

## FARKLI TESPİT SIVILARININ SIĞIR, KOYUN VE KEÇİ PARATIROID BEZLERİNİN İNCE YAPISI ÜZERİNE ETKİSİ\*

Mehmet Kanter<sup>1</sup>

### The Effect of Different Fixation Media on the Fine Structure of Parathyroid Glands in Cattle, Sheep and Goat

**Summary:** Tissue samples of parathyroid glands obtained from cattle, sheep and goat were immersed in either 2.5% glutaraldehyde (GA), or in 1% glutaraldehyde and 2 % formaldehyde (FA) followed by immersion in 1% osmium tetroxide (OsO<sub>4</sub>). The effect of different buffers used for aldehydes and osmium tetroxide respectively, were tested in order to determine the optimal conditions for preservation of parathyroid cell morphology. Uniform (the subcellular components of these cells showed no damage due to fixation), light (light cytoplasmic matrix and the subcellular components were damaged to a variable extent due to fixation) and dark (dark cytoplasmic matrix and shrunken cell) cells were found in the parathyroid tissues of all animals. Parathyroid tissue fixed with aldehydes in the presence of Na/K-phosphate, Na-cacodylate or Hepes [4-(2-Hydroxyethyl)-1-Piperazinethan-Sulfonic acid] (with or without Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>), and with osmium tetroxide in Na/K-phosphate or Na-cacodylate contained predominantly uniform, few light and dark cells. However, number of light cells increased in parathyroid tissue fixed with osmium tetroxide in Hepes. In addition to the increased light cells, number of multinuclear cells (the cells contained fragments of the plasma membrane and markedly dilated cisternae of the rough endoplasmic reticulum) also increased in parathyroid tissues of sheep. The structure is better preserved and particularly the membranes are better visible in preparations fixed with a mixture of glutaraldehyde and formaldehyde than in those immersed only in glutaraldehyde. It is concluded that the appearance of four different cell types depended to a great extent on the buffers and / or fixatives used in the experiment. It is also concluded that buffers played more important roles than fixatives in the occurrence of these cell types.

**Key words :** Different fixation media, cattle sheep, goat parathyroid gland.

**Özet :** Bu çalışmada, siğir, koyun ve keçi paratiroid dokuları immersiyon yöntemiyle % 2.5 glutaraldehid (GA) veya % 1 glutaraldehid ve % 2 formaldehid (FA) ve bunu takiben % 1'lik osmik asitte (OsO<sub>4</sub>:Osmium tetroxide) tespit edilerek; bu dokuların ince yapısını en iyi koruyan fiksasyon ve tampon çözeltilerin belirlenmesi amaçlandı. Araştırmada kullanılan bütün hayvan türlerinin paratiroid dokularında üniform (ince yapısı optimal seviyede korunmuş hücre), açık (açık sitoplazmalı ve hücre organelleri fiksasyondan farklı derecede zarar görmüş hücre) ve koyu (koyu sitoplazmalı ve büzüşmüş yapıda olan hücre) hücreler gözlemlendi. Na/K-fosfat, Na-cacodylat veya Hepes [4-(2-Hydroxyethyl)-1-Piperazinethan-Sulfonic acid] varlığında aldehidlerle ve Na/K-fosfat veya Na-cacodylat'ın varlığında osmik asit ile tespit edilen paratiroid dokusu örneklerinde, genellikle üniform ve az sayıda da açık ve koyu hücreler görüldü. Ancak Hepes tampon çözeltisiyle hazırlanan osmik asit fiksasyonunda, bütün preparatlarda açık hücrelerin sayısının arttığı gözlemlendi. Aynı işlem koyunlarda açık hücre sayısına ilave olarak multinükleer hücre (hücre zarının bütünlüğü bozulmuş ve organelleri şiddetli derecede dilate olmuş hücre) sayısında da artışa neden oldu. Glutaraldehid-formaldehid ile tespit edilen dokularda membranların, sadece glutaraldehid ile tespit edilenlere kıyasla daha iyi korunduğu ve membran bütünlüğü ile organellerin ince yapısında önemli kayıpların oluşmadığı gözlemlendi. Bu çalışmada tesbit edilen 4 farklı hücre tipinin (üniform, açık, koyu ve multinükleer) farklı fiksatif ve tampon çözeltilere bağlı olarak oluştuğu sonucuna varıldı. Bu hücre tiplerinin ortaya çıkışında tampon solüsyonlarının, aldehidlerden daha önemli bir rol oynadığı belirlendi.

**Anahtar kelimeler :** Farklı tesbit sıvıları, siğir, koyun, keçi, paratiroid bezi.

### Giriş

Paratiroid bezinde, elektron mikroskobunun uygulamaya girmesinden önce gözlenen düşük yoğunluklu sitoplazmaya sahip hücreler, 50'li yıllara

kadar açık ana hücreler, sitoplazmaları yüksek yoğunluklu olan hücreler ise, aynı dönemde koyu ana hücreler olarak adlandırılmıştır (Roth ve Capen, 1974). Bu tarihten 60'lı yılların ortalarına kadar, açık ana hücreler aktif veya hiperaktif; koyu ana hücreler

Geliş Tarihi : 08.04.1996

\* Bu çalışma, araştırmacının doktora tezinden özetlenmiştir.

