

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARIN SOLUNUM, SİNDİRİM VE BOŞALTIM
SİSTEMLERİNDEKİ MAKROFAJLARIN HİSTOLOJİK
YAPILARININ IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK OLARAK
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Aslı Çetin
Embriyoloji ve Histoloji Anabilim Dalı**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Feral Öztürk**

Bu tez, İnönü Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
(Proje No: 2005/69)

MALATYA-2006

TEŐEKKÜR

Yoğun tez dđnemimde yaptığım deneysel çalışmada ve bu tezin hazırlanması aőamalarında bana bđyđk bir titizlikle ve sabırla yol gđsteren, tez danıőmanım, değerli hocam Doç. Dr. Feral ÖZTÜRK'e, yine her konuda fikirleri ile bana destek olan Anabilim Dalı Baőkanımız Prof. Dr.Ali OTLU hocama, gerek ışık mikroskopik, gerekse elektron mikroskopik çalıőmalarımnda benden desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Mukaddes EŞREFOĞLU'na, anabilim dalı hocalarımız Yrd. Doç. Dr. Nigar VARDI , Yrd. Doç. Dr. Meltem KURUŐ ve Dr. Mehmet GÜL'e, laboratuvar çalıőmalarımnda bđyđk emeği geçen bđlüm teknisyenimiz Bengöl GÜNEŐ'e teőekkürlerimi ve őükranlarımı sunarım

İÇİNDEKİLER

1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1 Mononükleer Fagositik Sistem Hücrelerinin Gelişimi.....	3
2.2 Makrofajların Aktivasyonu ve Fonksiyonu.....	4
2.2.1 Fagositoz.....	5
2.2.2 Salgılama.....	6
2.2.3 Antijen Sunma.....	7
2.3 Makrofajların Histolojik Özellikleri	7
2.4 Özelleşmiş Makrofajlar.....	8
2.4.1 Kupffer Hücreleri.....	8
2.4.2 Alveoler Makrofajlar.....	10
2.4.3 Mikroglia	10
2.4.4 Osteoklast.....	11
2.4.5 Dendritik hücreler.....	11
3. Materyal ve Metod	13
3.1 Işık Mikroskopi.....	13
3.2 Elektron Mikroskopi.....	16
4. Bulgular	18
4.1 Genel Bulgular.....	18
4.2 Sindirim Sistemindeki Makrofajlar.....	20
4.3 Solunum Sistemindeki Makrofajlar.....	33
4.4 Boşaltım Sistemindeki Makrofajlar.....	38
5. Tartışma	42
6. Sonuç ve Öneriler	47
7. Özet	48
8. Summary	49
9. Kaynaklar	50
10. Özgeçmiş	54

RESİMLER DİZİNİ:

- Resim 1a: Trypan blue enjeksiyonu yapılan sıçanların 7 gün sonundaki görünüşleri
- Resim 1b: Trypan blue enjeksiyonu yapılan sıçanların 7 gün sonundaki görünüşleri
- Resim 2: Parietal peritonda makrofaj H-E, X330.
- Resim 3: Dilde çizgili kaslar arasında, kapiller damar (*) yanında bulunan bir makrofaj (ok). H-E, X132.
- Resim 4: Dilde yassı uzun şekilli, sitoplazmasında granüller içeren bir makrofaj (ok). H-E, X330.
- Resim 5: Dilde çizgili kas hücreleri arasında piramidal şekilli bir makrofaj (ok). H-E, X132.
- Resim 6: Dilde t. submukozada kapiller (*) yanına yerleşmiş iki makrofaj (ok). H-E, X330.
- Resim 7: Özofagus lamina propria ve t. submukozaya yerleşmiş makrofajlar. Safranin O- Orange G, X132.
- Resim 8: Duodenum lamina propria ve t. submukozasında yerleşmiş makrofajlar. H-E, X330.
- Resim 9: Duodenumda t. adventisyada kapillerlere (*) komşu olarak yerleşmiş makrofajlar (ok). H-E, X330.
- Resim 10: Duodenumda makrofaj, X12500.
- Resim 11: Kolonda t. adventisyada makrofajlar. H-E, X330.
- Resim 12: Karaciğerde portal alan çevresinde sinüzoidler boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 66.
- Resim 13: Karaciğerde v. sentralis çevresinde sinüzoidler boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 132.
- Resim 14: Karaciğerde sinüzoidler boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 132.
- Resim 15: Karaciğerde mavi granüller içeren Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 330.
- Resim 16: Karaciğerde mavi granülleri ile seçilen Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 330.
- Resim 17: Sinüzoidlere yerleşmiş Kupffer hücresi. Diğer Kupffer hücresine (k) ve hepatosite (h) uzanan yalancı ayak benzeri uzantıları (ok). X8000.
- Resim 18: Sinüzoidlere yerleşmiş Kupffer hücresi. X 12500.
- Resim 19: Kupffer hücre sitoplazmasında primer (p) ve sekonder lizozomlar (s). X20000.
- Resim 20: Kupffer hücre sitoplazmasında Golgi aparatı (ok), X 20000.
- Resim 21: Trypan blue grubu karaciğerde Kupffer hücresi X 6300.
- Resim 22: Trypan blue grubu karaciğerde Kupffer hücresinde lizozomlar X16000.
- Resim 23: Trypan blue grubu karaciğerde hepatosit sitoplazmasında sekonder lizozom (ok) X25000.
- Resim 24: Trakeada t. submukozada makrofaj (ok), H-E, X 330.
- Resim 25: Bronş t. submukozasında makrofajlar, Safranin O- Orange G, X 132.
- Resim 26: Akciğerlerde alveollere yakın yerleşim gösteren makrofajlar. Safranin O- Orange G, X 132.
- Resim 27: Akciğerlerde artere yakın yerleşmiş oval şekilli makrofajlar (ok), H-E, X 330.

- Resim 28: Bronşiolde (b), artere (a) yakın yerleşmiş makrofaj (ok), H-E, X 330.
- Resim 29: Alveolar makrofaj, X 6300.
- Resim 30: Alveolar makrofaj, X 12500.
- Resim 31: Trypan blue grubunda interalveoler septumda alveolar makrofaj, X 10000.
- Resim 32: Trypan blue grubunda alveol içinde alveolar makrofaj uzantısı, X 16000.
- Resim 33: Böbrekde proksimal tubüllerde trypan blue birikimine bağlı granülasyon. Safranin O- Orange G, X 132.
- Resim 34: Böbrekde perirenal bağ dokuda makrofajlar (ok), Safranin O- Orange G, X 132.
- Resim 35: Mesanede derin lamina propriada makrofajlar, Safranin O- Orange G, X 132.
- Resim 36: Mesanede t. muskularis ve çevresinde makrofajlar (ok). H-E, X132.
- Resim 37: Mesanede makrofajlar. H-E, X330.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşadığımız çevre pek çok infeksiyon ajanını barındırmaktadır. Bakteri, virus, protozoon, fungus ve multisellüler parazitler deriden, solunum, sindirim ve ürogenital sistemden insan organizmasına girerek hastalık oluşturabilmektedir. İmmün sistem, patojen mikroorganizmayı ilk önce tanır ve daha sonra da onu etkisiz hale getirmek için immün reaksiyon oluşturur. İmmün cevaplar özellikle lökositler tarafından başlatılır. Lökositlerin önemli bir grubu fagositik hücrelerdir. Fagositik hücreler, monositler, makrofajlar ve nötrofillerdir. Bu hücreler mikroorganizmalara bağlanır, onları içlerine alır ve öldürürler. Fagositik hücreler spesifik olmayan, primitif tanıma sistemi kullanırlar ve infeksiyona karşı defansda ilk aşamayı oluştururlar. Lökositlerin önemli bir başka grubu ise lenfositlerdir. T ve B lenfositler patojeni tanıyarak ona spesifik cevap oluştururlar. B lenfositler antikor üretirler. T lenfositlerin bir kısmı B-lenfosit gelişimine ve antikor üretimine yardımcı olurken bir grubu fagositik hücrelerin fagosite ettikleri patojenleri öldürmelerine yardımcı olur. Üçüncü grup T lenfositler ise, viruslarla infekte olan hücreleri tanıyarak onları yok ederler (1).

Fagositik hücrelerin en önemlileri mononükleer fagositik sistem hücreleridir. Bu hücreler kemik iliği öncü hücrelerinden gelişirler. Daha sonra kana monosit olarak verilirler. Monositler gerekli sinyalleri aldıklarında kapiller ve venül duvarından dokulara geçerek doku makrofajlarını oluştururlar. Doku makrofajları fagositler ve antijen sunucu hücreler olarak iki grup oluştururlar. Makro=büyük, phagein=yemek anlamındadır. Makrofajlar patojen mikroorganizmaları, yabancı maddeleri, hasarlanmış hücreleri ve hücresel artıkları fagosite ederler. Makrofajların bakteri ve funguslarla karşılaştıklarında verdikleri cevaplar, kemotaksis, migrasyon, adhezyon, agregasyon, fagositoz, degranulasyon ve oksijen radikalleri üretimi olarak özetlenebilir. Salgıladıkları sitokinler aracılığı ile inflamasyon ve yara iyileşmesinde önemli rol oynarlar. Ayrıca tümör hücrelerini temizlerler (1-6).

İnsan organizmasında belirli lokalizasyona yerleşmiş olan mononükleer fagositik sistem hücrelerine -kökenleri tam olarak anlaşılmadan önce- özel isimler verilmiştir. Karaciğerde Kupffer hücresi, akciğerde alveoler makrofaj (toz

hücre), deride Langerhans hücre, kemikte osteoklast, sinir sisteminde mikrogliya, kanda ve kemik iliğinde monosit, sinovyalda Tip A sinovyal hücreler, bağ doku, dalak, lenf düğümü ve timusda makrofaj ve myeloid dendritik hücreler olarak isimlendirilmiştir (2,7,8).

Çeşitli sistemlerde yerleşmiş olan makrofajların buldukları organların fonksiyonuna, maruz kaldıkları antijenlerin çeşitliliğine ve şiddetine göre farklılık göstermeleri olasıdır. Bu çalışmada sıçanların solunum, sindirim ve boşaltım sistemlerinde yerleşmiş bağ dokusu makrofajlarının, akciğerdeki alveoler makrofajların ve karaciğer Kupffer hücrelerinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenerek histolojik özelliklerinin belirlenmesi ve birbirleriyle karşılaştırılarak, farklı ve ortak morfolojik özelliklerinin tespit edilmesini amaçladık.

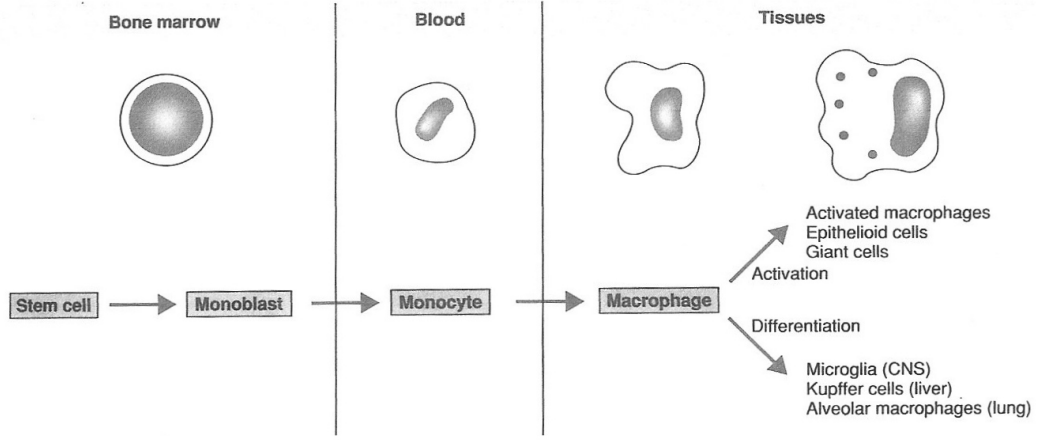
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mononükleer Fagositik Sistem Hücrelerinin Gelişimi

Mononükleer fagositik sistem immün sistemin ikinci büyük hücre grubunu oluşturur ve primer fonksiyonu fagositoz olan hücrelerden oluşur. Mononükleer fagositik sistemin bütün hücreleri kemik iliğinden gelişir.

Kemik iliğinde bulunan öncü hücrelerden (pluripotent hücreler) multipotent miyeloid hücreler oluşur. Bu hücrelerden ise monosit colony forming unit (CFU-M) hücreleri meydana gelir. CFU-M hücreleri monoblastlara dönüşür. Monoblastların bölünmesiyle promonositler oluşur. Promonositler 15-20 µm'lik çapa sahiptirler ve monositlerden daha küçük hücrelerdir. Promonositlerde azurofil granüller belirlemeye başlar. Kemik iliğindeki promonositlerin yaklaşık yarısı hızlı bir şekilde bölünüp, küçülerek çoğalma kapasitesini kaybeden monositlere farklılaşırlar. Geri kalanlar ise ihtiyaç duyulduğunda kullanılacak bir depo oluştururlar. Kök hücreden monosite dönüşme zamanı yaklaşık 55 saattir. Monositler kemik iliğinde 1-2 gün kaldıktan sonra kana geçerler. (9, 10)

Monositlerin çapları yaklaşık 12-20 µm'dir. Büyük, eksantrik yerleşimli çekirdeğe sahiptir. Çekirdekleri merkezden içe doğru çöküntü oluşturarak böbrek şeklinde bir görünüm kazanmıştır. Bir veya iki çekirdeğe sahip olabilirler. Sitoplazması bazofilik boyanır ve ince azurofilik granüller (lizozom) içerir. Monosit sitoplazmasının iyi gelişmiş Golgi kompleksi, ribozom ve poliribozomlar, çok sayıda küçük mitokondri içerdiği gözlenmiştir. Az sayıda granüllü endoplazmik retikulum içerirler. Hücrenin periferinde mikrotübül ve mikrofilamanlar, pinositik veziküller bulunur. Hücre yüzeyinde mikrovilluslar vardır. Dolaşımda sadece birkaç gün kalırlar. Bağ dokuya geçerek makrofajları oluştururlar (2,10-12)



Şekil 1: Makrofaj Gelişimi. (Abbas A, Lichtman AH, Pober JS (eds) Cellular and Molecular Immunology'den alınmıştır)

Monosit membranındaki ve endotel hücre membranlarındaki hücre adhezyon molekülleri monositlerin endotele tutunarak yavaşlamasını, durmasını ve endotel hücreleri arasından diapedezini sağlar. Bu göç sırasında ilk adım intravasküler monositin, endotel hücrenin yüzeyine yapışmasıdır. Daha sonra vasküler yüzeyde yavaşça yuvarlanarak sürüklenir ve daha kuvvetle yapışarak durur. Bu olayda çeşitli adhezyon molekülleri görev alır. Selektinler, β -1 integrin ve endotel yüzeyindeki VCAM-1 ilk yapışmada görev alırlar. Monositin durmasını sağlayan adhezyon molekülleri ise lökosit β -2- integrin ile ICAM-1 ve 2' dir. Monosit daha sonra endotel hücreleri arasından, hem monosit hem endotel yüzeyinde bulunan PECAM-1 molekülleri aracılığı ile geçer. Endotel bazal membranını da geçtikten sonra monositler makrofajlara dönüşecekleri bölgelere göç ederler. (4,13).

2.2 Makrofajların Aktivasyonu ve Fonksiyonları

Doku makrofajı yaklaşık 2-4 ay yaşar. Bu süre içinde bazı makrofajlar hareketsiz kalırlar. Bunlara sabit makrofaj denir. Genellikle matriksdeki kollajen fibrillere tutunurlar. Diğerleri ise ameboid hareketle sürekli yer değiştirirler. Her iki durumda da yüzeyindeki reseptörlerle ve pinositoz yaparak çevrelerini

denetlerler. Eğer çevreden gelen herhangi bir sinyalle veya inflamatuvar mediatörlerle karşılaşırlarsa **makrofaj aktivasyonu** denilen bir süreç girerler. Bu süreçte büyüklükleri, metabolik hızları, motiliteleri ve fagositik aktiviteleri hızla artar. Büyüklüklerinin artması sitoplazmik hacmin artmasına bağlıdır. Aktivasyonla pek çok yeni madde sentezlerler. Bunlar içinde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) önemlidir. Bu enzimin ürünü olan nitrik oksit (NO) makrofajın bakterisit etkisinde büyük role sahiptir (5,14).

Makrofajların belli başlı fonksiyonları şunlardır:

2.2.1 Fagositoz:

Makrofajlar bakteri, makromolekül, antijen gibi yabancı maddelerle, hasarlı, ölü hücre ve artıklarını fagosite ederler. Makrofajların hücre membranında değişik maddeler için spesifik reseptörler bulunur. Makrofajların yabancı partikülleri ve hasarlı dokuları tanımasında fosfolipid ve şeker reseptörlerinin rolü vardır. Bunlar içinde mannoz reseptörü, membran CD 14 reseptörü, toll-like reseptör ailesi sayılabilir (5,7,15). Makrofajlar, antikorları ise yüzeylerindeki Fc reseptörleri ile tanırlar. Kompleman için de yüzeylerinde kompleman reseptörleri bulunur (2). Fagosite edilecek madde yüzey reseptörlerine bağlanır ve bu bağlanma ile hücre yüzeyinde pseudopodlar oluşarak, maddeyi çevreler. Komplemanlar ise hücreye hücre yüzeyinin içe doğru invajinasyonu ile alınır. Sindirilecek materyalin hücre içine alınmasıyla sitoplazmada fagozom denilen yapılar oluşur. Fagozomlar hücre içerisinde bulunan lizozomlarla birleşerek fagolizozomu (sekonder lizozom) oluşturur. Lizozomal enzimler sindirilecek materyalin komponentlerinin yıkılıp, sitoplazmaya verilmesine neden olur. Ayrıca makrofajlarda moleküler oksijen indirgenerek mikrobisidal özellik gösteren reaktif oksijen radikalleri üretilir. Bunlar fagozomlara verilir (1,7). Ortaya çıkan komponentler ve artık maddeler ekzositoz yolu ile hücreden atılır veya sitoplazma içerisinde artık olarak birikir.

Makrofajların fagosite etmesi gereken hedefleri, fazla sayıda, büyük veya sindirilmeye dirençli ise bu bölgelerde çok sayıda makrofaj birikebilir. Bu bölgelerde lenfositler, fibroblastlar ve diğer hücreler de birikir. Bu şekilde oluşan yapıya granüloma denir. Granülomadaki makrofajlara epiteloid hücreler denir. Bunun sebebi makrofajların epitel hücrelerine benzer şekilde sıkıca yan yana

gelerek, birbirlerine uzantılar göndermeleridir. Böylece granüloma dışına madde geçişini engellerler (7).

Bazen dokulara giren yabancı bir cismin fagositozla alınması tek bir hücre için çok zordur. Bu durumda birçok makrofaj birararaya gelip birleşerek çok çekirdekli dev bir hücre oluştururlar. Buna **yabancı-cisim dev hücresi** denir. Bu hücreyle büyük zararlı-yabancı cisimler yakalanıp, sindirilebilir. Çok çekirdekli büyük hücrelerdir (12).

2.2.2 Salgılama:

Makrofajlar biyolojik olarak aktif olan pek çok madde salgırlar. Makrofajların salgıladığı maddelerin bugüne kadar 100'en fazla çeşidi gösterilmiştir. Lizozim, hidrojen peroksit gibi maddelerin antimikrobiyal aktiviteleri vardır. Elastaz ve kollajenazlar ekstrasellüler matriks döngüsünde görev alırlar. Bu döngü hücre göçünü kolaylaştırarak doku iyileşmesini hızlandırır. Makrofajlar ayrıca sitokin adı verilen sinyal molekülleri salgılayarak immun reaksiyonları düzenlerler. Sitokinler, immun sistem hücreleri arasında iletişimi sağlayan küçük proteinlerdir. En önemlileri arasında TNF α , interlökin-1 β , interferon α , β , interlökin 6, 10, 12, fibroblast büyüme faktörü, prostoglandinler, kemokinler, nitrik oksit vb. bulunmaktadır. Lizozim, hidrojen peroksit nötrofil gibi diğer inflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgesine kemotaksisini sağlar. Sitokinler ayrıca inflamasyonun pek çok sistemik etkisinden (örn: ısı artışı) sorumludurlar (5,16). Nitrik oksit bakterisit etkisi yanında mast hücresi ve plateletlerden histamin ve diğer vazoaaktif mediatörlerin salgılanmasına neden olarak inflamasyonda lokal vasküler cevabı düzenler (7). Proteazlar, büyüme faktörleri, ve diğer monokinler inflamatuvar ve tümoral dokuda yeni kan damarı oluşumunu (anjiogenezis) sağlarlar (17) .

Makrofajlar salgıladıkları platelet aktive edici faktör, prostoglandinler ve lökotrienler aracılığı ile akut inflamasyonu düzenlerler. Makrofajların dokuda uzamış aktiviteleri, yavaş aktiviteli sitokinler ve büyüme faktörleri salınımı ile kronik inflamasyona ve fibrotik doku gelişimine neden olabilir (5).

