

RETİKÜLER HÜCRELERİN METALOFİLİK BİR YÖNTEMLE (ÇİO) İNCELEMESİ : IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU DÜZEYİNDE ÇALIŞMA

Atila Dağdeviren**

Üiken Örs*

Dalak, lenf düğümü gibi periferik lenfoid organlar histolojik olarak büyük ölçüde bölmelenme (kompartmantalizasyon) gösterirler (4,16,22). Her bölmenin kendine özgü bir lenfoid ve nonlenfoid hücre içeriği vardır. Son yıllarda tanımlanan nonlenfoid yardımcı hücre grubunun bağışıklık sisteminde önemli rolleri üstlendiklerine dair pek çok bulgu elde edilmiştir (23,31,36). Lenfoid dokularda bugüne kadar tanımlanan başlıca yardımcı (nonlenfoid) hücreler şunlardır :

- * Fibroblastik retiküler hücreler,
- * Folliküler dentritik hücreler (dentritik retiküler h.ler)
- * Interdigitating hücreler ve
- * Makrofajlar.

Makrofajlar da kendi içinde doku makrofajları (histiyositik retiküler hücreler), sinus makrofajları (subkapsüler ve trabeküler sinüslerde yerleşik makrofajlar), medulla makrofajları, marginal bölge makrofajları gibi alt gruplara ayrılmışlardır (12). Histiyositik retiküler hücreler olarak da adlandırılan doku makrofajlarının, lenf folliküllerinde yerleşmiş olanları ise özel olarak «tingible body» (boyanabilen csiim) makrofajları olarak adlandırılmışlardır.

Bu hücrelerin enzim histokimyasal, immunohistokimyasal özelliklerini ve ince yapılarını belirlemek amacıyla sayısız araştırma yapılmış ve yapılmaktadır (2,12,17,29,33,34,38,42). Folliküler dendritik hücre (FDH) ve interdigitating hücrelerin (IDH) tanımlanması için ışık ve elektron mikroskobu özel bulgularının çok sınırlı olması, araştırmacıların çabalarını bu hücreleri özel olarak işaretleyen immunohistokim-

* Hacettepe Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Profesörü.

** Hacettepe Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Yardımcı Doçenti.

yasal yöntemle geliştirmeye yöneltmiştir (29,34,38). Bugün bu hücreleri tanımlayan bir kaç monoklonal antikör elde edilmiş bulunmaktadır (34,38). Ancak bu yöntemler gerek teknik uygulamadaki güçlükler gerekse laboratuvar ve parasal koşulların sağlanma zorluğu ve yetersizliği nedeniyle bir çok laboratuvarında uygulanmaktan henüz uzaktır.

Bu nedenle daha önce benzer bir amaçla Crocker ve Hopkins (1984) tarafından parafin tekniğiyle uygulanmış olan çinko iyodit osmiyum tetroksit (ÇİO) yöntemiyle ilgili kaynak taraması yaptık (7). Gerek ışık mikroskobu düzeyinde daha ayrıntılı tanımlama olanacağı vereceğini, gerekse elektron mikroskobu incelemelerine olanak tanıyacağını gözönüne alarak bu metalofilik yöntemin plastik gömme maddesi kullanılarak uygulanan bir varyasyonunu (Niebauer 1969) çeşitli lenfoid dokuları ilk olarak incelemek amacıyla uygun bir teknik olarak seçtik (32,35).

MATERYAL VE METOD

Çalışmada çeşitli insan ve sıçan lenfoid doku örnekleri kullanılmıştır.

İnsan lenf düğümü ve tonsilla palatina doku örnekleri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz ve Genel Cerrahi Anabilim Dallarınca gerçekleştirilen ameliyatlardan elde edilen ameliyat materyalleri arasında patoloji göstermeyen dokulardan izin verilen ölçülerde sağlanmıştır. Hayvan doku örnekleri için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında yetiştirilen Swiss albino sıçanlar cins ayrılmadan kullanılmıştır.

Ameliyatlardan ve sıçanlardan alınan taze doku örnekleri, daha önce Niebauer tarafından epidermisi incelemek amacıyla kullanılmış olan yöntemle tespit edilmiştir (35). Buna göre dokular metalik iyot, metalik çinko ve % 2'lik osmiyum tetroksit içeren solusyonda 24 saat karanlıkta bekletilerek hem tespit edilmiş hem de metalofilik boyanmaları sağlanmıştır. Daha sonra örnekler rutin elektron mikroskobu yöntemleriyle takip edilmiş ve araldit (CY 212)'e gömülerek bloklanmıştır.