1 Y.Y.Ü., Vet. Fak., Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,VAN.

reler ise, inaktif hücreler olarak tanımlanmıştır (Krook, 1957). Ana hücrelerin ayırımında, sitoplazmanın yoğunluğu kadar çekirdeklerin şekil ve büyüklükleri de önemli bir kriter olarak kabul edilmiştir (Renk, 1968).

Elektron mikroskopunun keşfinden sonra, bu hücre tiplerinin ince yapıları hakkında daha detaylı bilgiler elde edilmiştir. Bu mikroskopla yapılan incelemelerde koyu hücrelerin (aktif form) çok sayıda hücre organellerine sahip oldukları ve açık hücrelerin (inaktif form) ise daha az sayıda hücre organellerine sahip oldukları gösterildi (Lever, 1957). Sekresyon aktivitesini artıran uyarımları takiben, paratiroid bezi hücrelerinin morfolojilerinin de değiştiği, in vitro çalışmalardan elde edilen bulgularla desteklendi (Roth ve Raisz, 1964). Farklı morfolojilere sahip olan paratiroid bezi hücrelerinin, organdaki siklik değişiklikler sonucu ortaya çıktıkları fikri ise, 60'li yılların ortalarından itibaren kabul edilmiş (Roth ve Raisz, 1966) ve parathormon (PTH) sekresyonunda görev alan organellerin miktarına göre hücreler, aktif (koyu hücreler), inaktif (açık hücreler) ve intermedier olarak sınıflandırılmıştır (Roth ve Capen, 1974; Capen, 1980).

Stöckel ve Porte (1966) sıçan paratiroidindeki açık ve koyu hücrelerin; Lever ise (1957) parçalanmış membran içeren açık hücrelerin immersiyon-fiksasyon esnasında oluştuklarını bildirmelerine rağmen, paratiroid hücrelerindeki siklik değişim hipotezi günümüze kadar geçerliliğini korumuştur. Tespit amacıyla perfüzyon-fiksasyon metodunun uygulanması sonucu farelerin (Stöckel ve Porte, 1966) yanısıra, köpek (Setoguti, 1977), sıçan (Wild ve ark., 1985), çöl faresi (Larsson ve ark., 1984) ve kedilerin (Wild ve ark., 1986) paratiroidlerinde de farklı hücre formlarının şekillenmediği bildirilmektedir. Marti ve ark. (1987) da yüksek basınç-derin dondurucu tekniği ya da bir mikrodalga kaynağı ile stimüle edilen sığır ve sıçan paratiroidlerinin immersiyon-fiksasyon metodu ile tespit edilerek incelenmesinde, farklı hücre varyasyonlarının oluşmadığını gözlemişlerdir.

Bu çalışmada, sığır, koyun ve keçi paratiroid bezlerinin elektron mikroskopik yapılarının incelenmesi ve immersiyon-fiksasyon yöntemiyle preparat hazırlanması esnasında paratiroid hü-

relerinin ince yapısını en iyi koruyan fiksasyon ve tampon çözeltilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

Bu çalışmada kullanılan paratiroid bezleri, sığır ve koyunlardan kesimi müteakib, keçide ise Na-Pentobarbital ile ötenaziden hemen sonra alındı. Materyal alımı, sığırdan ölümü takiben 10 dakika, koyun ve keçide ise 20-40 dakika içinde gerçekleştirildi.

Paratiroid bezleri, hayvanlardan alındıktan sonra, hemen buzla soğutulmuş PBS ile yıkandı ve yaklaşık 1 mm<sup>3</sup>lük parçalara ayrıldı. Doku örnekleri, pH 7.4'te buzda soğutulmuş 0.1 M'lık Na/K-fosfat, Na-cacodylat, Hepes veya Ca<sup>++</sup> ve Mg<sup>++</sup> içeren Hepes varlığında %2'lik GA veya %1'lik GA-%2'lik FA ile bir saat süreyle tespit edildi. Daha sonra preparatlar aynı tampon çözeltilerle 1 saat yıkandı. İkinci fiksasyon işlemi aynı tampon çözeltilerin varlığında OsO<sub>4</sub> ile oda sıcaklığında bir saat süreyle yapıldı ve yıkama işlemi adı geçen tampon çözeltilerle bir kaç saniye süreyle tekrarlandı. Sadece OsO<sub>4</sub> fiksasyonu esnasında, koyun paratiroidi için 0.05 M, diğer bütün fiksasyon işlemlerinde ise, 0.1 M tampon çözeltileri kullanıldı. Bu aşamadan sonra, bütün doku örneklerine rutin elektron mikroskop takip yöntemleri uygulandı. Epon bloklardan elde edilen yarı ince kesitler, toluidin mavisi ile, ince kesitler ise, Mg-uranilasetat ve kurşun sitrat ile boyandı. Hazırlanan preparatlar "Philips 201" model transmisyon elektron mikroskopuyla incelendi ve fotoğraflar çekildi.

