

ANKARA KEÇİLERİNİN İLEUM'UNDAKİ PEYER PLAKLARI VE M HÜCRELERİ ÜZERİNDE IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK ÇALIŞMALAR¹

Nevin KURTDEDE²
Hikmet ALTUNAY²

Reşat N. AŞTI³
Asuman ÖZEN⁴

*Light and electron microscopic studies of ileal Peyer's patches and M cells in
Angora goats*

Summary: *The purpose of this study was to investigate ileal Peyer's patches and dome epithelium in Angora goats at the light and electron microscopic level.*

In this study, ileal Peyer's patches samples taken from 10 healthy 5-6 month-old Angora goats were used as a material.

Germinal center, corona, dome area and interfollicular region were seen to form each follicle of Peyer's patches. ANAE positive T lymphocytes were seen in corona, interfollicular and dome area. Ig containing B lymphocytes were found in germinal center and dome area. Very few T lymphocytes were seen in the B cells region and very few B lymphocytes were seen in the T cells regions.

In electron microscopy, entero-absorptive cells, M cells and intraepithelial lymphocytes and macrophages were seen in the "follicle-associated epithelium (FAE)". Ferritin particles were seen on the apical surface, in the invaginations, vesicles, multivesicular bodies and lateral intercellular spaces.

Key words : *Angora goats, ileum, M cells, Peyer's patches*

Özet: *Bu çalışmanın amacı Ankara keçilerinin ileum'undaki Peyer plakları ile dom epitelinin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelemektir.*

Çalışmada 10 adet sağlıklı, 5-6 aylık Ankara keçisinin ileum'undaki Peyer plaklarından alınan doku örnekleri materyal olarak kullanıldı.

Peyer plaklarında her bir follikülün germinal merkez, korona, dom bölgesi ve interfolliküler alandan oluştuğu görüldü. Alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) pozitif T lenfositler korona, interfolliküler alan ve dom bölgesinde gözlemlendi. İmmünglobulin (Ig) taşıyan B lenfositlere ise germinal merkez ve dom bölgesinde rastlandı. T lenfosit bölgelerinde az sayıda B, B lenfosit bölgelerinde de az sayıda T hücresi görüldü.

Elektron mikroskopta "follikülle ilişkili epitel" (follicle-associated epithelium=FAE)'in barsak epitel hücreleri, M hücreleri ile intraepitelyal lenfosit ve

1. Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (VHAG-1229 nolu proje)
2. Doç.Dr., AÜ Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA
3. Prof.Dr., AÜ Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA
4. Dr., AÜ Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

makrofajlardan oluştuğu gözlemlendi. Ferritin partikülleri, M hücrelerinin yüzeyinde, invaginasyonlarda, veziküllerde, multiveziküler cisimciklerde ve lateral intersellüler aralıklarda görüldü.

Anahtar kelimeler : *Ankara keçisi, ileum, M hücreleri, Peyer plakları*

Giriş

İnce barsakların distal bölümünde özellikle ileum'da rastlanan Peyer plakları agregat lenf foliküllerinden oluşur (43). Peyer plaklarının büyük bir kısmı antimezenterik yerleşimlidir (33). Peyer plaklarının sayısı, büyüklük ve dağılımları, türe ve yaşa göre değişir (45). Koyunlarda (18,27,28,), sığırlarda (25,36) ve domuzlarda (7) Peyer plaklarının, kanatlıların bursa Fabricius'una eşdeğer ve B lenfositler için primer lenfoid organ olduğundan, timustaki gibi prenatal dönemde olgunlaşma, erken yaşta involusyon gösterdiğinden bahsedilmektedir.

Peyer plaklarının üzeri, lenf foliküllerinin üstünde yer aldıkları ve onlarla ilişkide oldukları için "follikülle ilişkili epitel (FAE)" olarak anılan özelleşmiş bir epitelle örtülüdür (8,19,33); buraya, kubbe şeklinde görülmesi nedeniyle "dom epiteli" de denir (23). Follikülün dom bölgesi lumene doğru piramit (12) ya da hemisfer (23) şeklinde çıkıntı yapar.

Dom bölgesinde follikülün üzeri, barsak epitel hücreleri ve bu hücrelerin aralarına yerleşmiş membran benzeri hücreler (M hücreleri) tarafından örtülüdür (12,20,33,44). Yeni doğmuş buzağılarda ise dom epitelinin sadece M hücrelerinden oluştuğu bildirilmektedir (24,25,35,45). Dom epitelinde kadeh hücrelerinin ise az sayıda olduğu (12,19,23,38) ya da hiç bulunmadığından (5,8,10,45) bahsedilmektedir.

FAE, yukarıda sözü edilen hücreler dışında intraepitelyal lenfositleri de içerir (10,13,19,29,45). M hücreleri ile yakın ilişkide olan bu lenfositlerin (40) çoğu T lenfositlerdir (19,37). Yine M hücrelerine yakın olarak yerleşmiş az sayıda B lenfosit, immunoblast ve plazma hücrelerine de rastlanır. Ayrıca, FAE'de M hücreleri ile ilişkide olan makrofajlar da bulunmaktadır (11,19).

FAE'de bulunan M hücreleri antijen alınması ve taşınması için özelleşmiş epitel hücreleridir (8,20,33,44). Bu hücreler makromolekül düzeyindeki intraluminal antijen örneklerini luminal yüzlerinden alıp veziküller halinde dar olan sitoplazmalarından geçirirler (8,26,34). M hücreleri, sentral bölgesindeki derin invaginasyonun içine yerleşmiş ve sıkıca paketlenmiş lenfosit ve makrofajlara (32) bu antijen örneklerini iletirler.

