

Sıçan Midesinin Postnatal Olgunlaşmasının Morfolojik Olarak İncelenmesi

Serap İNALÖZ¹, Engin YENİLMEZ², Yurdağül CANBERK³

ÖZET

Sıçanlarda mide mukozasının farklılaşmasının gebeliğin sonuna yakın 19-20. günlere kadar sürdüğü bildirilmiştir.

Biz de bu nedenle doğumdan sonra (post natal) mide mukozası hücrelerinin hangi aşamaya kadar olgunlaştığını incelemeyi amaçladık.

Çalışmada yeni doğmuş sıçanlardan 0,3,10 ve 17. günlük olanların mide (fundus) mukozaları ışık ve elektronmikroskopik düzeyde incelendi.

Işık mikroskopunda incelendiğinde 0. saatte mide yüzeyinin girintili çıkıntılı görünümünün 3. günlüklerde düzenli hale dönüştüğü izlendi. 3 ve 10. günlüklerde tubuler bezlerde mitoz aktivite hızlı idi.

Ultrastrüktürel araştırıldığında Zimogen hücreler 10 ve 17 günlüklerde bol salgı granülleri, aktif golgi kompleksleri ve ribozomlardan zengin GER membranları ile dikkati çekmekte idi. 0. saatliklerdeki Parietal hücrelerin intrasellüler sekret (Ic) kanalcıklarının iyi gelişmediği ve az sayıda mitokondrion'lar içerdiği izlendi. 10 ve 17. günlüklerde parietal hücreler bol mitokondrion'lar ve mikrovilluslu Ic kanalcıkları ile aktif salgılama evresini yansıtmaktaydı.

Sonuçta doğum sonrası mide mukozasındaki bezlere ait hücreler ergine benzer özellik kazanana kadar gelişimlerini belli periodlarda sürdürdüğü düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Yavru sıçan, post natal olgunlaşma, Gastrik mukosa, ışık mikroskopi, elektronmikroskopi.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL EXAMINATION OF RAT STOMACH DURING POSTNATAL MATURATION

It has been reported that differentiation of gastric mucosa in rats continuous until 19 th and 20 th day toward the end of pregnancy.

For this purpose we intended to study to what until which stage of postnatal period the cells of gastric mucosa are matured.

In the present study, the gastric mucosa of young rats of 0,3,10 and 17 days was examined under light and electronmicroscope.

Examination under light microscope revealed that the rough surface of gastric mucosa in rats aged 0 day became smooth on the 3 th day. Mitosis activity was intense in the tubular glands of rats aged 3 and 10 days.

On ultrastructural examination it was found that zymogen cells contained abundant secretory granules, active Golgi complexes and GER membranes rich in ribosomes. In rats aged 0.hour, parietal cells contained under developed intracellular secretory capillaries and a small number of mitochondria. In rats aged 10 and 17 days, parietal cells indicated an active secretion period with abundant mitochondria and deep canaliculi (Ic) with microvilli.

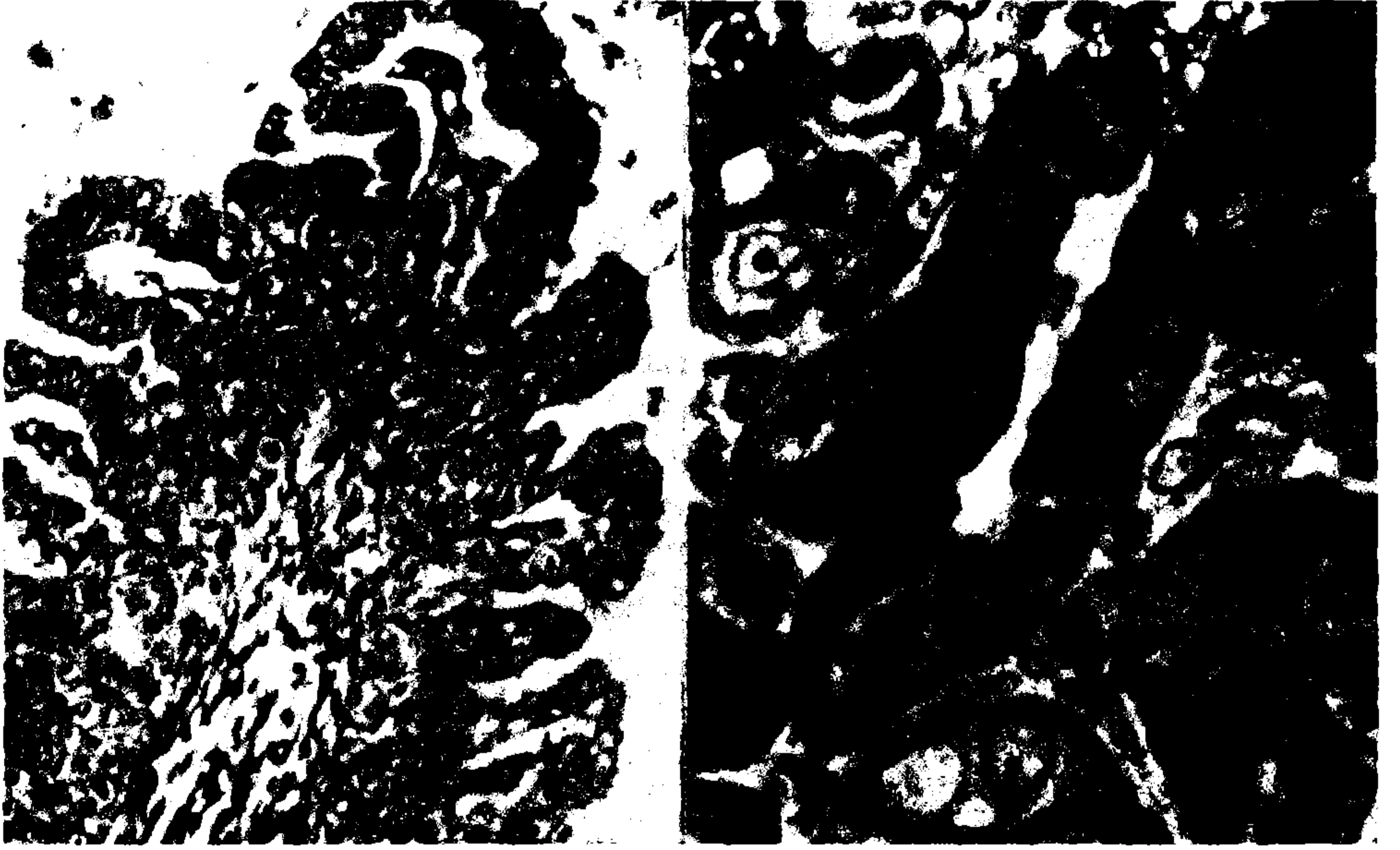
In conclusion, it was thought that cells gastric mucosal glands show characteristics similar to those of mature rats until they become mature.