## Bulgular

### A. Gözlenen Hücre Tipleri

İncelenen türlerin paratiroid bezi örnekleri üzerinde yapılan elektron mikroskop incelemelerinde 4 farklı hücre tipine rastlandı:

#### 1. İniform hücreler:

Polygonal şekilli olan üniform hücrelerin bazal lamina üzerine oturan yüzlerinde invaginasyonlar gözlenmedi. Fakat komşu üniform hücrelerin lateral

yüzlerinde çok sayıda hücre zan katlantısına rastlandı. Hücreler arası aralıkların dar, çekirdek kesitlerinin yuvarlak veya oval olduğu tesbit edildi. Kromatin, çoğunlukla perinükleer lokalizasyonda gözlemlendi. Sitoplazmik matriks koyu ve çok sayıda serbest ribozom içermekteydi. Lümenleri dar olan ve genellikle birbirine paralel seyreden endoplazmik retikulum sisternalarının çoğunlukta bazal kutupta yer aldığı dikkati çekti. Uç kısımları vakuol benzeri genişlemeler oluşturan ve birbirine paralel olarak seyreden yassılmış Golgi kompleksi keseciklerinin ise, apikal kutupta yerleşmiş olduğu gözlemlendi. Koyu matriksli ve az sayıda krista içeren mitokondriyonlara, sitoplazmanın her tarafında rastlandı. Plazma membranının apikolateral kutupları ile Golgi kompleksi arasında farklı olgunlukta ve çok sayıda salgı granülleri tesbit edildi. Az sayıdaki multiveziküler cisimcik, lizozom ve lipofuksin granüllerinin genellikle apikal kutupta yer aldığı belirlendi.

#### 2. Açık hücreler:

Bu hücrelerin plazma membranlarının apikolateral kutuplarında katlantı sayısının az ve intersellüler mesafelerin çok dar olduğu gözlemlendi. Çekirdek kesitlerinin yuvarlak ya da oval; kromatinin az miktarda olduğu ve homojen bir dağılım gösterdiği belirlendi. Bu hücrelerde sitoplazmik matriksin üniform hücrelerin matriksinden daha açık olduğu dikkati çekti. Endoplazmik retikulum sisternaları genellikle şiddetli bir şekilde dilate olmuş ve Golgi kompleksi kesecikleri vakuol benzeri genişlemeler oluşturmuştu. Preparatlardaki salgı granülleri sayısının, kesit düzlemine bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği ve bazı mitokondriyonların kısmen dilate durumda olduğu gözlemlendi.

#### 3. Koyu hücreler:

Bu hücrelerin apikolateral kutuplarında plazma membranının çok sayıda katlantılar oluşturduğu ve komşu hücreler arası mesafenin geniş olduğu görüldü. Çekirdek kesitlerinin düzensiz seyrettiği ve kromatin dağılımının yoğunluğu dikkati çekti. Bu hücrelerde sitoplazmik matriks, üniform hücre matriksinden daha koyu ve organel sayısının da fazla olduğu tesbit edildi. Endoplazmik retikulum sisternalarının kısmen dilate, Golgi kompleksi ke-

seciklerinin ise oldukça genişlemiş durumda olduğu ve salgı granüllerinin çokluğu dikkati çekti. Mitokondriyonların çoğunda matriks yoğun, bazılının ise dilate durumda olduğu görüldü.

#### 4. Multinükleer hücreler:

Bu hücrelerin 3-7 adet düzensiz çekirdek kesiti içerdiği, kromatinin düzensiz dağıldığı ve bütünlüğü bozulmuş olan hücre zarı kalıntıları gözlemlendi. Sitoplazmik matriksin açık ve az sayıda organel içerdiği; endoplazmik retikulum sisternaları, Golgi kompleksi kesecikleri ve mitokondriyonların şiddetli bir şekilde dilate olduğu belirlendi ve az sayıda salgı granülüne rastlandı.

Sığır paratroid bezinde, parankim hücrelerinin çoğunu oluşturan üniform hücrelerin, kan damarlarından zengin bir bağ dokusu ile birbirlerinden ayrılmış gruplar oluşturdukları gözlemlendi. Ayrıca, az sayıda açık ve koyu hücrelere de rastlandı.

Koyunlarda ise parankim hücrelerinin kan damarlarından zengin bağ dokusu ile birbirlerinden ayrılmış gruplar ve kısmen de küçük folliküller oluşturdukları belirlendi. Bu hücrelerin çoğunun üniform, açık ve multinükleer hücrelerin, az bir bölümünün ise, koyu hücrelerin morfolojisine sahip oldukları dikkati çekti.

Keçilerde parankim hücrelerinin, koyun paratroid bezinde olduğu gibi, kan damarlarından zengin bağ dokusu bölmeleri ile birbirlerinden ayrılmış gruplar yanında kısmen de küçük folliküller oluşturduğu belirlendi. Bu hücrelerin çoğunun üniform ve açık; çok az bir bölümünün ise koyu ve multinükleer hücrelerin morfolojisine sahip oldukları saptandı.

#### B. Tespit Sıvılarının Hücrelerin İnce Yapıları Üzerindeki Etkileri

##### 1. Aldehidlerin Etkisi:

Doku örneklerinin tespiti amacıyla kullanılan aldehidlerin ve tampon çözeltilerin etkilerinin ayrı ayrı araştırılması amacıyla sığır paratroidinden alınan doku örnekleri, Na/K-fosfat tampon çözeltisinin varlığında tespit edildi ve aşağıdaki bulgular elde edildi:

##### Glutaraldehid'in Etkisi:

Bu fiksatifle incelenen preparatlarda, çok sa-

yıda üniform ve az sayıda koyu ve açık hücrelere rastlandı. İniform hücre membranlarının bütünlüklerinin korunmuş ve az kontrastlı olduğu ve endoplazmik retikulum sisternalarının bir kısmının şiddetli derecede dilate durumda oldukları gözlemlendi.