M hücrelerinin ışık mikroskobu ile kesin ayırmaları yapılamaz. Ancak, bu hücrelerin bulunduğu yerlerde fırçamsı kenarın zayıf olması ile ayırt edilebilirler (26). Kesin ayırmaları elektron mikroskobu ile yapılabilmektedir (48).

Elektron mikroskobik incelemelerde M hücrelerinin apikal yüzeyi, mikrofoid da denilen komşu barsak epitel hücrelerinin mikrovilluslarından daha kısa, kalın ve seyrek mikrovillus'lara sahiptir (12,23,26,29,32). M hücrelerinin apikal sitoplazması çok sayıda vezikül içerir (26,29). Ayrıca, sitoplazmalarında bol mitokondriyon, gelişmiş granüllü ER, belirgin Golgi kompleksi ve az sayıda lizozom bulunur (11,12,19). Hücrenin oval ve çentikli olan çekirdeğinin daha çok bazalde yerleştiği gözlenir (11,12). M hücreleri ile komşu barsak epitel hücreleri arasında bağlayıcı kompleksler ve lateral uzantılar bulunmaktadır (12). Hücreler bazal kısımlarında devamlı olmayan bazal membran üzerine otururlar (19,23).

Hücre tipleri ve dağılımları temel alındığında Peyer plaklarının her bir lenf follikülünde germinal merkez, korona, dom bölgesi ve interfolliküler alan olmak üzere dört bölge ayırt edilebilir (1,23).

Germinal merkeze, B lenfosit bölgesi de denir (47). Germinal merkez dendritik retikulum hücreleri ile büyük, orta ve küçük tip lenfositleri içerir (41). Yapılan çalışmalarda bu bölgede ANAE negatif (22), buna karşılık Ig

pozitif (4,39) hücrelerin bulunduğu bahsedilmektedir. Ayrıca, germinal merkezde, mitotik figürler (39) ve iri pironinofilik hücreler (16) gözlenmektedir.

Germinal merkez özellikle küçük lenfositlerin oluşturduğu bir örtü ile dom bölgesinden ayrılmaktadır (13,41,42). Bu bölgeye korona adı verilmektedir (13). İmmunohisto kimyasal boyamada korona bölgesinde, ANAE pozitif lenfositler ile birlikte az sayıda IgG taşıyan hücre gözlenir (4). Bu bölgede az sayıda retikulum hücrelerine de rastlanır (41).

Subepitelyal bölgeye, dom bölgesi (13) ya da immunokompetan B lenfosit alanı (47) denilmektedir. Bu bölgede makrofaj ve plazma hücrelerinin toplanması göze çarpar (6,41,42). Yine bu bölgede, ANAE boyamasına karşı pozitif reaksiyon veren lenfositler ile IgG taşıyan hücrelere de rastlanır (4).

İnterfolliküler bölgeye T hücre bölgesi de denir (47). Bu bölge, Peyer plaklarındaki folliküllerin tepe kısımları arasında kalan küçük üçgen şeklindeki alandır (18,25,28). İnterfolliküler bölgede bol miktarda küçük tip lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri bulunmaktadır (41).

Bu araştırma, Ankara keçilerinin ileum'undaki Peyer plaklarıyla bu plakların üzerini örten dom epitelini, özellikle de içerdiği M hücrelerini ışık ve elektron mikroskopik olarak incelemek amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Çalışmada, Ankara Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan 10 adet sağlıklı 5-6 aylık Ankara keçisinin ileal Peyer plaklarının bulunduğu bölgeden alınan doku örnekleri materyal olarak kullanıldı.

A) Işık mikroskopik incelemeler için

Alınan doku parçalarının bir kısmı T lenfositlerin belirlenmesi için, önceden soğutulmuş formol-sukroz solüsyonunda (pH 6,8) +4°C'de 22 saat tespit edildikten sonra, +4°C'deki Holt solüsyonunda 22 saat tutuldu ve kriyostatta alınan 8 mikronluk kesitlere alfa-naftil asetat es-

teraz (ANAE) boyama yöntemi (pH 6,4) uygulandı (30).

Alınan doku parçalarının diğer kısmına ise, IgG içeren hücrelerin belirlenmesi için direkt immunperoksidaz yöntemi uygulandı (14). Parçalar sıvı azotta donduruldu ve bunlardan 8 mikronluk kesitler alındı. Bu kesitler iyice kuruduktan sonra, önceden soğutulmuş asetonda 10 dakika tespit edildiler. Kesitlere endojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde hazırlanmış % 0,5 H₂O₂ 20 dakika uygulandı. Daha sonra kesitler fosfat buffer salin (PBS, pH 7,4) ile yıkandılar ve uygun oranda sulandırılmış anti goat IgG peroksidaz konjugatı (Sigma, A 5420) ile 1 saat inkübe edildiler. Süre sonunda PBS ile bolca yıkanan kesitlere peroksidaz aktivasyonu için, substrat olarak tris buffer salin (pH 7,6)' de hazırlanan 3,3' diaminobenzidin (DAB) tetrahidroklorid (Sigma, D 5905) 20 dakika uygulandı. PBS ile bolca yıkanan kesitlerin bazılarına 10 saniye Mayer's hematoksilen (14) ile çekirdek boyası yapılırken, diğer kesitlere çekirdek boyası uygulanmadı.

Alınan doku parçalarının diğer bir kısmı ise plazma hücrelerinin belirlenmesi için, alkol-formol solüsyonunda 48 saat tespit edildikten sonra dereceli alkollerden, metilbenzoat ve benzollerden geçirilerek paraplastta bloklandılar. Bu bloklardan alınan 7 mikronluk kesitlere plazma hücreleri boyaması olan methylgreen-pyronin uygulandı (9).

