bu kesitlere özel boyama metodları uygulandı. %4'lük paraformaldehitte bekletilen doku örneklerinde ise yeterli tespit sağlanamadığı gözlemlendi ve özel boyama metodları uygulanmadı.

Bouin solusyonu ile tespit edilen kesitlere uygulanan özel boya metodları:

- 1) Masson-Hamperl Arjantaffin metodu (16,20).
- 2) Grimelius Arjirofil metodu (16,20).
- 3) Churukian ve Schenk Arjirofil metodu (16).
- 4) Maskeli metakromazi metodu (16,20).

BULGULAR

Trakea ve akciğerlerin genel yapısı Crossmann'ın üçlü boyama tekniği ile boyanmış kesitlerde incelendi ve herhangi bir patolojik görünüme rastlanmadı.

Masson-Hamperl Arjantaffin metodu ile boyanan trakea, bronş, bronşiol ve pankreas kesitlerinde arjantaffin hücelere rastlanmadı. Duodenumda ise lamina epitelyalis içinde bu boya metodu ile siyah granüller içeren hücreler tespit edildi. Piramidal şekilli bu hücrelerde siyah granüllerin geniş olan bazal bölgede daha yoğun olduğu izlendi. Çevredeki diğer hücrelerin boya almadığı ve granül içermediği gözlemlendi.

Grimelius arjirofil metodu ile trakea, bronşlar ve bronşiolde nöroendokrin hücrelerin sekretuar granülleri kahverengi-siyah renklerde belirgin olarak izlendi. İntrapulmoner havayollarında özellikle bronşlarda nöroepitelyal cisimciklere (NEB)'de rastlandı. Terminal bronşiollerden



Resim 1. Trakea kesitinde nöroendokrin hücre (ok).Le: lamina epitelyalis Lp: lamina propria (Bouin solusyonu ile tespit, Grimelius arjirofil metodu, x330).

itibaren ise tek tek bulunan nöroendokrin hücelere ve NEB'lere rastlanmadı.

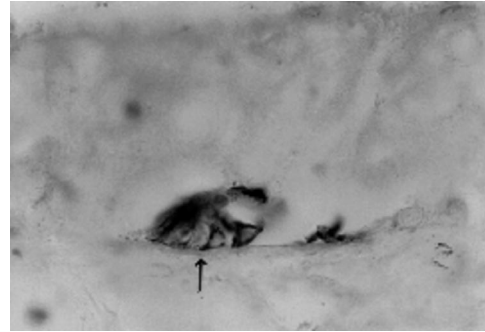
Trakea kesitlerinde nöroendokrin hücreler trakea duvarının ventral ve lateral duvarında uzun piramidal şekilli hücreler olarak gözlemlendi. Uzun oval çekirdekli hücrenin büyük kısmını kaplamıştı.

Bazılarında çekirdek içinde siyaha boyanmış tek bir çekirdekçik izlendi. Hücrelerin uzun ve ince apikal kısımlarının lümenle bağlantısı çoğunlukla görülemedi. Kahverengi-siyah boyanmış olan granüllerin sitoplazma içinde homojen olarak dağıldıkları gözlemlendi, hücre bazalinde yoğunlaştıkları izlenmedi (Resim 1). Trakeada NEB'lere rastlanmadı.

Bronş kesitlerinde Grimelius metodu ile nöroendokrin hücreler piramidal veya prizmatik şekilli bol miktarda granüller içeren hücreler olarak izlendiler. Belirgin olarak bazale yerleşmişlerdi. Hiçbirisinin lümenle ilişkisi tespit edilemedi. Büyük ve oval olan çekirdekleri merkezi konumdaydı. Granüller sitoplazmada homojen olarak dağılmıştı .

