

SAĞLIKLI FARELERDE SİTOLOJİK ÇALIŞMALAR

Ertan Oruç¹@

Cytological Studies in Healthy Mouse

Özet: Bu çalışmada sağlıklı farelerin dil, akciğer, karaciğer, dalak, lenf düğümü, böbrek ve testislerinden imprint smearları incelenerek söz konusu organların normal eksfoliyasyon ve sitolojik görünüşleri değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Fare, normal, sitoloji

Summary: In this study, exfoliation and normal cytologic appearance of tongue, lung, liver, kidney, spleen, lymph node, and testis were investigated in imprint smears prepared from healthy Mouse.

Key Words: Mouse, normal, cytology

Giriş

Hastalık teşhisine yönelik uzun laboratuvar işlemlerini beklemeden birkaç saat içerisinde hazırlanıp boyanan smearları inceleyerek, en azından hastalık karakterini hemen ortaya koyabilen sitoloji, veteriner klinik-patolojide henüz yeterli kullanım alanı bulamamaktadır. Sitolojik incelemelerin kullanıldığı bir çok çalışmada (Kıran ve ark., 2000; Roth, 2001; Birdane ve ark., 2004) bazı yangısal ve neoplastik hastalıklarda sitolojik ve histopatolojik sonuçların benzerlik gösterdiği tesbit edilmiştir. Materyal temininin kolaylığı da veteriner klinik patolojide sitolojik incelemenin önemini bir kat daha artırmaktadır. Ancak patolojik sitolojinin doğru yorumlanabilmesi için sağlıklı organların normal eksfoliyasyon ve sitolojik görüntülerinin bilinmesi de en az sitopatolojik tanı kadar önemlidir (Padrid ve ark., 2001; Hewson ve Viel 2002; Tekse 2004).

Çalışmada sağlıklı farelerden hazırlanmış imprint smearları ile dil, akciğer, karaciğer, dalak, lenf düğümü ve testisin normal sitolojik görüntüsü ortaya konmaya çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada klinik olarak hastalık belirtisi göstermeyen, genel durumları ve iştahları iyi 10 adet erişkin fare kullanıldı. İki ayrı kafeste bir hafta gözlem altında tutulan fareler, gözlem boyunca günde 2 sefer pelet yemle beslenerek su içmeleri serbest bırakıldı. Süre sonunda genel durumlarında

herhangi bir değişiklik gözlenmeyen sağlıklı fareler kloroformla uyutulduktan sonra nekropsileri yapıldı. Nekropsi sırasında dil, akciğer, karaciğer, dalak, lenf düğümü, böbrek ve testislerin kesit yüzlerinden temiz ve kuru rodajlı lamlara her organdan ikişer adet imprint smearı hazırlanarak havada kurumaya bırakıldı. Örnekler May-Grunwald Giemsa (Bio-Optica, Katalog no: 04-080802) ve Papanicolaou EA 65 (Bio-Optica, Katalog no: 05-12017L) smear boyama yöntemleri ile tekniğine uygun boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Her preparatta 100 adet hücre sayımı yapılarak hücre tipi ve organ imprintinde görülme oranları belirlendi.

Sitolojik bulgular

Dil: Dil imprintleri yoğun epitel kümeleri arasında bazen kas hücreleri ile tek tük nötrofil, eozinofil, bağ doku yapıları ile keratinöz parçacıklardan oluşmaktaydı. Epitel hücreleri oldukça iri olup, geniş sitoplazmalı veziküler çekirdekli idi. Bazı epitel hücreleri ise küçülmüş, çekirdeklerini kaybetmiş ve mat bir görünüm almışlardı. Dil smearlarında ayrıca yoğun bakteri kümeleri dikkati çekti. Dil smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 1'de gösterilmiştir.

Akciğer: Akciğer imprintleri oldukça yoğun eritrosit kümeleri arasında yayılmış diğer hücrelerden oluşmaktaydı. Bu hücreler silyumlu ya da sil-yumsuz, prizmatikten kübik ya da yassıya değişen epitel hücreleri ile az sayıda alveolar makrofaj, len-

fosit, nötrofil, eozinofil ve bağ doku yapıları idi (Şekil 1-2). Alveoler makrofajlar geniş sitoplazmalı ve çekirdek hücrenin daha çok bir kenarına doğru yer değiştirmiş olup bazen intrasitoplazmik parçacıklar içeriyordu. Akciğer smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 2'de gösterilmiştir.