B) Elektron mikroskopik incelemeler için

Alınan parçalar, glutaraldehid-paraformaldehid'de ön tespitleri yapıldıktan sonra ozmik asitte ikinci kez tespit edildiler; daha sonra dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirilerek araldit M'de bloklandılar. Bu bloklardan alınan 1 mikronluk yarı ince kesitlere toluidin blue-pyronin boyama yöntemi uygulandı. İncelenen yarı ince kesitlerde istenilen bölgenin işaretleme yapıldıktan sonra, bu bloklardan 300-400 angstrom kalınlığında ince kesitler alındı. Bu kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak (46) Carl Zeis EM 9S2 model elektron mikroskopta incelendiler.

Elektron mikroskopta M hücrelerindeki makromoleküler düzeyde maddelerin pinozitosunu göstermek amacıyla 5 hayvana feritin verildi. Bu amaçla hayvanlara genel anestezi uygulandıktan sonra laparotomi yapılarak, ileumdaki Peyer plaklarının bulunduğu bölge alt ve üst tarafından ligatüre edildi. Ligatüre edilen 10-20 cm uzunluğundaki barsağın lumeni içine 37°C'de 0,15M NaCl₂ solüsyonunda hazırlanan 25 mg/ml ferritin (Sigma, F 4503) solüsyonu barsak hareketlerine engel olmayacak miktarda (10-20 ml) enjekte edildi. Ferritin uygulamasından 2 saat sonra barsak lumenine glutaraldehid-paraformaldehid tespit solüsyonu verildikten sonra ligatüre edilen kısım açılarak steryomikroskop altında Peyer plaklarının bulunduğu bölgelerden küçük parçalar alınarak glutaraldehid-paraformaldehid tespit solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Ozmik asitte 2 saat süreyle ikinci tespitleri yapılan bu parçalar dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirilerek araldit M'de bloklandılar. Bu bloklardan alınan yarı ince kesitlere, toluidin blue-pyronin boyaması uygulanarak istenilen bölgelerden 300-400 angstrom kalınlığında ince kesitler alındı. Bu kesitlere, ferritin partiküllerinin kolayca ayırt edilebilmesi için kontrast boya uygulanmadı. Ancak, fotoğrafları çekileceklere hafif kontrast boya uygulandı (29).

Bulgular

A) Işık mikroskopik bulgular

Işık mikroskopik incelemeler için hazırlanan preparatlarda Peyer plaklarının agregat lenf follüküllerinden oluştuğu dikkati çekti. Her bir lenf follükülünde (Şekil 1) belirgin bir germinal merkez (G), bunu dom bölgesinden ayıran korona (K), subepitelyal dom bölgesi (D) ve komşu iki lenf follükülünün tepe kısımları arasında üçgen şekilli interfolliküler alan (F) olmak üzere dört bölge saptandı. Dom bölgesi, lumene yaptığı piramit ya da kubbe şeklindeki çıkıntı ile kolaylıkla ayırt edildi. Dom bölgesinin üzerini örten FAE, villus intestinalis'leri örten epitelden daha düzensiz oluşu, kadeh hücresi içermemesi ve çok sayıda intraepitelyal lenfosit ve makrofajın bulunması ile dikkati çekti.

ANAE boyama yöntemi uygulanan kesitler incelendiğinde germinal merkezin ANAE negatif lenfositlerden meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 2 G). Germinal merkezin perifer kısımlarında çok az sayıda ANAE pozitif hücreye (ok başı) de rastlandı. Korona bölgesi (K) ve interfolliküler alanda çok sayıda ANAE pozitif hücrenin (oklar) yanında seyrek olarak ANAE negatif lenfositler de görüldü. Dom bölgesinin, ANAE pozitif (Şekil 3 oklar) ve negatif hücrelerden oluştuğu dikkati çekti. Ayrıca, intraepitelyal olarak ANAE pozitif lenfositler yanında az sayıda ANAE negatif lenfosit de rastlandı. ANAE boyamasında pozitif lenfositlerin çoğunda bir iki kırmızı granül gözlenirken (Şekil 2, 3 oklar), retikulum hücrelerinde diffuz boyanma dikkati çekti (Şekil 2 R).

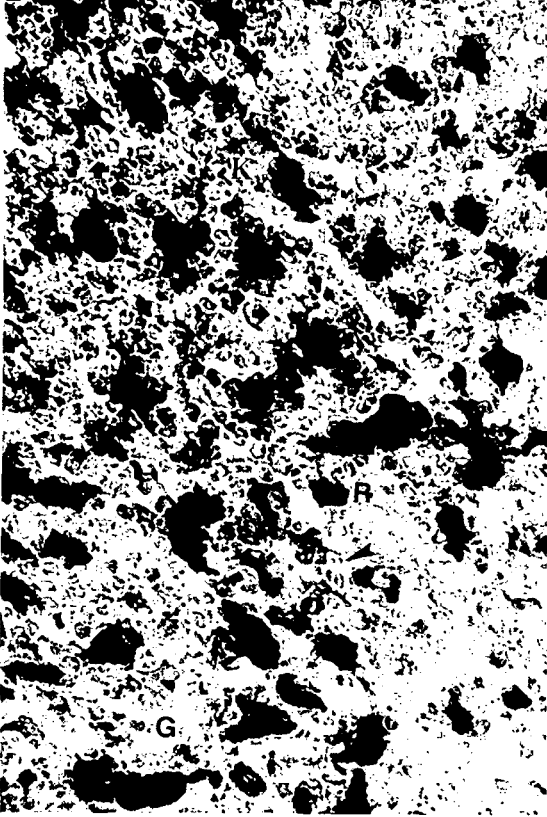


Şekil 1. Peyer plaklarında bir lenf follükülü. G : germinal merkez, K : korona, D : dom bölgesi, F : interfolliküler alan. ANAE. x 140.

Figure 1. A lymphoid follicle in Peyer's patches. G : germinal center, K : corona, D : dome area, F : interfollicular region. ANAE staining. x 140.