Makrofajlar salgıladıkları tümör nekrozis faktör (TNF) ile malign tümör hücrelerini öldürürler. TNF en az iki mekanizma ile tümör hücrelerini öldürmektedir. Bunlardan bir tanesi, TNF' nin tümör hücrelerinin yüksek affiniteli yüzey reseptörlerine bağlanarak gösterdiği toksik etkidir. Bu toksik etki

muhtemelen serbest radikal oluşumunun sonucudur. Normal hücreler TNF'nin bu etkisine superoxide dismutase üreterek cevap verirler. Çoğu tümör hücresi superokside dismutase üretemezler. TNF'nin ikinci etkisini ise bazı konakçı cevaplarını harekete geçirerek göstermektedir (5).

2.2.3 Antijen Sunma:

Makrofajların antijen sunucu özellikleri vardır. Makrofajlar antijenlerle birleşen ilk hücrelerdir. Yabancı maddelerle birleşerek onların lenfositler tarafından tanınmalarını ve lenfosit cevabı oluşmasını sağlarlar. Yüzeylerinde spesifik proteinler içerirler. Bu proteinler major histokompabilite kompleks II (MHC II) molekülleridir. Bu moleküller antijene spesifik T-helper ($CD4^+$) lenfositlerce tanınırlar. Makrofajlar, yabancı bir hücreyi veya antijeni fagosite ettiklerinde, fagosite ettikleri hücrelerin veya antijenin kısa polipeptitleri MHC II moleküllerinin yüzeyine tutunur. Eğer $CD4^+$ T lenfosit bu antijeni tanırsa aktive olur ve immun reaksiyon başlar. Makrofajlar $CD4^+$ T lenfositlere antijen sundukları için bunlara aynı zamanda antijen sunucu hücreler (Antijen Presenting Cells=APC_S) denir (5, 12). Makrofajlar dışında dendritik hücreler ve B lenfositler de antijen sunucu hücrelerdir (2,7).

2.3 Makrofajların Histolojik Özellikleri

Makrofajların yapısal özellikleri aktivite durumlarına ve dokuda yerleşimlerine göre çok çeşitlilik gösterir. Düzensiz şekilli ve çeşitli büyüklüklerde olabilirler. Genellikle 10-30 μm çapında hücrelerdir.

Işık mikroskopunda, rutin boyalarla doku makrofajlarının tanınması zordur. Ancak fagosite edebilecekleri boyalar verildiğinde görünür olurlar. Sitoplazmaları hafif bazofil boyanır. Oval veya böbrek şeklinde egzantrik yerleşmiş çekirdekleri bulunur. Çekirdekcik genellikle izlenmez. Fagositik aktiviteye bağlı olarak yüzeyleri girintili çıkıntılı, çentikli, düzensiz bir görünümündedir. Hücre çıkıntıları kısa künt parmak şeklindeki çıkıntılardan, yalancı ayaklara kadar farklı yapı ve büyüklükte olabilir. Sitoplazmalarındaki en belirgin organel lizozomlardır. Ayrıca Golgi kompleksi, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, mitokondri, sekretuar veziküller, endositik veziküller ve fagolizozomlar içerirler. Makrofajların yüzeylerindeki çıkıntılar, içerdikleri bol lizozom, endositik veziküller, fagolizozomlar ve reziduel cisimler fagositik aktivitelerine işaret eder.

Makrofajlar aktifleşirken protein sentezinde ve hücre ebatlarında artış olur. Lizozomların, mikrotübüllerin ve mikrofilamanların sayılarındaki artışın yanı sıra Golgi kompleksinde de bir artış gözlenir.

Granüllü endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi fagositoz için ve fagosite edilen materyalin sindiriminde gerekli proteinlerin sentezini ve sekresyon ürünlerinin sentezini sağlarlar.

Lizozomlar fagositozun yapıldığı organellerdir. Sitoplazma içerisinde bol miktarda bulunurlar. Golgi kompleksi tarafından oluşturulurlar. Hücreye giren yabancı maddeleri sindirir, hücre metabolizma artıklarını parçalarlar. Herhangi bir sindirim işleminde görev almamış olanlara primer lizozom denir. Primer lizozomlar küçüktür. İnce granüler ve homojen içeriğe sahiptir. Sindirim işlemi yaptıklarında sekonder lizozom adı alırlar. Sekonder lizozomlar büyüktür. İç yapıları değişikliğe uğrayarak heterojen özellik göstermeye başlar. Sindirim işlemi sonrasında artık ürünlerle dolu vakuollar halinde kalabilirler. Bunlara da rezidüel cisim denir (2,8,11,14).

2.4 Organalarda Yerleşmiş Makrofajlar

2.4.1 Kupffer Hücreleri

Kupffer hücresi, karaciğerde bulunan ve fagositoz yapan mononükleer fagositik sistem üyesi bir hücredir. Kupffer hücresi 1876 yılında von Kupffer isimli araştırıcı tarafından, karaciğer perisinüzoidal bağ dokusunda altın klorid tekniğı ile gösterilmiştir. Von Kupffer bu hücreleri yıldıza benzetmiştir. Kupffer hücreleri sinüzoid endotel hücreleri arasında ve sinüzoidlerin lümeninde yerleşmiştir. Karaciğer sinüzoidleri içerisinde çok değişik şekil ve yerleşimde bulunabilirler. Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %15'ini oluştururlar. Sitoplazmaları birçok çıkıntı ve pseudopod içermektedir (10,18-21). Kupffer hücrelerinin bu uzantıları sinüzoid lümenini kısmen kapatır (8). Endotel hücrelerinin fenestrasyonlarından Kupffer hücrelerinin uzantılarının Disse aralığına doğru çıkıntı yaptığı ve bu şekilde hepatosit mikrovillusu ile temasta olduğu gözlenmiştir. Kupffer hücresi, uzantıları aracılığı ile sinüzoid içerisinde bulunan diğer hücreler, -pit hücreleri, endotel hücreleri, Ito hücreleri- ile de temas eder. Ancak Kupffer hücreleri diğer hücrelerle bağlantı kompleksleri oluşturmaz. Işık mikroskopik seviyede bu hücreler gözlenmek istenildiğinde vital boyaların enjeksiyonunu takiben hazırlanan karaciğer kesitleri incelenir. Hücrenin fagositik

özelliği olduğundan hücre içine alınan boya ile hücre lokalizasyonu başarılı bir şekilde gösterilmektedir (8,19, 20,22).

Kupffer hücreleri karaciğerin tamamında bulunur ancak karaciğer dokusunda normal fizyolojik koşullarda bu hücrelerin hacmi, fagositik ve enzimatik aktivitesi homojen değildir. Ebatça büyük ve daha yüksek lizozomal aktiviteye sahip olanlar lobül periferinde portal sahalarla yakın yerleşim gösterirken, küçük ebatlı olanları vena sentralise yakın lokalize olur. Ayrıca periportal bölgede sayıca da daha fazla bulunurlar (19, 20, 23).

Kupffer hücreleri diğer mononükleer fagositik sistem hücreleri gibi lizozomdan zengindir. İyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi hücrede aktif bir protein sentezi olduğunu göstermektedir (23) Oval ve büyük çekirdekleri vardır. Ayrıca sitoplazmalarında fagozomlar bulunur. Sitoplazmalarında görülen eritrosit parçaları ve ferritin, Kupffer hücrelerinin karaciğere ulaşmış olan hasarlı ve yaşlı eritrositlerin fagositozunda rol oynadığını göstermektedir (24). Kupffer hücrelerinin yüzeyinde fibronektin ile kaplı partiküllere, insülin ve glukagona ait reseptörler yanında bakteri, mantar ve virüs gibi yabancı hücreler için de spesifik reseptörler bulunmaktadır. Endositozla alınan maddeler hızlıca lizozomlara doğru taşınmakta ve metabolize edilmektedir. Yapılan fagositoz sonunda Kupffer hücreleri değişik faktörler salgırlar. Bunlar prostaglandinler, interlekin (IL), tümör nekrozis faktör (TFN) ve değişik sitokinlerdir. Yoğun bir fagositoz gerektiği zaman Kupffer hücre salgısının hepatosit sitokrom P-450 mekanizmasını baskıladığı ortaya konulmuştur (25).

Kupffer hücrelerinin kanser hücrelerini de fagosite ettiği gösterilmiştir (26) Ayrıca Kupffer hücrelerinin bir enfeksiyon bariyeri olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Deneysel olarak spesifik Kupffer hücre inhibitörü olan gadolinium chloride intravenöz yolla sıçanlara verildiğinde ince bağırsaklardan bakteriyal translokasyon yolu ile ciddi sepsis riski oluşmaktadır (27). İnsanlar üzerinde yapılan otopsi çalışmalarında peritonitten ölen insanların karaciğerlerindeki Kupffer ve endotelial hücrelerinde morfolojik ve sayı olarak değişiklikler görülmüştür (28).

2.4.2. Alveolar Makrofajlar

Alveolar makrofajlar, alveol içerisinde veya interalveoler septumda yerleşmiş makrofajlardır. Alveolde silya bulunmadığından buraya ulaşan toz ve organik materyaller (bakteri, polen gibi) alveoler makrofajlar tarafından yakalanır. Bu yüzden toz hücresi adı da alırlar Makrofajın fagosite ettiği materyal lenfatiklerle ya da lümeninden balgam yoluyla dışarıya atılır. Alveolar makrofajlar karbon partiküllerini de fagosite ederler. Ayrıca *mycobacterium tuberculosis*'i fagosite ettikleri ancak sindiremedikleri gösterilmiştir. Eğer makrofajlar başka faktörler veya infeksiyonlarla parçalanırsa bakterinin serbest kalmasına bağlı olarak enfeksiyon yayılmaktadır. Ayrıca kalb yetmezliğinde alveole geçen kan hücrelerini fagosite ederler. (8,12). Alveoler makrofajlar doku makrofajları gibi antikor, kompleman, mannoz ve çeşitli reseptörler içerirler. Ayrıca sitokin ve lökotrienler salgırlar. Ancak antijen sunucu özellikleri zayıftır, hatta T hücre cevaplarını baskılayıcı özellikleri gösterilmiştir. Genellikle her alveol içinde bir adet alveoler makrofaj bulunur. Bunlar Kohn porları aracılığı ile alveoller arasında geçiş yapabilirler (29).

Alveoler makrofajlar 15-40 µm çapında büyük düzensiz şekilli hücrelerdir. Sitoplazmaları granüler veya köpüksü görünebilir. 0.5 µm çapında lizozomlar ve iyi gelişmiş Golgi kompleksi içerirler. Çekirdekleri düzensiz şekillidir. Genellikle bir çekirdekçik içerirler. Yaşam süreleri çok kısadır. Alveol içine her gün yaklaşık 100 000 makrofaj geçmekte ve bunlar saatler içinde temizlenmektedir (2,14)

2.4.3 Mikroglia

Merkezi sinir sisteminde (MSS) bulunan küçük glia hücreleridir. Diğer glia hücreleri ektodermal kökenli olduğu halde, bunlar mezodermden (kemik iliği) gelişir. Bu yüzden **mezoglia** da denilmektedir.

Hücre gövdeleri küçük ve uzundur. Fetal gelişimin geç evresinde MSS'de yerleşir ve şekillenirler (12,14). Uzun hücre gövdesine uygun yerleşmiş oval çekirdeği vardır. Diğer nöroglia hücrelerinin çekirdekleri yuvarlak iken, mikrogliaların çekirdekleri ovaldir. İğ biçimli ve koyu boyanan çekirdekleri vardır. Sitoplazmaları azdır ve bol lizozom taşırlar. Mikrogliaların sayısız küçük uzantıları vardır. Sayıca az olmakla beraber hem beyaz, hem de gri cevherde bulunurlar. Nöron ve kan damarına yakın yerleşirler.

MSS'nin koruyucu hücrelerinden olan mikroglialar bazı özel durumlarda aktif olarak hareket edip fagositoz yaparlar. Hareketli bağ dokusu makrofajı gibi görev yapar. Hasar alanındaki artıkları, lökosit, eritrosit ve diğer inklüzyonları fagosite ederler.

Doku yaralanmalarına, doku hasarlarına cevap olarak mikroglialar büyük **ameboid** fagositik hücrelere dönüşürler (12).

2.4.4 Osteoklast

Kemik yıkımı ve kemik rezorpsiyonunu gerçekleştiren hücrelerdir.

Kemik yıkımının olduğu bölgelerde bulunurlar. 20-100µm çapında çok büyük hücrelerdir ve 2-50 arasında değişen sayılarda çekirdekleri bulunur. Osteoklastlar içerdikleri kollegenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemiği rezorbe etmektedirler. Sitoplazmaları genellikle hafif bazofil ve vakuollüdür. Çok sayıda lizozomları, mitokondriyonları ve iyi gelişmiş bir Golgi kompleksleri vardır. Osteoklastların yer aldığı kemik yüzeyindeki sığ çukurlara howship lakunaları adı verilir. Osteoklastlarda çok belirgin bir kutuplaşma göze çarpar. Kemiğin yıkımından sorumlu olan tarafta hücre zarı girintili ve çıkıntılı bir hal alır. Çekirdek daha çok hücrenin dış yüzeyine yani düzgün hatlı kısmına yerleşir. Kemik rezorpsiyonu tamamlanınca osteoklastlar kaybolurlar (11,14).

2.4.5. Dendritik Hücreler

Dendritik hücreler mononükleer fagositik sistem üyesi hücrelerdir. İmmün yanıtın başlatılmasında önemli role sahiptirler. Bu hücreler morfolojik olarak dikensi membran çıkıntıları ile ayırt edilirler. Farklı özellik ve fonksiyona sahip iki farklı dendritik hücre vardır. Birincisi **interdijitasyon gösteren dendritik hücre**lerdir. Bunlara genellikle sadece dendritik hücre denir. Çoğu organın interstisyumunda T- lenfositlere yakın komşulukta bulunurlar. Lenf düğümlerinde, dalakda ve epidermiste sık bulunurlar. Epidermiste Langerhans hücresi adı alırlar. Dendritik hücreler protein antijenleri CD4+ T hepler hücrelere sunarlar. İkinci tip dendritik hücre ise **folliküler dendritik hücre**lerdir. Bu hücreler lenf düğümü, dalak ve mukoza bağımlı lenfoid dokulardaki lenf folliküllerinin germinal merkezlerinde bulunurlar. Ancak bunlar kemik iliğindeki öncü hücrelerden gelişmez ve interdijitasyon gösteren dendritik hücrelerden

tamamen farklıdır. Folliküler dendritik hücreler antikor ve komplemanla birleşmiş antijenleri yakalayıp B lenfositler tarafından tanınmalarını sağlarlar (5).

Langerhans Hücreleri epidermiste bulunur ve epidermal hücrelerin %2-5'ini oluştururlar. Deriden giren antijenleri reseptörleri ile yakalayıp fagosite ederler. Yabancı antijenleri işlemde geçirerek epitoplara oluştururlar. Daha sonra göç ederek bu epitoplara immun cevabın başladığı lenf nodlarına iletirler. İnterstisyel dokulardaki ve lenfoid organlardaki pek çok dendritik hücrenin deriden göç etmiş olan Langerhans hücrelerinden gelişmiş olması muhtemeldir. Epidermiste dağınık olarak bulunsalar da özellikle stratum spinosum tabakasında yerleşirler. Epidermis dışında dermiste, oral kavitede, özofagus ve vajinada da bulunabilirler. Plazma membranı sitoplazmik uzantılar gösterir. Nukleusu koyu ve düzensiz, sitoplazması açık boyanır. Komşu hücrelerle desmozomal bağlantı kurmazlar (2,5). Sitoplazmalarında az mitokondri, granüllü endoplazmik retikulum, bol miktarda lizozom, küçük veziküller, multiveziküler cisimcikler ve membranla sarılı fonksiyonu bilinmeyen Birbeck granülleri vardır. Melanozomlar ve tonofilamentler içermezler. Fazla sayıda hücre yüzey reseptörleri vardır.

Kronik inflamatuvar deri hastalıklarında sayıları artar. Tekrarlayan UV ışınlarına maruz kalanlarda ise sayıları azalır (12).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Işık Mikroskopi

Bu çalışmada materyal olarak İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma laboratuvarından temin edilen, ağırlıkları yaklaşık 200-280 gram arasında değişen, 8 adet sağlıklı genç erişkin Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı.

Sıçanlardan iki tanesi kontrol olarak kullanıldı. Diğer 6 sıçana 7 gün süresince her gün 0,03 gr Trypan Blue solusyonu 3cc serum fizyolojik içerisinde çözülerek intaperitoneal olarak enjekte edildi. Belirlenen dozda enjeksiyon yapıldıktan sonra yedinci günün sonunda sıçanlar, servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Sıçanların dil, özefagus, mide, ince ve kalın barsak, karaciğer, periton, trakea, akciğer, böbrek, mesanelerinden doku parçaları alındı. Alınan kesitler ikiye bölünerek Tablo 1'de gösterilen fiksatiflerde tespit edildi.

Tablo 1. Tespit maddeleri ve süreleri

<u>FİKSATİF</u>	<u>MADDELER</u>	<u>ORANI</u>	<u>SÜRE</u>
BOUİN	pikrik asit sol.	75 ml	
Solüsyonu	formaldehit	25 ml	18 saat
	Glasiyel asetik asit	5 ml	(buzdolabında)
FORMALDEHİT	Formaldehit	7 cc	24 saat
Solüsyonu	Fosfat Tamponu*	93cc	(oda ısısında)
(Fosfat tamponlu %10'luk)			

*Fosfat tamponu 80cc disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4 2,83g 80 cc distile suda) ve 20cc sodyum dihidrojen fosfat mono hidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 3,5 g 20cc distile suda) solusyonlarının karışımıdır.

Alınan dokular hazırlanan formaldehit solüsyonlarında oda sıcaklığında, Bouin solüsyonunda 18 saat (bir gece) buzdolabında tespit edilmiştir.

Bouin solüsyonu ile tespit edilen dokular daha sonra % 70'lik alkolden başlanarak dokular doku takibine alınmıştır. Pikrik asite bağlı olarak oluşan sarı rengin dokulardan uzaklaşması için % 70'lik etanole bir miktar lityum

karbonat eklendi. Bouin solüsyonu ile tespitten sonra uygulanan doku takibi Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Bouin solüsyonu ile tespitten sonra uygulanan işlemler.

%70 alkol	7 saat (buzdolabında)
%70 alkol	7 saat (buzdolabında)
%80 alkol	1 saat (oda ısısında)
%96 alkol	1 saat (oda ısısında)
%96 alkol	1 saat (oda ısısında)
Absolu alkol	1 saat (oda ısısında)
Absolu alkol	1 saat (oda ısısında)
Ksilen	1 saat
Ksilen	1 saat
Sert Parafin I	1 saat
Sert Parafin II	1 saat

Fosfat Tamponlu %10’luk formaldehit solusyonunda 24 saat tespit edilen dokulara tespit işleminden sonra uygulanan doku takibi Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. %7’lik formaldehit solusyonu ile tespitten sonra yapılan işlemler.

Fosfat Tamponu	1gün
Akar su	1 gün
%70 alkol	1 saat
%70 alkol	1 saat
%96 alkol	1 saat
%96 alkol	1 saat
Absolü alkol	1 saat
Absolü alkol	1 saat
Ksilen	1 saat
Ksilen	1saat
Sert Parafin I	1 saat
Sert Parafin II	1 saat

Doku takibi tamamlandıktan sonra parafine gömülen dokulardan 3-5 µm kalınlığında iki seri kesit alındı. İlk kesitlere doku hakkında genel bilgi edinebilmek için Mayers’in Hematoxylen-Eosin metodu uygulandı. İkinci kesitlere ise mavi granülasyon içeren makrofajların rahat izlenebilmesi amacıyla safranin 0-Orange G boyaması yapıldı (30-32).

Mayer'in Hematoxylen-Eozin Metodu:

Lamlar suya getirildi ve boyandı.

Ksilen I	5 dakika
Ksilen II	5 dakika
Ksilen III	5 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Distile suda yıkama	2 dakika
Mayer Hematoxylen	10 dakika
Çeşme suyu	20 dakika
Eosin	2 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
Ksilen I	5 dakika
Ksilen II	5 dakika
Ksilen III	5 dakika

Safranin O -Orange G Metodu:

Ksilen I	5 dakika
Ksilen II	5 dakika
Ksilen III	5 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Distile suda yıkama	2 dakika
Safranin O	5 dakika
Distile su	5 dakika
Orange G	10 dakika
%96 alkol	3 dakika

%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
Ksilen I	5 dakika
Ksilen II	5 dakika
Ksilen III	5 dakika

Boyanan kesitler Olympus BH2 araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

3.1 Transmisyon Elektron Mikroskopi

Mide, ince ve kalın barsak, karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları önceden hazırlanmış olan %3' lük gluteraldehit solusyonuna alındı (Tablo 4).