Karaciğer: Karaciğerden hazırlanan imprint smearlarında yoğun eritrosit yığınları içerisindeki hepatositlere tekli ya da hücre grupları şeklinde rastlandı. Hepatosit grupları bazen bir duvarı oluşturan tuğlalar gibi dizilirken hücre sınırları genelde belirgin değildi. Karaciğerin tipik parenkim hücreleri iri ve polihedral olup sentral yerleşimli yuvarlak çekirdeklere sahipti (Şekil 3). Hepatosit sitoplazmalarında bazen düzensiz küçük berrak ya da granüler yapılar dikkati çekti. Yine bazen boya almamış intrasitoplazmik ya da çevreye dağılmış vakuoller ve az sayıda sarı-yeşilimsi pigment yapıları gözlemlendi. Yoğun eritrosit kümeleri arasında bazen sınırlı sayıda eozinofil, prizmatik epitel, nötrofil ve bağ doku hücreleri de görülebilen diğer yapıları. Karaciğer smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 3'de gösterilmiştir.

Böbrek: Böbrek imprintlerinde genelde tubul parçacıkları ve çevreye dağılmış tubul epitel hücrelerinden oluşmaktaydı. Preparasyon aşamasında sitoplazmaların parçalanması sebebiyle bu bölgelerde hücreler genelde çıplak iri

veziküler çekirdeklerden ibaretti. Sağlam epitel hücreleri çeşitli büyüklükte olup tek tük silyumlu hücrelere rastlandı. Böbrek smearlarında da karaciğerde olduğu gibi, ancak çok daha az intrasitoplazmik ya da çevreye dağılmış boyanmamış vakuoller dikkati çekti. Böbrek smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 4'de gösterilmiştir.

Lenf düğümü: Oldukça iyi eksfoliyasyon gösteren lenf düğümü imprintleri yoğun biçimde küçük lenfositlerden oluşmaktaydı. Bunlar eritrositten büyük, nötrofilden küçük yapıda olup dar sitoplazmalara sahipti. Normal imprintlerde daha iri gözlenen lenfoblastlar küçük lenfositlerin 2-3 katı büyüklüğünde olup, bir ya da daha fazla nükleolusa sahipti. Normal lenf düğümü imprintlerinde yine az sayıda çeşitli hücre parçalarını, hemosiderin ya da diğer hücre üretileri fagosite etmiş makrofajlar ile plazma hücreleri, bazen nötrofil ve hatta eozinofil tesbit edildi. Lenf düğümü smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 5'de gösterilmiştir.

Dalak: Dalak imprintleri de tipik olarak lenfositik kümeler (Şekil 4) ve eritrositlerden zengindi. Az sayıda dikkati çeken makrofajlar genelde hemosiderin yüklü olup yine az sayıda plazma hücreleri ile tek tük nötrofil ve eozinofiller gözlemlendi. Dalak smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 1. Dil smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

Hücre tipi	Çekirdekli epitel	Çekirdeksiz (keratinize) epitel	Kas hücreleri	Nötrofil	Bağ doku hücreleri	Lenfosit	Makrofaj
Sayı	49	38	6	2	3	2	1-0

Tablo 2. Akciğer smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

Hücre tipi	Silyumlu epitel	Silyumsuz epitel	Bağ doku hücreleri	Lenfosit	Makrofaj	Eozinofil	Nötrofil
sayısı	22	35	12	11	14	1	5

Tablo 3. Karaciğer smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

Hücre tipi	Hepatosit	Prizmatik hücre	Bağ doku hücreleri	Lenfosit	Makrofaj	Eozinofil	Nötrofil
sayısı	61	19	7	6	3	2	2

Tablo 4. Böbrek smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

Hücre tipi	Silyumlu epitel	Silyumsuz epitel	Makrofaj	Lenfosit	Nötrofil	Eozinofil	Bağ doku hücreleri
sayısı	35	32	14	11	5	1	12

Sağlıklı Farelerde...