Key Words: Young rat, postnatal maturity, Gastric mukosa, Light microscope, Electronmicroscope.

¹ Yrd. Doç. Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.B.D., DİYARBAKIR

² Uzm. Dr., I.Ü.İst. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji A.B.D., İSTANBUL

³ Prof. Dr., I.Ü.İst. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji A.B.D., İSTANBUL



RESİM 1a, 1b. Neonatal evrede sıçan mide mukozasına ait mikrofotoğraflarla mide yüzeyi girintili çıkıntılı izlenirken (1a); Fundus bezlerine ait kesintiler (1b) görülmekte. PH: Parietal hücre; ZH: Esas hücre. 1aX120; 1bX480, Boya: H+E

Günümüze kadar pek çok araştırmacı tarafından memelilerin prenatal mide gelişimleri çeşitli yöntemler uygulanarak incelenmiştir (1,7,9,11,14). Bazı hayvanlarda intrauterin devrede midenin farklılaşmasının doğuma kadar sürdüğü hatta postnatal devrede fonksiyonla ilgili enzimlerin daha iyi geliştiği bildirilmiştir (2,3,4,8,14).

Biz de mide gelişiminin gebeliğin son birkaç gününe kadar (19-20. günlerde) gerçekleştiği sıçanlarda olgunlaşmanın ne dereceye kadar tamamlandığını izlemek amacıyla postnatal gelişme ile ilgili bu çalışmayı planladık.

Yapılan çalışmada yeni doğmuş sıçanların 0 saat 3, 10 ve 17 günlük yavrularına ait mide fundus mukozaları ışık ve elektronmikroskopik düzeylerde incelenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden (DETAM) sağlanan Wistar Albino türü yeni doğmuş yavru sıçanlar kullanıldı.

Araştırmada doğumdan hemen sonra 0. saatlik (Neonatal), 3, 10 ve 17 günlük yavru sıçanlardan alınan mide mukozalarına ait parçalar gerekli

tesbitleri yapıp ışık ve elektronmikroskopik düzeyde incelendi.

Işık mikroskopik incelemeler için midenin Fundus bölgesinden alınan mukoza parçaları % 10 Formol ve Bouin'de tesbit edilerek parafin inklüzyonu yapıldı. Elde edilen 4-5 mikronluk kesitler Hematoksilen-Eosin (H+E) ve PAS (Periodik-asid-şif) boyası ile boyandı.

Elektronmikroskopik incelemelerde mideye (Fundus) ait doku parçalarına fosfat tamponlu %2.5'lük Glutaraldehid (pH=7.4) ve daha sonra % 1'lik fosfat tamponlu Osmium tetraoksit tesbiti uygulandı. Vestopal W inklüzyonu yapılan bloklardan elde edilen yarı ince kesitler (0.5-1 mikron) toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikrofotografileri elde edildi. İnce kesitler (400-600 Å) ise uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlanarak JEOL 100C elektronmikroskopunda incelenerek değerlendirildi.