#### Glutaraldehid-Formaldehid'in Etkisi:

Preparatlarda, hücrelerin tamamının üniform yapıda, hücre membranlarının sağlam ve çok iyi kontrastlı olduğu dikkati çekti. Bu hücrelerde intersellüler mesafeler geniş ve bazı endoplazmik retikulum sistemalarının kısmen dilate durumda olduğu gözlemlendi.

#### 2. Aldehid Fiksasyonu Esnasında Tampon Çözeltilerinin Etkisi:

Aldehidlerle tespit esnasında kullanılan tampon çözeltilerinin paratiroid bezi hücrelerinin morfolojisi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla doku örnekleri, farklı tampon çözeltilerinin (Na/K-fosfat, Na-cacodylat, Hepes, Ca<sup>++</sup> ve Mg<sup>++</sup> içeren Hepes) varlığında aldehidlerle (GA veya GA-FA) öntespit ve Na/K-fosfat'ın varlığında osmik asitle ikinci tespite tabi tutuldu.

Aldehid fiksasyonu esnasında Na/K-fosfat ya da Na-cacodylat tamponunun kullanılmasıyla hazırlanan preparatlarda çoğunlukla üniform hücreler gözlemlendi. Diğer taraftan Hepes'in kullanımıyla, hücrelerde kromatinin çekirdek içinde homojen bir şekilde dağıldığı, sitoplazmik matriksin farklı yoğunlukta, intersellüler mesafenin çok dar ve endoplazmik retikulum sistemalarının kısmen dilate durumda olduğu belirlendi. Hepesie Ca<sup>++</sup> ve Mg<sup>++</sup>'un ilavesinde ise, endoplazmik retikulumda dilatasyonlara hemen hemen hiç rastlanmadı.

#### 3. Osmik Asit Fiksasyonu Esnasında Tampon Çözeltilerinin Etkisi:

Paratiroid hücrelerinin morfolojisine osmik asit fiksasyonu esnasında tampon çözeltilerinin etkisinin belirlenmesi için kullanılan doku örnekleri, Na/K-fosfat tampon çözeltisinin varlığında GA veya GA-FA ile öntespit tabi tutuldu.

Osmik asit fiksasyonu esnasında Na/K-fosfat tampon çözeltisinin kullanılmasıyla özellikle GA-FA ile öntespit uygulanan preparatlardaki bütün hücre

organellerinin çok yoğun kontrast gösterdiği, bununla birlikte bazı endoplazmik retikulum sistemalarının önemsiz derecede genişlemiş oldukları belirlendi. Na-cacodylat tampon çözeltisinin kullanıldığı preparatlardaki üniform hücrelerde kontrastın, hem GA hem de GA-FA ile öntespit uygulanan preparatlardaki kontrasttan daha iyi olduğu gözlemlendi. Diğer taraftan Hepes'in varlığında osmik asitle ikinci tespite tabi tutulan preparatlarda açık hücrelerin sayısının artmış olduğu ve kontrastın azlığı nedeniyle membranların belirgin olmadıkları dikkati çekti. Endoplazmik retikulum sisternalarının genellikle şiddetli dilate durumda oldukları dikkati çekti. Golgi kompleksi kesitlerine nadiren rastlandı. Hepesie Ca<sup>++</sup> ve Mg<sup>++</sup> un eklenmesiyle, bütün organellerde kontrastın belirgin bir şekilde arttığı, dilate durumdaki endoplazmik retikulum sisternalarında ve nadiren rastlanan Golgi komplekslerinde ise önemli değişikliklerin oluşmadığı belirlendi.

#### Tartışma ve Sonuç

İnsan ve memeli hayvanlardan alınan paratiroid bezi örneklerinin, formaldehid veya glutaraldehid tespitiyle hazırlanan preparatlarda, koyu ve açık ana hücreler ile multinükleer ve oksifil hücrelerin ayırt edildiği bildirilmektedir (Roth ve Raisz, 1966; Bergdahl ve Boquist, 1973; Roth ve Capen, 1974; Capen, 1980; Meuten ve ark., 1984). Sıçanlardan izole edilen paratiroidlerde, ince yapının (sitoplazmik temel sübstansın yoğunluğu, endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksinin miktarı ve dağılımı) ortamdaki kalsiyum yoğunluğundaki değişikliklerden etkilendiği (Roth ve Raisz, 1964; Roth ve Raisz, 1966); bu nedenle parathormon (PTH) sekresyonuna bağlı olarak, organda siklik değişikliklerin ortaya çıkabileceği kabul edilmektedir. Sitoplazmik temel sübstansı yoğun ve endoplazmik retikulum ile Golgi kompleksi gibi çok sayıda organel içeren hücreler, aktif (koyu) hücreler olarak, sitoplazmik temel sübstansı açık ve az sayıda organel içeren hücreler ise, inaktif (açık) hücreler olarak tanımlanmaktadır. Koyu ve açık hücreler arasında geçiş formlarının bulunduğu, aktif hücrelerden inaktif hücrelere veya tersine bir geçiş

olduğu kabul edilmektedir (Alten%hr ve Leonhard, 1972; Roth ve Capen, 1974; Capen, 1980; Wild, 1980; Cinti ve ark., 1986).

