

Wistar Albino Farelerde Sindirim Kanalı Müsinlerinin Histokimyasal Özellikleri

HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF MUCINS IN THE GASTROINTESTINAL TRACT OF WISTAR ALBINO MICE

Mukaddes EŞREFOĞLU*, Mukadder Ayşe SELİMOĞLU**

* Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD,

** Yrd.Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Gastroenteroloji BD, ERZURUM

Özet

Çeşitli canlılarda gastrointestinal kanalın çeşitli bölgelerinden salgılanan müsinlerin histokimyasal özelliklerinin birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir. Ancak Wistar albino farelerin gastrointestinal kanalının müsin histokimyası ile ilgili yeterli araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmada Wistar albino farelerin mide, duodenum, ince barsak ve kalın barsaklarından salgılanan müsinlerin histokimyasal özellikleri incelendi. On adet erişkin farenin mide korpusundan, duodenumdan, jejunum ve ileumdan, proksimal ve distal kolondan alınan parçalar %10'luk tamponlanmış nötral formalinle fikse edildi. Dehidratasyondan sonra parafine gömülerek blokları hazırlandı. Kesilere Hematoksilin ve Eozin yanı sıra, nötral müsinleri sülfatlı ve sülfatsız müsinlerden ayıran alcian blue-PAS ve aldehide fuchsin-alcian blue boyama yöntemleri uygulandı. Genel olarak, midede nötral müsinler baskın olmakla beraber, yüzeyde az miktarda mikst ve sialomüsinler gözlemlendi. Duodenumun goblet hücrelerinde nötral, asit ve mikst müsinler izlenirken; jejunum ve ileumun goblet hücrelerinde nötral ve mikst müsinler izlendi. Duodenum, jejunum ve ileumun goblet hücrelerinde değişik oranlarda sülfatlı ve sialomüsinler bulunmaktaydı. Brunner bezleri başlıca nötral müsin içermekle beraber kanalların lümeninde az miktarda sialomüsin gözlemlendi. Proksimal ve distal kolonda kriptaların üst bölümlerinde nötral ve mikst müsinler baskınken, alt bölümlerinde sadece asit müsinler bulunmaktaydı. Kolonun kriptalarının üst bölümlerinde sülfatlı, alt bölümlerinde sialomüsinler baskındı. Müsinlerin histokimyasal özelliklerinin bölgeye spesifik fonksiyonları ile uyumlu olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Gastrointestinal sistem, Müsin, Fare

T Klin Gastroenterohepatol 2000, 11:25-35

Summary

It is showed that the histochemical features of the mucins secreted from various regions of the gastrointestinal tract were different from each others. But, there is not enough study about the mucin histochemistry of the gastrointestinal tract of Wistar albino mice. In the present study the histochemical features of the mucin secreted from stomach, duodenum, small and large intestines of Wistar albino mice were investigated. Specimens from corpus of the stomach, duodenum, jejunum, ileum, proximal and distal colon obtained from ten mice were fixed in 10% neutral buffered formalin. After dehydration, the blocks were embedded in paraffin. Beside Hematoxylin and Eosin, Alcian blue-Periodic acid-Schiff and Aldehyde fuchsin-alcian blue which differentiate neutral from sulfated and non-sulfated acid mucosubstances, were applied to sections. The histochemical properties of the mucins, secreted by the stomach, duodenum, jejunum, ileum and colon were investigated. In general, neutral mucins were predominated in the stomach, lesser amounts of mixed and sialomucins were seen in the gastric surface and foveolar epithelium. Neutral, acid and mixed mucins were demonstrated in the goblet cells of duodenum, whereas, neutral and mixed mucins in the goblet cells of jejunum and ileum. Variable amounts of sulfated and sialomucins were present in the goblet cells of duodenum, jejunum and ileum. Brunner's glands contained mainly neutral mucins, but small amounts of sialomucins were seen in the lumens of glandular ducts. The neutral and mixed mucins were predominated in the upper regions of the crypts and only acid mucins in the lower regions, in the proximal and distal colon. Sulfated mucins were predominated in the upper and sialomucins were predominated in the lower regions of the crypts in the colon. We concluded that the histochemical features of mucins are correlated with their region-specific functions.

Key Words: Gastrointestinal tract, Mucin, Mice

T Klin J Gastroenterohepatol 2000, 11:25-35

Geliş Tarihi: 23.03.1999

Yazışma Adresi: Dr.Mukaddes EŞREFOĞLU
Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD
25240, ERZURUM

Müsinler, bazı epitel ve bağ dokusu hücrelerinin sekresyon ürünüdürler. Bunlar mukosubstans, proteoglikan veya glikoprotein olarak da adlandırılırlar. Kabaca müsin, değişik miktarlarda protein ve lipid ile kovalent olarak bağlanmış heksozamin şekerinden oluşmuştur. Başlıca nötral ve asit olmak üzere iki tip müsin tanımlanmış olmakla beraber, bunların karışımından oluşan mikst müsinler ve farklı özellikte alt grupları da bulunur. Reaktif asit radikaller içermeyen müsinler nötral müsinlerdir. Asit müsinler ise kabaca sülfatlı ve sülfatsız (karboksilli veya sialomüsinler) olmak üzere iki gruba ayrılır (1). Histokimyasal olarak müsinleri saptamak ve asit müsinlerle nötral müsinleri birbirinden ayırmak için kullanılan en yararlı histolojik tekniklerden biri alcian blue-PAS (peri-yodik asid-Schiff) tekniğidir. Aldehyde fuchsin-alcian blue tekniği ise sülfatlı müsinler ile sialo-müsinleri histokimyasal olarak ayırmak için kullanılan etkin bir metoddur (1,4).

Gastrointestinal sistemde mukus üreten hücrelerin midenin mukozal yüzeyinde görülürler, ince barsaklardan kalın barsaklara gidildikçe artan miktarlarda prizmatik epitel hücreleri arasında yer alırlar (5). Müsin, hücreden salgılandıktan sonra mukozayı lüminal içeriğin yol açtığı fiziksel hasar ve bakteriyel invazyon gibi dış etkenlere karşı koruyan bir bariyer olarak hizmet eder. Bunun yanı sıra, epitel hücrelerine bağlanıp bu hücreler tarafından alınacak olan maddeleri seleksiyona tabii tutar, epitelial hidrasyonu regüle eder ve antikor ve antitoksin etkisi oluşturmak üzere sekretuar İmmunglobulin A ile etkileşir (6,7). Çeşitli patolojik ve deneysel koşullarda gastrointestinal sistemden salgılanan müsinlerin kimyasal yapısı değişmektedir (3). Barsak epitel hücreleri, hücre farklılaşması ve karsinogenez sırasında farklı tür glikoproteinler salgılamaktadırlar (8). Son yıllarda duodenum, jejunum, ileum ve kalın barsağı ilgilendiren premalign ve malign lezyonlarda müsin histokimyasının değiştiği saptanmıştır (8-10). Bu nedenle müsin histokimyası günümüzde gastrointestinal sistemin premalign ve malign lezyonlarının erken teşhisinde kullanılan kolay ve etkili bir metottur (9).