Tablo 4: Gluteraldehit Hazırlanışı:

<u>Kullanılan Madde</u>	<u>Miktarı</u>
0,2 M fosfat tamponu	50 ml
%25 Gluteraldehit	12 ml
Distile su	38 ml

Alınan dokuların kesitleri 1mm olacak şekilde trimlenip 2 saat boyunca gluteraldehitte bekletildi. İki saat sonunda bu dokular hazırladığımız fosfat tamponunda 4 defa 15'şer dakika yıkandı. Her şişeye 1 ml fosfat tamponu koyuldu (Tablo 5):

Tablo 5: Fosfat tamponu

<u>Kullanılan Madde</u>	<u>Miktarı</u>
Na ₂ HPO ₄	38 cc
Na H ₂ PO ₄	12 cc
Deiyonize Su	50 cc

Dokular tamponda yıkandıktan sonra osmium tetroksit içerisine alınıp iki saat boyunca buzdolabında bekletildi. İki saat sonunda fosfat tamponunda 4 defa 15'şer dakika daha yıkandı. Tamponda yıkanan dokular sırasıyla %30' luk, %50' lik ve %70' lik ve %100'lük aseton çözeltilerine alındı. 20' şer dakika %30'luk, %50'lik ve %70'lik ve iki defa %100'lük aseton çözeltilerinde bekletildi. Araldit hazırlandı (Tablo 6).

Tablo 6. Aralditin Hazırlanışı:

<u>Kullanılan Madde</u>	<u>Miktarı</u>
DDSA	20cc
Araldit CY212	20cc
Benzyl methylenamin	1 cc

Bu maddeler 20 dakika boyunca karıştırıldı ve 20 dakika sonunda tüm şişelerdeki aseton iyice çekilip yerine araldit karışımı koyuldu. Rotatorda 24 saat boyunca karıştırıldı. Bir gün bekletildikten sonra jelatin kapsüller içinde bloklandı. Bloklardan ultramikrotomla alınan kesitler uranil asetat ve kurşun sitratla boyandı (Tablo 7).

Tablo 7:

Uranil Asetat Boyası:

80 ml Metil Alkol

2 g Uranil Asetat

20 ml Distile Su

Gridler bu karışımda 20 dakika boyandı.

Kurşun Sitrat Boyası:

10 N Sodyum Hidroksit (5 ml distile su içinde 2 gr NaOH eritildi.)

50 ml Distile Su

200 mg Kurşun Sitrat

Üzerine 10 N sodyum hidroksitten 0,5 ml katıldı. Temiz şişelere konup gridler bu karışımda 10 dakika boyandı (30-32).

Hazırlanan gridler Zeiss Libra 120 transmisyon elektron mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

4. BULGULAR

4.1 Genel Bulgular

7 gün süresince intraperitoneal trypan blue enjeksiyonu yapılan sıçanların kulakları, burunları, skleraları ve kuyruklarının başlangıç kısımları mavileşti. Ayrıca Hayvanlar disseke edilirken bütün mukozalarının ve hatta organlarının mavileştiği izlendi(Resim 1a,b). Sıçanların sağlık durumlarında, aktivitelerinde, yeme alışkanlıklarında ise herhangi bir değişiklik izlenmedi.

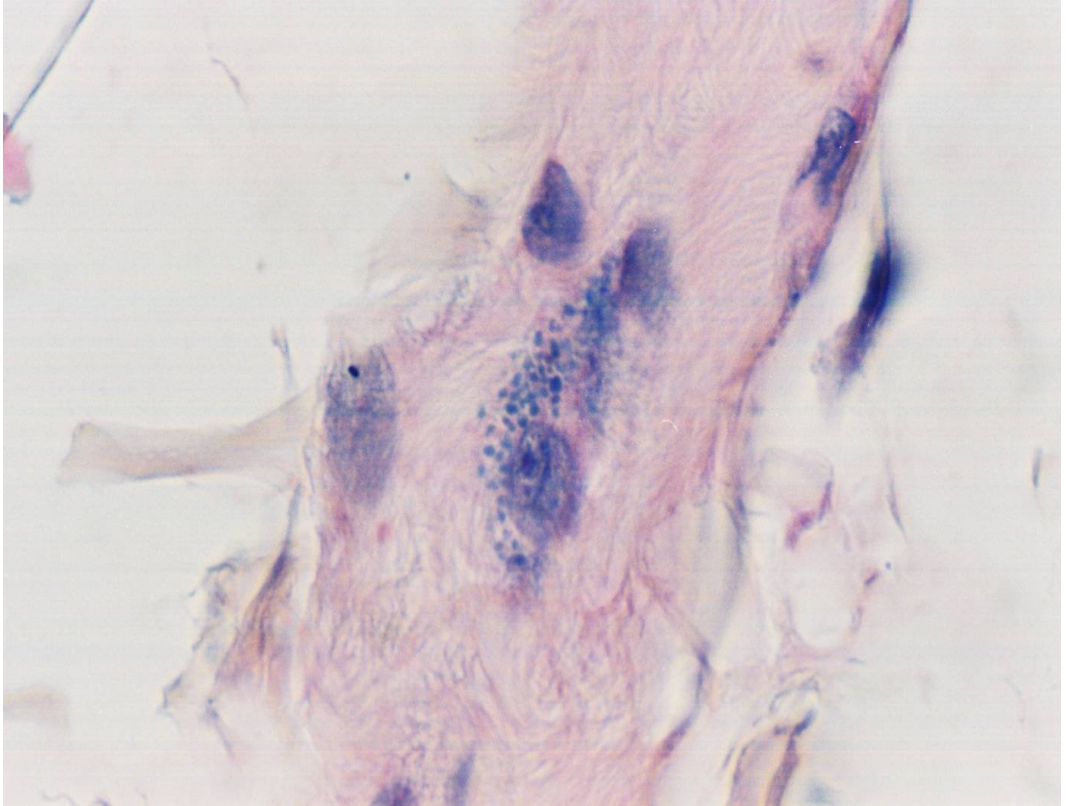
Enjeksiyon intraperitoneal yapıldığı için sıçanların peritonları da histolojik olarak incelendi. Parietal peritonda belirgin mavi granülasyon gösteren büyük makrofajlar izlendi (Resim 2).



Resim 1a: Trypan blue enjeksiyonu yapılan sıçanların 7 gün sonundaki görünüşleri



Resim 1b: Trypan blue enjeksiyonu yapılan sıçanların 7 gün sonundaki görünümüleri

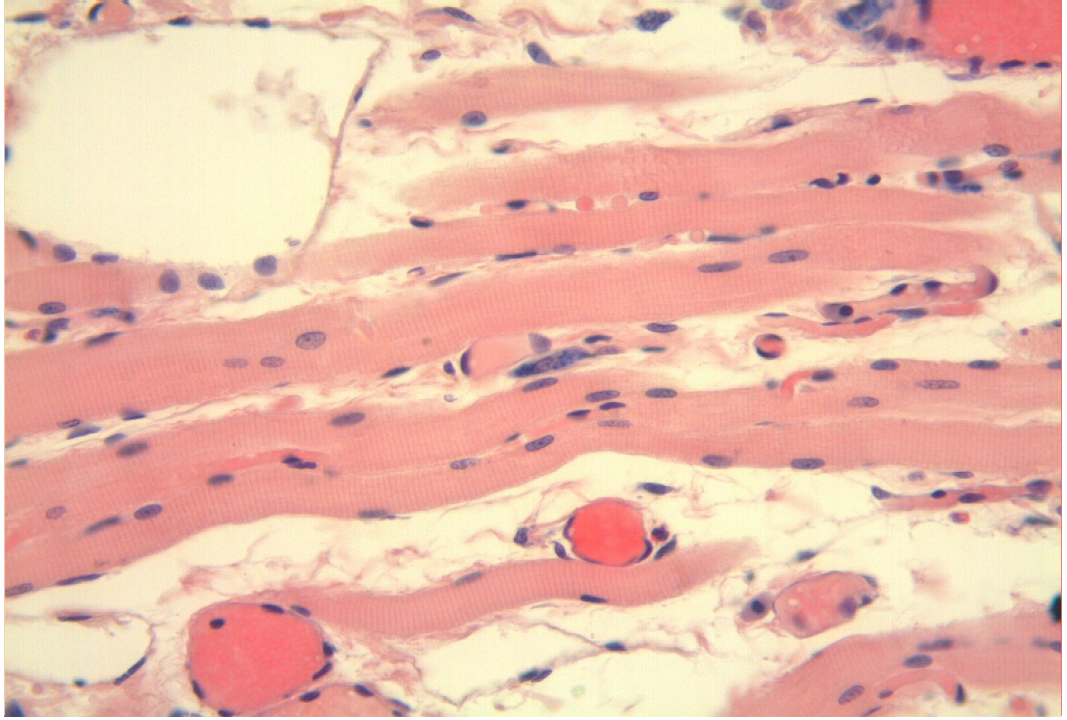


Resim 2: Parietal peritonda makrofaj H-E, X330.

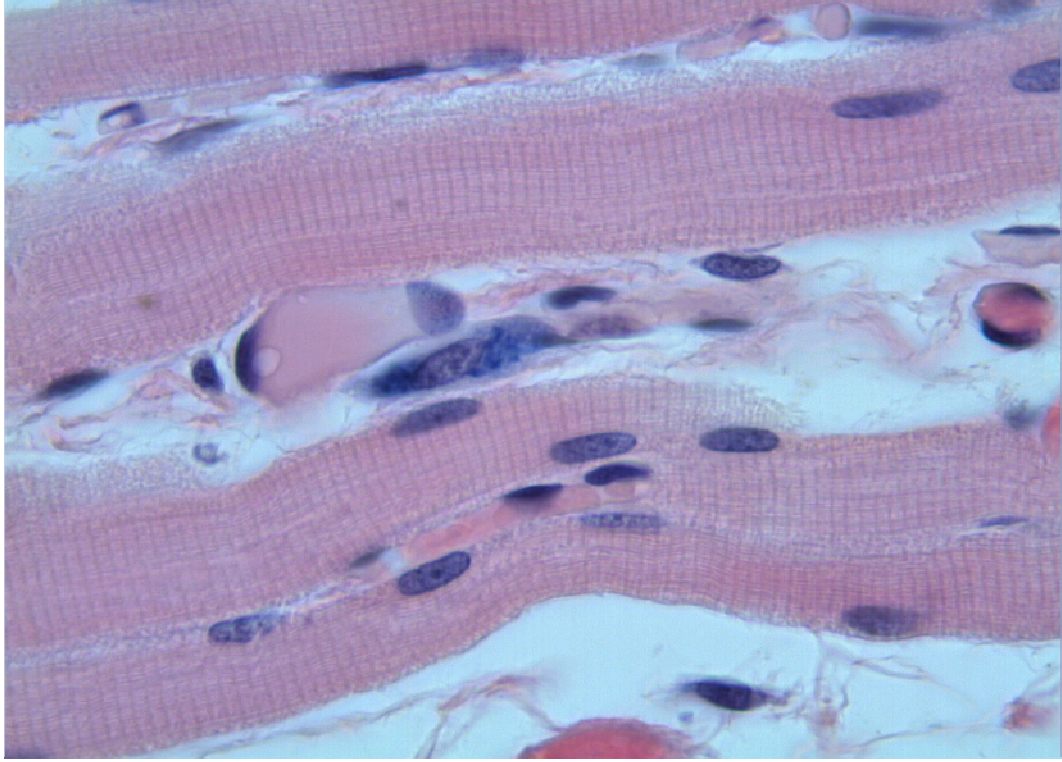
4.2 Sindirim Sistemindeki Makrofajlar:

Makrofajlar sindirim sisteminde dil, özofagus, mide, ince ve kalın barsaklar ile karaciğerde incelendi. Bir hafta süreyle trypan blue enjeksiyonu yapılmış olan sıçanların organlarında makrofajlar sitoplazmalarında birikmiş olan mavi granüller nedeniyle kolaylıkla seçildi.

Dilde makrofajlar, epitel altındaki lamina propria, submukoza ve dil kasları arasındaki bağ dokuda yaygın olarak izlendi. Dilde bağ dokusunda yerleşmiş olan bu makrofajların damarlar çevresinde yoğunlaştığı gözlemlendi (Resim 3,4).

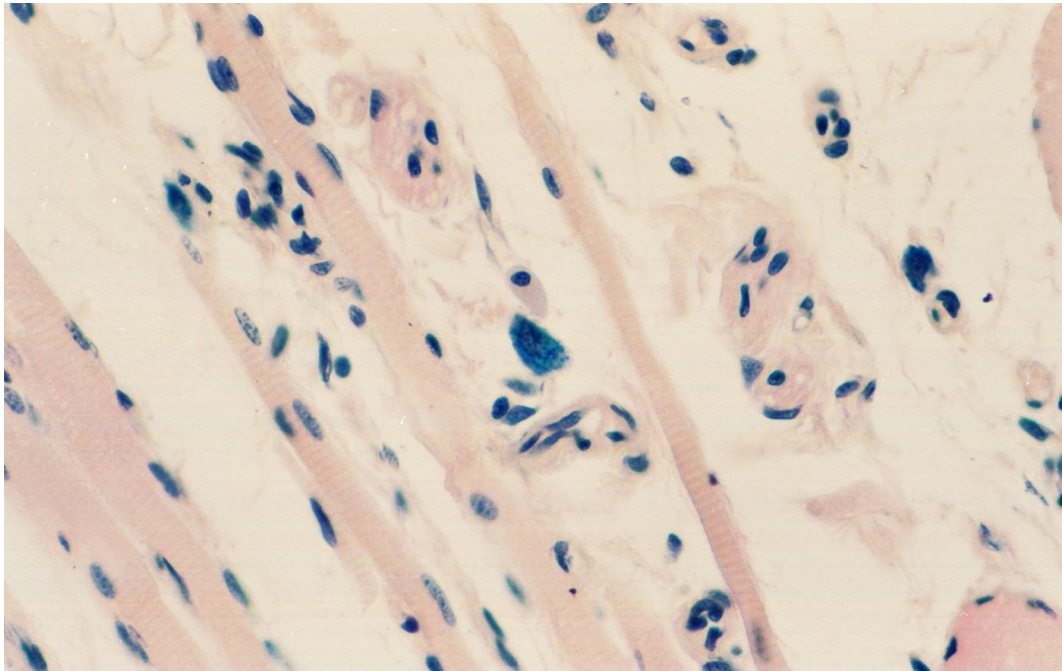


Resim 3: Dilde çizgili kaslar arasında, kapiller damar (*) yanında bulunan bir makrofaj (ok). H-E, X132.

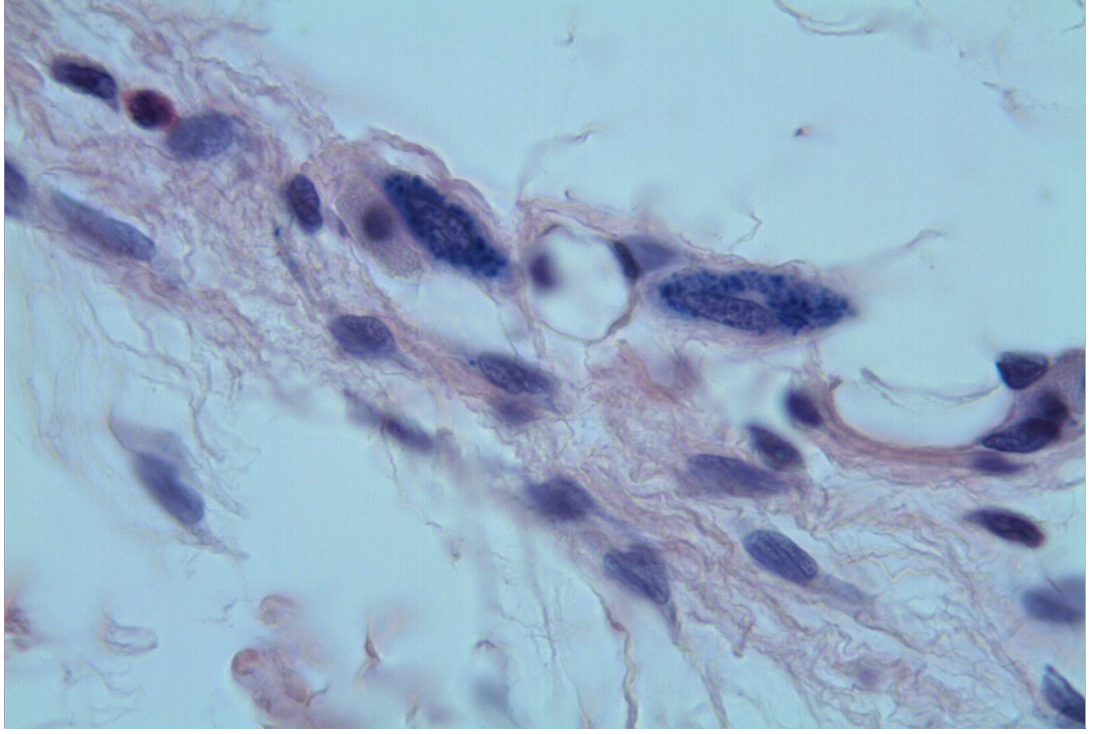


Resim 4: Dilde yassı uzun şekilli, sitoplazmasında granüller içeren bir makrofaj (ok). H-E, X330.

Dilde makrofajlar değişik şekillerde, uzun yassı, oval veya piramidal şekilli hücreler olarak gözlendi. Çekirdekleri de hücre şekliyle uyumlu olarak yassı veya yuvarlaktı. Çekirdek genellikle merkezi veya hafif egzantrik yerleşmişti. Makrofajların sitoplazmaları yoğun mavi granüller içermekteydi. (Şekil 5,6).

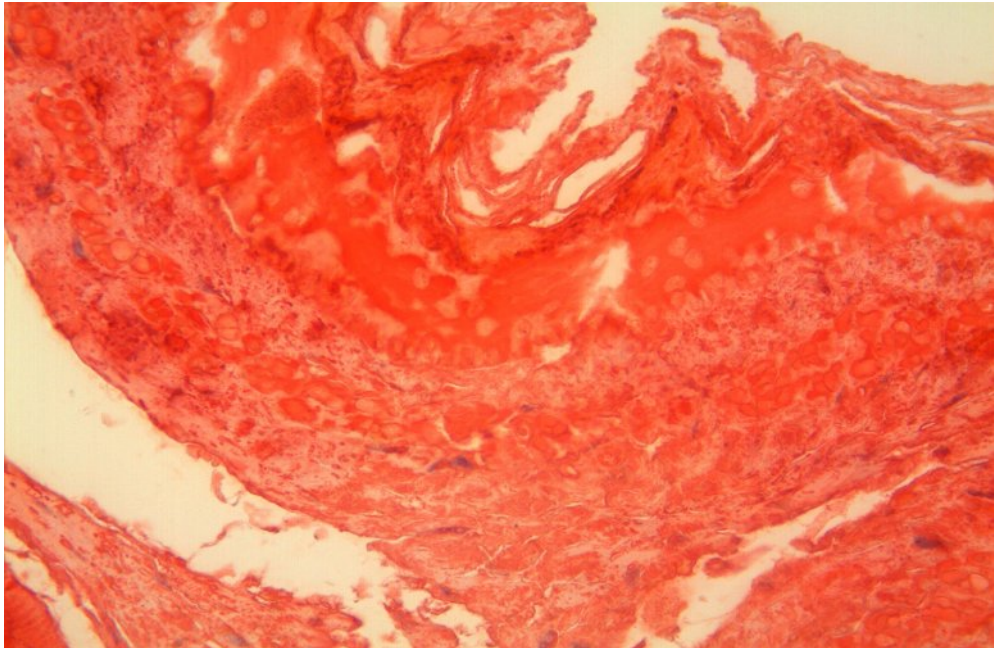


Resim 5: Dilde çizgili kas hücreleri arasında piramidal şekilli bir makrofaj (ok).H-E, X132.



Resim 6: Dilde t. submukozada kapiller (*) yanına yerleşmiş iki makrofaj (ok). H-E, X330.

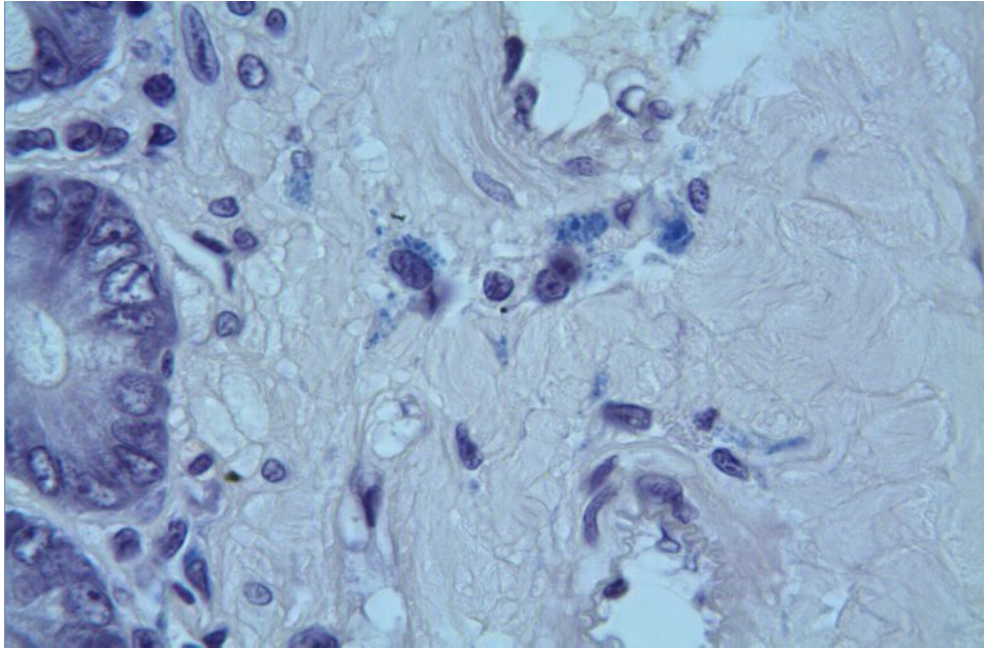
Özofagusda makrofajlar lamina propria, tunika submukoza ve tunika adventisyada izlendi. Çoğunlukla yassı uzun şekilli, merkezi çekirdekli hücreler olarak görüldü. Ancak özofagusdaki makrofajlar dildeki kadar yoğun granüller içermiyordu (Resim 7).