Tablo 5. Lenf düğümü smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

Hücre tipi	Küçük lenfosit	Büyük lenfosit	Plazma hücresi	Makrofaj	Nötrofil	Eozinofil	Bağ doku hücresi
sayısı	84	9	4	2	1	1-0	1-0

Tablo 6. Dalak smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

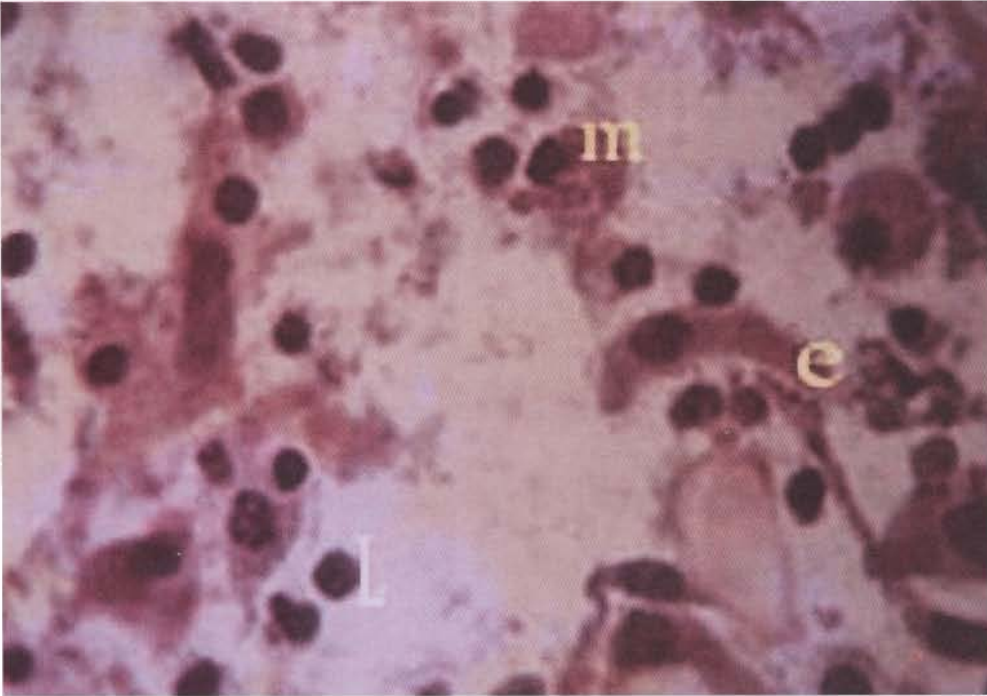
Hücre tipi	Küçük lenfosit	Büyük lenfosit	Plazma hücresi	Makrofaj	Nötrofil	Eozinofil	Bağ doku hücresi
sayısı	56	14	9	13	1	1	6