İnsan dahil çeşitli canlılarda gastrointestinal sistemin değişik anatomik segmentlerinden ve bu segmentlerin farklı seviyelerinden salgılanan

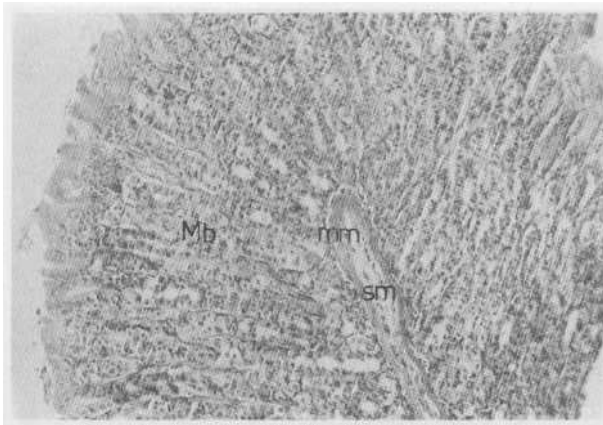
müsinlerin histokimyasal özelliklerinin birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir (8,11-14). Ancak Wistar albino farelerin gastrointestinal sisteminin müsin histokimyası ile ilgili yeterli araştırma bulunmamaktadır. Çalışmamızda Wistar albino farelerin gastrointestinal sisteminin çeşitli anatomik segmentlerinden salgılanan müsinlerin histokimyasal özelliklerini incelemeye ve müsin histokimyasındaki olası değişiklikleri fonksiyonel yönden açıklamaya çalıştık.

Materyel ve Metod

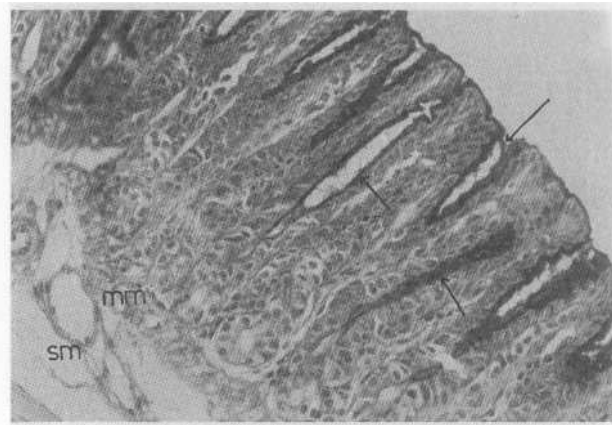
Çalışmamızda T.C. Tarım Bakanlığı Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü hayvan laboratuvarlarından alınan beş erkek beş dişi olmak üzere, toplam on adet Wistar albino fare kullanıldı. Laboratuvar pelleti ile beslenen 8-10 haftalık erişkin fareler ortalama 40-45 gram ağırlığındaydı. Eter anestezisini takiben göğüs ve karın boşluğu açılarak mide korpusundan, duodenumdan, jejunum ve ileumdan, proksimal ve distal kolondan parçalar alındı. Örnekler %10'luk tamponlanmış nötral formalinle fikse edildi. Dehidratasyondan sonra parafine gömülerek blokları hazırlandı. Parafin bloklardan yapılan 3-4 mikrometrelik kesitlere genel histolojik yapıyı incelemek amacı ile hematoksilin-eozin (H-E) boyama yöntemi uygulandı. Müsinleri belirlemek ve nötral ve asit müsinleri ayırmak amacı ile alcian blue-pH2.5--PAS, sülfatlı ve sülfatsız müsinleri ayırmak amacı ile aldehyde fuchsin-alcian blue-pH2.5 boyama yöntemleri uygulandı. Alcian blue-PAS yöntemiyle asit müsinler mavi, nötral müsinler kırmızı ve mikst müsinler mor renkte boyanarak belirlenir (1-4). Aldehyde fuchsin-alcian blue tekniği ile kuvvetle sülfatlı müsinler koyu mor, zayıf sülfatlı müsinler mor ve sialomüsinler mavi renkte boyanarak belirlenir (1). Bu yöntemlerle boyanan preparatlar C-35 AD-2 Olympus marka fotomikroskopla incelenerek fotoğraflandı.

Bulgular

H-E boyama yöntemi ile midenin lümenine bakan yüzünün tek katlı basit prizmatik epitel dōşeli olduğu gözlemlendi. Lamina propria da tubuler mide bezleri yer almaktaydı. Bağ dokusu bu bezler arasında ince bölümler şeklinde izlenmekteydi. Bezlerin muskularis mukozaya yakın derin bölüm-



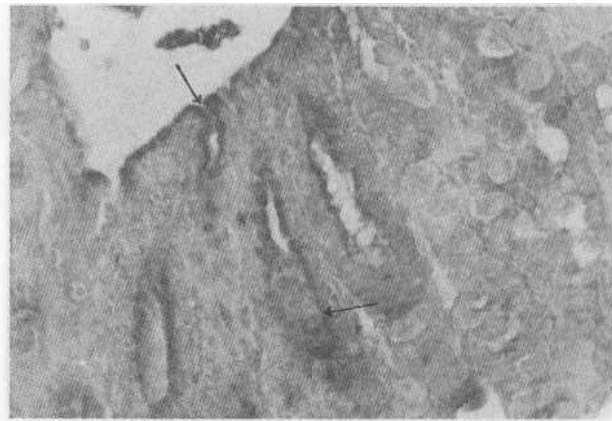
Şekil 1. Dişi fare midesine ait fotomikrograf. Lümeneye bakan yüzeyde tek katlı prizmatik epitel izlenmektedir; Mb: Lamina propria'da yer alan tubuler mide bezleri; mm: Lamina muskularis mukoza; sm: Lamina submukoza. H-E, Orjinal Büyütme(O.B), X10.



Şekil 2. Erkek fare midesine ait fotomikrograf. Tek oklar: lümeneye bakan yüzeyde, foveolaların yüzeyinde, bezlerin lümeninde kırmızı, yer yer mor renkte boyanan sekresyon ürünü; mm: Lamina muskularis mukoza; sm: Lamina submukoza. Alcian blue-PAS, O.B.X20.



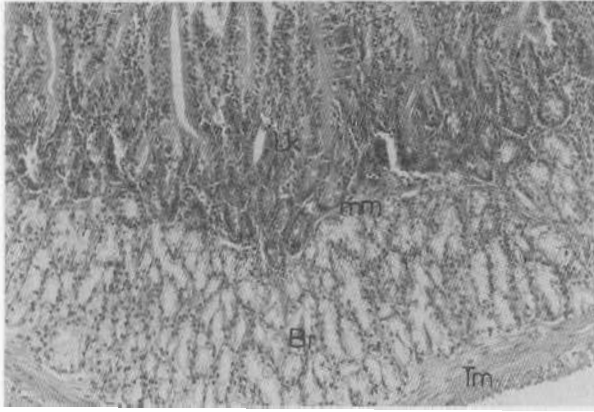
Şekil 3. Dişi fare midesine ait fotomikrograf. gr: mide bezlerinin boyun mukus hücrelerinin apikal sitoplazmalarında PAS ile kırmızı boyanan granüller; tek oklar: bez lümeninde kırmızı veya mor boyanan sekresyon ürünü; ok başı: bez epitelileri altında izlenen PAS pozitif bazal membranlar. Alcian blue-PAS, O.B.X20.