İmmunperoksidaz boyama yöntemi uygulanan preparatlarda (Şekil 4) IgG taşıyan hücreler (oklar), germinal merkez (G) ve dom bölgesinde (D) gözlemlendi. Korona, interfolliküler alan ve epitel içinde ise IgG pozitif hücrelere az sayıda rastlandı.

Methylgreen-pyronin ile boyanan preparatlarda germinal merkezde çok sayıda ve değişik gelişme aşamalarında olan pironinofilik hücre ile mitoz figürlerine rastlandı. Korona bölgesinde az sayıda pironinofilik hücre gözlemlendi. Tipik plazma hücrelerinin ise follikülün dom bölgesi ve interfolliküler alanlarında bulunduğu dikkati çekti. Ayrıca, FAE'de de az miktarda pironinofilik hücreye rastlandı.

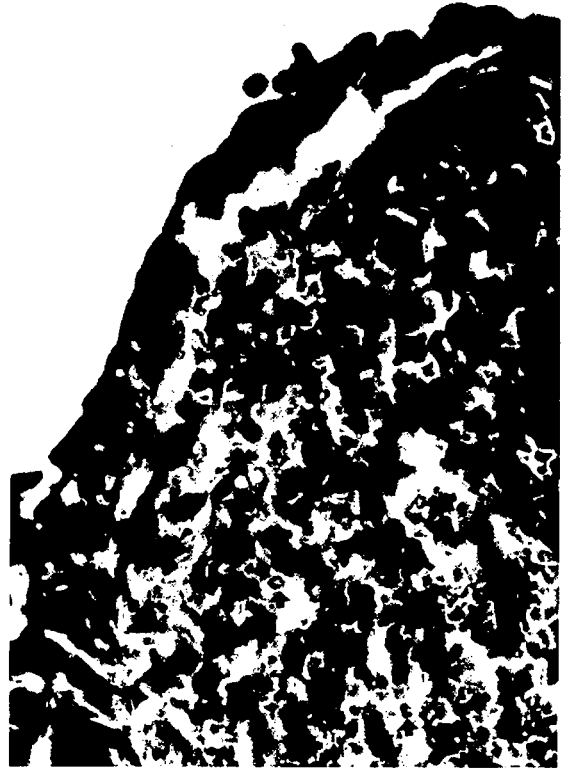


Şekil 2. Peyzer plaklarında bir lenf follikülü. G : germinal merkez, K : korona, R : retikulum hücresi, oklar : korona bölgesinde ANAE pozitif lenfositler, ok başı : germinal merkezin periferinde ANAE pozitif lenfosit .
ANAE. x 700.

Figure 2. A lymphoid follicle in Peyer's patches. G : germinal center, K : corona, R : reticulum cell, arrows : ANAE positive lymphocytes in corona, arrow head : ANAE positive lymphocyte in the peripheral part of the germinal center. ANAE staining. x 700.

B) Elektron mikroskopik bulgular

İncelenen elektron mikroskopik preparatlarda M hücreleri (Şekil 5 M) apikal yüzlerinde mikrofold (oklar) adı verilen, komşu barsak epitel hücrelerinin mikrovilluslarından (ok başı) daha kısa, kalın ve seyrek mikrovillusların bulunmasıyla kolaylıkla ayırt edildi. Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında çok sayıda vezikül (v) bulunması dikkati çekti. M hücrelerinin sitoplazmalarında bol mitokondriyon, granüllü ER ile gelişmiş Golgi kompleksi ve az sayıda ribozom gözlemlendi. M hücrelerinin (Şekil 6 M), ince olan sitoplazmalarının apikalde barsak lumenini sınırlandırdığı, sentral bölgesinde intracitelyal lenfosit (L) ve makrofajları sitoplazmik uzantıları ile sardığı, bazalde ise tam olmayan bir bazal membran üzerine oturduğu gözlemlendi. Hücrelerin oval ve çentikli olan çekirdeğinin (N) genellikle bazalde yerleştiği dikkati çekti.



Şekil 3. Dom bölgesi. oklar : ANAE pozitif lenfositler.
ANAE. x 260.

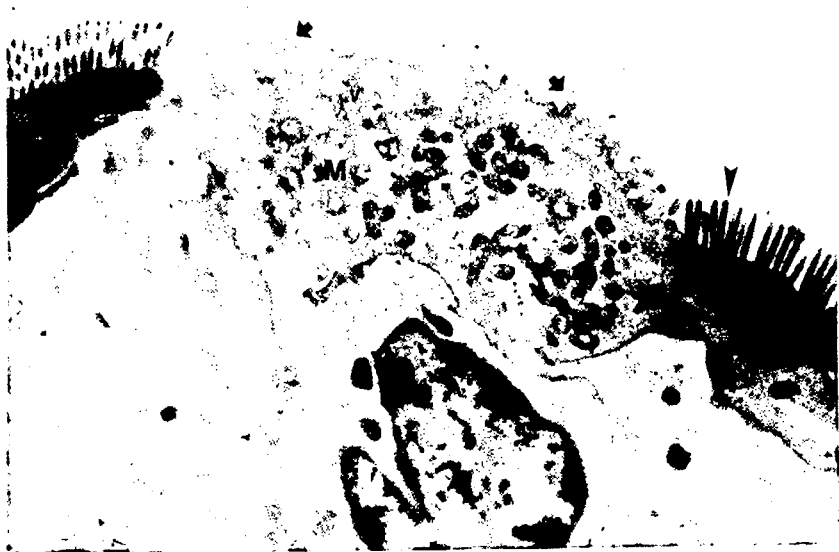
Figure 3. Dome area. arrows : ANAE positive lymphocytes. ANAE. x 260.