Resim 7: Özofagus lamina propria ve t. submukozaya yerleşmiş makrofajlar. Safranin O-Orange G, X132.

Midede makrofajlar görülemedi. Midedeki makrofajların trypan blue almadıkları gözlemlendi.

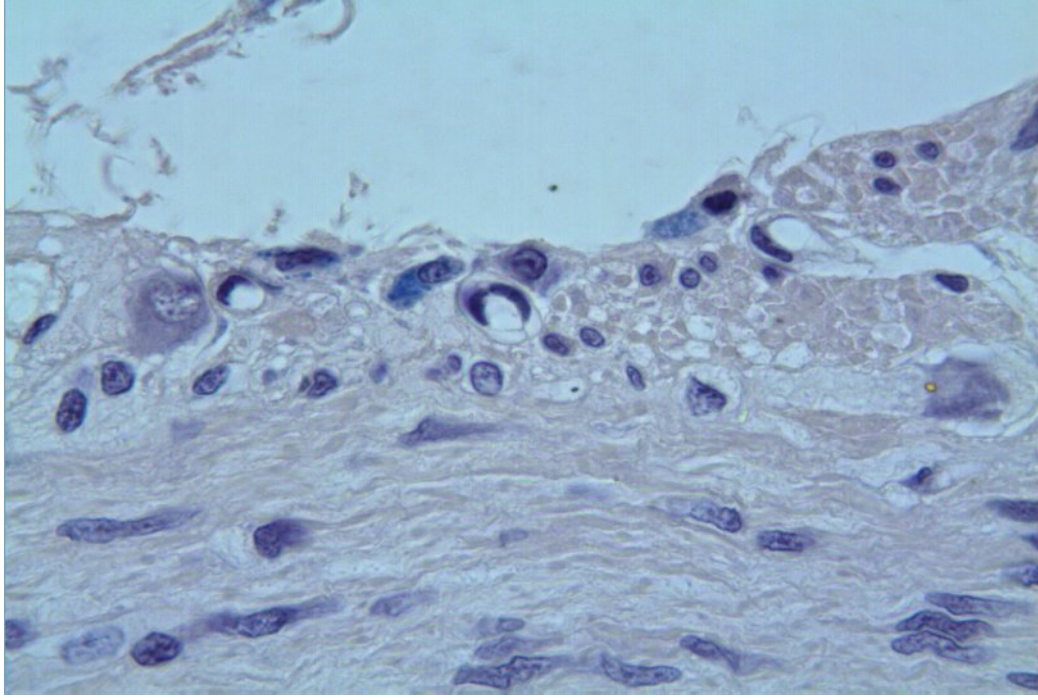
İnce barsaklarda duodenum, jejunum ve ileumda ise makrofajlar izlendi. İnce barsakların lamina propriasında makrofajlar seyrekdi. Submukozda ve adventisyada ise sık yerleşmişlerdi. Özellikle damarlar çevresinde yoğun olarak izlendiler (Resim 8). İleumda Peyer plaklarında ise makrofaj izlenmedi.



Resim 8: Duodenum lamina propria ve t. submukozasında yerleşmiş makrofajlar. H-E, X330.

İnce barsaklarda makrofajlar genellikle yassı uzun hücreler olarak izlendi. Çekirdekler egzantrik yerleşim göstermekteydi. Granüller genellikle hücrenin bir bölgesinde yoğunlaştığı gözlemlendi. Damarlara yakın yerleşimleri dikkat çekiciydi (Resim 9).

Trypan blue verilen sıçanların ince barsaklarında yerleşmiş olan makrofojların ultrastrüktürel yapısı incelendiğinde sitoplazmalarının iri primer ve sekonder lizozomlarla dolu olduğu görüldü. Çekirdek hafif eksantrik yerleşmişti ve belirgin bir çentiğe sahipti (Resim 10).

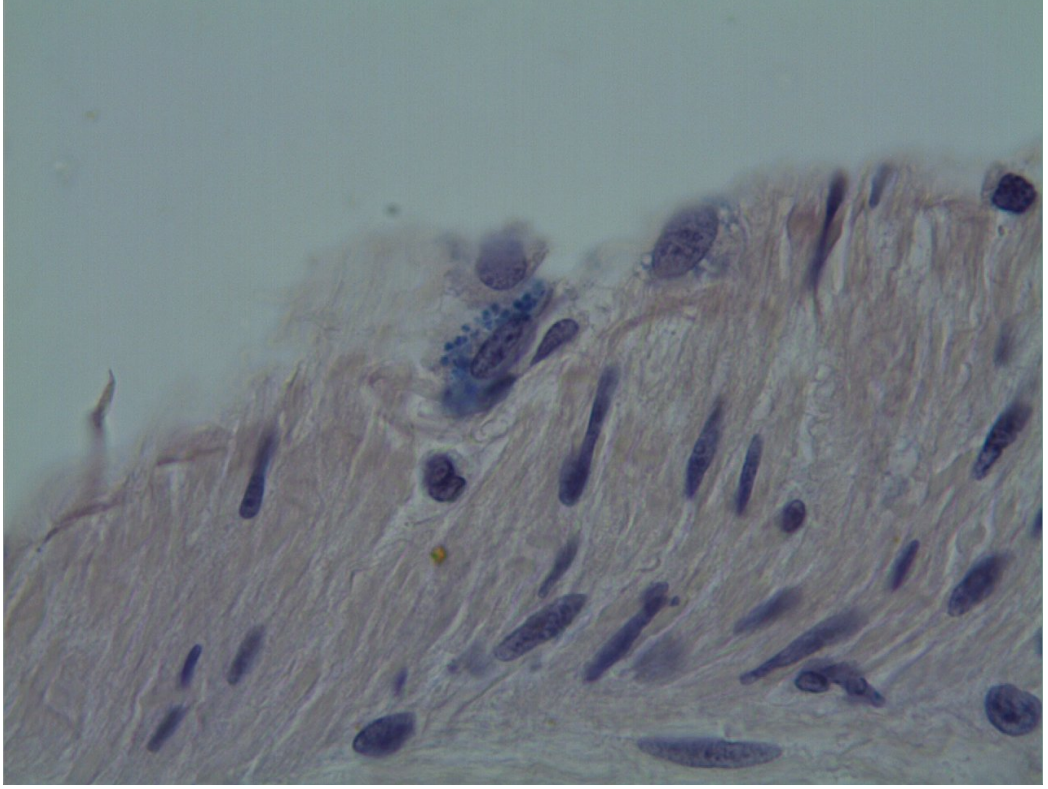


Resim 9: Duodenumda t. adventisyada kapillerlere (*) komşu olarak yerleşmiş makrofajlar (ok). H-E, X330.



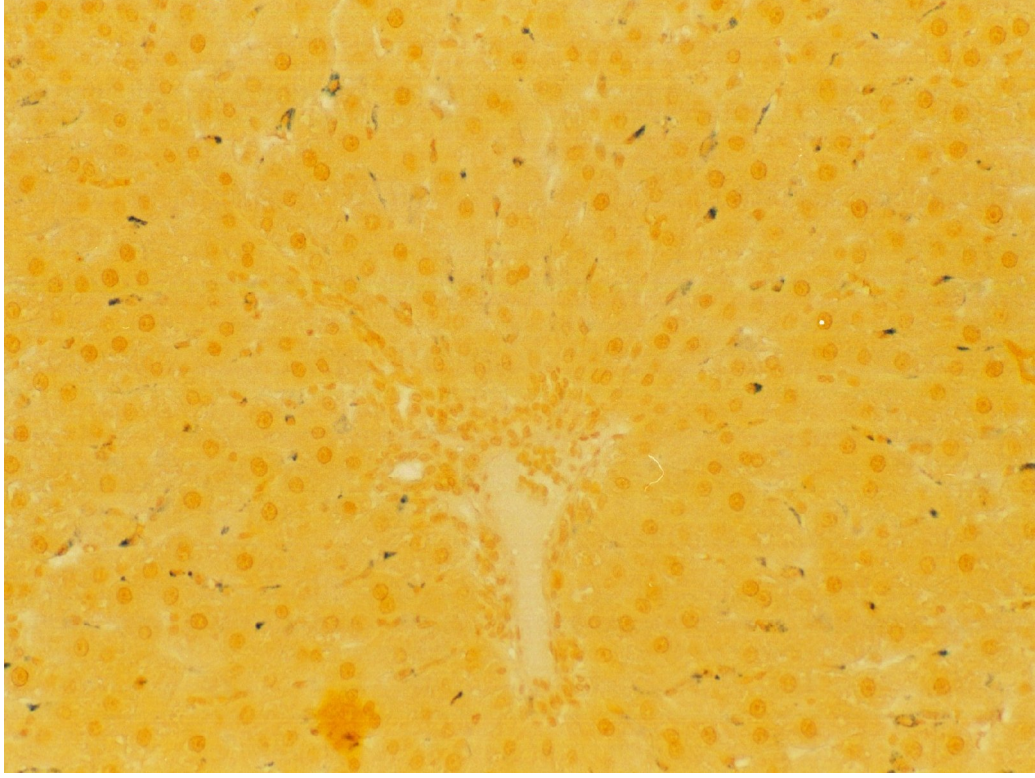
Resim 10: Duodenumda makrofaj, X12500.

Kalın barsaklarda makrofajlar ince barsakdakilere benzer özellik göstermekteydi. Lamina propria, tunika mukoza ve t. adventisyada uzun oval hücreler olarak izlendi. Çekirdekleri büyük ve eksantrik yerleşmişti. Sitoplazmalarında belirgin büyük granüller seçiliyordu (Resim 11).

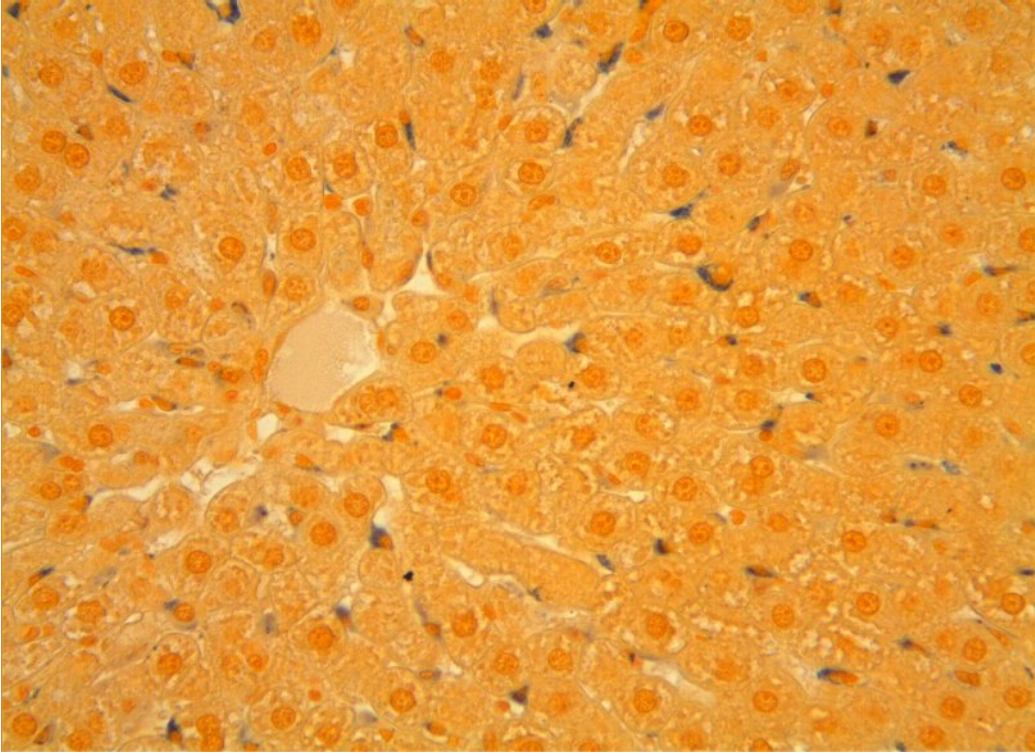


Resim 11: Kolonda t. adventisyada makrofajlar. H-E, X330.

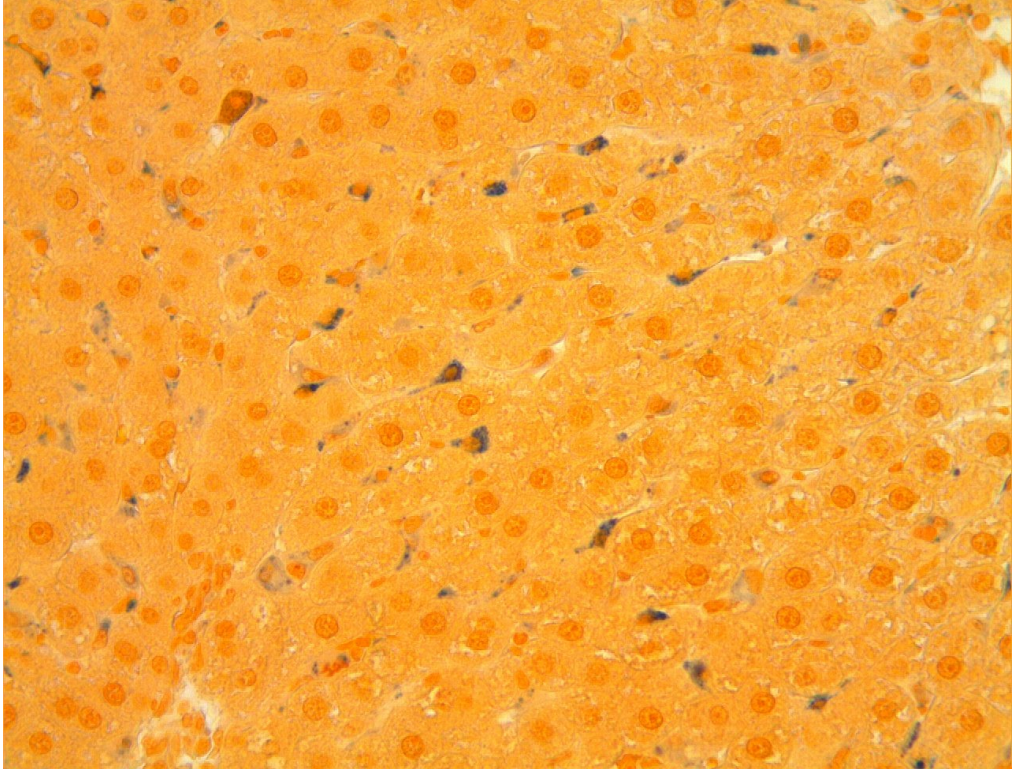
Karaciğerde yerleşik makrofajlar olan Kupffer hücreleri sinüzoidler boyunca hepatositlerin yanında yerleşmiş ve sinüzoidlere doğru kabartı yapan hücreler olarak gözlemlendi. Çok sayıda ve sık yerleşmişlerdi. Genellikle uzun yassı veya piramidal şekilli küçük hücrelerdi (Resim 12,13,14). Çekirdekleri merkezi veya hafif egzantrik olarak yerleşmişti. Sitoplazmalarında mavi granüller seçiliyordu (Resim 15,16).



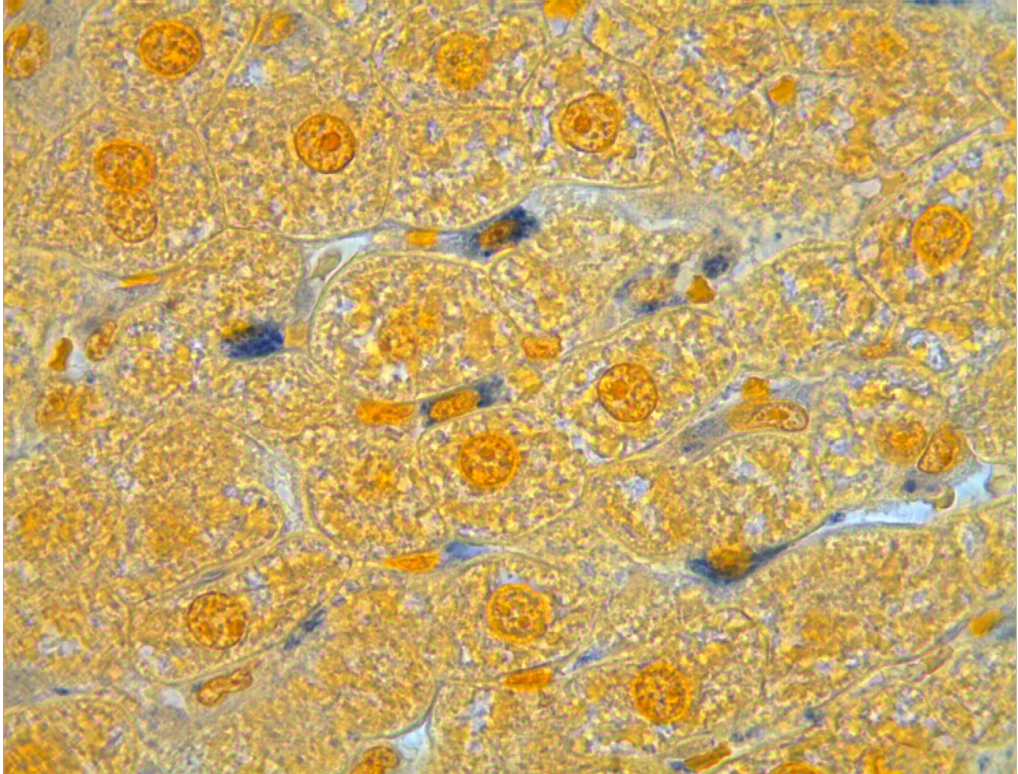
Resim 12: Karaciğerde portal alan çevresinde sinuzoidler boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 66.



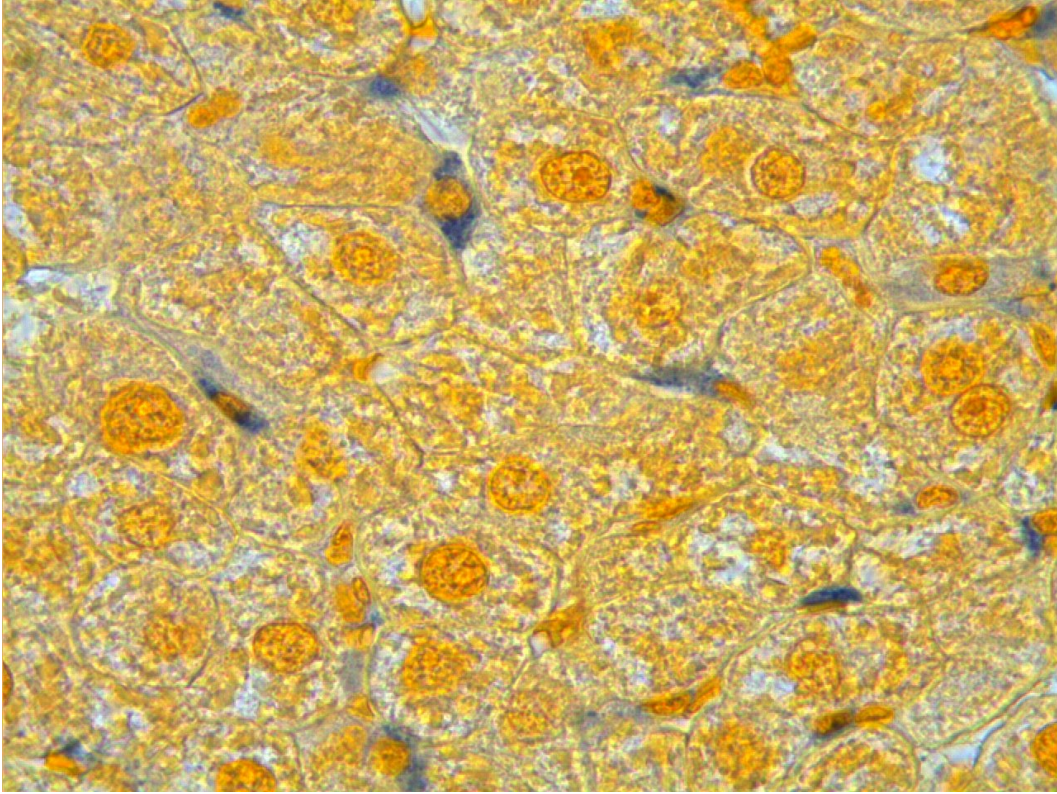
Resim 13: Karaciğerde v. sentralis çevresinde sinuzoidler boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 132.