Piramitomla alınan yarı ince kesitler, metilen mavisi-azur II boyasıyla ikinci kez boyanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir (30).

Aynı bloklardan ultra mikrotomla alınan 600 A'luk ince kesitler boyasız ya da Sato'nun tanımladığı yöntemle göre kontrastlanarak Karl Zeiss 9S2 elektron mikroskobunda incelenmiş ve resimleri çekilmiştir

(40). Yarı ince kesitlerin resimlerini elde etmek için Zeiss fotomikroskop III kullanılmıştır.

Kontrol grubu olarak, aynı doku örnekleri yalnızca osmiyum tetroksit ile 24 saat karanlıkta bekletilerek tespit edilmiş ve yukarıda belirtilen rutin yöntemlerle izlenerek, kesitleri alınmış ve incelenmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda çinko iyodit-osmiyum tetroksit (ÇİO) yöntemiyle izlenen tüm doku örneklerinde ÇİO (+) reaksiyon veren hücrelerin varlığı saptanmıştır. Kontrol grubunun incelenmelerinde ise pozitif reaksiyona rastlanmamıştır.

İnsan tonsilla palatinasından alınan yarı ince kesitler küçük büyütmelelerde incelendiğinde, organ içindeki dağılımları değişmekle birlikte genel olarak organın tüm bölümlerinde izlenen ÇİO (+) hücre uzatısı ağı dikkati çekmiştir. ÇİO (+) hücrelerin yapılarını daha ayrıntılı gözleyebilmek için kesitler metilen mavisi-azur II zıt boyasıyla boyandıktan sonra daha büyük büyütmelelerde incelendiğinde, ÇİO (+) boyanan başlıca iki grup hücre olduğu anlaşılmıştır. Bunlardan birincisi, bir ya da iki çekirdekçikli, yuvarlak-oval ince sitoplazmik uzantılarıyla tanınan dendritik retiküler hücrelerdir. Zıt boya ile boyanan lenfositler, bu hücrelerin ÇİO (+) ince sitoplazmik uzantıları arasında tek tek ya da gruplar halinde yuvalanmış olarak izlenmişlerdir. İkinci grup ÇİO (+) hücreleri ise tingible body makrofajları (TBM) ve diğer makrofajlar oluşturmaktadır. Sitoplazmaları geniş ve heterofajik vakuollerle dolu olarak gözlenen ve yine sitoplazmik uzantıları olan TBM,ler kolaylıkla ayırt edilmişlerdir. Fagosite edilmiş lenfositlere ait kromatin artıklarının zıt boya ile boyanmış olması bu hücrelerin diğer makrofajlardan ayrılmalarını sağlamıştır.

İnsan ve sıçan lenf düğümü kesitlerinin incelenmesinde, bu iki hücre grubunun yine ÇİO (+) boyandıkları belirlenmiştir. Tüm periferik lenfoid doku örneklerinde izlenen DRH ve TBM'ler aynı yapısal özellikleri göstermektedirler. Ek olarak sıçan lenf düğümlerinde, DRH uzantılarının oluşturduğu ağsı çatı ve merkezde yerleşik TBM'lerin varlığı sekonder folliküllerin çok kolay tanımlanmasını sağlamıştır.

Lenf düğümlelerinde derin kortekste (parakorteks) izlenen yüksek endotelli venül (YEV) duvarlarında ya da bu damarlara komşu ÇİO (+) hücreler ve uzantıları dikkati çekmiştir. Medulla makrofajları, sinüs makrofajları ve subkapsüller bölge (marjinal zon) makrofajları da yine (ÇİO pozitif olarak boyanmaktadır. Bu makrofajların bazılarının sitoplazmalarında TBM'lerinde olduğu gibi boyanmış kromatin artıkları içeren heterofajik vakuollerin bulunduğu görülmüştür.