BULGULAR

Yenidoğmuş (0 yaş) yavru sıçanlardan alınan mide mukozalarının ışık mikroskopik incelenmesinde plika gastrika'ların geliştiği fakat mide



RESİM IIa, IIb. 3 günlük sıçan mukozası mikrofotografılarında mide yüzeyinin düzgün olarak geliştiği (IIa) ve lamina propria (Lp) içinde yer alan bezlerde mitoz bölünmelerin (ok) artışı (IIb) izleniyor. Gp: Gastrik çukurlar (pits). 2a:x 120;2b:480 Boya:H+E

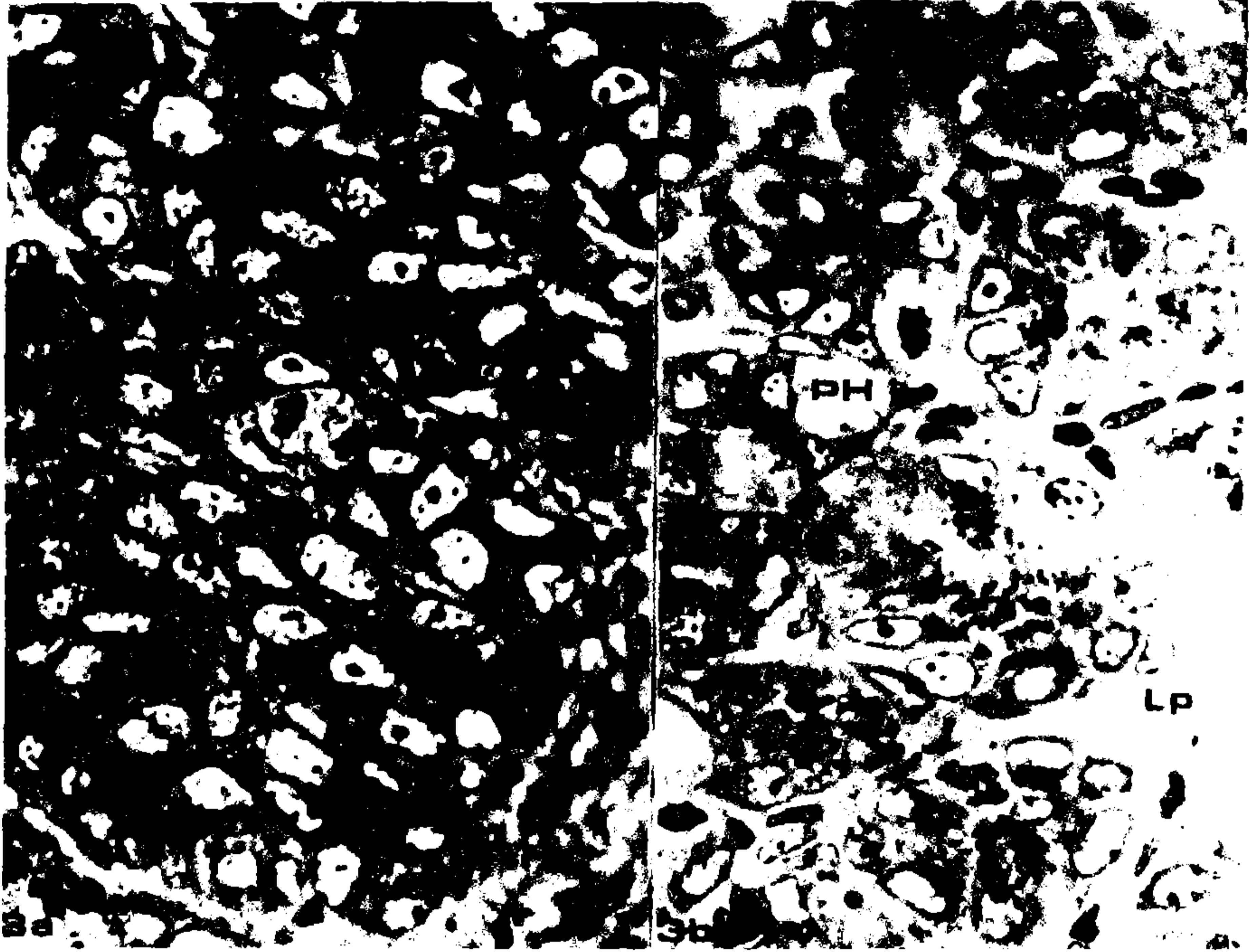
yüzeyinin düzgün olmadığı ve çeşitli şekillerde villus yapılarına benzeyen çıkıntılarla kaplı olduğu izlendi (Resim Ia). Epitel hücrelerinin yer yer iki katlı olarak yüzeyde kalın bir tabaka oluşturduğu görüldü (Resim Ia). Foveola gastrika'lar çok derin ve oldukça açık ve düzensiz olarak mukozayı kaplamaktaydı. Yine bu neonatal grupta lamina propria içinde gömülü olan gastrik bezler içinde en iyi gelişmiş hücreler parietal hücreler idi. Zimogen (esas) hücreler küçük şekilli, koyu sitoplasmalı ve az sayıda salgı granülleri ile dikkati çekmekte idi (Resim Ib).

Yeni doğmuş sıçanların mide mukozaları ultrastrüktürel olarak incelendiğinde parietal hücrelerin intrasellüler sekret kapillerlerinin kısa ve dar kanalcıklar halinde ve küçük mikrovilluslarla kaplı olduğu görüldü. Sekret kanalcıkları çevresinde az sayıda iri ve yuvarlak mitokondrionlar mevcuttu (Resim V). Zimogen hücrelerin ise granüler endoplasmik retikulum (GER) membranlarının az geliştiği fakat sitoplasmada serbest ribozomların bol

olduğu, küçük ve az sayıda granülleri içerdiği izlenmekteydi (Resim V).