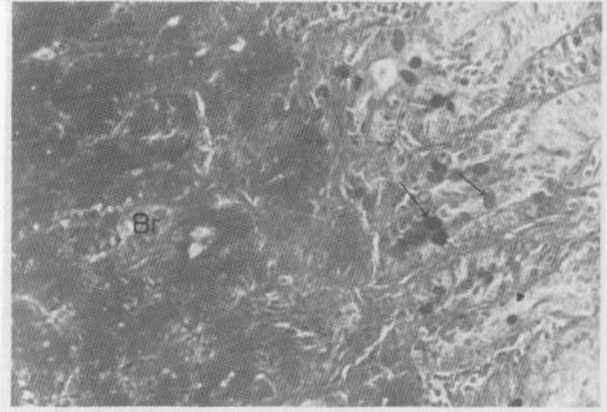
Şekil 4. Erkek fare midesine ait fotomikrograf. Tek oklar: lümeneye bakan yüzeyde, faveolaların yüzeyinde ve bezlerin lümeninde mavi boyanan sekresyon ürünü. Aldehyde fuchsin-Alcian blue, O.B.X20.

lerinin epitel hücrelerinde mitoz figürlerine rastlandı. Lamina propria altında muskularis mukozanın kesintisiz uzandığı izlendi. Submukozanın altında oblik, sirküler ve longitudinal seyirli kas liflerini içeren tunika muskularis bulunmaktaydı (Şekil 1). Alcian blue-PAS yöntemi ile lümen ve foveolaların yüzeyinde kırmızı, yer yer mor boyanan sekresyon ürünü izlendi. Parietal hücrelerde ve esas hücrelerde spesifik bir boyanma

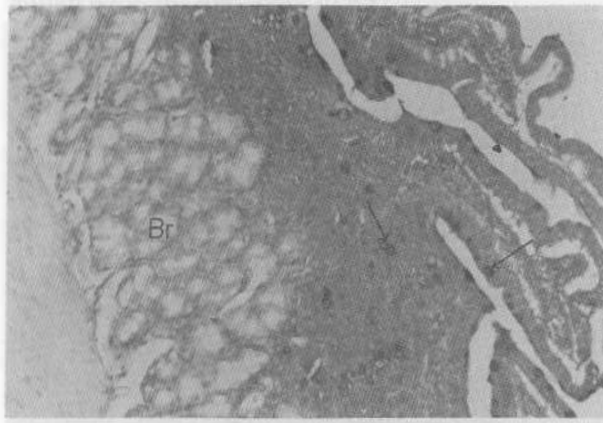
gözlenmedi. Bez lümeninde ise kırmızı, yer yer mor boyanan sekresyon ürünü gözlemlendi. Bazal membran PAS pozitif olarak boyandı (Şekil 2,3). Aldehyde fuchsin-alcian blue boyama yöntemi ile mide genel olarak soluk mavi renkte boyandı. Lümeneye bakan yüzde, foveolaların yüzeyinde ve bazı bezlerin yüzeye yakın bölümlerinin lümenlerinde mavi renkte sekresyon ürünü izlendi (Şekil 4).



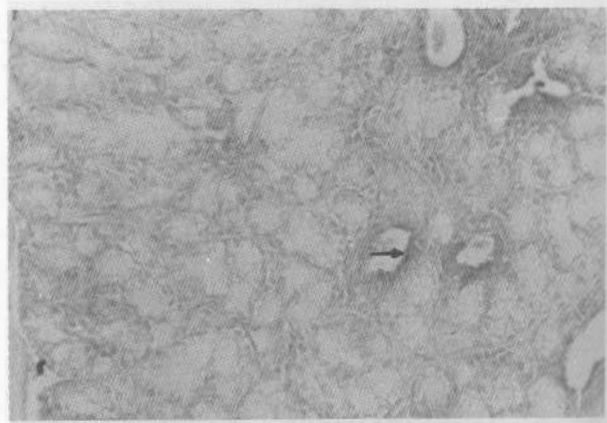
Şekil 5. Dişi fare duodenumuna ait fotomikrograf. Lk: Lamina propriada yer alan Lieberkühn kriptaları; mm: Lamina muskularis mukoza; Br: Lamina submukozada yer alan Brunner bezleri; Tm: tunika muskularis. H-E, O.B.X10.



Şekil 6. Erkek fare duodenumuna ait fotomikrograf. Tek oklar: kriptalarda genellikle kırmızı veya mor renkte izlenen goblet hücreleri. Br: asinüsleri ve kanalları kırmızı renkte boyanan Brunner bezleri; ok başı: PAS pozitif boyanan bazal membran. Alcian blue-PAS, O.B. X20.



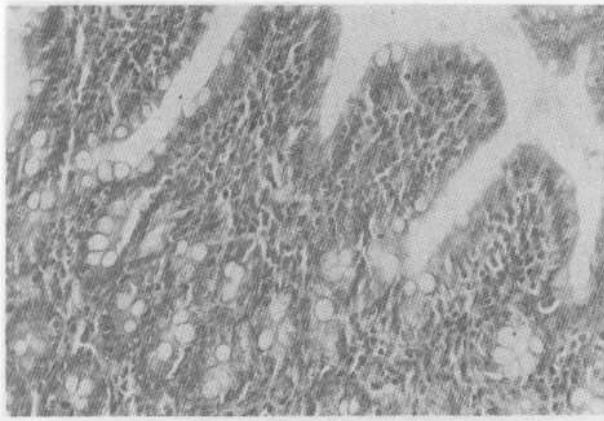
Şekil 7. Dişi fare duodenumuna ait fotomikrograf. Tek oklar: yüzeyde ve kriptalarda genellikle açık veya koyu mavi, yer yer mor renkte boyanan goblet hücreleri; Br: bu yöntemle spesifik olarak boyanmayan Brunner bezlerinin asinüsleri; ok başı: mavi veya yer yer mor renkte izlenen çizgili kenar; Tm: tunika muskularis. Aldehyde fuchsin-Alcian blue, O.B.X10.



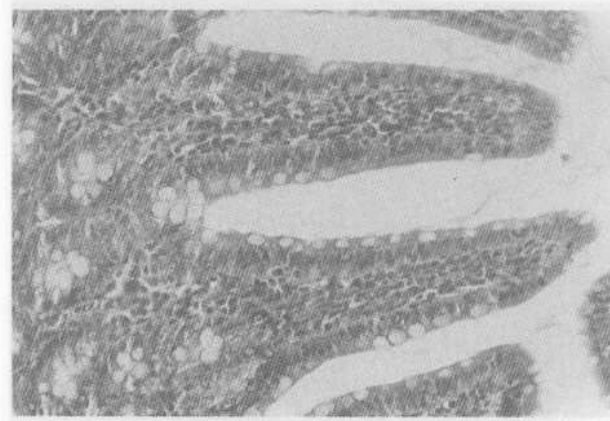
Şekil 8. Erkek fare duodenumuna ait fotomikrograf. Tek ok: Brunner bezlerinin kanallarının bazılarında mavi boyanan sekresyon ürünü. Aldehyde fuchsin-Alcian blue, O.B.X20.