Elektron mikroskobu düzeyinde yaptığımız ince yapı incelemelerinde, sekonder folliküllerde lenfosit halkasını oluşturan küçük lenfositlerin arasında ÇİO (+) sitoplazmik uzantılarıyla tanınan DRH'lerin varlığı saptanmıştır. Bu hücrelerin retiküler liflerle komşuluğu dikkati çekmiştir. Tipik makrofaj ince yapı özelliklerini gösteren geniş sitoplazmalı hücrelerin de yine komşu lenfositlerden çarpıcı biçimde ÇİO (+) olmalarıyla ayrıldıkları belirlenmiştir. Büyük büyütmelerdeki ince yapı gözlemlerimiz ÇİO (+) boyanmanın hücrenin tüm zar yapılarında gerçekleştiğini ortaya koymuştur.

TARTIŞMA

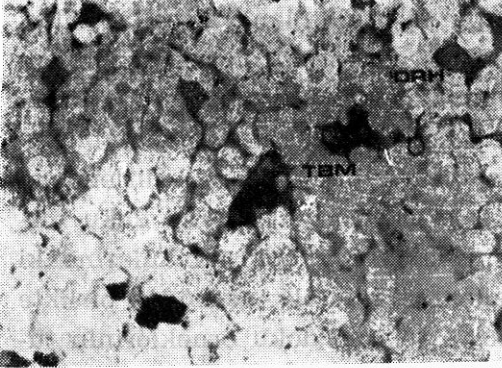
1968'de folliküler dendritik hücrelerin (Nossal ve ark.),1970'te interdigitating hücrelerin (Veldman) tanımlanmasıyla, son yirmi yılda lenfoid doku retiküler hücreleri yoğun olarak araştırma alanına girmiştir (37,43). Başlangıçta çok sınırlı olan bu hücrelerle ilgili bilgiler giderek çoğalmış, enzim histokimyası tekniklerinin yanında immunohistokimyasal yöntemler de kullanılarak bu hücrelerin antijenik yapıları belirlenmiş ve işlevlerine ait pek çok ipucu elde edilmiştir (4,5,15,18,19,23,27,40,42). Gerek ışık gerekse elektron mikroskobu düzeyinde bu hücreleri tanımlamaya yardımcı kriterler çok sınırlı olduğundan, bu hücreleri tanımlamak için özel yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır (3,6,20,21,44). Retiküler hücre tiplerini ayırt etmek için ilk başvurulan otoradyografik yöntemlerden sonra bir grup araştırmacı bu hücrelerin enzim histokimyasal özelliklerini bildirmişlerdir (2,33). Diğer bir grup araştırmacı ise çabalarını immunohistokimyasal alanda yoğunlaştırmış ve FDH ile IDH'leri tanımlayan monoklonal antikolar elde etmişlerdir (34,38). Son beş yılda FDH'lerin izolasyonu da gerçekleştirilerek konuyla ilgili daha ayrıntılı bilgiler elde edilmesi sağ-

lanmıştır (29). Retiküler hücrelerin tanımlanmasının yanında işlevleri ve kökenlerinin belirlenebilmesi amacıyla da kullanılan tüm bu yöntemler teknik ve parasal güçlükleri beraberinde getirdiğinden çalışmalar yalnızca bir kaç merkezde yürütülebilmektedir (4,11,12,17,23,29,34,38,42). Aynı amaçla uygulamada daha kolay ve ucuz olan metalofilik yöntemlerin de çeşitli araştırmacılar tarafından kullanıldığı dikkati çekmiştir (7,9,32). Daha önce Crocker ve Hopkins (1984) tarafından çeşitli lenfoid dokuları incelemek amacıyla kullanılan CİO (Çinko iyodit-osmiyum tetroksit) yönteminin bu hücrelerin ışık mikroskopu düzeyinde tanımlanmasına yardımcı olabileceği görüldüğünden, yöntemin değişik varyasyonları araştırılmış ve Niebauer ve arkadaşlarının (1969) epidermisteki Langerhans hücrelerini incelemek için uyguladıkları bir tanesi çeşitli lenfoid dokuları incelemek amacıyla seçilmiştir (7,35).