3 günlük yavru sıçanların gastrik mukozaları ışık mikroskopunda incelendiğinde mide yüzeyinin düzgün olduğu ve faveola gastrika'ların derin ve farklı aralıklarla mukozada yer aldığı dikkati çekti (Resim IIa). Lamina propria eşit kalınlıkta gelişmiş olup mide bezleri ile kaplıydı. Muskularis mukoza ince bir tabaka halinde gelişmiş olarak mide bezlerinin bazalinde yer almıştı (Resim IIa). Epitel hücreleri nükleusları farklı seviyelerde yerleşmiş olarak tek katlı, yüksek prizmatik şekilli idi. Mide bezlerine ait hücrelerde mitotik aktivite dikkat çekecek kadar hızlı idi (Resim IIb).

10 günlük sıçan yavrusunun mide mukozası ışık mikroskopunda incelendiğinde lamina propria'da tubuler şekilli, düzenli gelişmiş fundus bezleri izlenmekte idi (Resim IIIa). Bu bezlere ait epitel hücreleri oldukça zengin mitotik aktivite göstermekteydi (Resim IIIa). Fundus bezleri hücrelerinden parietal hücrelerin intrasellüler



RESİM IIIa, IIIb. 10 günlük sıçan mide mukozasında tubular bezlerde mitoz bölünmeler (ok) gösteren hücreler (IIIa) ile parietal hücreler (PH) ve Zimogen granüllerden zengin Esas hücreler (ZH) izlenmekte (IIIb). Mikrograf.3a:X 120; Boya: H+E3b:X 380; Toluidin mavisi.

kanalcık lümenleri ekseriyetle çok genişlemiş olarak gözlemlendi (Resim IIIb). Zimogen hücreler ise salgı granüllerinden oldukça zengin idi (Resim IIIb).

10 günlük yavru sıçanların fundus mukozası elektronmikroskopik düzeyde incelendiğinde parietal hücrelerin organellerinin erişkine benzer yapıda olduğu görüldü. İri, yuvarlak ve kristal mitokondrionlar çok sayıda olup hücre sitoplazmasının büyük bir bölümünü kaplamaktaydı. Hücre içi sekret kapillerleri mikrovilluslarla kaplı derin kanalcıklar halinde izlendi (Resim VI). Zimogen hücreler ise zengin GER membranları ve çeşitli büyüklükte ve sayıda salgı granülleri ile gözlemlendi (Resim VI).

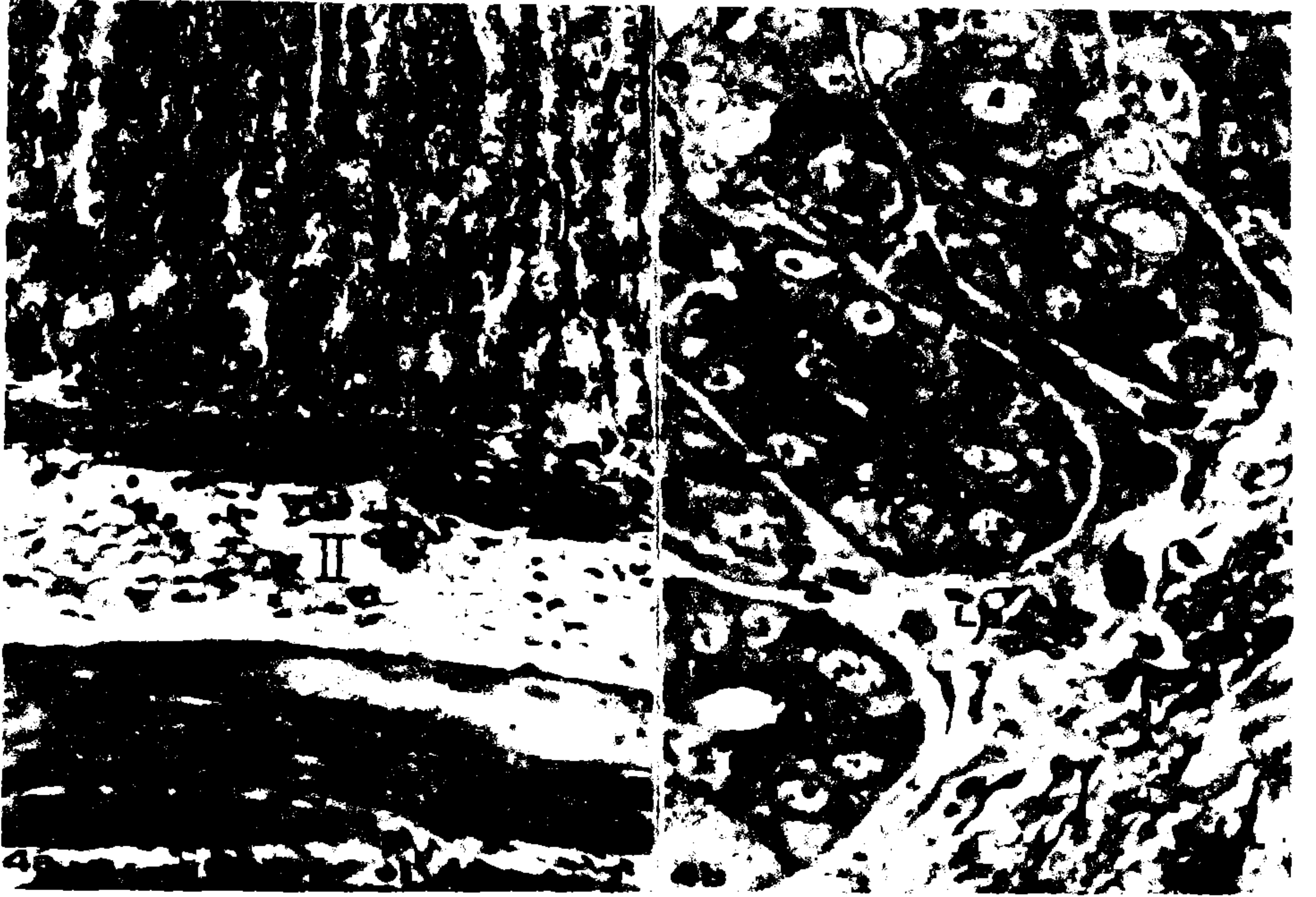
17 günlük yavru sıçana ait mide duvarı ışık mikroskopunda incelendiğinde bütün tabakaları iyi geliştiği izlendi. Tunika mukoza'nın çoğunluğunu işgal eden mide bezleri düz tübüler şekilli olarak gelişmiş kalın bir tabaka oluşturmuştu (Resim IVa). Lamina propria bezlerin çevresinde az miktarda olmasına karşın bazal bölgede daha bol bulunmaktaydı (Resim IVa, IVb). Lamina muskularis mukoza mide bezleri bazalinde kalın bir