Resim 14: Karaciğerde sinuzoidler boyunca yerleşmiş Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 132.

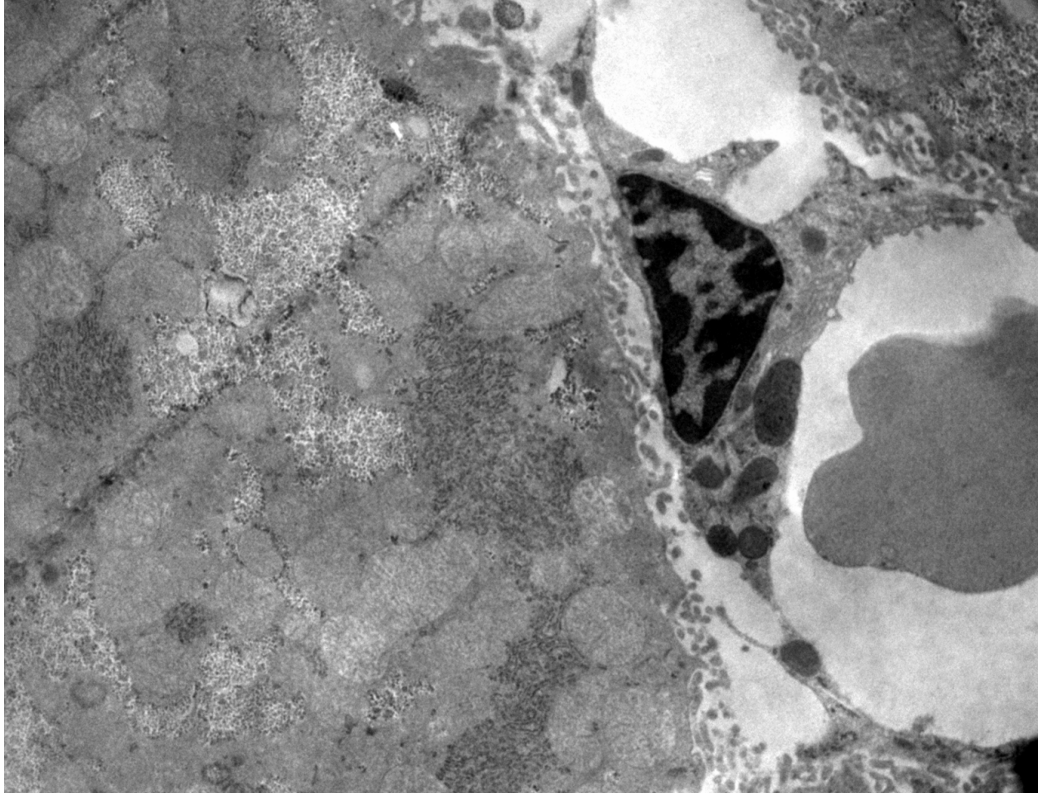


Resim 15: Karaciğerde mavi granüller içeren Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 330.

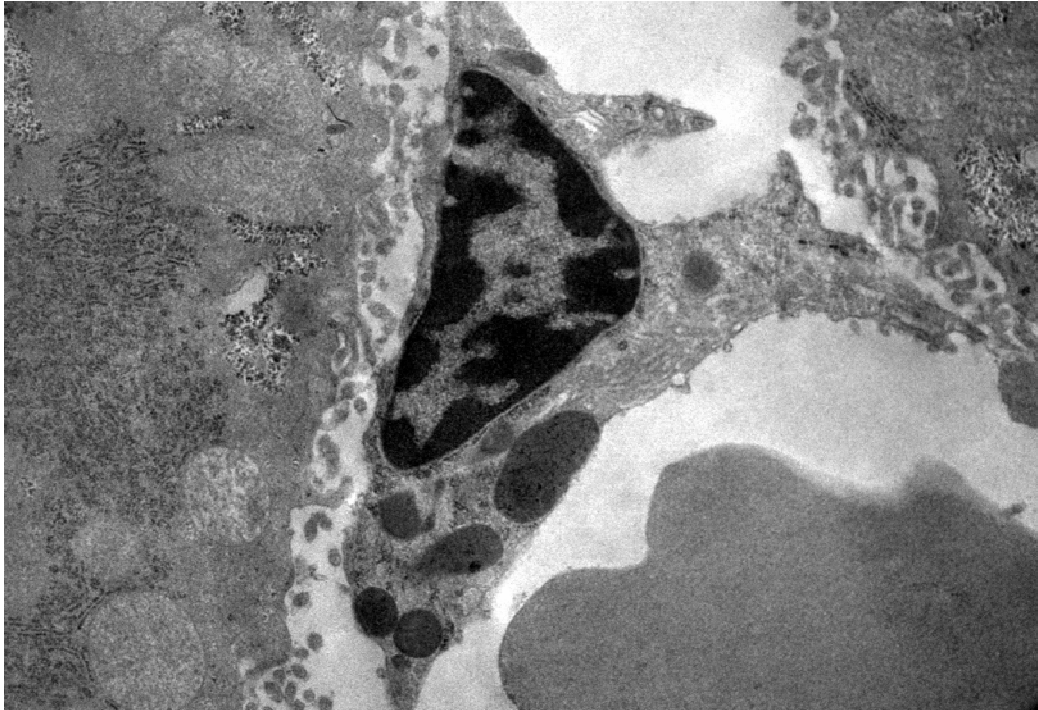


Resim 16: Karaciğerde mavi granülleri ile seçilen Kupffer hücreleri. Safranin O-Orange G, X 330.

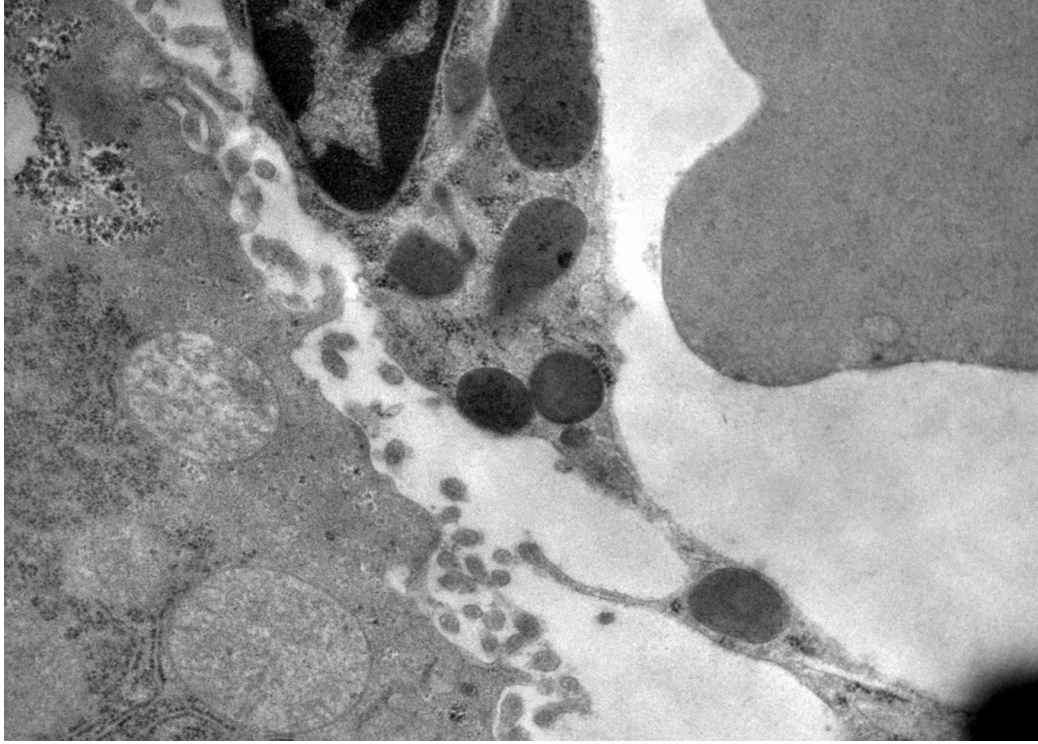
Kontrol grubunda Kupffer hücrelerinin ince yapısı incelendiğinde bu hücrelerin hepatositlere yakın komşulukta, sinüzoidlere yerleştikleri izlendi. Çok sayıda yalancı ayak şeklinde belirgin uzantılara sahip hücrelerdi. Bu uzantılar hücreye yıldız şeklinde bir görünüm kazandırıyor. Hücre uzantılarının sinüzoidin karşı tarafındaki hepatositlere ve diğer Kupffer hücrelerine doğru uzandığı gözlemlendi. Bu uzantılarla diğer hücreler arasında herhangi bir bağlantı kompleksi gözlenmedi (Resim 17). Çekirdekleri büyük ve merkezi yerleşim gösteriyordu. Sitoplazmalarında primer ve sekonder lizozomlar izlendi. Çekirdeğe yakın yerleşimli Golgi aparatı mevcuttu (Resim 18,19,20)



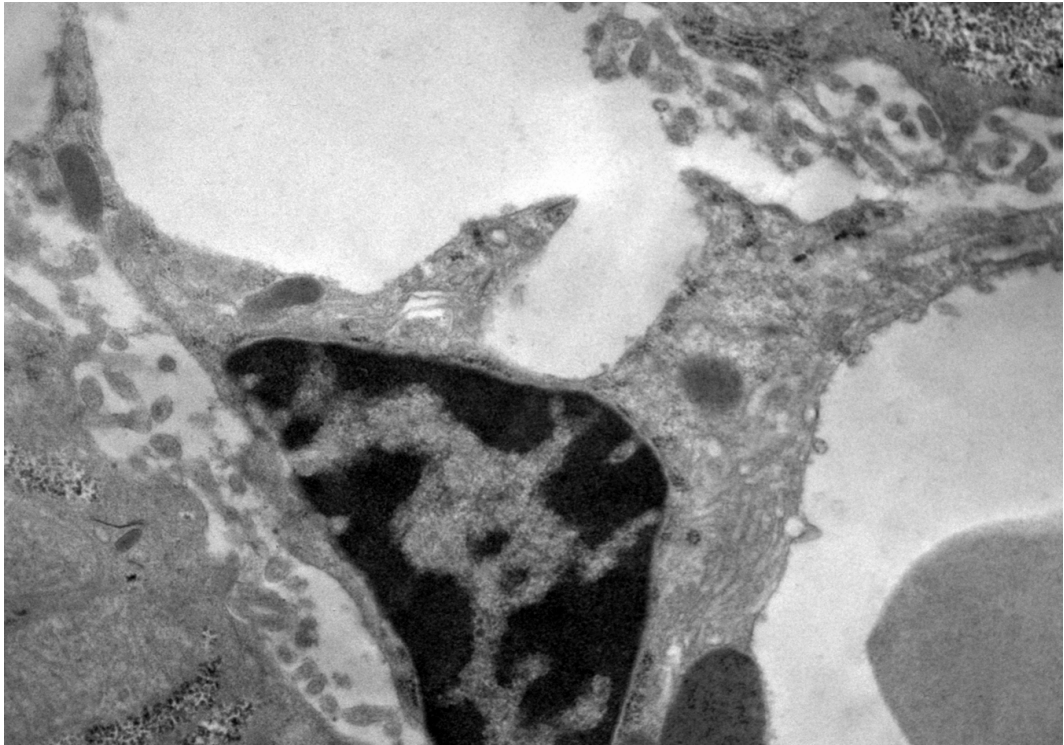
Resim 17: Sinüzoidlere yerleşmiş Kupffer hücresi. Diğer Kupffer hücresine (k) ve hepatosite (h) uzanan yalancı ayak benzeri uzantıları (ok). X8000.



Resim 18: Sinüzoidlere yerleşmiş Kupffer hücresi. X 12500.

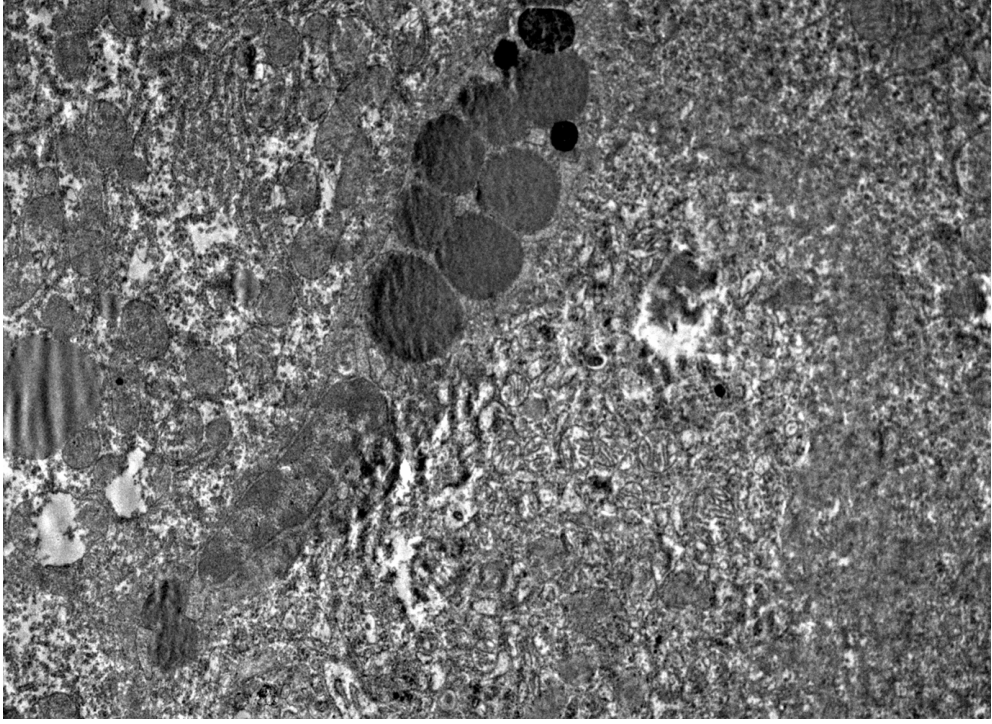


Resim 19: Kupffer hücre sitoplazmasında primer (p) ve sekonder lizozomlar (s). X20000.

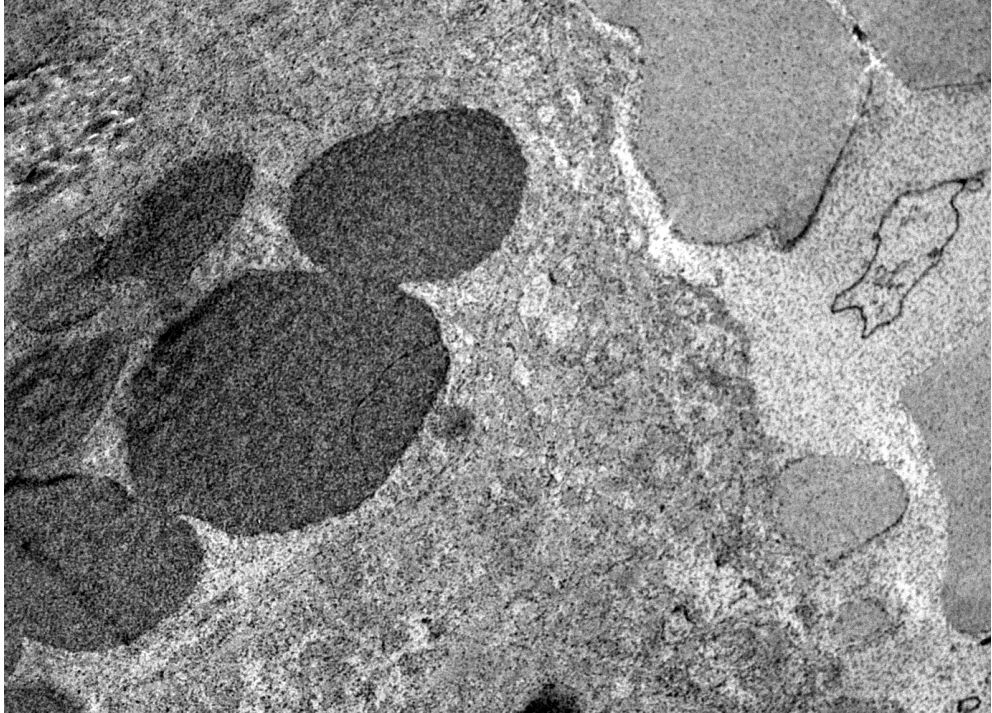


Resim 20: Kupffer hücre sitoplazmasında Golgi aparatı (ok), X 20000

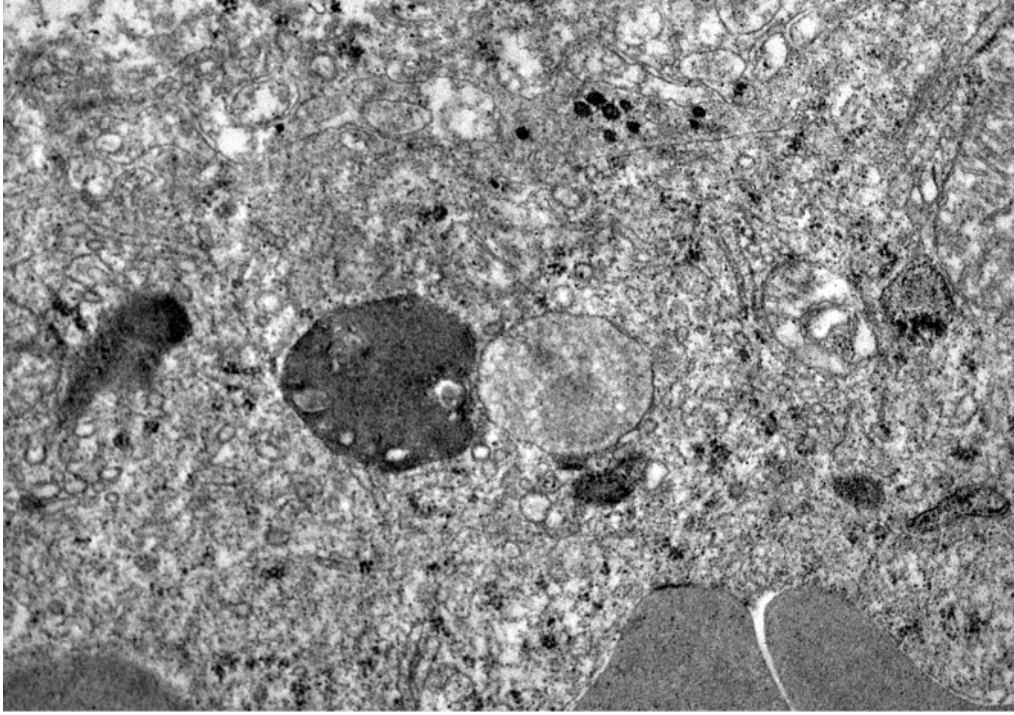
Tripan blue uygulanmış sıçanların karaciğerlerinde Kupffer hücrelerinde büyük primer ve sekonder lizozomlar izlendi. Lizozomlar hücre sitoplazmasının büyük kısmını kaplamıştı (Resim 21,22). Elektron mikroskopik olarak incelendiğinde özellikle sinüzoide komşu olan hepatositlerde de primer ve sekonder lizozom artışı olduğu gözlemlendi (Resim 23).



Resim 21: Trypan blue grubu karaciğerde Kupffer hücresi X 6300.



Resim 22: Trypan blue grubu karaciğerde Kupffer hücresinde lizozomlar X16000.

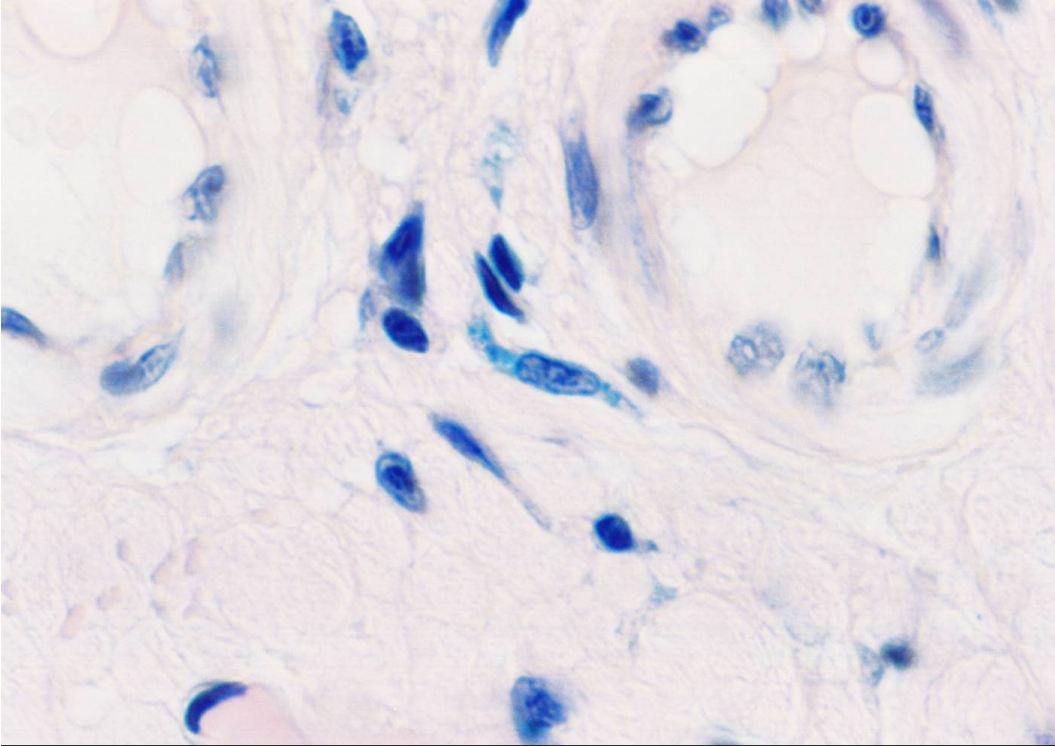


Resim 23: Trypan blue grubu karaciğerde hepatosit sitoplazmasında sekonder lizozom (ok) X25000.