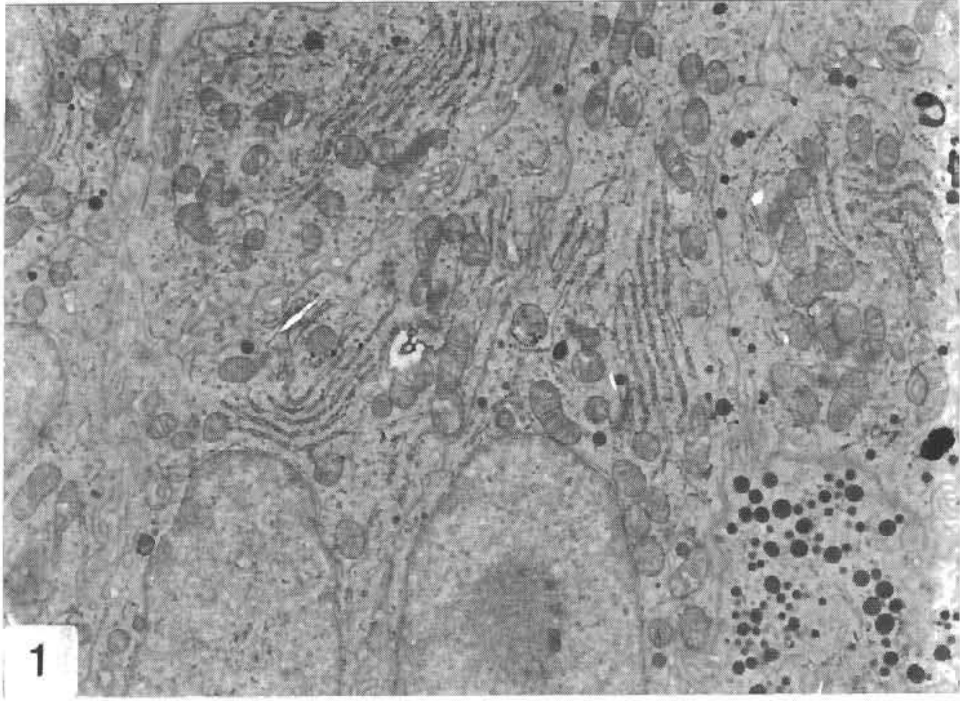
Glutaraldehyd ve osmik asitle tespit edilmiş hamster paratiroidi (Emura ve ark., 1988; Shomura ve ark., 1988) veya perfüzyonla tespit edilmiş sıçan paratiroid bezi örnekleri üzerinde yapılan morfolojik çalışmalarda (Setoguti ve ark., 1988), açık ve koyu ana hücrelerin, birbirlerine oldukça benzer yapısal özellikler gösterdikleri bildirilmiştir.

Multinükleer hücreler, çoğu düzensiz şekilli ve paketlenmiş haldeki çok sayıda ve çoğu düzensiz şekilli çekirdeğe sahip olan hücrelerdir. Bu hücrelerin endoplazmik retikulum sisternaları vakuoller halindedir. Bergdahl ve Boquist (1973), Meuten ve ark. (1984) ile Oksanen (1980) multinükleer hücrelerin, köpek paratiroid bezinin yapısında normal olarak bulduklarını kabul etmektedirler. Wild ve ark. (1987) ise, bu hücrelerin fiksasyon sırasında plazma membranlarının parçalanması veya hücrelerin dehidrasyonu sonucu oluştuklarını bildirmektedirler.