Şekil 4. Peyer plaklarında bir lenf follikülü. G : germinal merkez, D : dom bölgesi, K : korona, oklar : immunglobulin pozitif hücreler . Immunperoksidaz boyaması . x 160.
Figure 4. A lymphoid follicle in Peyer's patches, G : germinal center, D : dome region, K : corona, arrows : immunglobulin positive cells. Immunperoxidase staining. x160.



Şekil 6. Folliküle ilişkili epitel. M : M hücresi, L : lenfosit, N : çekirdek . x 5900.
Figure 6. Follicle-associated epithelium. M : M cell, L : lymphocyte, N : nucleus. x 5900.

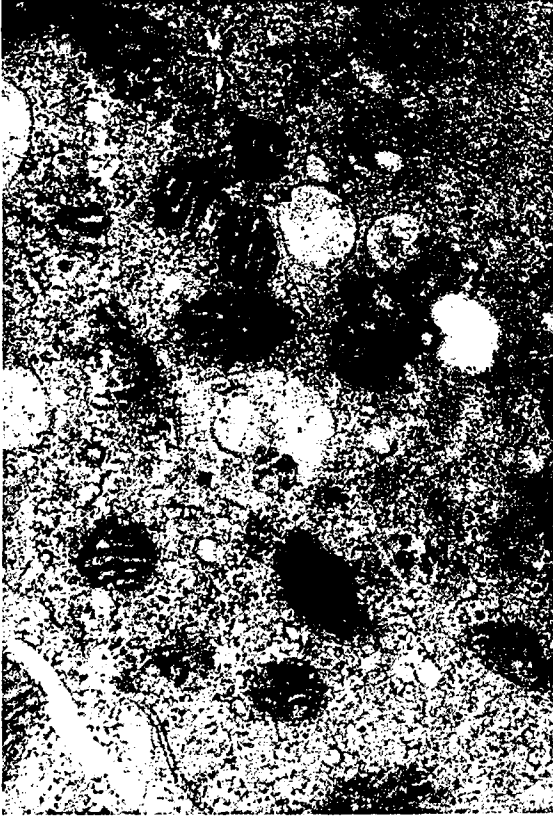


Şekil 5. M hücresi (M). B : barsak epitel hücresi, v : veziküller, oklar : mikrofollardlar, ok başı : mikrovillullar . x 7200.
Figure 5. M cell (M). B : intestinal epithelial cell, v : vesicles, arrows : microfolds, arrow head : microvilli. x 7200.



Şekil 7. M hücresinde (M) ferritin partiküllerinin (oklar) hücrenin apikal yüzeyinde ve invaginasyonlardaki görünümü. x 70000.

Figure 7. The appearance of ferritin particles (arrows) on the apical surface and invaginations of M cells (M). x 70000.



Şekil 8. M hücresinde (M) ferritin partiküllerinin (oklar) vakuollerdeki (v) ve multiveziküler cisimciikteki (a) görünümü. x 54200.

Figure 8. The appearance of ferritin particles (arrows) in vacuoles (v) and multivesicular body (a) of M cell (M). x 54200.

Komşu M hücrelerinin birbirleri ve barsak epitel hücreleri arasında bağlayıcı kompleksler ve lateral uzantılar görüldü. Ancak, M hücreleriyle intraepitelyal lenfosit ve makrofajlar arasında hücre bağlantılarına rastlanmadı.

Ferritin uygulanan hayvanlardan hazırlanan ince kesitlerdeki M hücrelerinde, ferritin partiküllerine (Şekil 7, 8 oklar) hücrelerin apikal yüzeyinde, invaginasyonlarda, veziküller, vakuoller (Şekil 8 v) ve multiveziküler cisimciklerde (a) rastlandı. Ayrıca, lateral interselüler aralıkta da ferritin partikülleri gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç

Barsak mukozası içinde yerleşmiş barsakla ilişkili lenfoid dokunun (GALT) soliter ve agregat lenf follikülleri ile intraepitelyal lenfositlerden oluştuğu (34) ve bu dokunun önemli bölümlerinden biri olan ileal Peyer plaklarının, lamina propriya ve submukozada yerleşmiş agregat lenf folliküllerinden meydana geldiği (41,43) bildirilmektedir. Follikülün lumene doğru çıkıntı yapan dom bölgesinin, piramit (12) ya da hemisferik (23) olduğundan söz edilmektedir. Çalışmada incelenen ışık ve elektron mikroskopik preparatlarda ileal Peyer plaklarının lamina propriya ve submukozada yer-

leşmiş agregat lenf folliküllerinden oluştuğu görüldü. Lenf folliküllerinin lumene çıkıntı yapan dom bölgesi, hem piramit şeklinde hem de hemisferik olarak gözlemlendi.

Hücre tipleri ve dağılımları dikkate alındığında Peyer plaklarının her bir lenf follikülünde germinal merkez, korona, dom bölgesi ve interfolliküler alan olmak üzere dört bölgeden oluştuğu belirtilmektedir (1,23).

B lenfosit bölgesi de denilen germinal merkezin, ANAE negatif (22), buna karşılık Ig pozitif (4,39) hücreler içerdiği bildirilmektedir. Ayrıca, germinal merkezde mitoz figürleri (39) ve büyük pironinofilik hücrelerin (16) bulunduğundan söz edilmektedir.

Çoğunlukla küçük tip lenfositlerden oluşan (41) korona bölgesinde, ANAE pozitif lenfositlerle birlikte az sayıda IgG taşıyan hücrenin (4) de bulunduğu bildirilmektedir. Bu bölgede retikulum hücrelerine de rastlandığından söz edilmektedir (41).

İmmunokompetan B lenfosit sahası olarak da anılan (47), subepitelial yerleşimli dom bölgesinde makrofaj (41) ve plazma hücrelerinin (6,41,42) toplandığından bahsedilmektedir. İmmunohistokimyasal boyamalarda bu bölgede, ANAE pozitif lenfositler ile IgG taşıyan hücreler gözlenmiştir (4).