Bronş kesitlerinde biraraya gelecek gruplar oluşturmuş olan nöroendokrin hücelere (NEB) sıklıkla rastlandı. Bu gruplar prizmatik veya piramidal hücrelerden meydana gelmişti. Apikal kısımları çevre epitelyal hücreler tarafından kapatılmış ve lümenle olan bağlantıları kesilmiş olarak izlendi. Hücrelerin çekirdekleri yine büyük ve oval, sitoplazmaları ise granüllerle dolu olarak görüldü (Resim 2).

Bronşiol kesitlerinde nöroendokrin hücelere nadiren rastlandı. Tek katlı prizmatik veya yüksek kübik epitel içinde epitel yüksekliği ile uyumlu, lümenle ulaşan hücrelerdi. Oval büyük çekirdekleri merkezi konumdaydı. Çok belirgin olmamakla



Resim 2. Bronş kesitinde NEB (ok) (Bouin solusyonu ile tespit, Grimelius arjirofil metodu, x330).

birlikte granüllerde bazal yoğunlaşma izlendi .

Bronşiol kesitlerinde NEB'lere de rastlandı. Bunlar bazal membrandan lümenle kadar ulaşan prizmatik hücrelerin biraraya gelmesi ile oluşmuşlardı. Bunların granüllerinde bazal yoğunlaşma izlendi.

Duodenum kesitlerinde villus epitelinde ve daha sık olarak barsak bezlerini (Lieberkühn kriptaları) döşeyen epitelde bol miktarda arjirofil hücreye rastlandı. Bunlar prizmatik veya piramidal şekilli hücrelerdi. Büyük çekirdekleri bol miktardaki sitoplazmik granüller nedeniyle apikale veya laterale itilmişti. Kahverengi-siyah granüller belirgin olarak hücrenin bazalinde yoğunlaşmıştı (Resim 3,4).

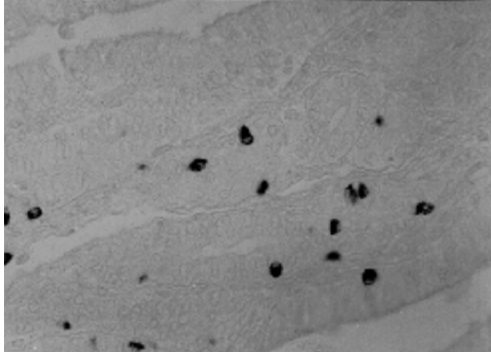
Grimelius metodu uygulanan pankreas kesitlerinde Langerhans adacıklarında daha çok perifere yerleşmiş bazı hücrelerin granüllerinin boyandığı izlendi.

Churukian ve Schenk metodu ile trakea ve akciğerlerde nöroendokrin hücrelerle ilgili gözlemler Grimelius metodu ile uyumlu bulundu.

Maskeli metokromazi metodu ile trakea, akciğer ve pankreas kesitlerinde metakromatik hücreler izlenemedi. Duodenumda ise epitel içinde mor renkte boyanmış hücreler gözlemlendi. Ancak bunlarda granülleri ve hücre detayları seçilemedi. Bu yüzden bu boya ile demonstratif sonuçlar elde edilemediğine karar verildi.

TARTIŞMA

Nöroendokrin hücrelerin ışık mikroskopik olarak izlenmesinde en fazla gümüşleme metodlarından yararlanılmaktadır. Gümüşleme boyası gümüş nitratin hücre komponentleri



Resim 3. Duodenum kesitinde arjirofil boyanmış hücreler (Bouin solusyonu ile tespit, Grimelius arjirofil metodu, x132).

tarafından spontan olarak indirgenmesi (arjantaffin reaksiyon), veya indirgeyici bir ajan varlığında indirgenmesi (arjirofil reaksiyon) esasına dayanmaktadır. Bu indirgeme sonucunda gümüş