H-E boyama yöntemi ile tek katlı çizgili kenarlı pirizmatik epitel ile döşeli duodenumun, epitel ve lamina propriadan oluşan yaprak şeklinde villuslar içerdiği gözlemlendi. Lamina propriada Lieberkühn kriptaları bulunmaktaydı. Yüzey epitelinin pirizmatik hücreleri ve bez epitelinin diğer hücreleri arasında, bu yöntemle apikal sitoplazmaları soluk boyanmış seyrek goblet hücreleri izlendi. Muskularis mukoza belirgindi. Geniş olan submukoza katında soluk boyanan müköz asinüs-

leri ve boşaltma kanallarını içeren duodenum bezleri (Brunner bezleri) yer almaktaydı (Şekil 5). Alcian blue-PAS yöntemi ile duodenumda yüzeyde ve kriptalarda goblet hücreleri genellikle kırmızı veya mor, yer yer mavi renkte izlendi. Brunner bezlerinin asinüsleri ve kanalları kırmızı renkte boyandı. Asinüs hücrelerinin sitoplazmalarında genellikle kırmızı, kanalları döşeyen epitel hücrelerinin sitoplazmalarında ise genellikle mor renkte granüller izlendi (Şekil 6). Çizgili kenar ise



Şekil 9. Dişi fare jejunumuna ait fotomikrograf. Kısa ve kalın villusların yüzey ve Lieberkühn kriptalarının bez epitelinde yer alan goblet hücreleri soluk izlenmekte. H-E, O.B.X20.



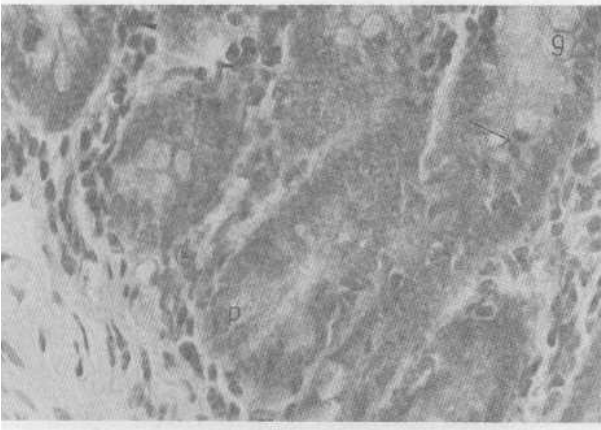
Şekil 10. Dişi fare ileumuna ait fotomikrograf. İnce ve uzun villusların yüzey ve Lieberkühn kriptalarının bez epitelinde yer alan goblet hücreleri soluk boyanmış. H-E, O.B.X20.

mor veya yer yer kırmızı renkte idi. Bu yöntemle bazal membranlar PAS pozitif gözlemlendi. Aldehyde fuchsin-alcian blue yöntemi ile duodenumun goblet hücreleri genellikle açık veya koyu mavi, yer yer mor renkte boyandılar. Ancak bu hücrelerden bazıları boyanmadı. Aynı şekilde Brunner bezlerinin asinüsleri de bu yöntemle spesifik olarak boyanmadı. Bu bezlerden bazılarının lümeninde mavi boyanan sekresyon ürünü izlendi. Epitel yüzeyinde çizgili kenar mavi veya yer yer mor renkte belirdi (Şekil 7,8).

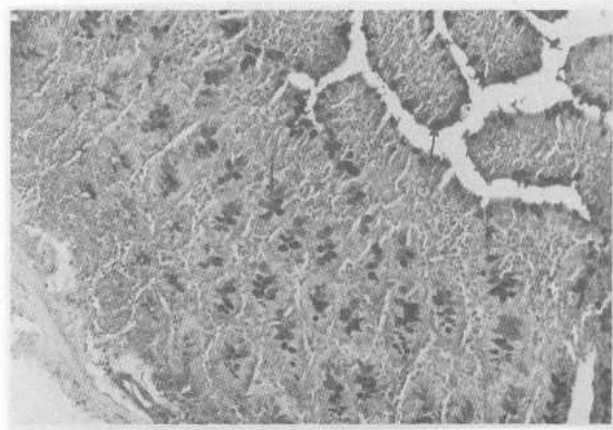
H-E boyama yöntemi ile jejunum ve ileumun çizgili kenarlı tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olduğu izlendi. Epitel ve lamina propriada oluşan villuslar jejunumda kalın, ileumda daha ince, parmak şeklindekiydi. Lamina propriada izlenen Lieberkühn kriptalarının özellikle derinlerinde epitel hücrelerinde sık mitoz figürlerine rastlandı. Yüzey epitelinde ve Lieberkühn kriptalarında apikal sitoplazması soluk boyanan çok miktarda goblet hücresi bulunmaktaydı. Lamina proprianın bağ dokusu içinde bol eozinofil granülosit yer almaktaydı. Lieberkühn kriptalarının diplerinde soluk sitoplazmaları granüllü izlenen piramidal şekilli Paneth hücreleri izlendi. Muskularis mukoza ve submukoza inceydi. Tunika muskularis içte sirküler, dışta longitudinal seyirli düz kas hücrelerinden oluşmuştu (Şekil 9,10,11). Alcian blue-PAS yöntemi ile ince barsaklarda çizgili kenar genellikle, kırmızı veya mor olmak üzere farklı renkte boyanan iki tabaka şeklinde izlendi. Goblet

hücreleri villuslarda mor, kriptalarda ise kırmızı veya mor renkte boyandı. Bu yöntemle bazal membranlar PAS pozitif olarak belirdiler. Bu şekilde yüzey ve bez epitelinin altında ve kaslar çevresinde PAS pozitif bazal membranlar izlendi (Şekil 12,13). Aldehyde fuchsin-alcian blue boyama yöntemi ile jejunum ve ileumda goblet hücreleri villuslarda mavi veya mor, kriptalarda ise açık veya koyu mavi renkte boyandılar. Bazılarının içeriği boyanmamıştı, şeffaf görünümdeydi. Kriptaların lümeninde ve epitel yüzeyinde mavi renkte sekresyon ürünü gözlemlendi. Bezlerin dip bölümlerinde yer alan Paneth hücrelerinin sitoplazmaları bu yöntemle soluk boyanmıştı. Jejunum ve ileum arasında fazla bir farklılık görülmemekle beraber, ileuma gidildikçe genel olarak mavi boyanan goblet hücrelerinin hakim olduğu izlendi (Şekil 14,15).