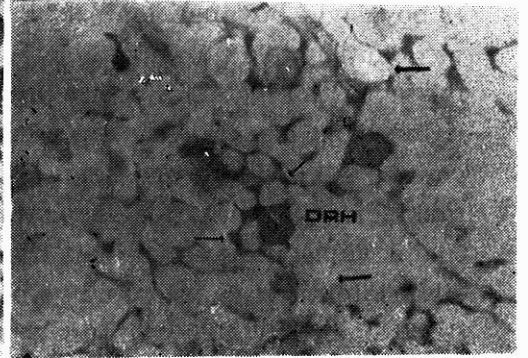
Çalışmada uyguladığımız plastik gömmeli metalofilik yöntem birkaç avantajı beraberinde getirmiştir. Bunlardan ilki, yarı ince kesitlerin daha ayrıntılı histolojik incelemelere olanak tanınmasıdır. Tespit sırasında ÇİO (+) boyanan retiküler hücreler ile metilen mavisi-azur II boyasıyla boyanan lenfositlerin birbirleriyle olan yapısal ilişkileri ve doku içindeki düzenlenmeleri kolayca ve çarpıcı olarak gözlenebilmiştir. Enzim histokimyası ve immunohistokimyasal yöntemlerin özelliğine bağlı olarak işaretlenen hücrelerin kolaylıkla tanımlanabilmesine karşın öteki normal doku elemanları aynı ayrıntıyla belirlenememektedir. Çalışmamızda incelemelerde ise normal lenfoid doku histolojik yapısı korunduğundan, organların çeşitli kompartmanlarındaki sitoarkitektürel yapı lenfoid ve nonlenfoid hücreler açısından birlikte değerlendirilebilmiştir. İnsan ve sıçan lenfoid doku örneklerinin tümünde ÇİO (+) hücre ağının yardımıyla lenf follikülleri kolayca tanımlanmış, korteks, derin korteks ve medulla ayrımı yapılmıştır. Lenfoid dokulara özgü damar yapılarının (yüksek endotelli post kapiller venüller vs.) tanımlanması ÇİO (+) hücrelerin de yardımıyla kolaylıkla yapılabilmektedir. Örneklerde ÇİO (+) olarak izlenen başlıca retiküler hücreler, FDH'ler, tingible body makrofajları ile diğer makrofaj grupları ve yüksek endotelli venüllerin duvarına komşu yerleşik pe-

risitler olarak belirlenmiştir. Sinus makrofajları dışında yaygın ve nodüler lenfoid dokuda yerleşik olarak izlenen bu retiküler hücrelerin hepsi ince, uzun sitoplazmik uzantılarının bulunmasıyla karakterizedir. Komşu hücrelerin uzantıları üç boyutlu bir ağ oluşturacak biçimde birbirleriyle bağlantı göstermektedir. Lenfositler bu uzantıların arasına yuvalanmış olarak görülmüşlerdir. Bu görünüm daha önceki araştırmacılar tarafından bildirilen FDH'lerin B lenfositlerin farklılaşması için uygun bir hücresel ortam oluşturdukları görüşünü desteklemektedir (16,21,27,31,36). Sitoplazmalarındaki fagosite edilmiş lenfositlere ait kromatin artıklarının boyanmaları ve kendilerinin de ÇİO (+) olmalarıyla çok kolay ayırt edilen lenf düğümlerinin öteki bölümlerinde de izlenmiş olması çalışmamız sonuçlarına ait özgün bir bulgudur.

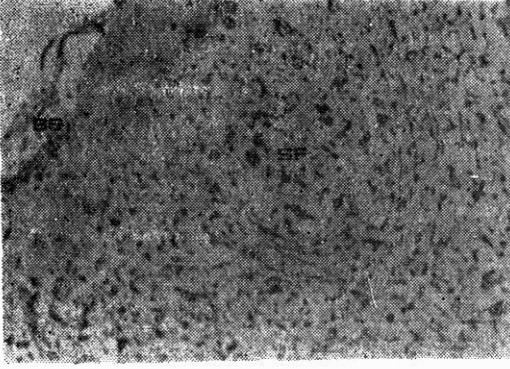
Plastik gömme maddesi kullanılmış olması aynı bloklardan ince kesit alınarak elektron mikroskobu incelemelerinin yapılmasına olanak vermiştir. Yöntemin diğer bir avantajı olan bu özellik sayesinde-



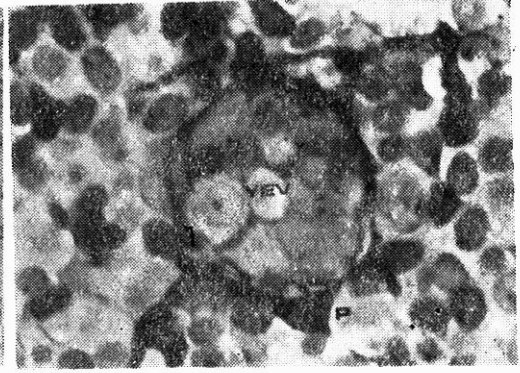
Şekil 1 : Sıçan submandibüler lenf düğümü kesiti. Çinko iyodit-osmiyum tetroksit (ÇİO) pozitif boyanmış dendritik retiküler hücreler (DRH) ve tingible body makrofajları (TBM) ve her iki hücrenin sitoplazmik uzantıları izlenmektedir. Boya : Metilen mavisi-azur II, X 640.