tabaka halinde idi (Resim IVa, IVb). Parietal hücreler genişlemiş hücre içi kanalcık yapıları ile soluk ve asidofilik görülürken, Zimogen hücreler zengin salgı granülleri ve GER membranları ile koyu ve bazofilik sitoplazmalı olarak dikkati çekti (Resim IVb).

17 günlük gruba ait midenin ultrastrüktürel incelenmesinde parietal ve zimogen hücrelerin yapılarının erişkinlere benzerlik gösterdiği izlendi. Parietal hücrelerin bazılarının derin ve geniş intrasellüler kapillerlerden zengin oluşu yanısıra, bazılarında çok sayıda tubulovesiküler yapılarının bulunuşu dikkati çekti (Resim VII). Zimogen hücrelerde zengin GER membranları, bol ribozomlar ve çeşitli büyüklükte salgı granülleri yer almaktaydı (Resim VII).

TARTIŞMA

Prenatal mide gelişiminin memeli türlerinde farklı süreçlerde gerçekleştiği pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Nitekim gestasyondan sonra mide gelişiminin insanda 5.haftadan itibaren



RESİM IVa, IVb. 17 günlük sıçan mide duvarına ait mikrofotografide Tunika mukosa (I), Tunika submukosa (II) ve Tunika muskularis (III) tabakaları (IVa) ile büyük büyütmede Fundus bezleri gözlenmekte (IVb). Lmm: Lamina muskularis mukoza. 4a: X120 Boya: H+E: 4bX480, Toluidin mavisi

(9,12,13), sığırdan 18-27. günlerden (1,11), keçide 24-28. günlerden (11), fare ve sıçanlarda 5-8. günlerden (4,7) itibaren başladığı bildirilmiştir.

Bilindiği gibi memelilerde gövde barsağının üst bölümünün dorsal tarafının mekik şeklinde genişlemesi ile ortaya çıkan mide taslağı birbirini izleyen 2 seri hareket ile yer değiştirerek karakteristik şeklini alır (12,13). Bu gelişimdeki farklılaşmaların tamamlanması yine farklı sürelerde gerçekleşmektedir. Nitekim insanda 4. aya kadar süren (9,12,13) mide gelişimi sıçanlarda (2,3,4) doğuma yakın 18-20. günlere kadar sürmektedir.

Mide epitelini ilk gelişim sürecinde çok sıralıdır. Sonra tek katlı halde dönüşmektedir. Yapılmış olan araştırmalarla sıçanda 17. günde çok katlı olan epitel 20-21. günlerde tek katlı hale dönüştüğü bildirilmiştir (2,4,7,8,10).

Bizimde çalışmamızda 21. güne kadar epitelin tek katlı özelliği kazanana kadar farklılaşmasını sürdüren mide gelişmesinin postnatal olarak 0. saatlik grupta tamamlanmadığı bazı bölgelerde iki katlılık gösterdiği saptandı (Resim Ia). 3, 10 ve 17. günlük sıçan yavrularında ise mide epitelini yaşla doğru orantılı olarak erişkine benzer özellikte yapıya dönüşmektedir (Resim IIa, IIb).

Yapılmış olan çalışmalarda sıçanlarda mide bezlerinin farklılaşmasının gebeliğin son birkaç günü olan 19-20. günlerde tamamlandığı bildirilmiştir (2,3,4).

Prenatal evrede sıçan (2,4) ve farelerde (7) fundus bezlerinde pepsinojen yapıcı hücrelerin farklılaşması ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda pepsinojen oluşturan zimogen (esas) hücrelerin doğuma yakın 17-20. günlere kadar farklılaşmasını sürdürdüğü bildirilmiştir. Bu devrede esas hücrelerde prozimogen granüllerinin birikmeye başladığı gösterilmiştir.

Biz de çalışmamızda 0. saatlik gruptaki gastrik bezlerdeki esas hücrelerde prozimogen granüllerinin zengin olduğunu izledik (Resim Ib, V).