Tablo 7. Testis smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri

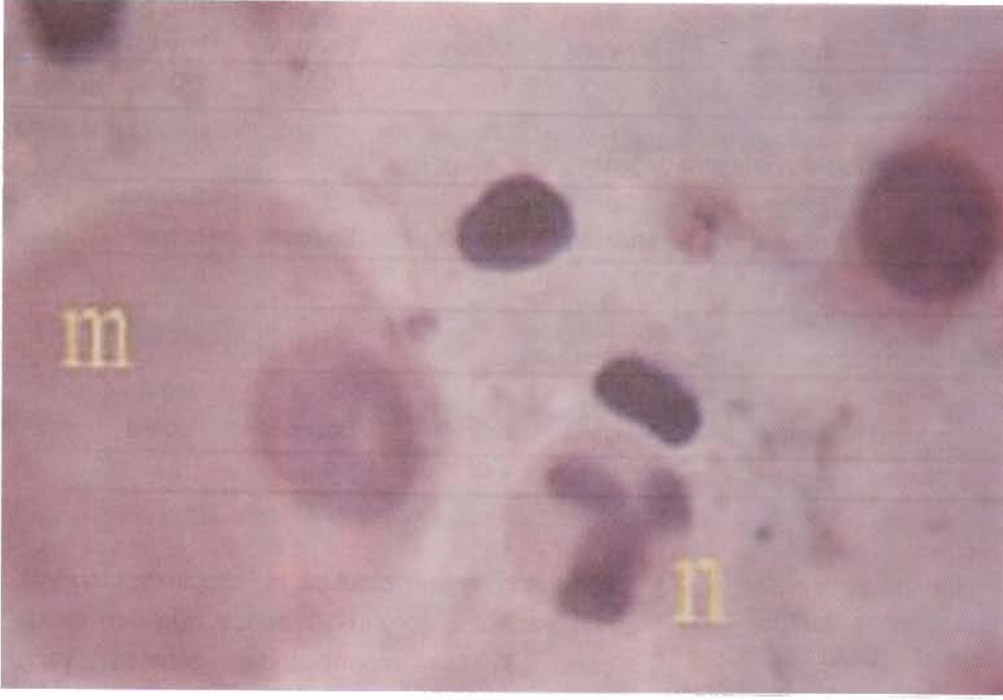
Hücre tipi	Spermatogenez hücresi	Sertoli hücresi	lenfosit	Makrofaj	Nötrofil	Eozinofil	Bağ doku hücresi
sayısı	78	18	2	-	1-0	1-0	1-0

Testisler: Testis imprintlerinde iri veziküler sertoli hücreleri arasında paketlenmiş tarzda spermatogenez hücreleri gözlemlendi (Şekil 5). Spermatozidler fuziform ve irili ufaklı olup, bu hücre

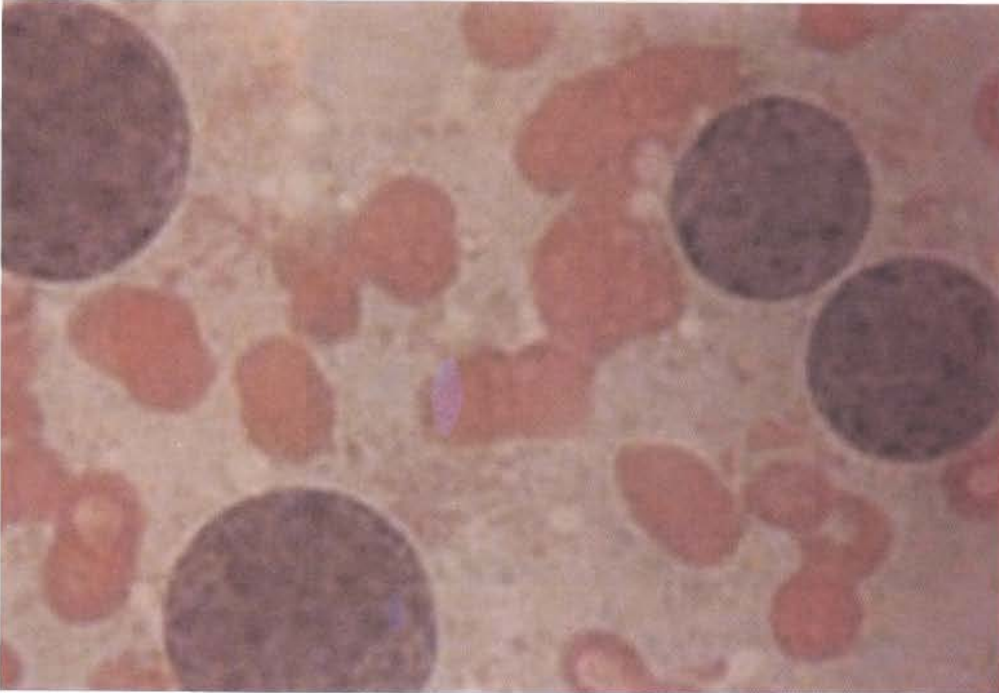
kümelerine yakın oldukça iri, sitoplazmadan yoksun veziküler görünümlü sertoli hücreleri dikkati çektir. Testis imprintlerinde genelde yangı hücrelerine rastlanmazken alt zeminde bazen