Şekil 2 : İnsan tonsilla palatinasından bir kesit. Dendritik retiküler hücrelerin uzantıları (tek ok) ile bunların lenfositlerle olan ilişkileri daha büyük büyütmede izlenmektedir. Aynı alanda ÇİO (—) retiküler hücrelerin (kalın ok) de bulunduğu dikkati çekmektedir. Boya : Metilen mavisi-azur II. X 1000.



Şekil 3 : Sıçan lenf düğümü korteksinden geçen bir kesitte, subkapsüler sinüs (SS) ve bir sekonder follikül (SF) izlenmektedir. Boya : Metilen mavisi-azur II, X 160.



Şekil 4 : Sıçan lenf düğümü derin korteksinden geçen bir kesitte bir yüksek endotelili venül (YEV) görülmektedir. P : Perisit. L : lenfosit. Boya : Metilen mavisi-azur II, X 1000.

de, FDH'lerin ve TMB'lerin ince yapı düzeyinde de ÇİO (+) boyandıkları belirlenmiştir. Bu, uygulanan metalofilik yöntemin elektron mikroskobu düzeyinde de ayırt edici bir teknik olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Rutin elektron mikroskobu yöntemleriyle yalnızca ince zar katlantılarından oluşan sitoplazmik uzantıları ve bunların üzerine çökmüş elektron yoğun madde varlığıyla tanımlanan FDH'ler, ÇİO yöntemiyle gerek hücre gövdelerinin gerekse uzantılarının açık bir biçimde pozitif boyanmış olması ayırt edilmelerini çok kolaylaştırmıştır.

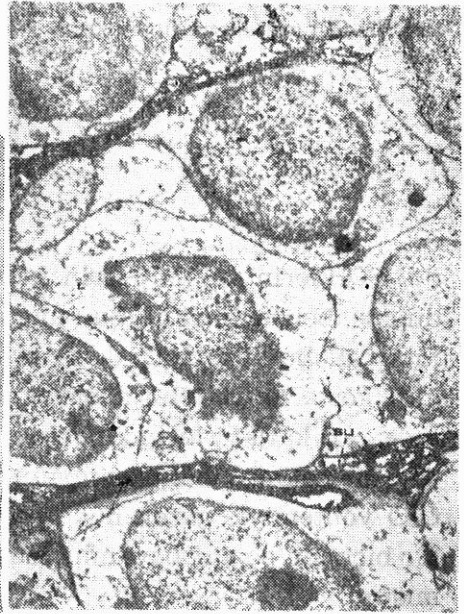
Yöntemin üçüncü bir avantajı enzim ya da immunohistokimyasal tekniklerin aynı kesit üzerinde birlikte uygulanabileceğine dair bazı ipuçlarının bildirilmiş olmasıdır (2,7). Çeşitli araştırmacılar plastik kesitler üzerinde enzim histokimyası ya da immunohistokimyasal tekniklerin kullanılabildiğini bildirmişlerdir (2,14,29). Başka bir çalışmada metalofilik yöntemlerle enzim histokimyasal yöntemlerin birlikte

uygulanabileceği gösterilmiştir (14). Çalışmamızda yaptığımız hücre tanımlamaları başlıca bu hücrelerin yerleşimine bağlı olarak yapıldığından, ileride birleşik yöntemler kullanılarak yapılacak çalışmalar değerli bilgiler verebilecektir.