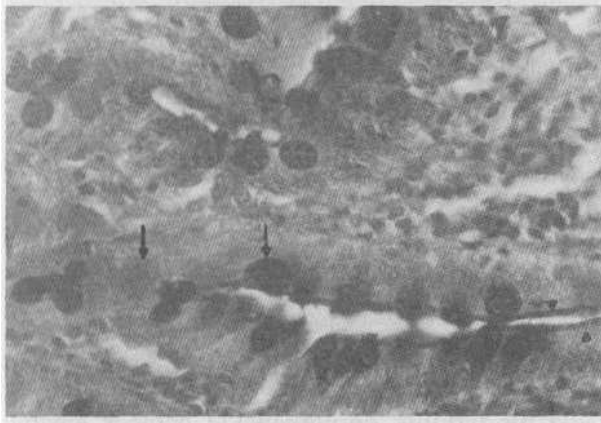
H-E boyama yöntemi ile, tek katlı çizgili kenarlı prizmatik epitel ile döşeli kalın barsağın villus içermediği izlendi. Lamina propriada yer alan Lieberkühn kriptalarının derinlerinde, ince barsakta olduğu gibi bol mitoz figürleri gözlemlendi. Çok miktarda goblet hücresi bulunduran kriptalarda Paneth hücrelerine rastlanmadı. Muskularis mukoza belirgin ve tunika muskularis kalındı (Şekil 16). Alcian blue-PAS yöntemi ile proksimal ve distal kolonda çizgili kenar mavi, yer yer mor renkte boyandı. Proksimal ve distal kolonda kriptaların yüzeye yakın bölümlerinde yer alan goblet hücreleri ile derinlerde bulunan goblet hücrelerinin histokimyasal özellikleri birbirinden çok farklıydı.



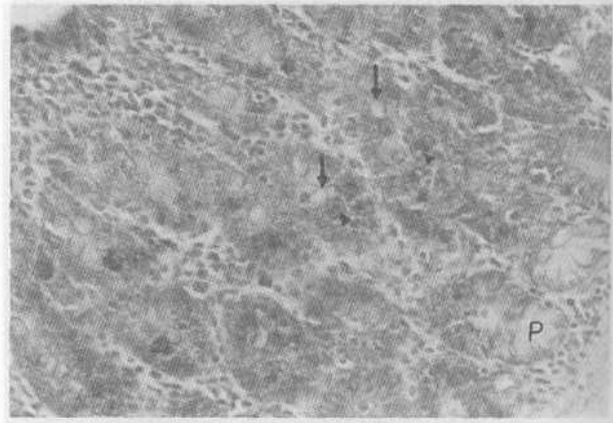
Şekil 11.Dişi fare jejenumuna ait fotomikrograf. Tek ok: Lieberkühn kriptalarının derinlerinde epitel hücrelerinde sık rastlanan mitoz figürleri; g: kriptalarda çok miktarda izlenen goblet hücreleri; ok başı: Lamina propriada yer alan eozinofil granülositler; p: Lieberkühn kriptalarının dibinde yer alan piramidal şekilli Paneth hücreleri. H-E, O. B.X40.



Şekil 12.Erkek fare jejenumuna ait fotomikrograf. Tek oklar: villuslarda mor, kriptalarda ise kırmızı veya mor renkte boyanan goblet hücreleri. Alcian blue-PAS, O. B.X10.



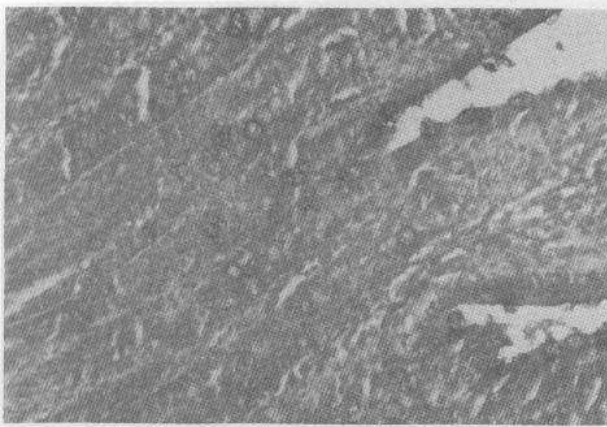
Şekil 13.Dişi fare ileumuna ait fotomikrograf. Ok başları: genellikle, kırmızı veya mor olmak üzere farklı renkte boyanan iki tabaka şeklinde izlenen çizgili kenar; tek oklar: Lieberkühn kriptalarında yer alan, kırmızı veya mor renkte boyanan goblet hücreleri. Alcian blue-PAS, O. B.X40.



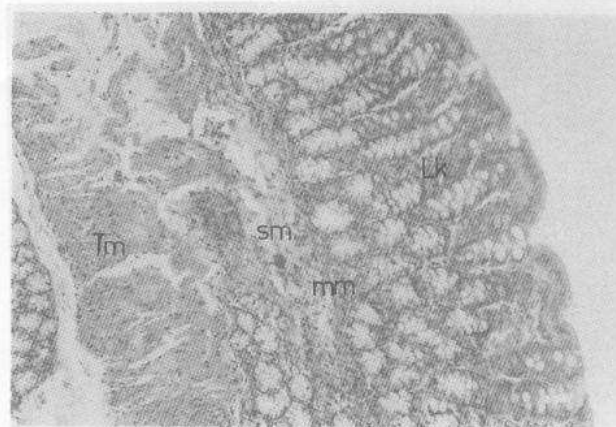
Şekil 14.Erkek fare jejenumuna ait fotomikrograf. Ok başları: kriptalarda mavi renkte boyanmış goblet hücreleri; tek oklar: içeriği boyanmamış goblet hücreleri; p: bezlerin dip bölümlerinde yer alan Paneth hücreleri. Aldehyde fuchsin-alcian blue, O.B.X20.

Proksimal kolonun yüzeyini döşeyen ve yüzeye yakın kripta bölümlerinde bulunan goblet hücrelerinin kırmızı, yer yer mor; bezlerin derinliklerinde hemen hemen tamamen mavi renkte boyandığı görüldü. Distal kolonda ise kriptaların yüzeyinde goblet hücreleri genellikle kırmızı, derinde mavi, bazen mor renkte boyandı. Bazal membranlar PAS pozitif olarak izlendi (Şekil 17,18). Aldehyde fuchsin-alcian blue boyama yöntemi ile

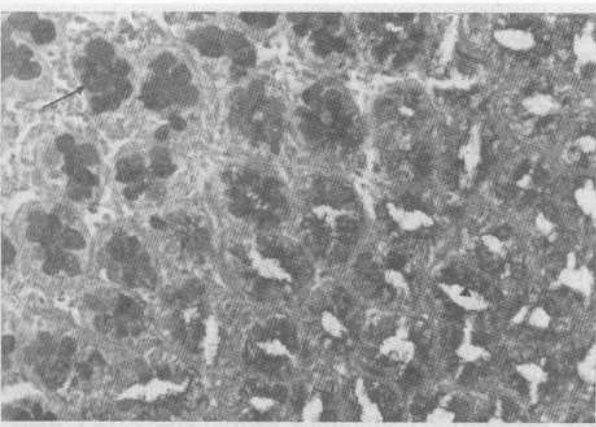
çizgili kenar proksimal ve distal kolonda mavi renkte izlendi. Proksimal kolonda yüzeydeki ve kriptaların yüzeye yakın bölümlerindeki goblet hücreleri daha çok mor, derindekiler ise mavi veya mor renkte boyandı. Distal kolonda ise yüzeyde ve derinde yer alan goblet hücreleri genellikle mor renkte boyandılar. Bu yöntemle her iki segmentte de boyanmamış şeffaf goblet hücrelerine rastlandı (Şekil 19,20).