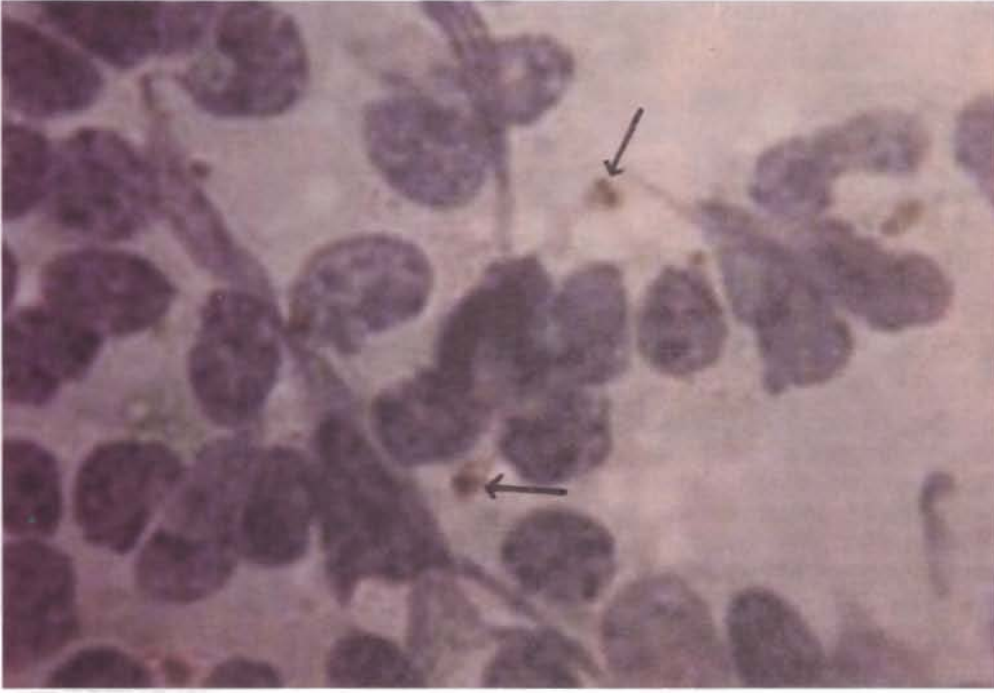
Şekil 1. Akciğer. Epitel hücresi (e) alveolar makrofaj (m) ve lenfositler (l).



Şekil 2. Akciğer. Alveolar makrofaj (m) ve nötrofil (n).



Şekil 3. Karaciğer. Eritrosit kümeleri arasında sitoplazmasını kaybetmiş hepatosit çekirdekleri.



Şekil 4. Dalak. Lenfositik hücreler ve pigment parçacıkları (ok).



Şekil 5. Testis. Spermatogenez hücreleri ile birlikte sertoli hücresi (ok).

granüler parçacıklar gözlemlendi. Testis smearlarında gözlenen hücrelerin ortalama değerleri tablo 7'de gösterilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Sitolojik preparatların incelenmesiyle kısa sürede hastalığın karakteri hakkında bir ön fikir edilebilmekle birlikte, patolojik sitolojinin iyi yorumlanabilmesi için öncelikle sağlıklı doku sitolojisi ve eksfoliyasyonu hakkında yeterli deneyim ve bilgi sahibi olunması son derece önemlidir. Çalışma bu amaçla organların normal eksfoliyasyon ve sitolojik görünümünü belirlemek için sağlıklı farelerden elde edilen imprint smearları üzerinde yapılmıştır.