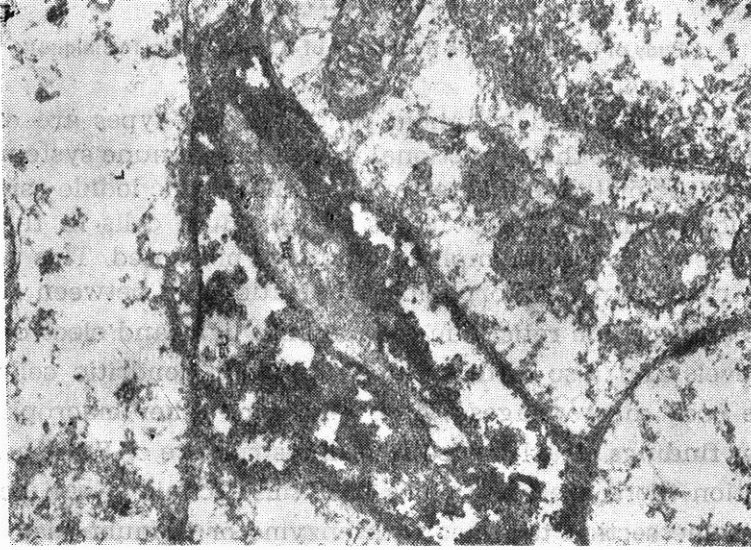
Rutin histoloji laboratuvarlarında uygulanması oldukça kolay ve göreceli olarak ucuz olan uyguladığımız yöntem, konuyla ilgili olarak gerçekleştirilecek ontogenetik çalışmalar ve özellikle histopatolojik değerlendirmeler için yaygın olarak kullanılmaya aday olabilir (1,2, 10,13,14,39,42,45).



Şekil 5 : Sıçan lenf düğümü kesitinde, medullada ÇİÖ (+), geniş sitoplazmalı ve uzantılı bir makrofajın ince yapısı. Çeşitli büyüklükte ve iç yapıda heterofajik vakuoller (HV) ve fagosite edilmek üzere sitoplazma içine alınmakta olan bir plazma hücresi (*) görülmektedir. Ç : Çekirdek, PH : Plazma hücresi. X 6500.



Şekil 6 - Ergin sıçan lenf düğümünde, sekonder follikül koronasından geçen kesitte, ÇİÖ (+) DRH sitoplazma uzantıları (---SU) arasında lenfositler (L) görülmektedir. (*) : DRH zar katlantısı, X 12000.



Sekil 7 : Sıçan lenf düğümünde, sekonder follikülde yerleşik bir DRH sitoplazmik uzantısında (SU), zar katlantısı ve arada retiküler lifler (RL) izlenmektedir.

L : Lenfosit, x 20000.

ÖZET

Yeni tanımlanan lenfoid retiküler hücre tipleri bağışıklık sistemindeki işlevsel rolleri nedeniyle büyük önem kazanmışlardır. Lenfoid dokuların normal sitoarkitektürü içinde retiküler hücre tiplerini ayırt eden bir metalofilik (ÇİO = Çinko iyodit-osmiyum tetroksit) plastik gömme tekniği sunulmuştur. Bu teknik ışık ve elektron mikroskopu düzeyinde lenfositler ve retiküler hücreler arasındaki yapısal ilişkiyi açığa çıkarmakta; folliküler dendritik hücreler (FDH), tingibile body makrofajları (TBM) ve diğer makrofaj gruplarının tanımlanmasını sağlamaktadır. Bulgularımız FDH ve TBM'lerin ince yapı özelliklerini ortaya koymaktadır. Ek olarak retiküler hücrelerin tanımlanması amacıyla kullanılan enzim histokimyası ve immunohistokimyasal yöntemlerin aynı kesitler üzerinde birlikte uygulanabileceğine dair ipuçları vardır. Sunulan teknik bu özellikleriyle ontogenetik ve histopatolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaya aday olup göreceli olarak kolay ve ucuz bir yöntemdir.

SUMMARY

(Study of Reticular Cells By the Aid of A Metallophilic Technique)

Recently identified lymphoid reticulum cell types are of special interest because of their functional role in the immune system. A plastic embedding metallophilic technique (ZIO = zinc iodide-osmium tetroxide) identifying different types of reticulum cells in the normal cytoarchitecture of the lymphoid organs is presented. This technique enables revealing the morphological relationship between the lymphocytes and specific reticulum cells in both light and electron microscopic levels and also differentiates follicular dendritic cells (FDC), tingible body macrophages (TBM) and some other macrophage groups. Our findings clearly reveal the fine structure of FDCs and TBMs. In addition there are some clues that this technique can be applied on the same section together with enzyme or immuno-histochemical methods. We hope that the presented technique will be used in many laboratories, being relatively easier and cheaper, in ontogenetic and histopathological studies.