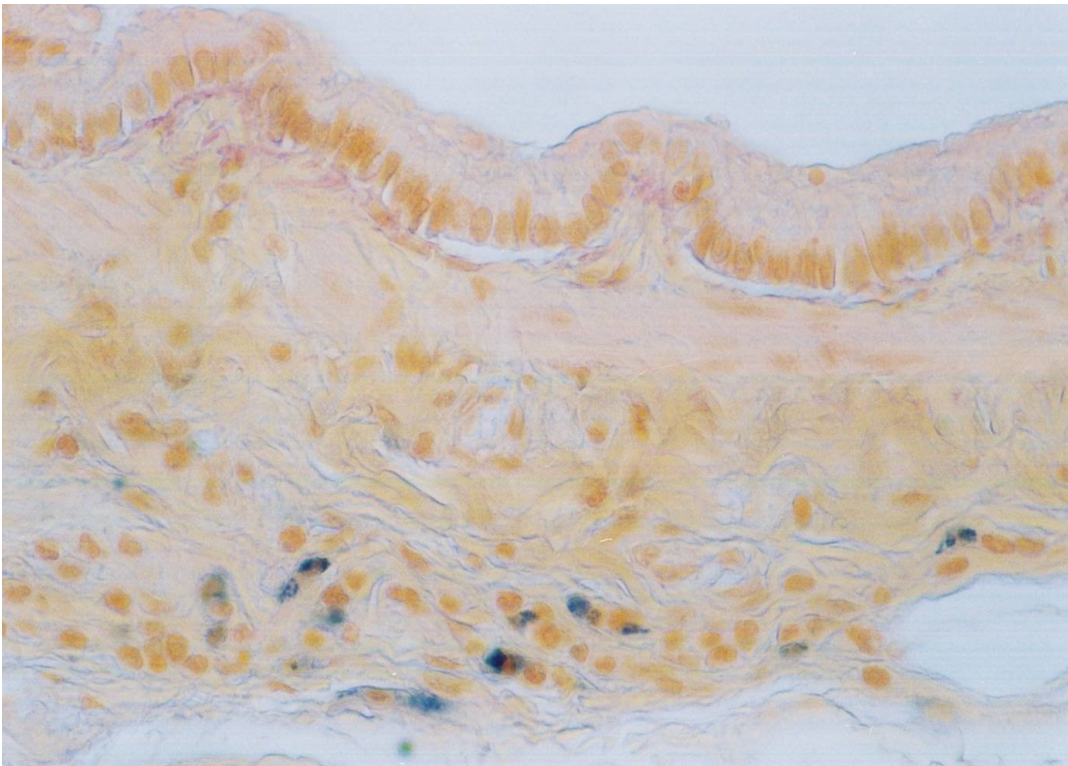
4.3 Solunum Sistemindeki Makrofajlar:

Makrofajlar solunum sisteminde trakea ve akciğer dokularında incelendi.

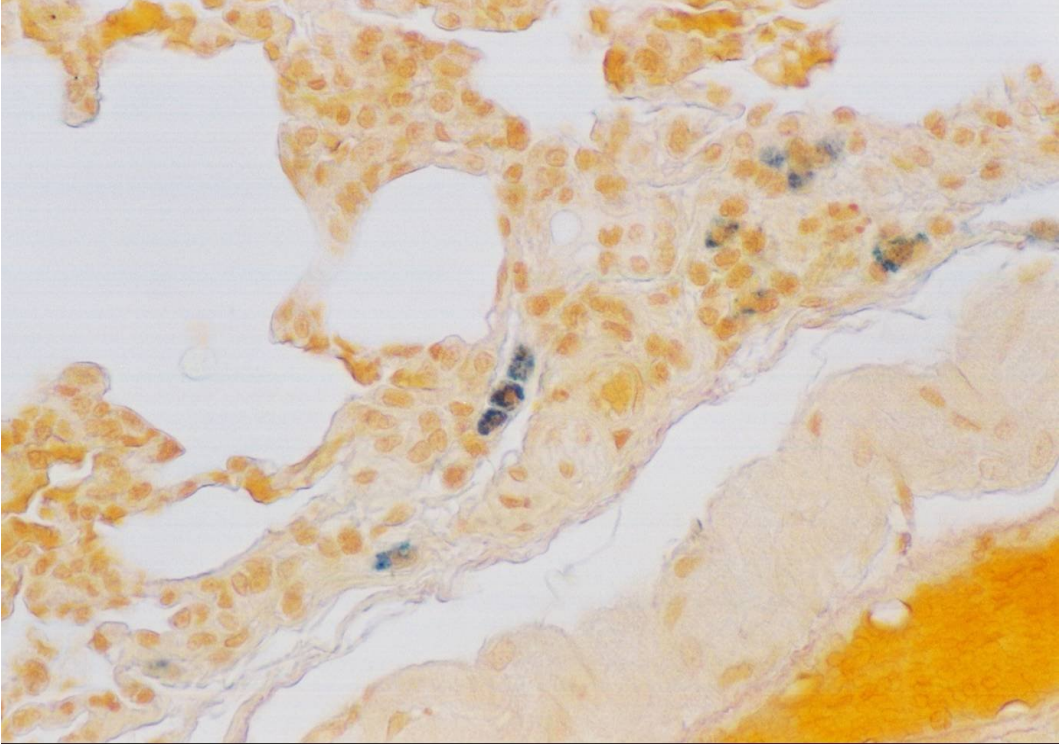
Trakeada makrofajlar tunika submukoza ve tunika adventisyada izlendi. Trakeada da damarlara yakın yerleşim gösteriyorlardı. Merkezi çekirdekli, uzun yassı hücreler olarak izlendiler (Resim 24). Bronş ve bronşiol duvarlarında submukoza tabakasında yassı veya oval hücreler olarak izlendiler. Damarlara yakın yerleşimleri solunum sisteminde de belirgindi (Resim 25, 26, 27,28). İnteralveolar septumda ve alveol içinde alveoler makrofaj izlenmedi.



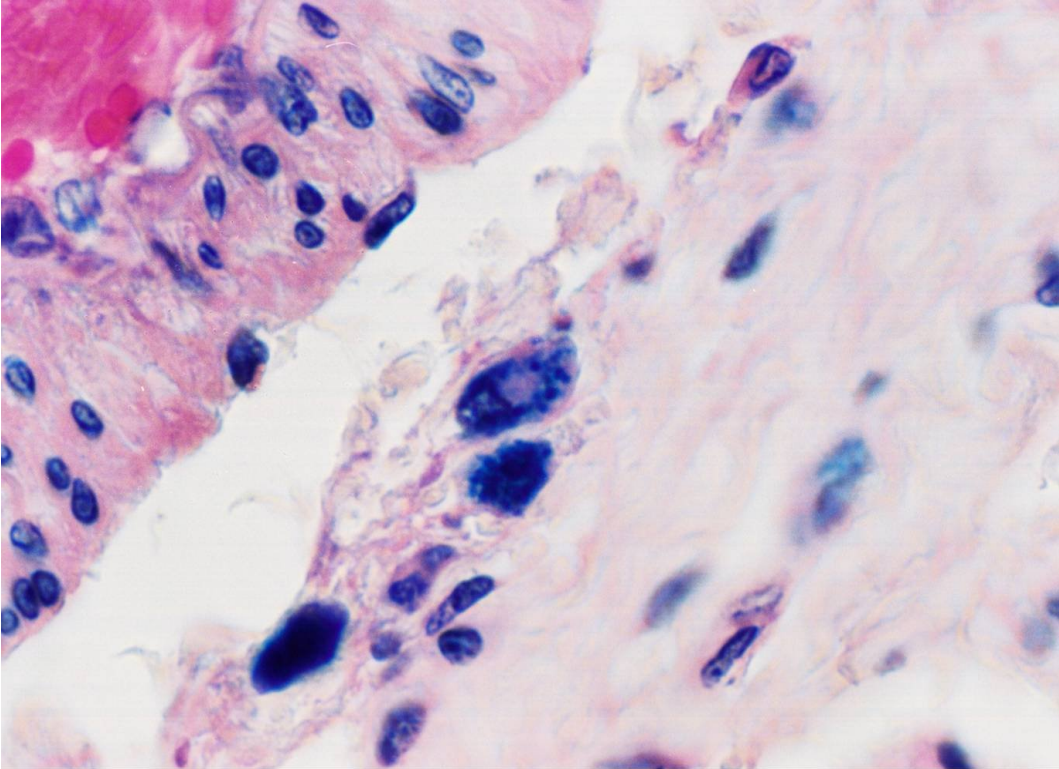
Resim 24: Trakeada t. submukozada makrofaj (ok), H-E, X 330.



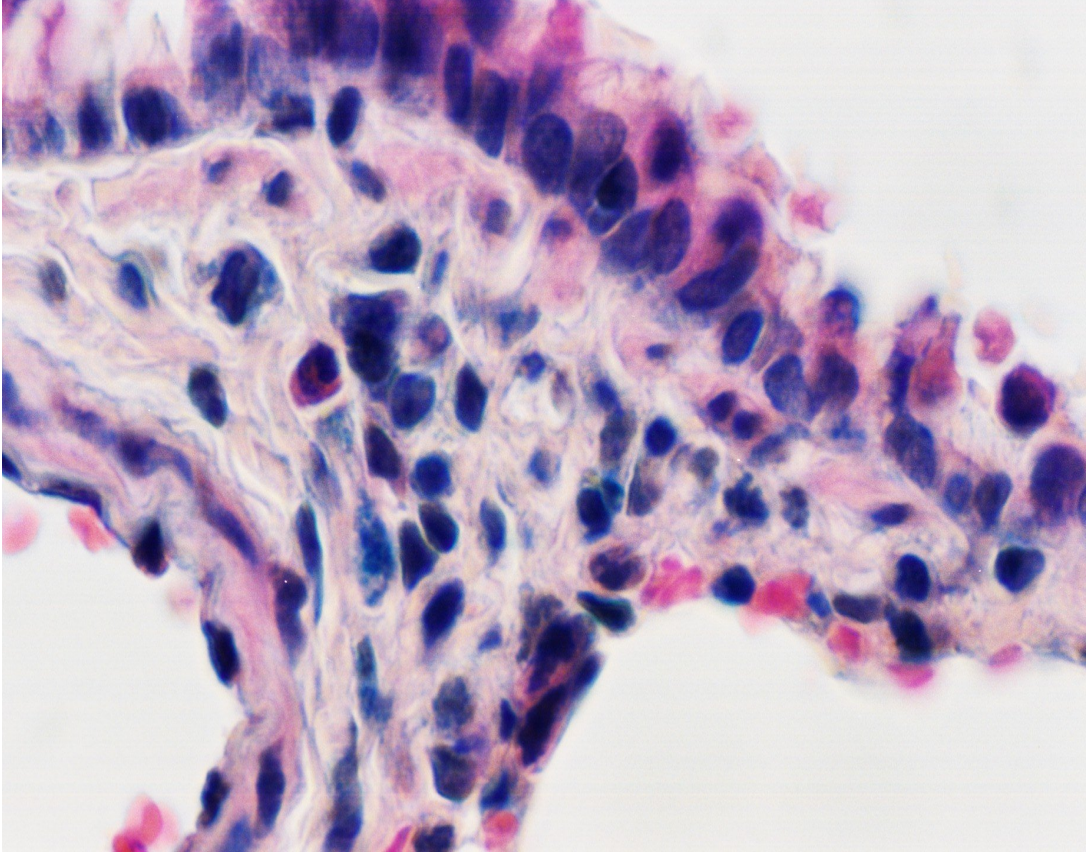
Resim 25: Bronş t. submukozasında makrofajlar, Safranin O- Orange G, X 132.



Resim 26: Akciğerlerde alveollere yakın yerleşim gösteren makrofajlar. Safranin O- Orange G, X 132.

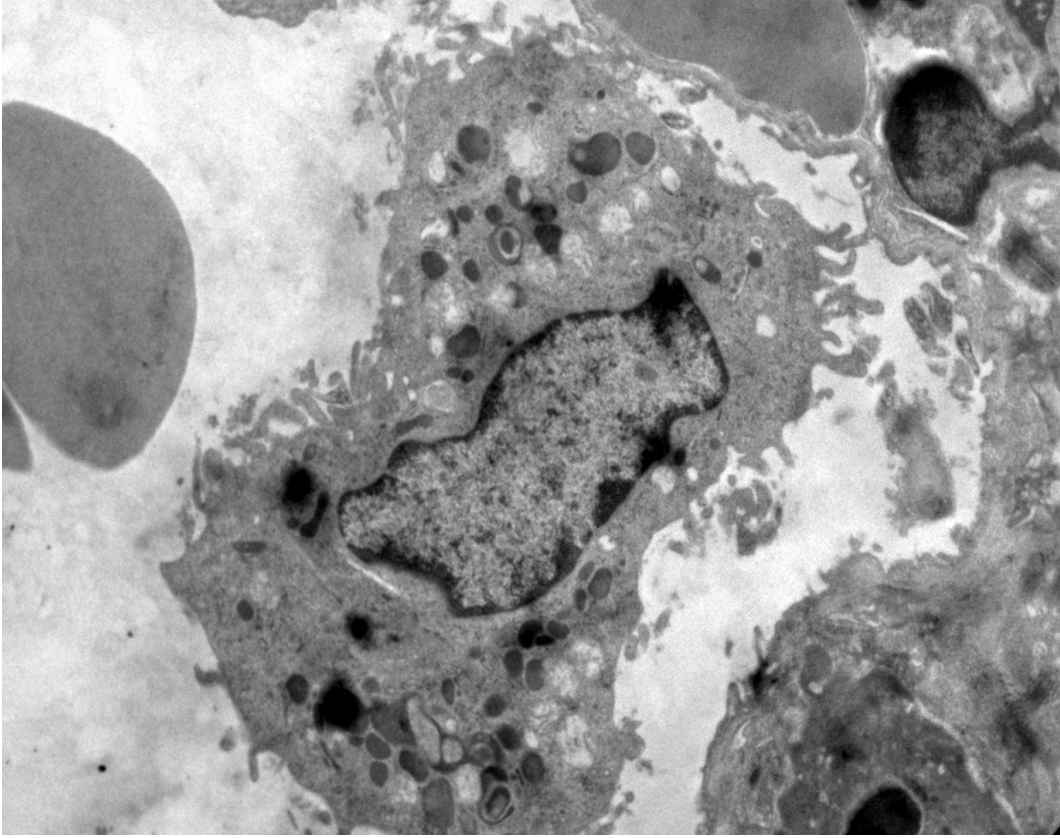


Resim 27: Akciğerlerde artere yakın yerleşmiş oval şekilli makrofajlar (ok), H-E, X 330.

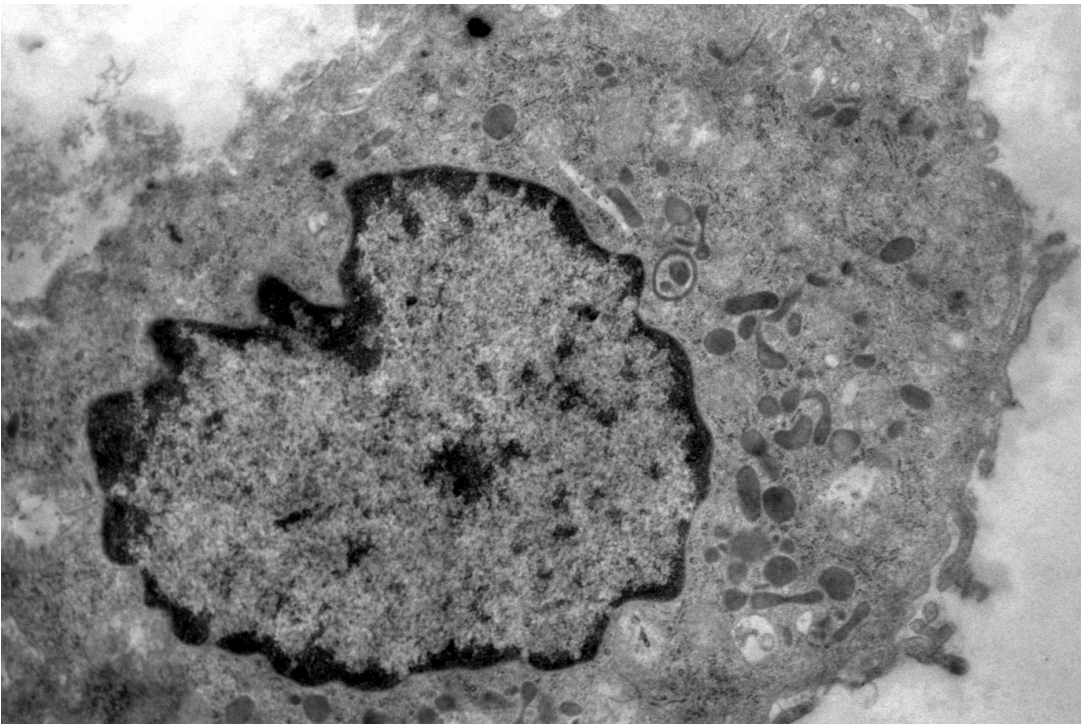


Resim 28: Bronşiolde (b), artere (a) yakın yerleşmiş makrofaj (ok), H-E, X 330.

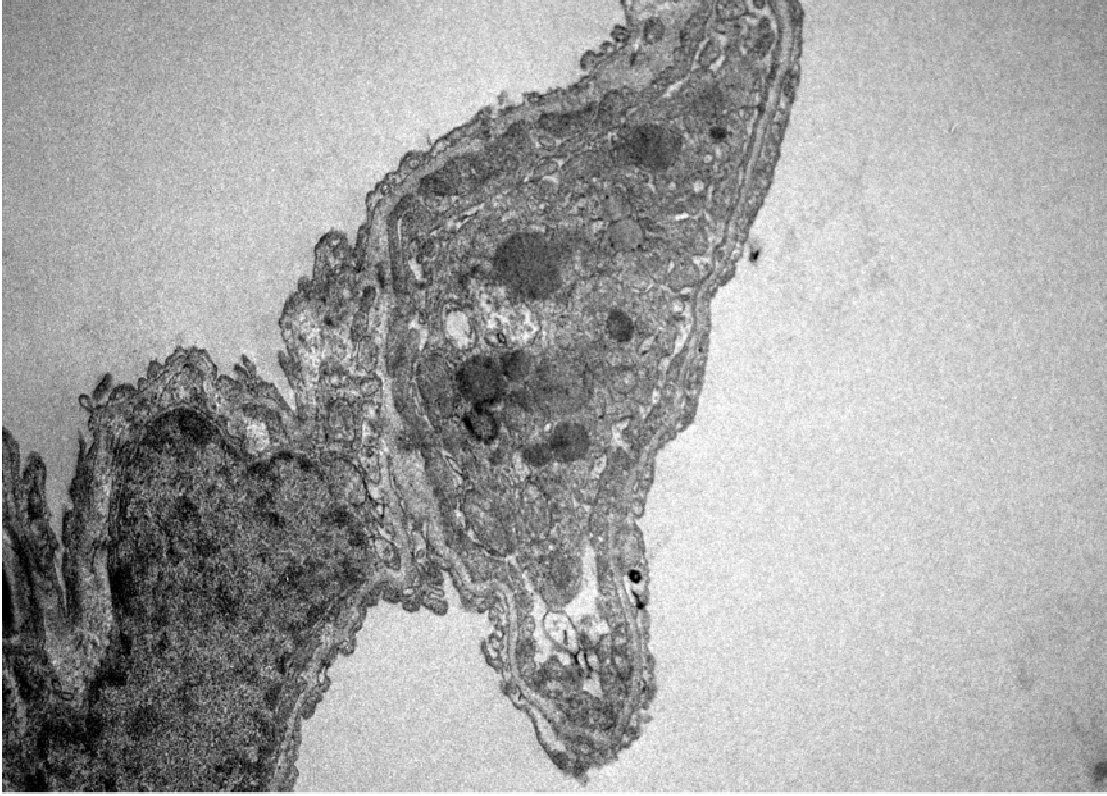
Kontrol grubunda solunum sistemindeki makrofajların ince yapısı incelendiğinde, bu hücrelerin oval veya yuvarlak hücreler olduğu gözlemlendi. Plazma membranı düzensiz girinti ve çıkıntılara sahipti. Çekirdek merkezi yerleşmiş, yuvarlak çentikli veya oval görünümdeydi. Sitoplazmaya dağılmış çok sayıda primer veya sekonder lizozomlar vardı (Resim 29,30). Alveoler makrofajlar interalveoler septumda ve alveol içinde belirgin primer ve sekonder lizozomlar içermekteydi (Resim 31,32)



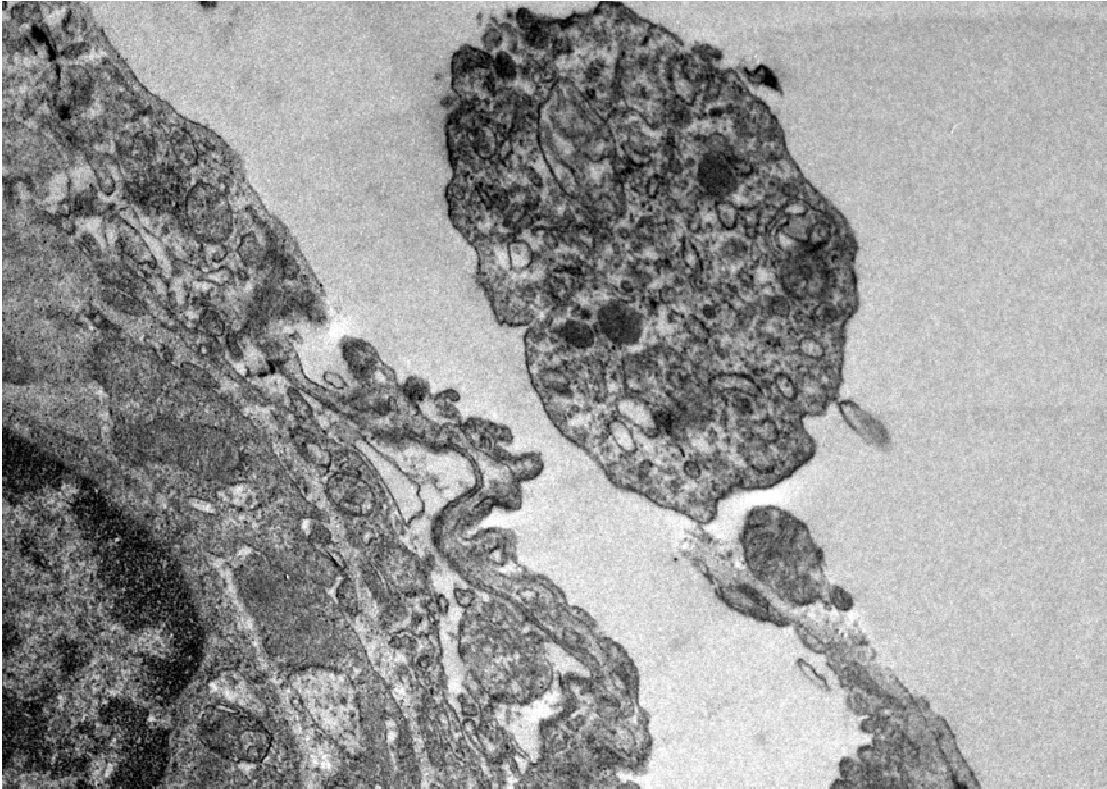
Resim 29: Alveolar makrofaj, X 6300.