Şekil 15.Erkek fare ileumuna ait fotomikrograf. Yüzey epitelinde ve kriptalarda daha çok mavi renkte boyanmış goblet hücreleri izlenmektedir. Aldehyde fuchsin-alcian blue, O.B.X20.



Şekil 16.Dişi fare distal kolonuna ait fotomikrograf. Yüzeyde villus gözlenmemekte; Lk: Lamina propriada izlenen, çok miktarda goblet hücreleri içeren Lieberkühn kriptaları, mm: Lamina muskularis mukoza, sm: Lamina submukoza; Tm: tunika muskularis. H-E, O.B.X10.



Şekil 17.Erkek fare proksimal kolonuna ait fotomikrograf. Tek ok: yüzeyde ve lamina proprianın yüzeye yakın bölümlerinde yer alan kırmızı, yer yer mor boyanan goblet hücreleri; ok başı: hemen hemen tamamen mavi renkte boyanmış derinde yer alan goblet hücreleri. Bazal membranlar PAS pozitif olarak izlenmektedir. Alcain blue-PAS, O.B.X20.



Şekil 18.Erkek fare distal kolonuna ait fotomikrograf. Tek ok: Lieberkühn kriptalarının yüzeye yakın bölümlerinde yer alan, hemen hemen tamamen kırmızı boyanan goblet hücreleri, ok başı: derinde yer alan ve mavi veya mor boyanmış goblet hücreleri; mm: Lamina muskularis mukoza. Alcain blue-PAS, O.B.X20.

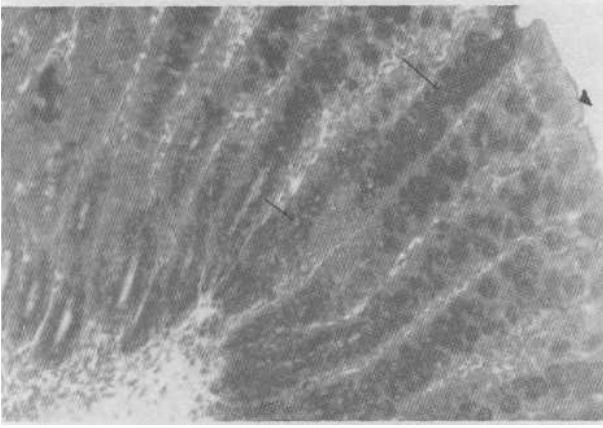
Erkek ve dişi fareler arasında müsin histokimyası yönünden önemli bir farklılık saptanmadı.

Tartışma

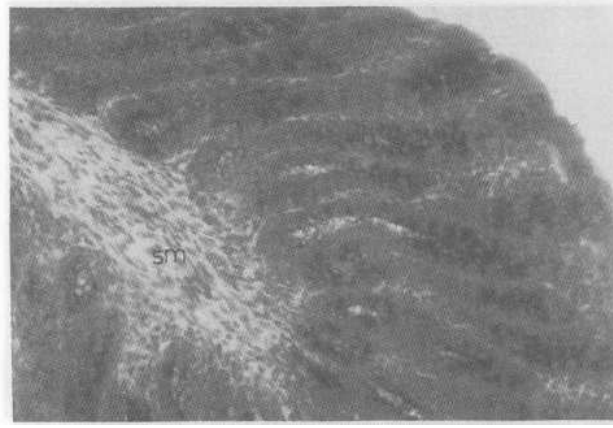
Çeşitli canlıların gastrointestinal sistemlerinden salgılanan müsinlerin histokimyasal özelliklerinin birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir (2). Ayrıca, aynı canlıda gastrointestinal sistemin

farklı anatomik bölümlerinde ve bu bölümlerin farklı histolojik alanlarında müsin yapısı değişmektedir (2,8,11-14). Biz de çalışmamızda, deney hayvanı olarak kullandığımız Wistar albino farelerin gastrointestinal sistemi boyunca histokimyasal özellikleri farklı olan müsinleri saptadık.

İnsanda mide lümenine salgılanarak mukozayı asidin zararlı etkilerinden koruyan nötral müsinler baskındır (2,15,16). Bununla birlikte mide mukozası



Şekil 19.Dişi fare proksimal kolonuna ait fotomikrograf. Ok başı: mavi renkte boyanmış çizgili kenar; tek ok: Lieberkühn kriptalarının yüzeye yakın bölümlerinde mor renkte boyanmış goblet hücreleri; çift ok: Lieberkühn kriptalarının derinlerinde mavi veya mor renkte boyanmış goblet hücreleri. Aldehyde fuchsin-alcian blue, O.B.X10.



Şekil 20.Dişi fare distal kolonuna ait fotomikrograf. Yüzeyde ve Lieberkühn kriptalarında yer alan mor boyanmış goblet hücreleri izlenmekte; sm: Lamina submukoza. Aldehyde fuchsin-alcian blue, O.B.X10.

sının müsin içeriği kaynaklarda farklı bildirilmiştir (16-18). Bazı kaynaklar az orandaki sialomüsin yapısındaki asit müsinlerin foveolalarda ve boyun mukus hücrelerinde bulunduğunu, ancak sulfomüsin bulunmadığını bildirirken (2,15); klasik kaynaklardan bazıları yüzey mukus hücrelerinin başlıca nötral, boyun mukus hücrelerinin ise asit müsin içerdiğini belirtmektedir (16,17). Boyun mukus hücrelerinin başlıca nötral müsin, az oranda da sülfatlı müsin içerdiğini bildiren klasik kaynaklar da vardır (18). Farede de genel olarak midede baskın olan müsin tipi nötral müsinlerdir. Midenin yüzey mukus hücreleri PAS pozitif boyanan nötral müsinleri içerir (19). Bezlerin boyun mukus hücreleri de nötral müsinler içerir. Asit müsinler sadece kardiyada yüzeyde ve bezlerin derin bölümlerinin epitelinde sialomüsinler şeklinde, antrum bezlerinde ise sulfomüsinler şeklinde izlenmiştir (2). Biz de çalışmamızda mide korpusunda baskın olan müsin tipinin PAS pozitif boyanan nötral müsinler olduğunu saptadık. Alcian blue-PAS yöntemi ile, PAS ile kırmızı boyanan nötral müsinler dışında, mor renkte boyanan müsinlere de rastladık. Bu nedenle fare midesinde sadece nötral müsinlerin değil, yer yer nötral ve asit müsinlerden oluşan ve bu yöntemle mor renkte boyanan mikst müsinlerin de bulunduğu sonucuna vardık. Nitekim aldehyde fuchsin-alcian blue boyama yöntemi uyguladığımızda, sialomüsin yapısındaki asit

müsinlerin yüzeyde, foveolalarda ve bazı bezlerin yüzeye yakın apikal bölümlerinin lümeninde mavi renkte boyanarak belirlediğini gördük.