T hücre bölgesi de denilen (47) interfolliküler bölgenin, Peyer plaklarındaki folliküllerin tepe kısımları arasında kalan üçgen şeklindeki alan olduğu bildirilmektedir (18,25,28). İnterfolliküler bölgede küçük tip lenfositler ile makrofajlar ve plazma hücrelerinin (6,41) varlığına dikkat çekilmiştir. Ayrıca, bu bölgede IgG pozitif hücrelere de rastlanmaktadır (16).

B lenfosit bölgelerinde T, T lenfosit bölgelerinde ise B lenfositlerin az sayıda bulunduğu belirtilmektedir (4,6). Çalışmada her bir lenf follikülünün hücre tipleri ve dağılımlarına ait bulgular yukarıdaki araştırmaların bulguları ile uyum içerisindedir.

Son yıllarda, nonspesifik esterazlardan olan alfa-naftil asetat esterazın (ANAE) T len-

fositlerinde bulunduğu, B lenfositlerde ise bulunmadığı çeşitli araştırmacılar (3,21,31) tarafından belirtilmiştir. ANAE pozitif reaksiyonun T hücrelerinde 1-2 adet lokalize granüller şeklinde olduğundan, B lenfositlerin ise ANAE boyanmasına karşı negatif reaksiyon verdiğinden söz edilmektedir (2,3,16,31).

Çalışmada ANAE boyamasıyla T bölgesindeki lenfositlerin çoğunda bir iki adet kırmızı granül şeklinde, retikulum hücrelerinde ise diffuz reaksiyon gözlemlendi. Ig boyama yöntemi uygulanan preparatların incelenmesinde ise ANAE negatif alanların Ig pozitif bölgeler olduğu dikkati çekti. ANAE pozitif, Ig negatif hücrelerin çoğunlukta olduğu korona ve interfolliküler alanlar T lenfosit bölgesi, ANAE negatif, Ig pozitif germinal merkez B lenfosit bölgesi olarak isimlendirilebilir. Dom bölgesinde her iki tip hücre de bulundu. Ayrıca, çalışmada T lenfosit bölgesinde B, B lenfosit bölgesinde T hücreleri az sayıda gözlemlendi. Germinal merkezde T lenfositlere rastlanması, sentrum germinativum reaksiyonunun şekillenmesi için T lenfositlerin işbirliğine gereksinim olmasından dolayıdır (17). Timusu çıkarılan veya T hücreleri baskılanan hayvanlarda, sentrum germinativum reaksiyonu şekillenmemektedir (17). Bu reaksiyonun şekillenmesi için germinal merkezde T lenfositlerin, özellikle de yardımcı T lenfositlerin bulunması gereklidir. Ayrıca, T lenfosit bölgelerinde az sayıda B lenfositte rastlanması T ve B hücrelerinin karşılıklı ilişki kurarak, B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşümünün bu bölgede olmasından ileri gelir (15).

FAE'de, barsak epitel hücreleri, M hücreleri (11,12,20,23,44), az sayıda kadeh hücresi (12,19,23,38), intraepitelial lenfositler (10,12,19), plazma hücresi ve makrofajlar (11,19) bulunduğu bildirilmektedir. İnterepitelial lenfositlerin çoğunun T lenfosit (19,37) olduğu ve epitel içinde B lenfositlerin de bulunduğundan (11,19) bahsedilmektedir. Bazı araştırmalarda da FAE'de kadeh hücrelerinin bulunmadığından (5,8,10,45) söz edilmektedir. Bu çalışmada FAE'de, barsak epitel hücreleri, M hücreleri, intraepitelial ANAE pozitif hücreler ile az sayıda IgG taşıyan hücre

ve pironinofilik hücreye rastlanmasına karşın kadeh hücrelerinin bulunmaması dikkati çekti.

Elektron mikroskopik incelemelerde M hücrelerinin apikal yüzeyinde kısa, kalın ve seyrek mikrovillüslara sahip olduğundan (12,23,26,29,32), ayrıca apikal sitoplazmasında çok sayıda vezikül bulunduğundan (19,26,29) söz edilmektedir. Bu hücrelerin sitoplazmasında bol mitokondriyon, gelişmiş granüllü ER, belirgin Golgi kompleksi ve az sayıda lizozom bulunduğundan bahsedilmektedir (11,12,19). Hücrelerin oval ve çentikli nükleuslarının bazalde yerleştiği bildirilmektedir (11,12). M hücrelerinin komşu barsak epitel hücreleri ile aralarında bağlayıcı kompleksler ve lateral uzantılar bulunduğundan söz edilmektedir (12). Bu hücrelerin, sentral kısımlarındaki derin invaginasyonlar içine yerleşmiş ve sıkıca paketlenmiş lenfosit ve makrofajlarla yakın ilişkide olduklarından bahsedilmektedir (32).

Çalışmada elektron mikroskopik preparatların incelenmesiyle elde edilen bulgular, yukarıdaki araştırmacıların verileriyle paralellik göstermektedir.

M hücrelerinin çeşitli makromolekülleri barsak lumeninden alıp lamina propriyaya ilettikleri bildirilmektedir (11,29,33,34,48). Elektron mikroskopik incelemelerde ferritin uygulanan hayvanlarda ferritin partiküllerinin apikal yüzey ile invaginasyonlarda, veziküllerde, vakuollerde, multiveziküler cisimciklerde ve lateral intersellüler aralıkta bulunduğundan söz edilmektedir (29,34).