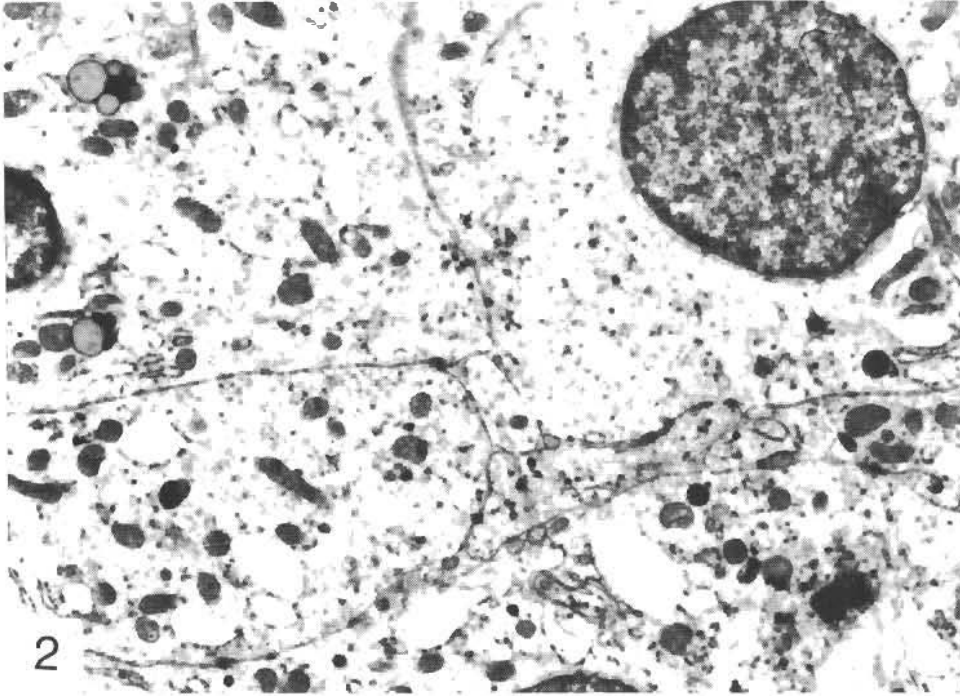
Bu çalışmada, aldehid ve özellikle osmik asit fiksasyonu esnasında kullanılan tampon çözeltilerinin, paratiroid bezi hücrelerinin ince yapılarının korunmasında çok önemli rol oynadıkları belirlendi. Na/K-fosfat, Na-cacodylat veya Heps tampon çözeltilerinin varlığında, koyun ve keçi paratiroid bezlerinden hazırlanan preparatların üniform, açık, koyu ve multinükleer hücrelerden; sığır paratiroid bezinin ise, multinükleer hücreler dışında diğer hücre tiplerini içerdiği gözlemlendi. Bu çalışmada, hücre organellerinin sayısı ve hücre membranlarının bütünlüğü dikkate alınarak, ince yapının optimal olarak korunduğu hücrelerin üniform hücreler oldukları sonucuna varıldı. Aldehyd fiksasyonunda tampon çözeltisi olarak Na/K-fosfat, Na-cacodylat veya Heps'in; osmik asit fiksasyonunda ise, tampon çözelti olarak Na/K-fosfat veya Na-cacodylatın kullanımıyla hazırlanan pre-

paratlarda çoğunlukla üniform hücreler gözlemlendi. Hücre zarı bütünlüğünün bozulmasıyla hücre içeriğinin boşalması sonucu oluşan açık hücrelerin, özellikle Heps ile tamponlanmış osmik asit fiksasyonu esnasında oluştuğu belirlendi. Açık sitoplazmik matrikse sahip olan bu hücrelerin endoplazmik retikulum sisternalarının şiddetli derecede dilate durumda olduğu gözlemlendi. Heps'e Ca++ ve Mg++ ilavesiyle hazırlanan preparatlarda gözlenen hücrelerin, açık hücrelere göre, intrasellüler membranlardan daha fakir olduğu ve endoplazmik retikulum sisternalarındaki dilatasyonun daha da arttığı görüldü. Hücrelerin büzüşmesi sonucu oluşan ve preparatlarda az sayıda rastlanan koyu hücrelerin organel sayısı bakımından oldukça zengin oldukları dikkati çekti. Endoplazmik retikulum sisternalarının dilatasyonu ve plazma membranlarının parçalanması sonucu oluşan multinükleer hücrelerle daha çok koyun paratiroid bezinde rastlandı. GA-FA'da tespit edilen preparatlarda, yalnızca GA'da tespit edilen preparatlara göre, üniform hücre sayısının daha fazla, hücre görünümlerinin daha homojen ve membranların daha kontrastlı olduğu görüldü. Sığır, koyun ve keçi paratiroid bezlerinde, Na-cacodylatın varlığında GA veya GA-FA immersiyonu ve Na/K-fosfat'ın varlığında osmik asit fiksasyonu ile ince yapının optimal olarak korunmuş olduğu sonucuna varıldı.

Aynı paratiroidden alınan ve farklı tespit maddeleri ve değişik tampon sıvılarıyla muamele edilerek hazırlanan preparatlarda gözlenen farklı hücre tiplerinin, tespit esnasında hücre zarı bütünlüğünün ve geçirgenliğinin bozulması nedeni ile sitoplazmik içeriğin dışarıya sızmasına bağlı olarak ortaya çıktığı sonucuna varıldı. Bu çalışmada elde edilen bulgular, paratiroid hücrelerinin ince yapılarının, hücrelerin sekresyon siklusuna bağlı olarak değiştiği görüşünü desteklemektedir.