Prenatal sıçan midesinde peptik aktivitenin ilk çıkışı 19. gün, lipaz aktivitenin ise 20. gün olarak Helander, H.F tarafından yapılmış olan enzimatik ve morfolojik çalışmalarda bildirilmiştir (3,4). Doğumu takip eden günlerde bu aktivite 5 katına yükselmektedir. Bu durumda zimogen hücrelerde sitoplazmik granüllerin sayısı ve büyüklükleri artmaktadır.



RESİM V. Neonatal evrede sıçan Fundus bezlerine ait elektronmikrografta esas hücreler (ZH) ve Parietal hücreler izlenmekte. Mv: Mikrovilli, Sg: Salgı granülleri; Ik: Intraselüler sekret kapillerleri; mi: Mitokondrion. X10.00

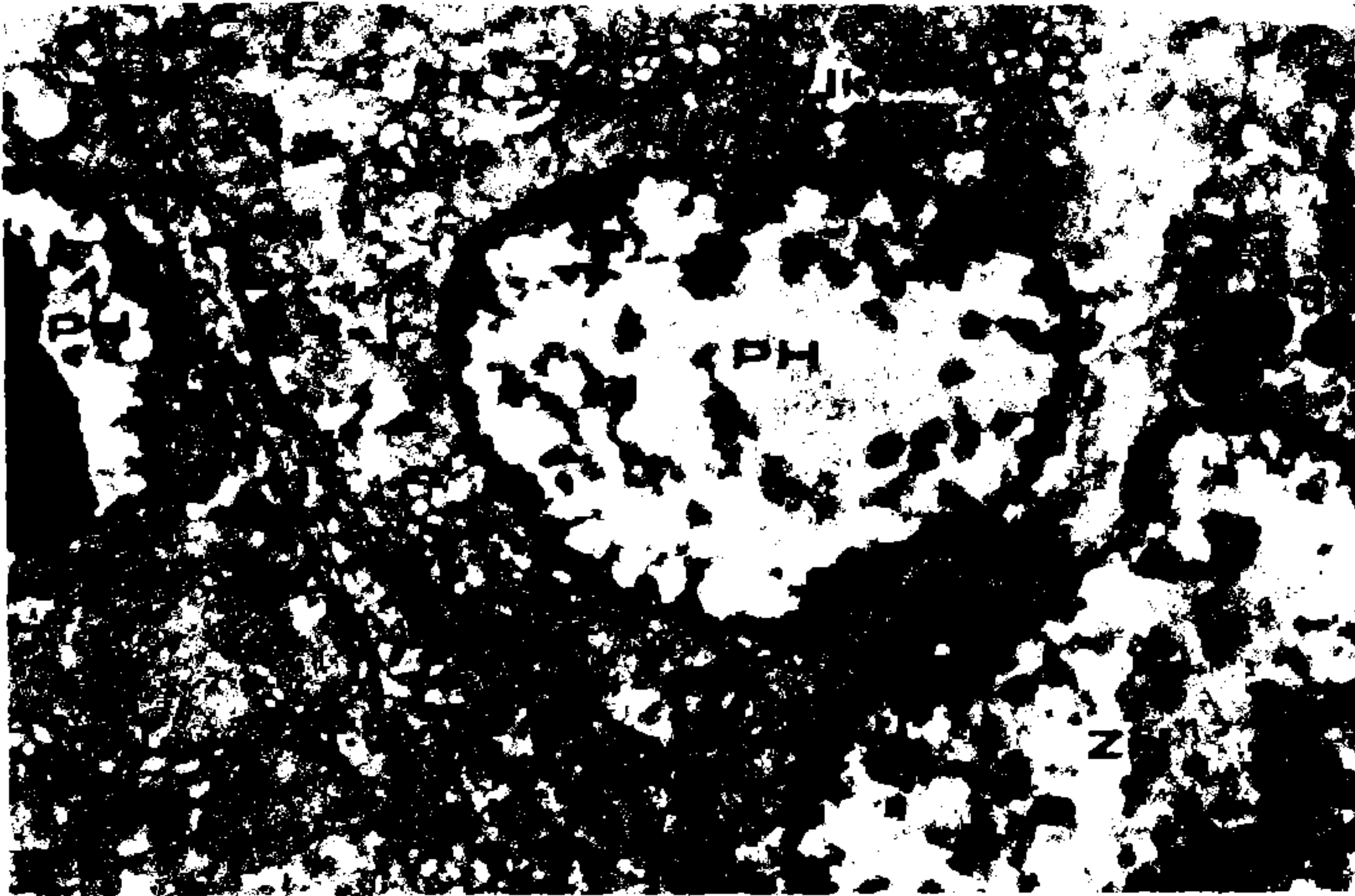
Biz de bu literatür verilerine paralel olarak salgı granüllerinden zengin zimogen hücrelere 17 günlük sıçanlarda rastladık (Resim IVb, VII).

Yapılmış çalışmalarda parietal hücrelerin ilk olarak 19 günlük sıçan embriyosunda ortaya çıktığı ve primitif parietal hücreler diye isimlendirildiği görülmektedir. Gelişmenin seyri sırasında Hidroklorik asit sekresyonu için gerekli olan intraselüler kanalcık sisteminin belirgin olarak farklılaştığı bildirilmiştir (3,5).