KAYNAKLAR

1. Bailey RP Weiss L : Ontogeny of human fetal lymph nodes. *Am. J. Anat.* 142 : 15-28, 1975.
2. Beckstead JH : Evaluation of human lymph nodes using plastic sections and enzyme histochemistry. *Am. J. Clin. Pathol.* 80 : 131-139, 1983.
3. Belisle C Saint-Marie G : Tridimensional study of the deep cortex of rat lymph nodes. III : Morphology of the deep cortex unit. *Anat. Rec.* 199 : 61-72, 1981.
4. Van der Berg TK Döpp EA Breve JJP Kraal G Dijkstra CD : The heterogeneity of the reticulum of rat peripheral lymphoid organs identified by monoclonal antibodies. *Eur. J. Immunology* 19 : 1747-1756, 1989.
5. Brooks CF Moore M : Differential MHC class II expression on human peripheral blood monocytes and dendritic cells. *Immunology* 63 : 303-311, 1988.

6. Chen, LL Adams JC Steinman RM : Anatomy of germinal center in mouse spleen, with special referance to «follicular dendritic cell». *Cell Biology* 77 : 148-164, 1978.
7. Crocker J Hopkins M : Histiocytic and dendritic reticulum cells shown by a ZIO technique. *J. Clin. Pathol.* 37 : 620-627, 1984.
8. Curran RC Jones EL : The lymphoid follicles of the human palatine tonsil. *Clin. Exp. Immunol.* 31 :251-259, 1978.
9. Dağdeviren A : Lenfoid doku retiküler hücrelerinin çinko iyodit-osmiyum tetroksit yöntemiyle ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi. Uzmanlık tezi, H.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, 1986.
10. Dijkstra CD Dopp EA : Ontogenetic development of T- and B-lymphocytes and nonlymphoid cells in the white pulp of rat spleen. *Cell Tissue Res.* 229 : 351-363, 1983.
11. Dijkstra CD Kamperdijk EWA Dopp EA : The ontogenetic development of the follicular dendritic cells. An ultrastructural study by means of intravenous injected HRP-anti-HRP complexes as marker. *Cell Tiss. Res.* 236 : 203-206, 1984.
12. Dijkstra CD Dopp EA Joling P Kraal G : The heterogeneity of mononuclear phagocytes in lymphoid organs : Distinct macrophage subpopulations in the rat recognized by ED1, ED2 and ED3. *Immunol.* 54 : 589-599, 1985.
13. Dijkstra CD van Rees EP Dopp EA : Ontogeny of rat macrophages and dendritic cell of the rat. *Adv. Exp. Med. Biol.* 237 : 731, 1988.
14. Eikelenboom P : Dendritic cells in the rat spleen follicles. *Cell Tiss. Res.* 190 : 79-87, 1978.
15. Friess A : Interdigitating reticular cells in the popliteal lymph nodes of rat : An ultrastructural and cytochemical study. *Cell Tiss. Res.* 170 : 43-60, 1976.
16. Fossum S Ford WL : The organization of cell populations within lymph nodes, life history and fuctional relationships. *Histopathology* 9 : 469-499, 1985.
17. Gerdes J Stein H : Complemet (C3) receptors on dendritic reticular cells of normal and malignant lymphoid tissue .*Clin. Exp. Immunol.* 48 : 348-352, 1982.
18. Gerdes J Stein H Mason DY Ziegler A : Human dendritic reticular cells of lymphoid follicles : Their antigenic profile and their identification as multinucleated giant cells. *Virch. Arch. (CP)* 42 : 161-172, 1983.