Resim 30: Alveolar makrofaj, X 12500.



Resim 31: Trypan blue grubunda interalveoler septumda alveolar makrofaj, X 10000.



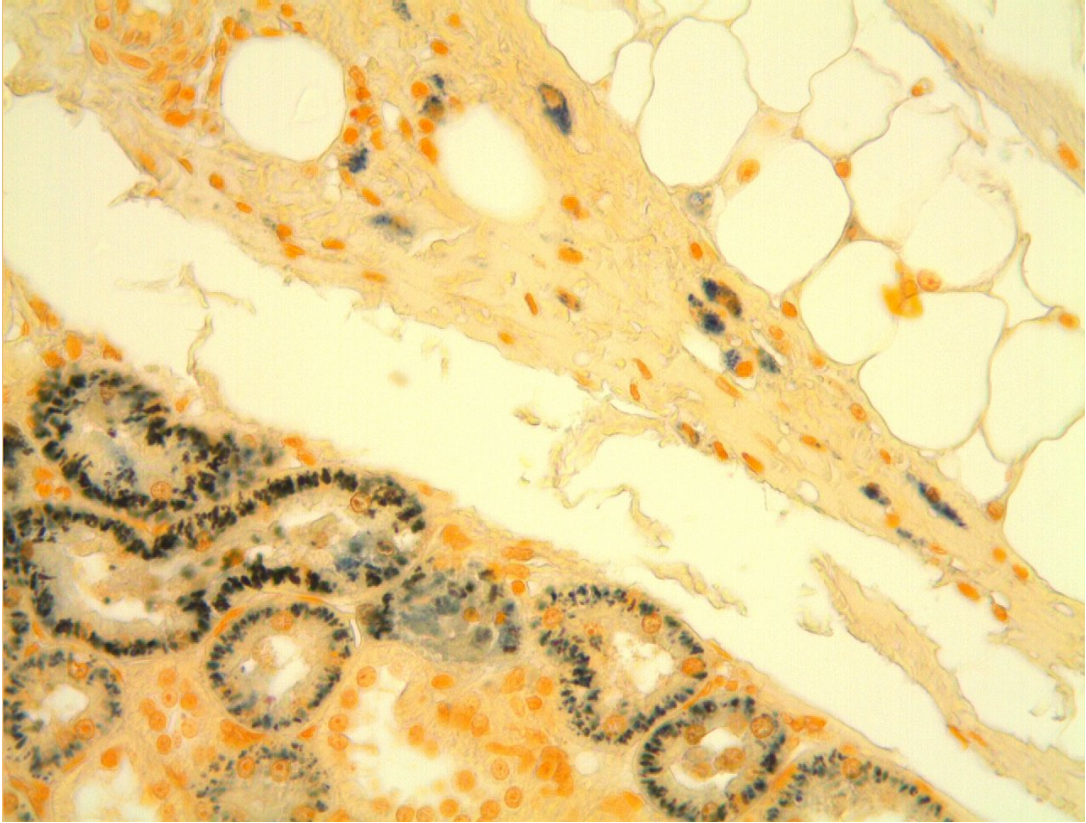
Resim 32: Trypan blue grubunda alveol içinde alveolar makrofaj uzantısı, X 16000.

4.4 Boşaltım Sistemindeki Makrofajlar

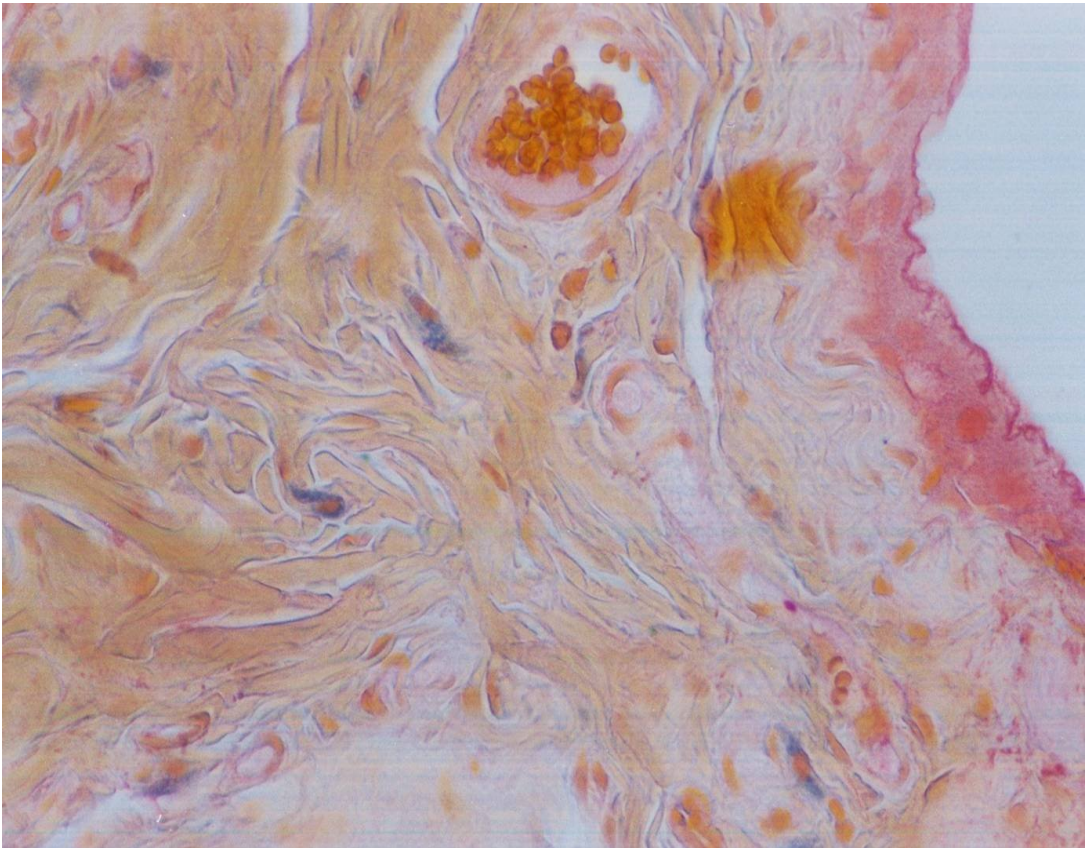
Boşaltım Sisteminde makrofajlar, böbrek ve mesane dokularında incelendi. Böbrekler incelendiğinde proksimal tubül hücrelerinde trypan blue birikimine bağlı granülasyon olduğu izlendi. Makrofaj ise izlenmedi. Böbreği çevreleyen perirenal bağ dokusunda ise çok sayıda makrofaj seçildi (Resim 33,34). Mesanede ise lamina propria'nın derin kısımlarında, tunica muskularisdeki epimisyumda makrofajlar yassı, oval veya piramidal hücreler olarak izlendi (Resim 35,36,37).



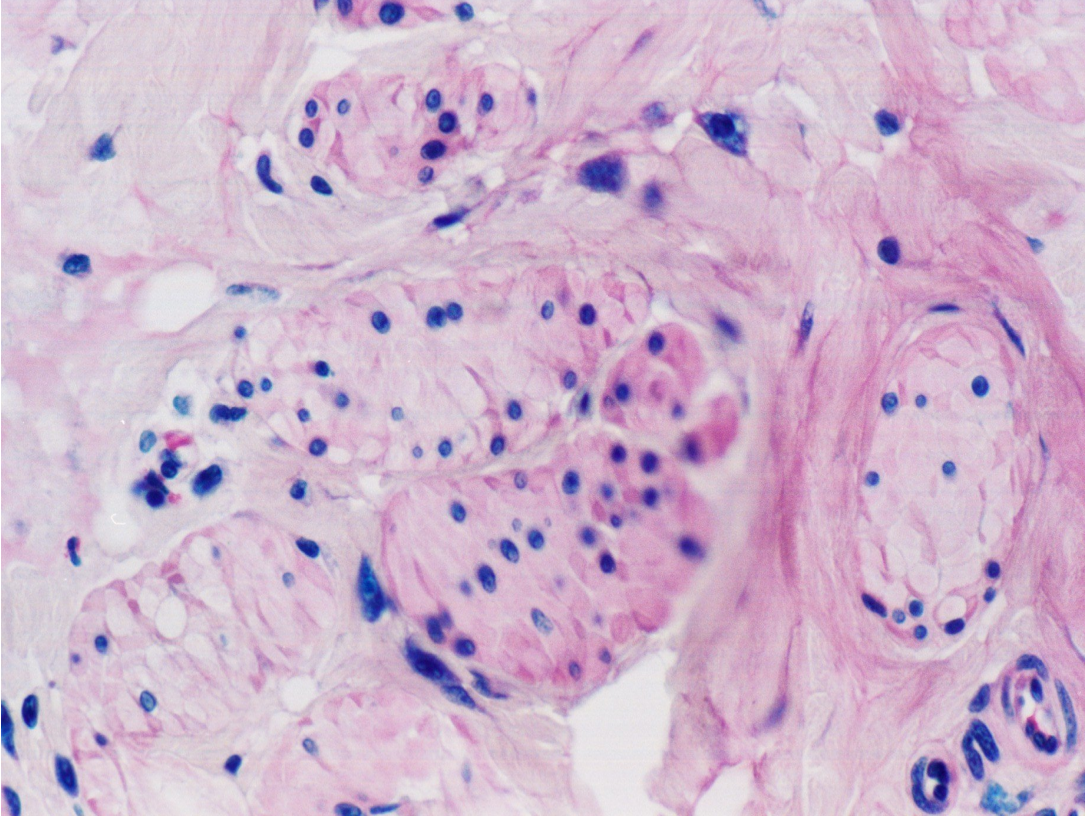
Resim 33: Böbrekte proksimal tubüllerde trypan blue birikimine bağlı granülasyon. Safranin O-Orange G, X 132.



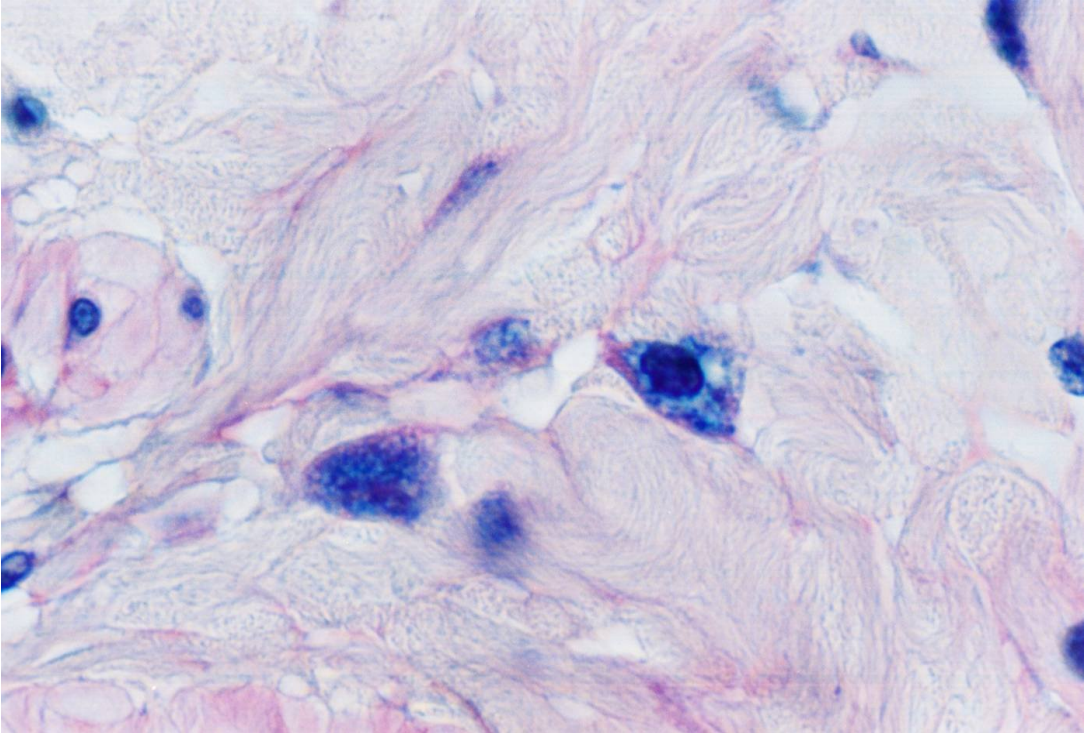
Resim 34: Böbrekte perirenal bağ dokuda makrofajlar (ok), Safranin O- Orange G, X 132.



Resim 35: Mesanede derin lamina propriada makrofajlar, Safranin O- Orange G, X 132.



Resim 36: Mesanede t. muskularis ve çevresinde makrofajlar (ok). H-E, X132.



Resim 37: Mesanede makrofajlar. H-E, X330.

5. TARTIŞMA

Mononükleer fagositik sistem hücreleri tüm organizmaya dağılarak üstlendikleri fagositoz ve salgıladıkları önemli maddelerle organizmanın korunmasında, artık madde ve hücrelerden temizlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (1,5). Hepsinin kökenlerinin kemik iliği öncü hücrelerinden gelişen monositler olmasına rağmen farklı organlarda, fonksiyonları ve hücrenin aktivasyon durumu değişiklik göstermektedir. Buna bağlı olarak morfolojik yapılarının da değişiklik göstermesi beklenir. Bu çalışmada amacımız sıçanların solunum, sindirim ve boşaltım sistemlerinde yerleşmiş bağ dokusu makrofajlarının, akciğerdeki alveoler makrofajların ve karaciğer Kupffer hücrelerinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenerek histolojik özelliklerinin belirlenmesi ve birbirleriyle karşılaştırılarak, farklı ve ortak morfolojik özelliklerinin tespit edilmesiydi. Makrofajların ışık mikroskopik olarak görünür olabilmeleri için sıçanlara yedi gün boyunca intraperitoneal olarak vital bir boya olan trypan mavisi verildi. Sıçanların kulakları, burunları, skleraları ve kuyruklarının başlangıç kısımları mavileşti. Ayrıca sıçanlardan doku örnekleri alınırken bütün mukozalarının ve organlarının mavileştiği izlendi. Bu gözlemler vital boyanın bütün vücuda dağıldığı sonucuna vardık.

Dilde makrofajlar lamina propriada, submukoza ve çizgili kaslar arasındaki bağ dokusunda çok sayıda izlendi. Sitoplazmalarında yoğun granülasyon içeriyorlardı. Makrofajlar herhangi bir antijenle karşılaştıklarında aktive olarak hacimlerini artırmaktadırlar (5). Bu nedenden dolayı bizim trypan mavisi vererek izlediğimiz makrofajlar aktif makrofajlardır. Dokularda normal şartlarda izlenenden sayıca fazla ve hacimce büyük olmaları beklenir. Yoon S ve ark (33), siklofosamid verilen sıçanlarda dilde makrofaj artışının dalak ve timus gibi lenfoid organlara göre çok daha fazla olduğunu göstermişlerdir.

Makrofajlar özefagusda, ince ve kalın barsaklarda özellikle tunika submukoza ve tunika adventisyada izlendi. Lamina propriada ise nadir izlendiler. Oysa sindirim sistemi mukozası enterik bakterilerin vücuda girmesine engel olan en önemli bariyerdir ve vücut makrofajlarının en fazla bulunduğu

bölgedir (27, 34). Biz çalışmamızda sindirim sistemi kanalında lamina propriada fazla makrofaj izlememiş olmamızı makrofajların olmamasına değil, muhtemelen trypan mavisine yeterince maruz kalmamalarına bağlıyoruz. İzlediğimiz makrofajların hemen tamamı kan damarlarına yakın yerleşimde izlendi. Submukozda daha geniş kan damarlarının olması bu bölgedeki makrofajların daha fazla trypan mavisine maruz kalmalarına neden olmuş olabilir. Ayrıca arterlerin önce submukozada bir damar ağı yapmaları, daha sonra bu ağdan çıkan küçük dalların lamina propriaya gelerek ikinci bir ağ oluşturmaları (35) submukozadaki makrofajların trypan mavisini öncelikle fagosite etmesine ve lamina propriadaki makrofajların daha az boyaya maruz kalmalarına neden olmuş olabilir. Tunika adventisyanın peritona komşu olması da intraperitoneal verilen trypan mavisinin bu tabakadaki makrofajlar tarafından direkt temasla fagosite edilmesine neden olmuş olabilir.

İnce barsaklarda Peyer plaklarında trypan mavisini ile makrofajlar gösterilemedi. Bu büyük bir olasılıkla Peyer plaklarındaki immün reaksiyonun esas olarak lümen içinden gelen antijenlere bağlı olmasından kaynaklanmıştır. İnce barsaklarda ve Peyer plaklarında antijen tutulumu epitelde bulunan M hücreleri aracılığı ile olmaktadır (36). M hücreleri de mononükleer fagositik sisteme ait hücreler olarak kabul edilmektedir. Antijen sunucu hücreler olarak fagosite ettikleri antijenleri lenfositlere sunmaktadırlar (2).

Midede makrofajlar muhtemelen trypan mavisini fagosite etmediklerinden izlenemedi. Midede yapılan çalışmalar özellikle helicobacter pylori infeksiyonlarında (37) ve çeşitli mide tümör ve kanserlerinde (38-40) makrofajların arttığını göstermektedir.

Sindirim sistemi bağ dokularına yerleşmiş olan makrofajlar genellikle oval, yassı veya piramidal hücreler olarak izlendi. Çekirdekleri egzantrik yerleşmişti. Bu yüzden granüller daha çok hücrenin bir tarafında yoğunlaşmış olarak gözlendi. Ultrastrüktürel olarak incelendiklerinde düzensiz girinti ve çıkıntılara sahip, sitoplazmalarında primer ve sekonder lizozomlar içeren, çentikli çekirdeğe sahip hücreler olarak görüldüler. Bu özellikleri ile klasik makrofaj morfolojisine uyuyorlardı (2, 41-43). Değişik gastrointestinal sistem lokalizasyonlarındaki makrofajlar arasında belirgin farklılık olmamasına

rağmen, boyayı alma özellikleri ile ilgili farklılıklar gözlemlendi. Dilde belirgin ve bol granüllü, özefagusda boyayı hafif almış olarak izlendiler. Midede boyanmamaları, ince ve kalın barsakda lamina propria da hafif boyanmaları lokalizasyon farklılıklarının fagositoz özelliklerini değiştirebileceği ya da verilen maddenin verilmiş yoluna göre aktivite farklılıkları gösterebileceklerini akla getirmektedir. Bununla birlikte hepsinin en önemli ortak özelliği arter, arteriol ve kapillerlere yakın yerleşim göstermeleriydi.