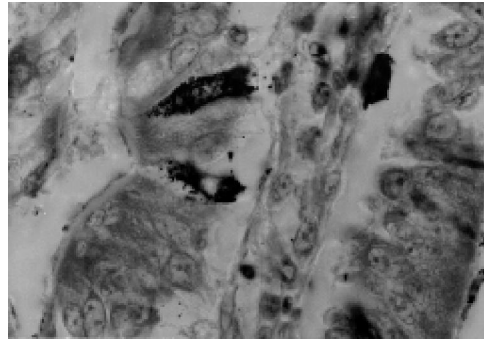
tuzları çözünmeyen metalik gümüş halinde çökerler (16,21). Serotoninin gümüş tuzlarını indirgeme özelliği vardır. Bu yüzden serotonin içeriği fazla olan hücreler arjantaffin reaksiyon verirler. Tavşan ve kaplumbağa akciğerlerinde arjantaffin hücreler tespit edilmiştir. İnsanda ise nöroendokrin hücrelerin tamamen arjirofilik özellik gösterdiği belirlenmiştir (1,3,22).

Solunum sisteminde arjirofilinin başarılı demonstrasyonu tespit maddesine göre değişebilir. Bouin solusyonu ile tavşanlarda (3), koyunlarda (18) ve insanlarda (23) arjirofil hücreler başarılı olarak izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da erişkin tavşanların solunum sisteminde bulunan nöroendokrin hücrelerin tespitinde Bouin solusyonu başarılı sonuç vermiştir.

Grimelius'un arjirofil metodunda hafif asit pH'daki gümüş nitrat solusyonu ve indirgeyici olarak hidrokinnon sülfid karışımı kullanılmakta ve en iyi sonucu parafin kesitlerde vermektedir.

Gastrointestinal sistemdeki endokrin hücreler üzerinde yapılan çalışmalar, bu metodla bu hücrelerdeki granüllerin seçici olarak, çekirdekçik ve kromatinin seçici olmadan boyandığını göstermiştir. Arjirofil metodlarla sıklıkla boyanan sinir lifleri ve bağ dokusu retiküler liflerinin ise boya almadığı tespit edilmiştir (1). Çalışmamızda kullandığımız bu metodla biz de bu bulguları tespit ettik.

Dey ve ark. (24) erişkin tavşan trakealarında yaptıkları çalışmada trakeanın ventral duvarında



Resim 4. Duodenum kesitinde arjirofil boyanmış hücreler (Bouin solusyonu ile tespit, Grimelius arjirofil metodu, x330)

dorsal bölgelere göre nöroendokrin hücrelerin sayıca daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Biz araştırmamızda trakeanın dorsal duvarında nöroendokrin hücre saptayamadık. Bu hücreleri

daha çok ventral ve lateral trakea epitelinde izledik. Yine aynı araştırmacılar tavşan trakealarında nöroepitelyal cisimciklere (NEB) rastlamadıklarını kaydetmişlerdir. Cutz ve ark. (25) insan, koyun, armadillo ve tavşan trakealarında yaptıkları çalışmada NEB tespit edememişlerdir. Biz de çalışmamızda tavşan trakealarında NEB izleyemedik.

Cutz ve ark. (25) trakeada uyguladıkları Masson-Hamperl arjantaffin metodu ile nöroendokrin hücre tespit edemediklerini belirtmişlerdir. Biz de aynı boyama metoduyla trakeada hiç nöroendokrin hücre izleyemezken, kontrol amacıyla aldığımız duodenum kesitlerinde pozitif sonuç aldık (Resim 1).

Tavşanlar ve diğer memelilerde nöroendokrin hücreler solunum sisteminde en sık olarak sekonder ve tersiyer bronşlarda tespit edilmişlerdir (1). Bizim çalışmamızda arjirofil metodlar ile nöroendokrin hücrelere en sık sekonder bronşlarda rastlanmıştır. Ayrıca büyük bronşilerde de izlenmişlerdir. Masson-Hamperl arjantaffin metodu ile trakeada olduğu gibi bronşlarda da nöroendokrin hücre izleyemedik.

