

## Periodik Asit Schiff (PAS) Reaksiyonu

Melda Yardımoğlu\*

**ÖZET.** Periodik Asit Schiff (PAS) reaksiyonu, dokulardaki karbonhidratların varlığını göstermede faydalı bir indikatördür ve bu teknik özellikle bir diastaz sindirim enzimiyle beraber uygulandığı zaman glikojen için uygundur. Birçok histokimyasal metod çoğunlukla laboratuvar teşhisinde kullanılır. Dokularda glikojeni ve glikozaminoglikanları (mukopolisakkaritleri) depolayan hastalıklara sahip hastalardan alınan dokuların biyopsilerinde PAS-amilaz reaksiyonu rutin olarak kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler .**Periodic asit .Schiff .glikojen .glikozaminoglikan (mukopolisakkarit).

### Periodic Acid Schiff (PAS) Reaction

**SUMMARY.** The PAS reaction is a useful indicator of the presence of tissue carbohydrates in the tissues and proper for glycogen especially when it is applied with a diastase digestion enzyme. Numerous histochemical techniques are often used in a lab diagnosis. The PAS amilase reaction can be used in the biopsy of tissues taken from patients who have diseases such as storing glycogen and glycoseaminoglycans (mucopolisaccarides).

**Key Words.** Periodic acid .Schiff .glycogen .glycoseaminoglycan (mucopolisaccaride).

Vücuttaki polisakkaritler serbest veya proteinlerle kombine bir şekilde bulunurlar. Kombinasyon durumunda, aşırı kompleks heterojen bir grup oluştururlar. Vücutta proteine bağlanmayan ve vücudun her yerinde yaygın olarak bulunan bir polisakkarit olan glikojen PAS reaksiyonu ile gösterilebilir. PAS reaksiyonu, aldehit gruplarını arttıran, periyodik asidin ( $HIO_4$ ) glikoz kalıntılarında mevcut olan 1, 2 glikol grupları üzerinde oksidatif hareketine dayanır<sup>1</sup>. Bu prosedür, glikol grubu ve hidroksi ve amino radikallerine bitişik moleküler konfigürasyonların varlığını göstermek için tipiktir<sup>2,3</sup>. Bu teknik ile doku ve hücrelerde bulunan aldehit grupları gösterilebilir. Önce periodik asitle okside edilerek dokulardaki aldehit grupları ortaya çıkarılır<sup>4</sup>. Periodik asit bitişik hidroksi, hidroksi amino ve hidroksi amino gruplarındaki bölgelerde karbon zincirlerine saldırır. Tipik reaksiyon içerisinde karbon zincirinde kırılma ile beraber bitişik gruplar aldehitlere okside olur<sup>3</sup>. Reaksiyonun temeli periodik asidin 1,2-glycols ya da amino ve alkylamino türevleri içerisinde karbondan karbona bağlanmanın oksidatif bölünmesi sonucu dialdehitler formuna getirilmesidir. Bu aldehitler fuksin-sulphurous asit ile reaksiyona girecektir, basic pararosaline ile birleşerek magenta renkli bir bileşiği oluşturacaktır. Bileşiğin alkyl sulphonate tipinde olacağı gösterilmiştir<sup>2</sup>. Aldehit grupları, Schiff ayracı ile reaksiyona girer<sup>4</sup>. Diğer

oksidantlarla zayıf bir Schiff reaksiyonu gösteren ve karboksilik asite dönüşen aldehitler progressif olarak fazla oksitlenmezken, periodik asit reaksiyon için en iyi oksidant seçimidir. Periodik aside alternatif diğer oksidantlar şunlardır: Chromic asit, potassium permanganate, kurşun tetra asetat, sodium bismuthate, manganaz asetat ve phenyl iodosoacetate. Schiff ayırıcındaki renksiz lökofuksin aldehit gruplarıyla reaksiyona girerek renkli fuksine dönüşür ve aldehit gruplarını içeren doku bölümleri koyu pembe-mor renge ve diğer doku komponentleri ise açık sarıya boyanır<sup>4,5</sup>. Feulgen reaksiyonunda olduğu gibi, bu aldehit grupları, ağartılmış fuksin (Schiff reaktifi) ile reaksiyona girerek mor veya leylak renginde yeni bir kompleks oluşturur. Bu ışık mikroskopunda görülebilir ve bu tür maddelere PAS (+) denir<sup>1</sup>. PAS (+) reaktif yerlerin boyanma şiddeti değişkendir ve doku komponentleri içerisindeki bitişik glikol ve aminohidroksi grupların konsantrasyonuna bağlıdır<sup>4,5</sup>. Yüksek bir polisakkarit içeriğe sahip doku komponentleri koyu pembeden menekşe renginin farklı tonlarına değişen derecelerde boyanır<sup>3,4</sup>. Aşağıdaki doku komponentlerinin değişik derecelerde PAS (+) boyandığı bildirilmiştir<sup>4,5</sup>:

- 1- Polisakkaritler: Glikojen (hepatositlerde, vagina epitelinde).
- 2- Nötral mukopolisakkaritler: Nötral musinler (örneğin mide musini).
- 3- Glikolipitler: Nöronal glikolipitler, gangliositler.
- 4- Doymamış lipit ve fosfolipitler: Merkezi sinir sistemindeki ak cevherdeki lipitler.