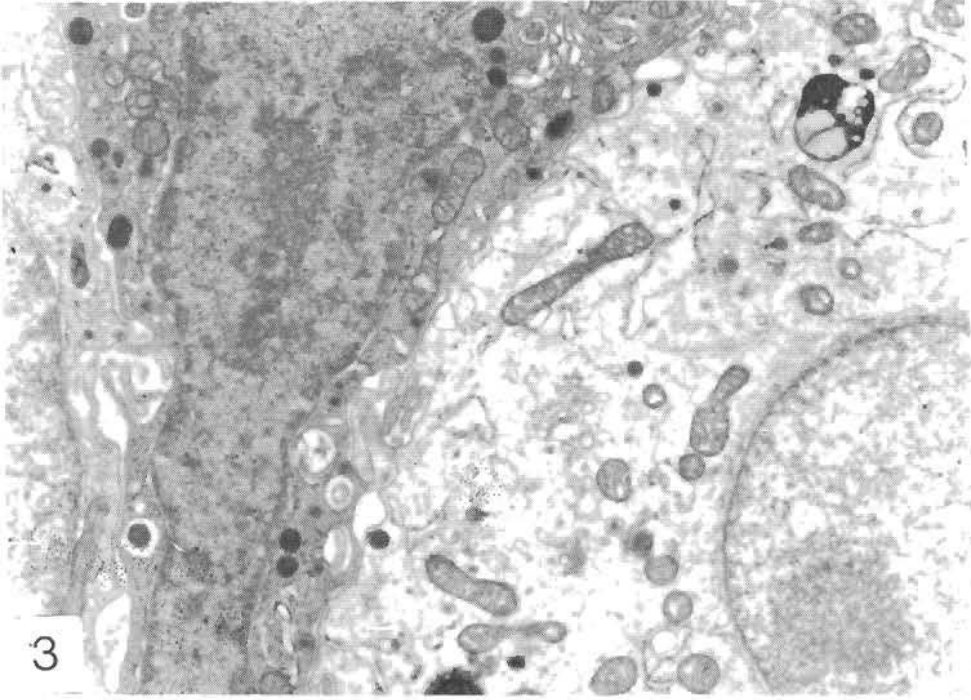


Şekil 1.  $Ca^{++}$  ve  $Mg^{++}$  içeren Hepes tamponuyla hazırlanan GA tespitini takiben Na/K-fosfat içeren  $OsO_4$  fiksatifinde tespit edilen siğir paratiroid hücreleri: Dar lümenli endoplazmik retikulum sisternalarına sahip üniform hücre kesitleri. Düzensiz dağılmış salgı granülleri, geniş ölçüde sağlam hücre zarı x 8600.

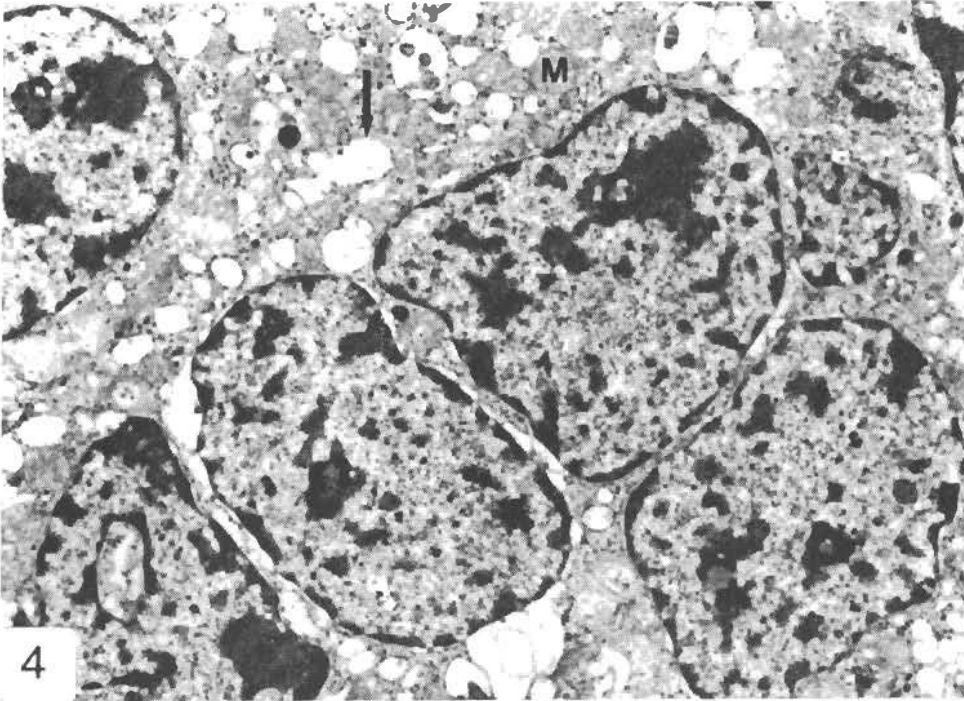


Şekil 2. Na/K-fosfat tamponuyla hazırlanan GA-FA tespitini takiben  $Ca^{++}$  ve  $Mg^{++}$  ile birlikte Hepes içeren  $OsO_4$  fiksatifinde tespit edilen keçi paratiroid hücreleri: Az sayıda küçük katlantılı hücre zarı, yoğun kontrastlı çekirdek, az sayıda ve şiddetli dilate olmuş endoplazmik retikulum sisternaları, az sayıda yoğun mitokondriler, serbest ribozomlar içeren açık hücre kesitleri x 8600.





Şekil 3. Na-cacodylat tamponuyla hazırlanan GA-FA tespitini takiben Na-cacodylat içeren OsO4 fiksatifinde tespit edilen sığır paratiroid hücreleri: Açık ve koyu hücre kesitleri. Çekirdek kromatini gevşek, şiddetli dilate olmuş endoplazmik retikulum sisternaları, yoğun mitokondriler ve az sayıda hücre organellerine sahip açık hücre. Düzensiz şekilli çekirdek, yoğun kromatin, çok katlı hücre zarı, yoğun sitoplazmik matriks, kısmen dilate olmuş endoplazmik retikulum sisternaları ve çok sayıda salgı granülü içeren koyu hücre x 13000.



Şekil 4. Na/K-fosfat tamponuyla hazırlanan GA tespitini takiben Na/K-fosfat içeren OsO4 fiksatifinde tespit edilen koyun paratiroid hücreleri: Düzensiz ve genellikle birbirine yakın bulunan ve kromatinleri düzensiz dağılmış çekirdek kesitleri, koyu sitoplazmik matriks, şiddetli dilate olmuş endoplazmik retikulum sisternaları (ok) ve belirgin olmayan mitokondriler (M) içeren multinükleer hücre x 7400.