Çalışmada da ferritin uygulanan hayvanlardan hazırlanan elektron mikroskopik preparatların incelenmesinde, ferritin partiküllerine M hücrelerinin apikal yüzeyi ile invaginasyonlarda, veziküller, vakuoller, multiveziküler cisimcikler ve lateral intersellüler aralıkta gözlediğimizden dolayı, araştırmacıların bulgularına katılmaktayız.

Sonuç olarak: Ankara keçilerinin ileum'undaki Peyer plaklarında her bir lenf follikülünün germinal merkez, korona, dom ve interfolliküler alan olmak üzere dört bölgeden

oluştugu gözlemlendi. ANAE pozitif T lenfositlerin korona bölgesi ile interfolliküler alanda, Ig taşıyan B hücrelerinin germinal merkezde yerleştiği, dom bölgesinde her iki hücre tipinin de bulunduğu saptandı. Ayrıca, B lenfosit bölgesinde T, T lenfosit bölgelerinde de B lenfositlerin az sayıda bulunmaları dikkati çekti. Elektron mikroskopik olarak FAF'de M hücreleri, barsak epitel hücreleri, intraepitelial lenfositlerin bulunduğu, kadeh hücrelerinin ise bulunmadığı gözlemlendi. Ferritin partiküllerine ise M hücrelerinin apikal yüzeyi ile invaginasyonlar, veziküller, vakuoller, multiveziküler cisimcikler ve lateral intersellüler aralıkta rastlandı. Bu bulgular ile M hücrelerinin, makromolekülleri apikal yüzeylerinden alıp, sitoplazmalarından geçirerek lateral intersellüler aralığa ilettikleri sonucuna varıldı.

Kaynaklar

1. Abe K, Ito T (1977) *A qualitative and quantitative morphologic study of Peyer's patches of the mouse.* Arch Histol Jpn (Niigata, Jpn), **40**, 440-451.
2. Aleksandersen M, Hein WR, Landsverk T, Melure S (1990) *Distribution of lymphocyte subsets in the large intestinal lymphoid follicles of lambs.* Immunology, **70**, 391-397.
3. Aştı RN, Kurtdede N, Ergün L (1993) *Kangal köpeklerinin perifer kan T lenfositleri üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar.* AÜ Vet Fak Derg, **40**, 563-576.
4. Aştı RN, Tanyolaç A, Kurtdede N, Özen A (1997) *T ve B lenfositlerin Ankara keçilerinin lenfoid dokularındaki dağılımı.* Türk Vet Hay Derg, **21**, 99-105.
5. Befus AD, Johnston N, Leslie GA, Bienenstock J (1980) *Gut-associated lymphoid tissue in chicken.* J Immunol, **125**, 2626-2632.
6. Bianchi ATJ, Zwart RJ, Jeurissen SHM, Moonen-Leusen HWM (1992) *Development of the B- and T-cell compartments in porcine lymphoid organs from birth to adult life : an immunohistological approach.* Vet Immunol Immunopathol, **33**, 201-221.
7. Binns RM, Licence ST (1985) *Patterns of migration of labelled blood lymphocyte subpopulations : evidence for two types of Peyer's patches in the young pig.* Adv Exp Med Biol, **186**, 661-668.
8. Boockman DE, Cooper MD (1973) *Pycnoctosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix, and Peyer's patches. An electron microscopic study.* Am J Anat, **136**, 455-478.
9. Böck P (1989) *Romeis Mikroskopische Technik.* 17. Aufl. Urban und Schwarzenberg. München, s:561.
10. Burns RB (1982) *Histology and immunology of Peyer's patches in the domestic fowl (Gallus domesticus).* Res Vet Sci, **32**, 359-367.