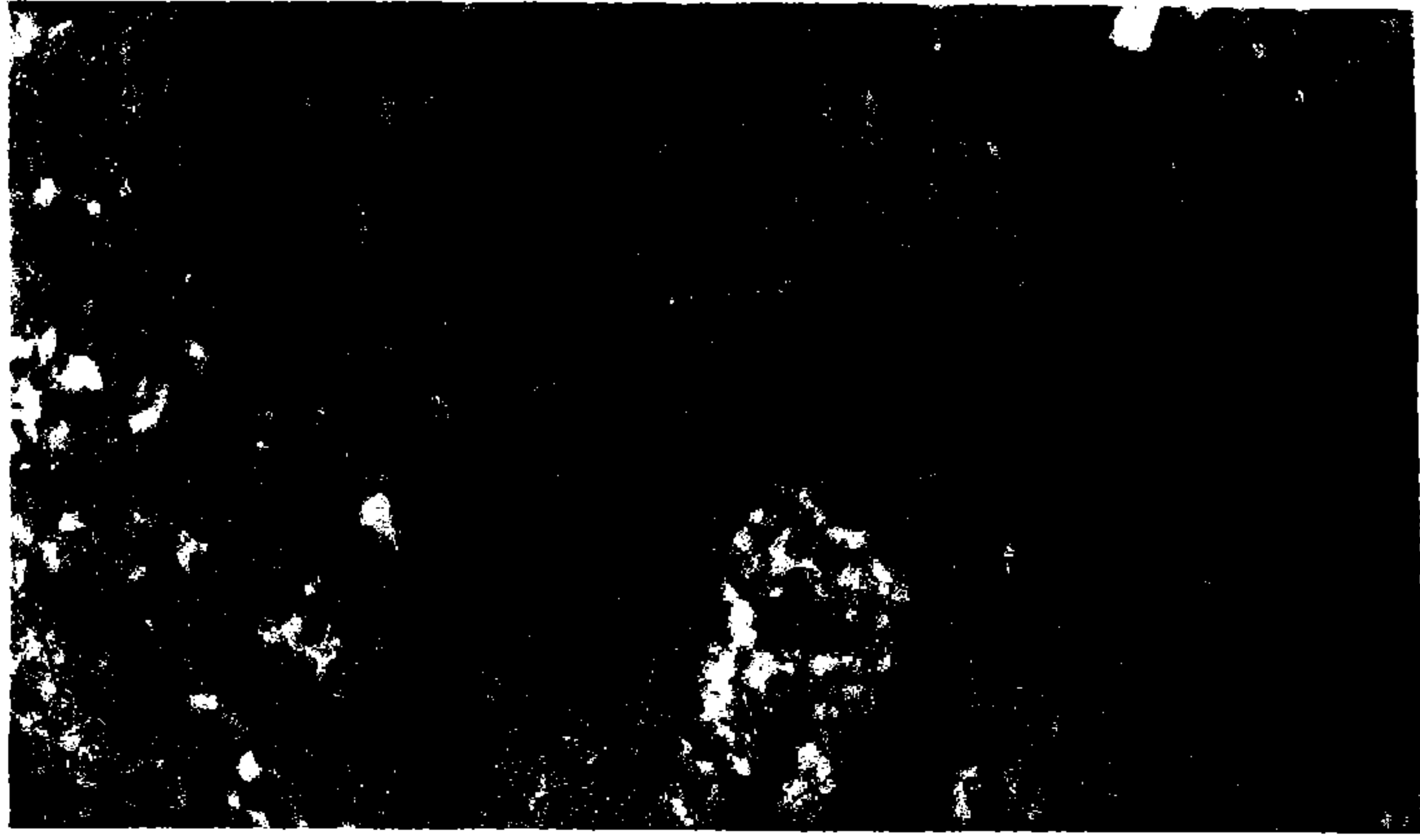
Helander, H.F (3) isimli araştırmacı prenatal ve postnatal sıçanların gelişim esnasında gastrik

parietal hücrelerinin fonksiyonlarını ve ultrastrüktürel özelliklerini incelemiştir. Yaptığı çalışmada postnatal 10 günlük sıçanlarda gastrik pH'nın 5,3'den 2,7'ye düştüğünü göstermiştir. Biz de bu çalışmamızda 10 günlük sıçanların parietal hücrelerinde gelişimin ilerlediğini yansıtır ultrastrüktürel bulgulara rastladık (Resim VI).

Yapılmış çeşitli histokimyasal ve enzimatik çalışmalarda sıçanların parietal hücrelerindeki karbonik anhidraz aktivitesi ilk olarak embriyonik evrenin 19.cu gününde saptandığı, 20.ci günde ortalama 98 olan değer doğumdan sonra 10.cu güne



RESİM VI. 10 günlük sıçan Fundus bezlerinden Parietal hücreler ve bir Esas hücre gözlenmekte. Elektronmikrograf: X 10.000



RESİM VII. 17 günlük sıçanların bezlerine ait parietal ve esas hücreleri görülmekte. Ok: Tubulo-vesiküler yapılar. Elektronmikrograf.X10.000

kadar 415'e yükseldiği, erişkinler de ise bu değerlerin ortalama 620 olduğu görülmüştür (2,3,4). Biz de çalışmamızda bu literatür verilerine paralel olarak 17 günlük sıçanların parietal hücrelerindeki sekret kapillerlerinin çok derin ve mikrovilluslardan zengin olarak gözleyebildik (Resim VII).