Çalışmada dil, akciğer, karaciğer, dalak, böbrek, lenf düğümü ve testis imprintlerinde tesbit edilen sitolojik yapılar fare dışındaki diğer türlerde gözlenmiş sonuçlara benzerlik göstermektedir (Cowell ve Tyler, 1989; Raskin, 2000; Padrid, 2001; Roth, 2001; Hewson ve Viel, 2002). Çalışmada incelenen sitolojik preparatlarda akciğer, karaciğer ve dalağın kandan zengin oldukları ve diğer parenkimal yapıların eritrosit kümeleri içerisinde dağıldıkları görülürken lenf düğümü, böbrek, testis ve dil preparatlarının daha kansız ve parenkimal hücreden zengin oldukları dikkati çekti. Yine dil, akciğer, karaciğer ve böbreğin epitelyal hücrelerden, lenf düğümü ve dalağın belirgin biçimde lenfositik hücrelerden testislerin ise spermatogenez hücreleri ile sertoli hücreleri bakımından daha yoğun eksfoliyasyon gösterdikleri dikkati çekti. Dil smearlarında basil ya da kok tarzında çok sayıda bakteriyel kontaminasyon gözlemlendi. Bu smearlarda belirgin bir yangısal tablo görülmemesi söz konusu bakterilerin ağız florası bakterileri olabileceğini düşündürmüştür. Stockhouse ve ark. (2002), ileri yaştaki sağlıklı köpeklerin karaciğer smearlarında intraselüler pigment, yağ ve glikojen bulunabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan farelerde yaş ve cinsiyet ayrımına dikkat edilmediği için bu kriterlerin hücresel ayrıntıyı nasıl etkilediği hakkında bir sonuç belirtilmemiş, ancak intrasitoplazmik ya da serbest, boya almamış vakuoller ile pigment yapılarına çalışmada kullanılan sağlıklı farelerde de zaman zaman rastlanmıştır. Akciğerin sitolojik incelemelerinde ise farelerde sağlıklı akciğerin at (Hewson ve Viel, 2002) ve kedi

(Padrid ve ark., 2001) gibi diğer türlerde bildirilenlere oranla daha az yangısal hücre ve daha çok epitel hücresi içerdiği gözlenmiştir. Bu da diğer araştırmacıların aksine çalışmada bronko-alveoler lavaj yerine doğrudan imprint smearlerinin incelenmesinden kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak; çalışmada, seri hazırlanmış imprint smearlarının organın bilinen normal histolojik yapısını sitolojik olarak genelde yansıttığı gözlemlendi.

Kaynaklar

- Birdane F.M., Hatipoğlu F., Ortatlı M., Koç Y. and Turgut K. (2004) Renal Cell Carcinoma in a Dog: Pathologic and Cytologic Findings, *Rev.Med.Vet.*, 2004 (4) 212-216.
- Cowell RL and Tyler RD (1989) Diagnostic cytology of dog and cat. American Veterinary Publications, Inc.5782 Thornwood Drive, California.
- Culling CFA, Allison RT, Barr WT (1985) Cytology technique, In: Cellular pathology technique. Butterworth and Co. (publishers) ltd.
- Hewson J, Viel L (2002) Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: Equine Respiratory Disease. Ed. Lekeux P. www.ives.org, Ithaca, New York, USA
- Kıran MM, Erer H, Çiftçi MK, Hatipoğlu F, Tuzcu M (2000) Koyun pulmoner adenomatosisinin eksfoliyatif sitoloji ve bronko-alveolar lavaj yöntemleri ile tanısı ve sonuçların histopatolojik bulgularla karşılaştırılması. *Vet. Bil. Derg.* 16 (1),
- Padrid PA, Bernard FF, Fank K, Samitz EM, Reil D, Gross CE (2001) Cytologic, microbiologic and biochemical analysis of bronchoalveolar lavage fluid obtained from 24 healthy cats. *Am J Vet Res*, 52 (8), 1300-1307.
- Raskin RE (2000) Liver Cytology: interpreting needle biopsy samples. *Veterinary Medicine. Peer reviewed symposium.* 244-249.
- Roth L (2001) Comparison of liver cytology and biopsy diagnoses in dogs and cats: 56 cases. *Veterinary Clinical Pathology*, 30(1): 35-38.
- Stockhouse C, Tekse E, Ingh TVD, Rothiuzen J (2002) The influence of age on the cytology of liver in healthy dogs. *Vet Pathol*, 39: 154-158.
- Tekse E (2004) Clinical cytology in small animal medicine. 29th world congress of the world small animal veterinary association. October 6-9, 2004, Rhodes, Greece.