Lauweryns ve ark. (3) tavşanların intrapulmoner havayollarında yerleşmiş olan NEB'leri incelemişlerdir. Arjirofilik metodlarla bronş ve bronşioleri döşeyen epitelyal hücrelerin arasında sitoplazmik arjirofilileri nedeniyle kolaylıkla seçilebilen korpüsküler yapılar olarak izlemişlerdir. Neonatal tavşanlarda NEB'leri respiratuar bronşilerde, alveoler kanalda ve hatta alveollerde tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Erişkin tavşanlarda ise bronş ve bronşilerde gözlemişlerdir. Biz de çalışmamızda NEB'leri bronşlarda ve büyük bronşilerde tespit edebildik. Terminal bronşilerde, respiratuar bronşilerde, alveoler kanallarda, keselerde ve alveollerde, tek tek bulunan nöroendokrin hücreler gibi NEB'lere de rastlayamadık.

Lauweryns ve ark. (3) yaptıkları çalışmada Fontana-Masson arjantaffin metodu ile NEB'lerde hafif bir arjantaffin reaksiyon da tespit etmişlerdir. Bu bulgu serotoninin varlığını göstermektedir (1). Yine Lauweryns ve ark. bir başka çalışmada (26) NEB'lerin intrapulmoner havayollarında serotonin üreten hücreler olduklarını ileri sürmüşlerdir. Polak ve ark. (27) erişkin tavşanlarda solunum sistemindeki nöroendokrin hücrelerde serotonin

immün reaksiyonunu (+) bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise erişkin tavşanların solunum sistemlerinin hiçbir seviyesinde arjantaffin reaksiyon gözlenmedi.

Endokrin hücrelerin izlenmesi için önerilmiş bir başka metod da maskeli metakromazidir (16). Bu metod bazik boyaların, polipeptidlerdeki karboksil grupları ile reaksiyona girmesi esasına dayanır. Bu metodda karboksil gruplarının serbestleşmesi ve reaksiyona girebilecek nükleotid fosfat gruplarının uzaklaştırılabilmesi için öncelikle asit hidroliz uygulanmaktadır. Daha sonra kesitler metakromatik bazik boyalarla boyanır (20). Pearse'e göre (5) maskeli metakromazi APUD sistem hücrelerinin bir özelliğidir. Günümüze kadar insan ve diğer memelilerin akciğerlerindeki nöroendokrin hücrelerinde bu özellik araştırılmış, Hage ve Hage tarafından (28) sadece fetal insan akciğerlerinde tespit edilebilmiştir. Biz de çalışmamızda bu metodu uyguladık ancak erişkin tavşanların trakea ve akciğerlerinde metakromatik hücreler tespit edemedik.

KAYNAKLAR

1. Sorokin Sp, Hoyt RF Jr. Neuroepithelial bodies and solitary small-granule cells. In: Massaro D, editor. Lung Biology in Health and Disease. Vol 41, Lung Cell Biology. USA: Marcel Dekker Inc. 1989:191-344.
2. Scheuermann DW. Neuroendocrine cells. In: Crystal RG, West JB editor(s). The Lung. New York : Raven Press Ltd. 1991:289-99.
3. Lauweryns JM, Cokelaere M, Theunynck P. Neuro-epithelial bodies in the respiratory mucoza of varios animals. Z. Zellforsch 1972; 135: 569-92.
4. Bonikos DS, Bensch KG. Endocrine cells of bronchial and bronchiolar epithelium. Am. J. Med. 1977;63:765-71.
5. Pearse AGE. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic, and pathologic implications of the concept. J.Histochem. Cytochem 1969;17:303-13.
6. Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO. Basic Histology; 7th ed. USA:Appleton and Lange. 1992:85.
7. Sorokin SP, Hoyt RF Jr. On the supposed function of neuroepithelial bodies in adult mammalian lungs. NIPS 1990;5:90-5.
8. Scheuermann DW. Morphology and cytochemistry of the endocrine epithelial system in the lung. Int. Rev. Cytol 1987;106:35-88.
9. Adriaensen D, Scheuermann DW. Neuroendocrine cells and nerves of the lung. Anat Rec 1993;236:70-85.