19. Grey HM : Mechanisms of antigen processing and presentation. *Immunobiol.* 168 : 202-212, 1984.
20. Groscurth P : Nonlymphatic cells in the lymph node cortex of the mouse. *Path. Res. Pract.* 169 : 212-234, 1980.
21. Heusermann UK Zurborn H Schroeder L Stutte HJ : The origin of the dendritic reticulum cell. *Cell Tiss. Res.* 209 : 279-294, 1980.
22. Humphrey JH : Microenviroments in haemapoietic and lymphoid differentiation : Ciba Foundation Symposium 84. Pitman, p : 236-335, 1981.
23. Humphrey JH Sundaram V : Origin and turnover of follicular dendritic cell and marginal zone macrophages in the mouse spleen. *Adv. Exp. Med. Biol.* 186 : 167-170, 1985.
24. Kamperdijk EWA Raaymakers EM de Leeuw JHS Hoefsmit ECM : Lymph node macrophages and reticulum cells in immune response. *Cell Tiss. Res.* 192 : 1-23, 1978.
25. Katz IS Tamaki K Sachs DH : Epidermal lymphatic cells originating in bone marrow. *Nature* 282 : 324-327, 1979.
26. Katz DR : Differences in accessory cell functions. *Immunobiol.* 168 : 134-140, 1984
27. Klaus GGB Humphrey JH Kunkl A Dongworth DW : The follicular dendritic cells : Its role in antigen presentation in the generation of immunological memory. *Immunological Rev.* 53 : 3-27, 1980.
28. Klinkert WEF la Badie JH Bowers WE : Accessory and stimulating properties of dendritic cells and macrophages isolated from various rat tissue. *J. Exp. Med.* 156 : 1, 1982.
29. Kosco MH Tew JG Szajal AK : Antigenic phenotyping of isolated and in situ rodent follicular dendritic cells (FDC) with emphasis on the ultrastructural demonstration of la antigens. *Anat. Rec.* 215 : 201-213, 1986.
30. Lewis PR Knight DP : Staining methods for sectioned material. Ed. ; Audrey M. Glauert. Elsevier/North Holland Inc., p : 27, 1977.
31. Mandel TE Phipps RP Abbot A Tew JG : The follicular dendritic cells : Long term antigen retention during immunity. *Immunological Rev.* 53 : 28, 1980.

32. Marshall AHE : A method for the demonstration of reticuloendothelial cells in paraffin sections. *J. Pathol. Bact.* 60 : 515-517, 1956.
33. Müller-Hermelink HK : Characterization of the B-cell and T-cell regions of human lymphoid tissue through enzyme histochemistry. Demonstration of ATPase and 5-nucleotidase activities. *Virch. Arch. (CP)* 16 : 371-378, 1974.
34. Naiem M Gerdes J Abdulaziz Z Stein H Mason DY : Production of a monoclonal antibody reactive with human dendritic reticulum cell and its use in the immunohistological analysis of the lymphoid tissue. *J. Clin. Pathol.* 36 : 167-175, 1983.
35. Niebauer G Krawczyk WS Kidd RL Wilgram GP : OZI reactive sites in the epidermal Langerhans cells. *J. Cell Biol.* 43 : 80-89, 1969.
36. Nieuwenhuis P Opstelten D : Functional anatomy of germinal center. *Am. J. Anat.* 170 : 424-435, 1984.
37. Nossal GJV Abbot A Mitchell J Lummus Z : Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. *J. Exp. Med.* 127 : 277-289, 1968.
38. Parwaresch MR Radzun MJ Hansmann ML Peters K P: Monoclonal antibody K1-M4 specifically recognizes human dendritic reticulum cells (Follicular dendritic cells) and their possible precursor in blood. *Blood* 62 : 585-590, 1983.
39. von Rees EP Dopp EA Dijkstra CD Sminia T : The postnatal development of cell population in the rat popliteal lymph node. *Cell Tiss. Res.* 242 : 391-398, 1985.
40. Sato T A: A modified method for lead staining of thin sections. *J. Electronmicroscopy*, 16 : 133, 1967.
41. Steinman RM Cohn ZA : Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J. Exp. Med.* 137 : 1142-1162, 1973.
42. van der Valk P van der Loo EM Jansen J Daha MR Meier JCLM : Analysis of lymphoid and dendritic cells in human lymph nodes, tonsil, spleen. A study using monoclonal and heterologous antibodies. *Virch. Arch. (CP)* 45 : 169-185, 1984.
43. Veerman AJP van Ewijk W : White pulp compartments in the spleen of rats and mice. A light and electron microscopic study of lymphoid and non-lymphoid cell types in T and B areas. *Cell Tiss. Res.* 136 : 417-444, 1975.

44. Veldman JE : Histophysiology and electron microscopy of the immune response. Thesis. Groningen Boekdrukkerij Dijkstra-Niemeijer., 1970.
45. Villena A Zapata A Rivera-Pomar JM Barrutia MG Fonfria J : Structure of non-lymphoid cells during the postnatal development of the rat lymph nodes. Cell. Tiss. Res. 229 : 219-232, 1983.