Barsak müsinleri goblet hücreleri tarafından sentezlenen, depo edilen ve salgılanan büyük, negatif yüklü glikoproteinlerdir (7). Duodenum yüzey epitelinde ve kriptalarda izlediğimiz goblet hücreleri kırmızı, mor ve yer yer mavi sekresyon ürünü içerdiğinden dolayı, bu hücrelerin nötral, asit veya mikst müsinleri salgıladıklarına karar verdik. Alcian-blue-aldehyde-fuchsin yöntemi ile hücrelerin asit mukus içeriğinin mavi renkte boyanan sialomüsinler olduğu sonucuna vardık. Ancak yer yer mor renkte sekresyon ürünü içerdiklerinden dolayı, bir miktar sülfatlı müsin salgıladıklarını da düşündük. Nitekim farede bütün ince barsaklar boyunca villus ve kriptalardaki goblet hücrelerinin başlıca nötral müsinleri içerdiği gösterilmiştir. Bu hücrelerin az miktardaki asit müsin içeriğinin başlıca sulfomüsin yapısında olduğu saptanmıştır (2). İçerikleri bu yöntemle boyanmamış olan goblet hücreleri ise, sadece nötral müsinleri içeren hücrelerdir. Brunner bezlerinin alkalen mukus üretmek duodenum mukozasını mide asidinin zararlı etkilerinden koruduğu bilinmektedir (16,17). İnsan, keçi, köpek ve sıçanda bu bezler sadece nötral müsinleri içerirler (2). Biz de asinüs ve kanalları PAS pozitif olarak izlediğimizden dolayı bu bezlerden

salgılanan müsinin başlıca nötral müsin olduğu sonucuna vardık. Nitekim Alcian-blue-aldehyde-fuchsin boyama yöntemi ile Brunner bezleri spesifik olarak boyanmadı. Ancak bazı kanalların lümeninde mavi boyanmış sekresyon ürünü izlendi. Bu da kanal lümeninde silaomüsin yapısında asit müsinlerin bulunduğu göstergesidir. Nitekim Sheahan ve ark. (2), farede Brunner bezlerinin kanallarında, hemen kriptalara açılmadan önce sialomüsin ve sulfomüsin yapısında asit müsinleri gözlemişlerdir. Çalışmamızda bu kanallarda sadece mavi renkte boyanmış sialomüsinleri izledik. Kanımızca kanal lümeninde sülfatlı müsin bulunmamaktadır. Obuoforibo (20) ise bizim çalışmamızla uyumlu olarak Brunner bezlerinin asinüslerini ve kanallarını PAS pozitif olarak izlemiştir. Aynı araştırmacı bu bezlerde nötral mukopolisakkaritlere ilaveten sialomüsin yapısında asit müsinleri de saptamıştır.

Çalışmamızda jejenum ve ileumda çizgili kenarda nötral ve mikst müsinlerin bulunduğunu izledik. İnce barsakta çizgili kenar bu boyama yöntemi ile genellikle bizim çalışmamızda olduğu gibi iki tabakalı izlenmiştir. Derinde yer alan iç tabakada nötral, lümene yakın dış tabakada ise asit müsinlerin baskın olduğu gözlenmiştir (2). Çalışmamızda villuslarda daha çok mikst, kriptalarda ise nötral ve mikst müsinlerin bulunduğunu izledik. Farelerde ileum ve jejenumda villus ve kriptalarda genel olarak nötral müsinlerin baskın olduğu gösterilmiştir (2). Çalışmamız sonucunda villusların asit müsin içeriğinin sülfatlı veya sialomüsin, kriptaların ise sialomüsin yapısında olduğuna karar verdik. Sheahan ve ark. (2), farelerde bütün goblet hücrelerinde çok miktarda sulfomüsin bulunduğunu, sialomüsin oranının çok az olduğunu göstermişlerdir. Kanımızca bu yöntemle şeffaf olarak izlenen goblet hücreleri de nötral müsin içeren hücrelerdir. İnsanda ince barsak goblet hücreleri başlıca nötral müsin içerir, asit müsin içeriği ise sialomüsin yapısındadır, sülfatlı müsin içermez. Ayrıca insanda, villus ve kriptaların farklı seviyelerinde yerleşmiş olan goblet hücreleri farklı tür müsinler salgılamaktadır. Örneğin villus tepesine doğru sialomüsinler artmaktadır (8). Çalışmamızda fare ince barsağında da bu tür değişiklikleri izledik. Jejenumdan ileuma gidildikçe genel olarak sialomüsinlerin hakim olduğu gözlemlendi. Villuslarda sialomüsinlerin baskın olduğu, kripta-

larda ise sadece sialomüsinlerin bulunduğu rapor edilmiştir (2). Sülfatlı ve sialomüsin oranı sıçanlarda da mideden kolona doğru gidildikçe değişmektedir (11,12).

Kalın barsakta çizgili kenarda asit müsinlerin baskın olduğunu, bir miktar mikst müsin bulunduğunu saptadık. Burada hakim olan asit müsinin sialomüsin yapısında olduğuna karar verdik. Farelerde kolonun çizgili kenarında daha çok silaomüsinlerin bulunduğu, bir miktar nötral müsinin de yer aldığı gösterilmiştir (2). Yüzeyde ve yüzeye yakın goblet hücrelerinde daha çok nötral müsinlerin bulunduğunu, kriptaların derinlerinde yer alanlarda ise asit müsinlerin baskın olduğunu gözledik. Yüzeyde yer yer mikst müsinler de bulunmaktaydı. Proksimal ve distal kolonda genel olarak yüzeyde ve kriptaların yüzeye yakın bölümünde mor boyanan sülfatlı müsinlerin, derinlerde ise mavi boyanan sialomüsinlerin baskın olduğuna karar verdik. Farelerde kalın barsaklarda asit müsinlerin baskın olduğu, bir miktar nötral müsin bulunduğu gösterilmiştir. Asit müsinlerin ise kriptaların derinlerinde daha çok sialomüsin yapısında olduğu gözlenmiştir. Yüzeyde ve kriptaların yüzeye yakın bölümlerinde ise sülfatlı ve sialomüsinler izlenmiştir (2). İnsanda kalın barsak boyunca goblet hücrelerinin müsin içeriği değişir. Çekum ve distal kolon daha çok nötral müsin içerir. Çekumda ve çıkan kolonda özellikle kriptaların yüzeye yakın bölümünde sulfomüsinler baskınken, distal kolonda kriptaların derininde sulfomüsinler baskındır. Genel olarak kolon mukozası bir miktar nötral müsinin yanısıra, sialomüsin ve sulfomüsin yapısında asit müsinler içerir (2,9,10). Yine de genel olarak kolondan başlıca sulfomüsinler salgılanır (10). İnsan ve sıçanların kolon mukozası goblet hücrelerinin histokimyasal özellikleri açısından birbirine benzer (21). Farede çekumun goblet hücreleri başlıca sulfomüsin, kolonun goblet hücreleri başlıca sialomüsin içerir (22). ICR farelerde fırçamsı kenar sialomüsin, goblet hücreleri ise başlıca sülfatlı müsin salgılar (23). ICR/Ha ve C57BI/Ha farelerde sıçan ve insanlardan farklı olarak kalın barsağın goblet hücreleri başlıca sialomüsinleri salgılar. Çekum ve distal kolonda ise sulfomüsinler hakimdir (24). Farelerde postnatal gelişim süreci içinde de barsağın goblet hücrelerinin müsin içerikleri değişmektedir Postnatal 2. haftada kolonun kriptalarının

apikalinde sülfatsız, bazalinde ise sülfatlı müsünler izlenir. Üçüncü haftadan sonra mikrofloranın yerleşmesi ile sülfatlı müsünler kriptaların üst bölümlerinde izlenmeye başlar (25). Fare, sıçan ve kobaylar dahil pek çok cinslerde barsağın müsün içeriği anatomik segmentlere göre farklılıklar göstermektedir (2,13). Bu cinslerde distal kolona gidildikçe nötral müsünler azalır, asit müsünler artar. Lümende nötral müsün hakimiyeti vardır. Proksimal kolon ve çekumda nötral müsün hakimiyeti vardır. Distal kolona doğru sialomüsünler artış gösterir. Sülfomüsünler sadece distal kolonda gözlenir (13).