11. **Bye WA, Allan CA, Trier JS** (1984) *Structure, distribution, and origin of M cells in Peyer's patches of mouse ileum*. *Gastroenterology*, **86**, 789-801.
12. **Chu RM, Glock RD, Ross RF** (1979a) *Gut-associated lymphoid tissues of young swine with emphasis on dome epithelium of aggregated lymph nodules (Peyer's patches) of the small intestine*. *Am J Vet Res*, **40**, 1720-1728.
13. **Chu RM, Glock RD, Ross RF, Cox DF** (1979b) *Lymphoid tissues of the small intestine of swine from birth to one month of age*. *Am J Vet Res*, **40**, 1713-1719.
14. **Culling CFA, Allison RT, Bar WT** (1985) *Cellular Pathology Technique*. Butterworth, London, 4. Edition, ch. 5, Pp: 347-365.
15. **Dobashi M, Terashima K, Imai Y** (1982) *Electron microscopic study of differentiation of antibody-producing cell in mouse lymph nodes after immunization with horseradish peroxidase*. *J Histochem Cytochem*, **30**, 67-74.
16. **Eikelenboom P, Levenbach MGE, Van den Brink HR, Streefkerk JG** (1979) *Development of T and B cells areas in peripheral lymphoid organs of the rat*. *Anat Rec*, **194**, 523-538.
17. **Gastkemper NA, Wubbena AS, Bimbrere FJH, De Graff A, Nieuwenhuis P** (1981) *Germinal centers and the B cell system. V. Presence of germinal center precursor cells among lymphocytes of the thoracic duct in the rat*. *Cell Tissue Res*, **219**, 281-289.
18. **Hein WR, Dudler L, Mackay CR** (1989) *Surface expression of differentiation antigens on lymphocytes in the ileal and jejunal Peyer's patches of lambs*. *Immunology*, **68**, 365-370.
19. **Jarry A, Robaszkievicz M, Brousse N, Potet** (1989) *Immun cells associated with M cells in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches in the rat. An electron and immuno-electron-microscopic study*. *Cell Tissue Res*, **255**, 293-298.
20. **Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO** (1989) *Basic Histology*. Prentice-Hall International Inc. Connecticut, USA, Pp:300.
21. **Knowles DM, Hoffman T, Ferrarini M, Kunkel HG** (1978) *The demonstration of acid alpha naphthyl acetate esterase activity in human lymphocytes usefulness as a T cell marker*. *Cell Immun*, **35**, 112-123.
22. **Knowles DM, Holck S** (1978) *Tissue localization of T-lymphocytes by the histochemical demonstration of acid alpha-naphthyl acetate esterase*. *Lab Invest*, **39**, 70-76.
23. **Kuhn EM, Kaup FJ** (1996) *Morphological characteristics of the ileal Peyer's patches in the Rhesus macaque: a histological and ultrastructural study*. *Anat Histol Embryol*, **25**, 65-69.
24. **Lalitha PS** (1991) *Gut associated lymphoid tissue in Indian buffaloes (Bubalus bublis)*. *Indian Vet J*, **68**, 1057-1059.
25. **Landsverk T** (1984) *Is the ileo-caecal Peyer's patch in ruminants a mammalian "bursa-equivalent" ?*. *Acta Path Microbiol Immunol Scand*, **92**, 77-79.
26. **Landsverk T** (1987) *The follicle-associated epithelium of the ileal Peyer's patch in ruminants is distinguished by its shedding of 50 nm particles*. *Immunol Cell Biol*, **65**, 251-261.
27. **Landsverk T, Hallcraker M, Aleksandersen M, McClure S, Hein W, Nicander L** (1991) *The intestinal habitat for organized lymphoid tissues in ruminants : comparative aspects of structure, function and development*. *Vet Immunol Immunopathol*, **28**, 1-16.
28. **Larsen HJ** (1986) *Distribution of T and B lymphocytes in jejunal and ileocaecal Peyer's patches of lambs*. *Res Vet Sci*, **40**, 105-111.
29. **Liebler EM, Lemke C, Pohlenz JF** (1995) *Ultrastructural study of the uptake of ferritin by M cells in the follicle-associated epithelium in the small and large intestines of pigs*. *Am J Vet Res*, **56**, 725-730.
30. **Mueller J, Brundel Re G, Buerki H, Keller HU, Gottier H** (1975) *Nonspecific acid esterase activity : a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes*. *Eur J Immunol*, **5**, 270-274.
31. **Müller J, Keller HU, Hagmann JD, Cornioley RJ, Ruchti C, Gottier H** (1981) *Nonspecific esterase in human lymphocytes*. *Int Arch Allergy Appl*, **64**, 410-421.
32. **Neutra MR, Phillips TR, Mayer EL, Fishkind DJ** (1987) *Transport of membrane-bound macromolecules by M cells in follicle-associated epithelium of rabbit Peyer's patch*. *Cell Tissue Res*, **247**, 537-546.
33. **Owen RL, Jones AL** (1974) *Epithelial cell specialisation within human Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles*. *Gastroenterology*, **66**, 189-203.
34. **Paar M, Liebler EM, Pohlenz JF** (1992) *Uptake of ferritin by follicle-associated epithelium in the colon of calves*. *Vet Pathol*, **29**, 120-128.
35. **Parsons KR, Bland AP, Hall GA** (1991) *Follicle associated epithelium of the gut associated lymphoid tissue of cattle*. *Vet Pathol*, **28**, 22-29.
36. **Parsons KR, Howard CJ, Jones BV, Sopp P** (1989) *Investigation of bovine gut associated lymphoid tissue (GALT) using monoclonal antibodies against bovine lymphocytes*. *Vet Pathol*, **26**, 396-408.
37. **Press C, McClure S, Landsverk T** (1991) *Computer-assisted morphometric analysis of absorptive and follicle-associated epithelia of Peyer's patches in sheep foetuses and lambs indicates the presence of distinct T- and B-cell components*. *Immunology*, **72**, 386-392.
38. **Ramos JA, Ramis AJ, Marco A, Domingo M, Rabanal R, Ferrer L** (1992) *Histochemical and immunohistochemical study of the mucosal lymphoid system in swine*. *Am J Vet Res*, **53**, 1418-1426.
39. **Sminia T, Janse EM, Plesch BEC** (1983) *Ontogeny of Peyer's patches of the rat*. *Anat Rec*, **207**, 309-316.
40. **Smith MW, Peacock MA** (1980) *"M" cell distribution in follicle-associated epithelium of mouse Peyer's patch*. *Am J Anat*, **159**, 167-175.

41. **Sobhon P** (1971) *The light and the electron microscopic studies of Peyer's patches in non germfree adult mice.* J Morph, **135**, 457-482.
42. **Spencer J, Finn T, Isaacson PG** (1986) *Human Peyer's patches : an immunohistochemical study.* Gut, **27**, 405-410.
43. **Tanyolaç A** (1999) *Özel Histoloji.* Yorum Basım Sanayi Ltd.Şti., Ankara, s: 87-89.
44. **Tizard IR** (1984) *Immunology : An introduction.* Hatt-Sounders International Editions, Saunders College Publishing, Japon. Pp: 163-269.
45. **Torres-Medina A** (1981) *Morphological characteristics of the epithelial surface of aggregated lymphoid follicles (Peyer's patches) in the small intestine of newborn gnotobiotic calves and pigs.* Am J Vet Res, **42**, 232-236.
46. **Veneable JH, Coggeshall R** (1965) *A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy.* J Cell Biol, **25**, 407-408.
47. **Waksman BH** (1973) *The homing pattern of thymus-derived lymphocytes in calf and neonatal mouse Peyer's patches.* J Immunol, **111**, 878-884.
48. **Wolf JL, Bye WA** (1984) *The membranous epithelial (M) cell and the mucosal immun system.* Ann Rev Med, **35**, 95-112.

Yazışma adresi:

Doç. Dr. Nevin KURTDEDE

AÜ Veteriner Fakültesi

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

ANKARA