## Kaynaklar

- Altenähr, E. and Leonhardt, F. (1972). Suppression of Parathyroid Gland Activity by Magnesium: Morphometric Ultrastructural Investigation. *Virchows Arch Abt.A.Pathol.Anat.* 355, 297-308.
- Bergdahl, L. and Boquist, L. (1973). Parathyroid Morphology in Normal Dogs. *Pathol.Eur.* 8, 95-103.
- Capen, C.C. (1980). Parathyroid Hormone, Calcitonin, and Cholecalciferol: The Calcium Regulating Hormones. In: McDonald, *Veterinary Endocrinology and Reproductions*; 3rd ed., 62-114, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Cinti, S., Colussi, G., Minola, E. and Dickersin, G.R. (1986). Parathyroid Glands in Primary Hyperparathyroidism: An Ultrastructural Study of 50 Cases. *Hum. Pathol.* 17, 1036-1046.
- Emura, S., Shoumura, S., Ishizaki, N., Yamahira, T., Ito, M. and Isona, H. (1988). Effects of Starvation on the Parathyroid Glands in Golden Hamsters of Different Ages, with Special Reference to the Frequency of Lipid. *Acta Anat.* 133, 96-101.
- Krook, L. (1957). Spontaneous Hyperparathyroidism in the Dog. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Supl.* 122, 1-75.
- Larsson, H.O., Lorentzon, R. and Boquist, L. (1984). Structure of Parathyroid Glands, as Revealed by Different Methods of Fixation. A Quantitative Light and Electron Microscopic Study in Untreated Mongolian Gerbils. *Cell Tiss.Res.* 235, 51-58.
- Lever, J.D. (1957). Fine Structural Appearances in the Rat Parathyroid. *J.Anat.* 91, 73-81.
- Marti, R., Wild, P., Schraner, E.M., Müller, M. and Moor, H. (1987). Parathyroid Ultrastructure After Aldehyde Fixation, High Pressure Freezing, or Microwave Irradiation. *J.Histochem.Cytochem.* 35, 1415-1424.
- Meuten, D.J., Capen, C.C., Thompson, K.G. and Segre, G.V. (1984). Syncytial Cells in Canine Parathyroid Glands. *Vet.Pathol.* 21, 463-468.
- Oksanen, A. (1980). The Ultrastructure of the Multinucleated Cells in Canine Parathyroid Glands. *J.Comp.Pathol.* 90, 293-301.
- Renk, W. (1968). Epithelkörperchen-glandulae Parathyreoidales. In: Joest E., *Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie der Haustiere*; Band II, 3. Aufl., 89-113, Hrsg. Dobberstein J., Verlag Paul Parey, Berlin.
- Roth, S.I. and Capen, C.C. (1974). Ultrastructural and Functional Correlations of the Parathyroid Gland. *Int.Rev.Exp.Pathol.* 13, 161-221.
- Roth, S.I. and Raisz, L.G. (1964). Effect of Calcium Concentration on the Ultrastructure of Rat Parathyroid in Organ Culture. *Lab. Invest.* 13, 331-345.
- Roth, S.I. and Raisz, L.G. (1966). The Course and Reversibility of the Calcium Effect on the Ultrastructure of the Rat Parathyroid Gland in Organ Culture. *Lab. Invest.* 15, 1187-1211.
- Setoguti, T. (1977). Electron Microscopic Studies of Parathyroid Gland of Senile Dogs. *Am.J.Anat.* 148, 65-84.
- Setoguti, T., Inoue, Y. and Shin, M. (1988). Electron-Microscopic Studies on the Threshold Value of Calcium Concentration for the Release of Storage Granules and the Acceleration of Their Degradation in the Rat Parathyroid Gland. *Cell Tiss.Res.* 251, 531-539.
- Shoumura, S., Iwasaki, Y., Ishizaki, N., Emura, S., Yamahira, T., Ito, M. and Isona, H. (1988). Effects of Isoproterenol on the Fine Structure of the Hamster Parathyroid Gland. *Histol.Histopathol.* 3, 225-233.
- Stöckel, M.E. and Porte, A. (1966). Observations Ultrastructurales Sur La Parathyroid des Souris. I. Etude Chez la Souris Normale. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 73, 448-502.
- Wild, P. (1980). Correlative Light and Electron-Microscopic Study of Parathyroid Glands in Dogs of Different Age Groups. *Acta Anat.* 108, 340-349.
- Wild, P., Gloor, S. and Vetsch, E. (1985). Quantitative Aspects of Membrane Behaviour in Rat Parathyroid Cells After Depression or Elevation of Serum Calcium. *La. Invest.* 52, 490-496.
- Wild, P., Kellner, S.J. and Schraner, E.M. (1987). Parathyroid Cells Variants May Be Provoked During Immersion Fixation. *Histochem.* 87, 263-271.
- Wild, P., Schraner, E. M., Augsburg, H., Beglinger, R. and Pfister, R. (1986). Ultrastructural Alterations in Mammalian Parathyroid Glands Induced by Fixation. *Acta Anat.* 126, 87-96.