Kupffer hücreleri çalışmamızda trypan mavisini belirgin olarak fagosite etmiş ve boyanmıştır. Kupffer hücreleri sadece karaciğer için değil, bütün organizmanın savunması için önemli hücrelerdir. Stenback ve ark (27) çalışmalarında barsaklardan giren infeksiyonlarda infeksiyonun dağılımı açısından mezenterik lenf düğümlerinin alınmasının önemli bir fark yaratmadığını, oysa Kupffer hücrelerinin gadolonium klorid ile baskılanmasının infeksiyonun karaciğer, dalak ve akciğerlere yayılmasına neden olduğunu gözlemişlerdir. Kupffer hücreleri morfolojik olarak doku makrofajlarından daha küçük hücreler olarak gözlemlendi. Sinüzoidler boyunca sık yerleşmişlerdi. Parker ve Picut (20) Kupffer hücrelerinin periportal bölgede daha sık ve büyük olduklarını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda böyle bir farklılık dikkatimizi çekmedi. Kupffer hücrelerinin ince yapıları incelendiğinde belirgin hücre uzantıları ve sitoplazmalarındaki çok miktardaki primer ve sekonder lizozomlar görüldü. Trypan mavisi verilmiş grupta bu granüllerde artış olduğu gözlemlendi. Sitoplazmalarındaki en belirgin organel Golgi kompleksiydi.

Çalışmamızda trypan mavisi verilen sıçanların hepatositlerinde sekonder lizozomlarda belirgin artış gözlemlendi. Karaciğerde kan akımının fazla olması, sinüzoidlerin duvarının kesintili olması ve hepatositlerin de sinüzoidlerden geçen kanla direkt temas gelmesi kanın içeriğinden etkilenmelerine neden olmaktadır. Cisternos ve ark. (44) bakır verdileri sıçanların hepatositlerinde belirgin lizozomal artış tespit etmişlerdir.

Solunum sisteminde trakea, bronş ve bronşiolin duvarında tunika submukoza ve adventisyada makrofajlar mavi granülleri ile belirgin olarak izlenirken, alveoler makrofajlar izlenmedi. Alveoler makrofajlar inhalasyon yoluyla gelen partikülleri esas olarak fagosite etmekte ve saatler içinde temizlenerek

yeni makrofajlarla yenilenmektedir. Goldstein ve ark (45) sıçanları inhalasyon yoluyla *staphylococcus aureus*'a maruz bırakmış ve alveoler makrofajlarda belirgin sekonder lizozomlar gözlemişlerdir. Biz trypan mavisini intraperitoneal yolla verdiğimiz için alveoler makrofajları izleyemediğimiz fikrindeyiz. Alveoler makrofajlar inhalasyonla gelen patojen ve toksik maddelere karşı primer defansı oluştururlar (46, 47). Deneysel çalışmalar alveoler makrofajı olmayan farelerde solunum yolu infeksiyonlarında mortalitenin çok arttığını göstermektedir (29). Ancak yabancı maddelere karşı gösterdikleri defans sırasında salgıladıkları oksijen radikalleri ve diğer mediatörlerle fibrosise kadar giden değişikliklere de yol açabilirler (48,49) Çalışmamızda alveoler makrofajlar elektron mikroskopla incelendiğinde alveol içinde ve alveol duvarında primer ve sekonder lizozomlar içeren düzensiz şekilli büyük hücreler olarak izlendi.

Solunum sisteminde yerleşmiş olan makrofajlar sindirim sistemindekine benzer şekilde yassı, oval veya piramidal şekilli hücreler olarak izlendi. Bölgesel farklılık göstermedikleri gözlemlendi. Kan damarına yakın yerleşimleri solunum sisteminde de dikkat çekiciydi.

Böbreklerde makrofajlar renal kapsül ve çevresinde bulunur. Böbrek peritübüler interstisyel dokuda ise antijen sunucu hücreler yer alır (50) Biz de çalışmamızda böbrekte trypan mavisini içeren makrofajlar izlemedik. Böbrek çevresindeki kapsül ve perirenal dokuda ise çok miktarda mavi granüllü makrofajlar izlendi. Çalışmamızda böbrekte özellikle proksimal tübül hücrelerinde trypan mavisinin biriktiğini gözledik. Tübul hücrelerinde çekirdek çevresinde belirgin granüller şeklinde bir birikim göstermekteydi.

Mesane lamina propria'nın derin kısımlarında ve özellikle tunika muscularisdeki bağ dokusunda belirgin mavi granülleri ile makrofajlar izlendi. Boşaltım sisteminde izlenen makrofajlar da morfolojik olarak sindirim ve solunum sistemindeki makrofajlara benzer şekilde yassı, oval veya piramidal şekilli olarak izlendi.

Sonuç olarak çalışmamızda incelemiş olduğumuz sindirim, solunum ve boşaltım sisteminde yerleşmiş olan doku makrofajlarının ortak özellikleri hepsinin arter, arteriol veya kapiller duvarına yakın yerleşim göstermeleri ve morfolojik görünümüleri idi. İncelediğimiz makrofajlar - Kupffer hücreleri hariç- büyük, yassı, oval veya piramidal şekilli genellikle eksantrik çekirdekli hücrelerdi. Kupffer hücreleri ise daha küçük, uzantılı hücreler olarak izlendi. Tubüler organlarda lümene yakın alanlarda özellikle lamina propria trypan mavisini hiç almadıkları veya çok hafif aldıkları gözlemlendi. Bu bulgumuz lümene yakın makrofajların daha çok lümeden gelecek olan yabancı maddeleri fagosite etmekle yükümlü olduğunu, derin dokulardakilerin ise dolaşım sisteminden gelen yabancı maddelere karşı defans gösterdiklerini işaret etmektedir. Akciğerlerde de doku makrofajları granülleri ile ayırt edilirken, alveoler makrofajların trypan mavisini fagosite etmediği gözlemlendi. Bu bulgumuz da alveoler makrofajların inhalasyon yoluyla gelen partikülleri fagosite etmekle yükümlü olduğunu göstermektedir.

Değişik sistemlere yerleşmiş olan makrofajların morfolojik olarak büyük bir farklılık göstermediği sonucuna vardık.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak sindirim, solunum ve boşaltım sistemlerine yerleşmiş olan makrofajların morfolojik olarak büyük bir farklılık göstermediği sonucuna vardık. Hemen hemen hepsi arter, arteriol veya kapiller duvarına yakın yerleşim göstermekteydi. İncelediğimiz makrofajlar - Kupffer hücreleri hariç- büyük, yassı, oval veya piramidal şekilli genellikle egzantrik çekirdekli hücrelerdi. Kupffer hücreleri ise daha küçük, uzantılı hücreler olarak izlendi. Tubüler organlarda lümene yakın alanlarda özellikle lamina propriada trypan mavisini hiç almadıkları veya çok hafif aldıkları gözlemlendi. Bu nedenle tubüler organlarda lamina propriaya yerleşmiş makrofajların incelenebilmesi için vital boyaların oral yolla verilmesinin uygun olacağı sonucuna vardık. Benzer şekilde akciğerlerde de doku makrofajları granülleri ile ayırt edilirken, alveoler makrofajların trypan mavisini fagosite etmediği gözlemlendi. Alveoler makrofajların incelenebilmesi için inhalasyon yoluyla işaretleme daha uygun olduğu düşüncesindeyiz.

SIÇANLARIN SOLUNUM, SİNDİRİM VE BOŞALTIM SİSTEMLERİNDEKİ MAKROFAJLARIN HİSTOLOJİK YAPILARININ IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK OLARAK İNCELENMESİ

7. ÖZET

Bu çalışmada sıçanların solunum, sindirim ve boşaltım sistemlerinde yerleşmiş bağ dokusu makrofajlarının, akciğerdeki alveoler makrofajların ve karaciğer Kupffer hücrelerinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenerek histolojik özelliklerinin belirlenmesi ve birbirleriyle karşılaştırılarak, farklı ve ortak morfolojik özelliklerinin tespit edilmesi amaçlandı.

İnönü Üniversitesi Deneysel hayvanları laboratuvarından alınan 8 adet Wistar cinsi erkek sıçandan altı tanesine yedi gün süresince hergün intraperitoneal 3ml trypan blue (0.01gr/ml serum fizyolojik içinde) solusyonu enjekte edildi. İki tanesine ise herhangi bir işlem uygulanmadı. Sıçanlar sekizinci gün kurban edilerek dil, özofagus, mide, ince ve kalın barsak, karaciğer, trakea, akciğerler, böbrek ve mesaneden doku kesitleri alındı. Işık mikroskobu için Bouin solusyonunda tespit edilen dokular, doku takibinden sonra parafine gömüldü. Alınan kesitlere hematoxilen-eozin ve safranin-orange G boyası uygulandı. Elektron mikroskobu için glutaraldehitte tespit edilen dokular, osmium tetroksit fiksasyonu ve doku takibinden sonra araldit CY212'ye gömüldü.

Makrofajlar dil, özofagus, ince ve kalın barsak submukozası ve adventisiasında damarlar çevresine yerleşmiş yuvarlak, oval, piramidal veya yassı şekilli, mavi sitoplazmik granüller içeren büyük hücreler olarak gözlemlendi. Karaciğerde ise perisinüzoidal yerleşmiş küçük yıldız şekilli mavi granüllü hücreler olarak seçildi. Akciğerlerde bronş, bronşiol ve kan damarları çevresinde yerleşmiş, oval, büyük çekirdekli, mavi granüllü hücreler olarak gözlemlendi. Elektron mikroskopda makrofajlar, oval, yuvarlak, plazmalemması girinti ve çıkıntılı hücrelerdi. Düzensiz şekilli büyük çekirdekleri vardı. Sitoplazmalarında bol primer ve sekonder lizozom, Golgi kompleksi mevcuttu. Kupffer hücreleri ise uzun ve kısa sitoplazmik uzantılara sahip yıldız şeklinde hücreler olarak izlendi.

Sıçanların sindirim ve solunum sistem organlarına yerleşmiş bulunan makrofajlar enjekte ettiğimiz trypan blue vital boyasını fagosite ederek görünür hale geldiler.

Anahtar kelimeler: Makrofaj, Sıçan, Işık mikroskobu, Elektron mikroskobu

LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC EXAMINATION OF RAT MACROPHAGES IN RESPIRATORY, DIGESTIVE AND URINARY SYSTEMS

8. SUMMARY

The aim of this study was to examine the morphology of the macrophages in digestive, respiratory and urinary systems with light and electron microscope, and to evaluate their morphologic differences in different organs.

8 male Wistar albino rats were used in the study. 6 rats were injected with 3ml trypan blue solution (0.01g/ml w/v in saline) intraperitoneally everyday for seven days. 2 rats didn't receive trypan blue injections. The rats were killed at the end of the injections. Tissue sections were collected from tongue, esophagus, stomach, small and large intestine, liver, trachea, lung, kidney and vesica urinaria. For light microscopic evaluation the tissue sections were fixed in Bouin's solution and embedded in parafin. The sections were stained with hematoxylin eosin and safranin O-orange G stainings. For electron microscopic evaluation tissue sections were fixed with glutaraldehyde and osmium tetroxide, then embedded in araldite CY212.

The macrophages were detected in the connective tissue of the organs, around the blood vessels as flat, oval or pyramidal large cells containing blue granules in their cytoplasm. Ultrastructurally they were large cells with irregular plasmalemma and large irregular nucleus. Primer and seconder lysosomes were prominent in their cytoplasm. Kupffer cells were seen as small cells localized along the sinuzoids and showed cytoplasmic granulation. They also showed cytoplasmic projections, Golgi complex, primer and seconder lysosomes.

In conclusion the tissue macrophages didn't show morphologic differences in the examined tissues. Only Kupffer cells had different morphology and showed cytoplasmic projections.

Key Words: Macrophage, rat, light microscope, electron microscope

9. KAYNAKLAR

- 1- Roitt I, Brostoff J, Male D.: Introduction to the immune system. Edited by Roitt I, Brostoff J and Male D: Immunology, 5ed. London: Mosby, pp.1-12,1998.
- 2- Gartner LP,Hiatt JL. Colour Textbook of Histology. 2ed. USA: WB. Saunders, pp.120,122,330,360,398; 2001.
- 3- Djaldetti M, Salman H, Bergman M, Djaldetti R, Bessler H.: Phagocytosis – The mighty weapon of the silent warriors. *Microsc. Res. Tech.* 57:421-431,2002.
- 4- Bianco C, Götze O, Cohn A.: Regulation of macrophage migration by products of the complement system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76,(2), 888-891,1979.
- 5- Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS.: Cellular and Molecular Immunology: 2ed. Philedelphia: WB Saunders, pp21-23,269-271,367-368, 1994.
- 6- Kovacs EJ, Dipietro LA.: Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J.* 8:854-861; 1994.
- 7- Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB.: Medical Immunology. 10ed. New York: Mc Graw-Hill, pp.35-39,64-67,245,573, 2001.
- 8- Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology:Text & Atlas. 4th ed. USA, Williams and Wilkins, 142-144, 541, 2002.
- 9- Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD.: Immuno Biology.4th ed. USA: Churchill Livingstone, pp 73,74,273-274,1999.
- 10- Junqueira LC, Carneiro J, Basic Histology: Text & Atlas, 10th ed. USA, Mc Graw Hill, pp 250, 334, 2003.
- 11- Eşrefoğlu M: Genel ve Özel Histoloji, Ankara: Pelikan Yayınevi, s.82,121,320, 2004.
- 12- Young B, Heath J.W: Functional Histology. 4th. Ed. Spain:Grafos, 65-71, 2000-2001.
- 13- Maslin CL, Kedzierska K, Webster NL, Muller WA, Crowe SM, Transendothelial migration of monocytes. *Curr HIV Res*, 3(4), 303-317, 2005.
- 14- Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA: Text/Atlas of Histology. Philadelphia: WB Saunders, pp281,527, 1988.
- 15- Ueda MJ, Ito T, Ohnishi SI, Okada SI.: Phagocytosis by macrophages. *J.Cell Sci.* 51, 173-188,1981.

- 16- Nathan CF.: Secretory products of macrophages. *J. Clin. Invest.* 79,319-326,1987.
- 17- Sunderkotter C, Steinbrink K, Goebeler M, Bhardwaj R, Sorg C.: Macrophages and angiogenesis. *J Leukoc Biol.* 55(3):410-22, 1994.
- 18-Zhang S. : An Atlas of Histology: University of Kentucky Press, 1998.
- 19- Aktan MA, Canbilen A, Keklikoğlu N, Kupffer Hücresi. *Cerrahpaşa J Med* :34,110-113, 2003.
- 20- Parker GA, Picut CA.:Liver Immunobiology. *Toxicol Pathol*, 33:52-62,2005.
- 21- Kono H, Fujii H, Amemiya H, Asakawa M, Hirai Y, Maki A, Tsuchiya M, Matsuda M, Yamamoto M.: Role of Kupffer cells in lung injury in rats administered endotoxin1. *J Surg Res*: 129,176-189,2005.
- 22- Jones AL, Spring-Mills E. "The liver and gallbladder, Cell and Tissue Biology A Textbook of Histology 6ed. München: Urban&Schwarzenberg Inc,;696, 1988.
- 23- Bouwens L, Baekeland M, Wisse E. Cytokinetic analysis of the expanding Kupffer-Cell population in rat liver. *Cell Tissue Kinet.* 217-226,1986.
- 24- Willekens FLA, Werre JM, Krujtit JK, Roerdinkholder-Stoelwinder B, *Blood*, 105(5), 2141-2145, 2005.
- 25- Azri S, Renton KW. Depression of murine hepatic mixed function oxidase during infection with listeria monocytogenes. *J Pharmacol Exp Ther*, 243: 1089-91, 1987.
- 26- Kan Z, Ivancev K, Lunderquist A, McCuskey PA, McCuskey RS, Wallace S. In vivo microscopy of hepatic metastases: dynamic observation of tumor cell invasion and interaction with Kupffer cells. *Hepatology*; 21:487-494, 1995.
- 27- Stenback A, Meurling S, Cantar C, Lundholm M, Wallander J, Johnsson C. The effect of mesenteric lymphadenectomy and Kupffer cell depletion on bacterial translocation. *J Surg Res* 102:207-214, 2002.
- 28- Ito L, Hiroyuki M, Kosugi L, Shirasawa H. Alteration in Fc receptor activity in sinusoidal endothelial cells and Kupffer cells during D-Galactosamine (GalN)-induced liver injury rats. *Virch Arch B Cell Pathology*; 58:417, 1990.
- 29- Gordon SB, Read RC.: Macrophage defences against respiratory tract infections. *Br Med Bull*,; 61:45-61, 2002.
- 30- Bancroft JD, Stevens, Turner DR. Theory and Practice of Histological Techniques. 3ed. Great Britain: Churchill-Livingston. 88, 1990.
- 31- Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH.: Laboratory Methods in Histotechnology. Washington: American Registry of Pathology, 1992

- 32- Presnell JK, Schreibman MP.: Animal Tissue Techniques, 5th ed. USA, Johns Hopkins University Press 1997.
- 33- Yoon S, Yoo HJ, Shim NR, Beak SY, Kim JB, Jun EJ, Son YK.: Immunohistochemical characterization of macrophage and dendritic cell subpopulations of the spleen, thymus, tongue and heart in cyclophosphamide-induced immunosuppressed rat. *Anat. Histol. Embryol.* 32,80-88,2003.
- 34- Smith PD, Ochsenbauer-Jambor C, Smythies LE.: Intestinal macrophages: unique effector cells of the innate immune system. *Immunol Rev.* 206:149-59, 2005.
- 35- Odar İV.: Anatomi Ders Kitabı. 2. Cilt, 2.Baskı, s 93,1979.
- 36- Cruickshank SM, English NR, Felsburg PJ, Carding SR.: Characterization of colonic dendritic cells in normal and colitic mice. *World J Gastroenterol* 11(40): 6338-6347, 2005.
- 37- Maciorkowska E, Kondej-Muszynska K, Kasacka I, Kaczmarek M, Kemon A.: Macrophages of the antral mucosa in children with *Helicobacter pylori* infection and after eradication. *Rocz Akad Med Białymst*, 49 Suppl 1:228-30, 2004.
- 38- Oshima H, Oshima M, Inaba K, Taketo MM.: Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice. *Embo J.* 23(7):1669-78, 2004.
- 39- Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, Nakajo A, Okumura H, Matsumoto M, Miyazono F, Hokita S, Aikou T.: Tumor-associated macrophage (TAM) infiltration in gastric cancer. *Anticancer Res.* 23 (5A): 4079-83, 2003.
- 40- Laforga JB.: Foamy macrophages in pylorocardiac gastric carcinoma: a source of confusion with signet ring cell carcinoma. *Histopathology*, 43(1):98-100, 2003.
- 41- Sağlam M.: Genel Histoloji, 4.Baskı, Ankara, 1993.
- 42-Tekelioğlu M:Özel Histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, 2002.
- 43- Paker Ş: Histoloji, Uludağ Üniversitesi Yayınları,1990.
- 44- Cisternas FA, Tapia G, Arredondo M, Cartier-Ugarte D, Romanque P, Sierralta WD, Vial MT, Videla LA.: Early histological and functional effects of chronic copper exposure in rat liver. *BioMetals* 18:541-551,2005.
- 45- Goldstein E, Lippert W, Warshauer D.: Pulmonary Alveolar Macrophage. *J Clin Invest* 519-528,1974.

- 46- Dörger M, Münzing S, Allmeling AM, Messmer K, Krombach F.: Phenotypic and functional differences between rat alveolar, pleural and peritoneal macrophages. *Experiment Lung Res*, 27:65-76, 2001
- 47- Alexis NE, Lay JC, Zeman KL, Geiser M, Kapp N, Bennett WD.: In vivo particle uptake by airway macrophages in healthy volunteers. *Am J Respir Cell Mol Biol*. Mar; 34(3):305-13, 2006.
- 48- Garn H, Siese A, Stumpf S, Wensing A, Renz H, Gemsa D.: Phenotypical and functional characterization of alveolar macrophage subpopulations in the lungs of NO₂-exposed rats. *Respir Res* 2006,7-4.
- 49- Bitterman PB, Adelberg S, Crystal RG.: Mechanisms of pulmonary fibrosis. Spontaneous release of the alveolar macrophage-derived growth factor in the interstitial lung disorders. *J Clin Invest* 72:1801-1813, 1983.
- 50- Kaissling B, Hegyi I, Löffing J, Le Hir M.: Morphology of intestinal cells in the healthy kidney. *Anat Embryol*. 193(4):303-318, 1996.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Aslı

Soyadı: ÇETİN

Doğum Tarihi: 18.09.1979

Okuduğu Okullar

Gazi İlkokulu Malatya

Atatürk Ortaokulu Malatya

Turgut Özal Süper Lisesi Malatya

İnönü Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. Malatya (1998-2002)

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tezsiz Yüksek Lisans Programı Malatya (2002-2004)

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Embriyoloji ve Histoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Malatya (2004-