Farklılaşma sırasında parietal hücrelerde mitokondri sayısında gelişim sürecine bağlı olarak sayıca artış gösterilmiştir. Bir çalışmada gastrik parietal hücrelerdeki mitokondrionların sitoplazmadaki yüzde oranları zimogen hücrelere kıyaslandığında doğumdan 3 gün sonraki sıçanlarda parietal hücrelerde 3 katı fazla bulunmuştur (4). Bu çalışmada parietal hücrelerdeki mitokondrionlar doğumdan hemen sonra ortalama % 19,7 iken zimogen hücrelerde %9,5;5 ve 10 günlüklerdeki parietal hücrelerde % 35,6 iken zimogen hücrelerde % 10,9; erişkinlerdeki parietal hücrelerde ise % 42,9 iken zimogen hücrelerde % 4,8 kadar bulunmuştur. Bu çalışmada postnatal dönemde yaş ilerledikçe fonksiyona bağlı olarak parietal hücrelerde mitokondri sayısının arttığı zimogen hücrelerde ise azaldığı vurgulanmıştır. Biz de çalışmamızda 17 günlük gruptaki parietal ve

zimogen hücrelerin mitokondri dağılımının literatür verilerine uygunluk gösterdiği sonucuna vardık (Resim VII).

Sıçanın gastrik fizyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda gastrik fonksiyonu regüle eden mekanizmaların değerini anlamak için neonatal gelişimde gastrin hücreleri çeşitli histokimyasal tekniklerle incelenmiştir (6,8). Yapılmış araştırmalar sonucunda doğumdan itibaren 21-28 günlere kadar gastrin aktivitesinin düşük değerde olduğu, 75 günlük sıçanlarda ise aktivitenin en yüksek değer kazandığı bildirilmiştir. Bu durum yeni doğmuşlarda sindirim ile ilgili bioaktivitenin erişkinlere kıyasla çok düşük olduğunu göstermektedir. Nitekim çalışmamızda yeni doğmuş 0.saatlik grupta parietal hücrelerin az sayıda mitokondrionlar ve iyi farklılaşmamış, kısa ve dar intrasellüler sekret kapillerleri içermesinden inaktif olduklarını kabul ettik (Resim V).

Yapılan bu çalışmada literatür bilgilerine paralel olarak sıçanın mide mukozasının postnatal gelişim süreci içerisinde 17.günde daha iyi farklılaştığı ve erişkine benzer morfolojik yapı özelliği kazandığı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Denker, H.V.: Cell lineage, determination and differentiation in earliest developmental stages in mammals. *Bibliothca Anat.* 24:22-58, 1983.
2. Furuhata, C., Iwasaki Y., Sugimura T., et al: Differentiation of pepsinogen-producing cells in the fundic and pyloric mucosa of developing rats. *Cell-Differ.* 2(3):179-89, 1973.
3. Halender H.F.: Ultrastructure and function of gastric parietal cells in the rat during development. *Gastroenterol.* 56:35-52, 1969.
4. Halender H.F.: Ultrastructure and function of gastric mucoid and zymogen cells in the rat during development. *Gastroenterology.* 56:53-70, 1969.
5. Ito, S., Schofield, G.C.: Studies on the depletion and accumulation of microvilli and changes in the tubulovesicular compartment of mouse parietal cells in relation to gastric acid secretion. *J. Cell Biol.* 63:364, 1974.
6. Johnson, L.R., Auers, D., Yuen, L.: Pentagastrin-induced stimulation of protein synthesis in the

- gastrointestinal tract. *Amer J. Physiol* 217:25-254, 1969.
7. Kataoka, K., Takeoka, Y., Furihata, C.: Immunocytochemical study of pepsinogen 1-producing cells in the fundic mucosa of the stomach in developing mice. *Cell Tissue Res.* 261:211-217, 1990.
 8. Leonard R.J.: Functional development of the stomach. *Ann. Rev. Physiol.* 44:199-215, 1985.
 9. Menard, D., Areenault, P.: Cell proliferation in developing human stomach. *Anat. Embryol.* 182:509-516, 1990.
 10. Mizuno, T., Yasugi, S.: Susceptibility of epithelia to directive influences of mesenchymes during organogenesis: Uncoupling of morphogenesis and cytodifferentiation. *Cell. Differ. Dev.* 31:151-159, 1990.
 11. Molinari E.: Anatomy of the digestive tract and external body development during the embryonic stages of the carpine (*Capra hircus*). *Anat. Histol. Embryol.* 22:123-143, 1993.
 12. Petorak, I.: *Medical Embriyoloji* (2. Baskı) Beta basım, yayın. dağıtım A.Ş. İstanbul 1986, ss.194-195.
 13. Sadler, T.W.: *Langman's Medical Embryology* (6th ed). Williams-Wilkins, London 1990, pp.239-242.
 14. Sharma R., Schumacher, U.: II histochemical characterization of carbohydrate residues during the morphogenesis of gastrointestinal and respiratory systems of *carotta carotta*. *Acta-Histochem.* 93(2): 411-432, 1992.