10. Lauweryns JM, Peuskens JC. Neuro-epithelial bodies (neuroreceptor or secretory organs?) in human infant bronchial and bronchiolar epithelium. *Anat Rec* 1972;172:471-82.
11. Hung KS. Innervation of fetal rabbit lungs. *Am J Anat* 1980;159:73-83.
12. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text/Atlas of Histology*; Canada: WB Saunders Co. 1988:531.
13. Lauweryns JM, Cokelaere M, Deleersnyder M, Liebens M. Intrapulmonary neuroepithelial bodies in newborn rabbits. Influence of hypoxia, hyperoxia, hypercapnia, nicotine, reserpine, L-dopa and 5-HTP. *Cell Tiss Res* 1977;182:425-40.
14. Lauweryns JM, Debock V, Guelinckx P, Decramer M. Effects of unilateral hypoxia on neuroepithelial bodies in rabbit lungs. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 1983; 55(6):1665-8.
15. McDowell EM, Sorokin SP, Hoyt RF Jr, Trump BF. An unusual bronchial carcinoid tumor: light and electron microscopy. *Hum Pathol* 1981;12(4):338-47.
16. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. *Theory and Practise of Histological Techniques*; 3rd ed. Great Britain: Churchill Livigstone. 1990;34: 284-6.
17. Sorokin SP, Hoyt RF Jr. PAS-Lead hematoxylin as a stain for small - granule endocrine cell populations in the lungs, other pharyngeal derivatives and the gut. *Anat Rec* 1978; 192(2):245-60.
18. Balaguer L, Romano J. Solitary neuroendocrine cells and neuroepithelial bodies in the lower airways of embryonic, fetal and postnatal sheep. *Anat Rec* 1991;231:333-8.
19. Crossmann GA. A modification of Malloy's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat Rec* 1937;69:33-8.
20. Culling CFA, Allison RT, Barr WT. *Cellular Pathology Technique*. 4th ed. London: Butterworth Co.1985:475-84.
21. Lillie RD. *Histopathologic Technique and Practical Histochemistry*. 3rd ed. USA: McGraw Hill Book Co. 1965:239-42.
22. Tateishi R. Distribution of argyrophil cells in adult human lungs. *Arch Pathol* 1973;96:198-202.
23. Lauweryns JM, Goddeeris P. Neuroepithelial bodies in the human child and adult lung. *Am Rev Respir Dis* 1975;111:469-76.
24. Dey RD, Echt R, Dinerstein RJ. Morphology, histochemistry, and distribution of serotonin containing cells in tracheal epithelium of adult rabbit. *Anat Rec* 1981; 199:23-31.
25. Cutz E, Chan W, Wong V, Conen PE. Ultrastructure and fluorescence histochemistry of endocrine (APUD-type) cells in the tracheal mucosa of human and various animal species. *Cell Tiss Res*. 1975;158:425-37.
26. Lauweryns JM, Cokelaere M, Theunynck P. Serotonin producing neuroepithelial bodies in rabbit respiratory mucosa. *Science* 1973;180:410-3.
27. Polak JM, Becker KL, Cutz E, Gail DB, Goniakowska-Witalinska L, Gosney JR et al. Lung endocrine cell markers, peptides, amines. *Anat Rec* 1993;236:169-71.
28. Hage E, Hage J, Juel G. Endocrine-like cells of the pulmonary epithelium of the human adult lung. *Cell Tiss Res* 1977;178:39-48.

Yazışma Adresi: Uzm.Dr. Feral ÖZTÜRK
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
44100 MALATYA