Gastrointestinal sistem boyunca histokimyasal olarak farklı reaksiyon veren müsünleri izlememizin temel nedeni, bu bölgelerden kimyasal içeriği farklı olan müsünlerin salgılanmasıdır. Mideden kolona doğru gidildikçe müsünlerin glikolizasyon oranında değişiklik olduğu saptanmıştır (14). Nitekim müsünlerin N-asetilgalaktozamin, N-asetilglukozamin, galaktoz, fukoz ve sialik asit gibi karbonhidrat oranları da bölgeye spesifik olarak değişmektedir (11). Bölgeye özel değişiklikler en çarpıcı şekilde sülfatlı oligosakkaritlerde ortaya çıkmaktadır. Özellikle sülfatlı müsünlerin, mukozayı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. İnsanda duodenumda sülfatlı müsünlerin baskın olmasının fizyolojik nedeni bu bölgeye mide, pankreas ve safra kesesinden mukozaya zarar verecek maddelerin dökülmesidir. Ayrıca insanda mide korpusunda bulunan sülfatlı müsünler mukozayı asidin zararlı etkilerinden korumaktadırlar. Sülfatlı moleküllerin hücre proliferasyonu kontrol eden etkenlerden olduğunun saptanmasından sonra, malign olaylarda müsün histokimyasının neden değişikliğe uğradığının açıklanması kolay olmuştur (12). Kanımızca faredede gastrointestinal sistem boyunca farklı histokimyasal özelliklere sahip müsünleri saptamış olmamız fizyolojik yönden anlamlıdır. Ayrıca gastrointestinal sistemin farklı segmentlerinde hücre proliferasyon oranlarında gözlenen değişikliklerin de, bu alanlardan salgılanan müsünlerin histokimyasal özelliklerinin farklı olmasına bir ölçüde etki edeceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Bancroft JD, Cook HC. Manual of histological techniques. 1st edition. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1984: 111-2, 113-4.
2. Sheahan DG, Jervis HR. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucous substances. *Am J Anat* 1976; 146: 103-31.
3. Fontaine N, Meslin JC, Lory S, Andrieux C. Intestinal mucin distribution in the germ-free rat and in the heteroxenic rat harbouring a human bacterial flora: effect of inulin in diet. *Br J Nutr* 1996; 75:881-92.
4. Yakan B: Hücre ve dokuların karbonhidrat içeriğinin histokimyasal yapıları ve özel gösterilme yöntemleri. Atatürk Üniversitesi Tıp Bülteni 1990; 22: 293-302.
5. Cassidy MM, Lightfoot FG, Vahouny GV. Structural-functional modulation of mucin secretory patterns in the gastrointestinal tract. *Prog Clin Biol Res* 1981; 73:97-127.
6. Strous GJ, Dekker J. Mucin-type glycoproteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1992; 27:57-92.
7. Kemper AC, Specian RD. Rat small intestinal mucins. A quantitative analysis. *Anat Rec* 1991; 229:219-26.
8. Filipe MI, Fenger C. Histochemical characteristics of mucins in the small intestine. A comparative study of normal mucosa, benign epithelial tumors and carcinoma. *Histochem J* 1979; 11:277-87.
9. Gupta SC, Misra V, Singh PA, Misra SP, Srivastava M, Agrawal R. Mucin histochemistry-a simple and effective method for diagnosing premalignant and early malignant lesions of lower gastrointestinal tract. *Indian J Pathol Microbiol* 1997; 40:327-33.
10. Shah M, Shrikhande SS. Mucin histochemistry of the lower gastrointestinal tract. *Indian J Gastroenterol* 1989; 8:87-8.
11. Ohara S, Ishihara K, Hotta K. Comparative study of rat enteromucins. *Comp Biochem Physiol* 1992; 106:147-52.
12. Goso Y, Hotta K: Regional differences in sulfated oligosaccharides of rat gastrointestinal mucin as detected by two-dimensional chromatography. *Arch Biochem Biophys* 1993; 302:212-7.
13. Sakata T, von Engelhardt W. Luminal mucin in the large intestine of mice, rats, and guinea pigs. *Cell Tissue Res* 1981; 219:629-35.
14. Van Klinken BJ, Dekker J, Buller HA, de Balos C, Einerhand AW. Biosynthesis of mucins (MUC2-6) along the longitudinal axis of human gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1997; 273:296-302.
15. Weiber H, Lindstrom C, Lilja H, Bjartell A, Fernlund P. Immunohistochemical and in situ hybridization studies of beta-microseminprotein in the human gastric mucosa. *Histochem J* 1997; 29:839-45.
16. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Text/Atlas of histology. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders, 1988: 423-5, 431,448,454,458.
17. Fawcett DW, Jensch RP. Concise histology. 1st ed. New York: Chapman and Hill, 1997: 197,204,206,207.
18. Williams GT. The stomach: development and inflammatory conditions. In: Mc Gee JOD, Isaacson PG, Wright NA, editors. Oxford textbook of pathology. Oxford: Oxford University Press, 1992: 1149-73.

19. Kantani-Matsumoto A, Kataoka K. A carbohydrate histochemical study on surface mucous cells, mucous neck cells and chief cells the gastric mucosa of developing mice. Arch Histol Cytol 1989; 52:37-50.
20. Obuoforibo AA. Mucosubstances in Brunner's glands of the mouse. J Anat 1975; 119:287-94.
21. Filipe MI. Mucous secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. BR J Cancer 1975; 32:60-77.
22. Kandori H, Hirayama K, Takeda M, Doi K. Histochemical, lectin-histochemical and morphometrical characteristics of intestinal goblet cells of germfree and conventional mice. Exp Anim 1996; 45:155-60.
23. Chen ZJ, Suzaki E, Morino-Kohno E, Kataoka K. A histochemical study on glycoconjugates in epithelial cells in the distal colonic mucosa of adult and developing mice. Arch Histol Cytol 1993; 56:101-8.
24. James JI, Shamsuddin AM, Trump BF. A comparative study of the normal histochemical and proliferative properties of the large intestine in ICR/Ha and C57Bl/Ha mice. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol 1982; 41:133-44.
25. Hill RR, Cowley HM, Andremont A. Influence of colonizing micro-flora on the mucin histochemistry of the neonatal mouse colon. Histochem J 1990; 22:102-5.