\* Araş. Gör. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji ABD

Geliş Tarihi : 18.10.1994

Kabul Tarihi: 18.12.1995

Hücrelerde diğer PAS (+) maddeler de olduğu için, reaksiyonun spesifikliği, glikojenolitik enzimlerle (örneğin tükrük amilazı) ön uygulamaya bağlıdır. Amilaz uygulamasından sonra PAS ile boyanmayan yapıların glikojen içerdiği kabul edilir. Bu metot kullanılarak normal karaciğer ve çizgili kastaki glikojen gösterilebilir. Nötral glikoproteinler, doku kesitlerinde PAS metodu ile reaksiyona girmelerinden dolayı tanımlanabilirler, fakat glikojenolitik enzimle ilk inkübe edildiklerinde sindirilemezler. Proteoglikanlar ve bazı glikoprotein elementlerini sindiren spesifik enzimlerin kullanılması ile doku kesitlerindeki bu maddeler ayırt edilebilir<sup>1</sup>.

Kombine Alcian blue-PAS tekniği sayesinde asit musinler ve nötral musinler açıkça ayırt edilebilir<sup>2,6</sup>. Tekniğin mantığı ilk önce alcian blue ile bütün asit musinlerin boyanmasıdır. Asit musinler sonraki PAS prosedürü ile PAS (+) reaksiyon vermezler. Sadece nötral musinler PAS (+) reaksiyon verirler. Poddar ve Jacobs (1981), sansar kolon goblet hücrelerinde Alcian blue (AB) ile PAS kombinasyonuna, asidik ve nötral mukosubstanslar arasındaki değişikliği teşhis etmek için kullanmışlar, sonuçta proksimal ve distal kolondaki goblet hücrelerinin PAS (+) reaksiyon verdiğini göstermişlerdir<sup>7</sup>.

Fakan ve Adankova (1981), Culling'in periodik asit-borohidrit-potasyum hidroksit-periodik asit-Schiff metodu (PB/KOH/PAS) ile kanser metastazlarındaki musin içerisindeki o-acylated sialik asitleri ayırt ederek musin üreten primer kolorektal adenokarsinoma [% 60-70 (+)] ile musin üreten primer akciğer adenokarsinoması (-) arasındaki farkı ayırt edebilmişlerdir<sup>8</sup>.

a) Bez dokularındaki epitelial tip musinler: ekzokrin ve endokrin hücrelerin sitoplazma ve lümen içeriği, respiratuvar sistemdeki musin, tükrük bezleri, buccopharyngeal bez, gastrik ve brunner bezleri, incebarsak, kolon ve rektumda goblet hücreleri, uterin servikal bezler, vagina epiteli, ovaryumda follikül sıvısı, prostat bezi salgısıdır<sup>4,5</sup>.

b) Hücre granülleri: hipofizin gonadotrop hormon salgılayan bazofil hücreleri, kurbaçalarda asidofil hücre granülleri, tükrük ve pankreatik zimojen granülleri, paneth hücre granülleri, enterokromaffin hücre granülleri, enterokromaffin hücre granülleri, adrenal kromaffin hücre granülleri, sıçanlarda meme bezi granülleri, bazı maymunlarda eosinofil lökositlerin granülleri, bazı splenik retikuloendotelial hücre granülleri, doku mastositlerinin bazı tipleri<sup>5,9</sup>.

c) Kolloidler: tiroid bezinde follikül kolloidi, hipofiz sapındaki kolloid<sup>5</sup>. Sasai ve ark. (1978), amiloid, kolloid ya da hyalin içerisindeki mukopolisakkaritleri boyamak için AB, azure A ve PAS yöntemlerini kullanmışlardır<sup>10</sup>. Bu histokimyasal araştırma metodu ile amiloid içerisindeki heparitin sülfat'ın, hyalin içerisinde chondroitin sulfat A'nın ve kolloid içerisinde chondroitin sulfat'ın varlığı gösterilmiştir.

d) Konnektif doku musinleri: akciğer, böbrek, gastrik mukozanın retikulumu, göbek kordonu matriksi, kırıkardak matriks, kollajen, korne, kan damarlarındaki retikulum, böbrekte glomeruler stroma, cerebral kapillerleri destekleyen stroma, beyin ve medulla spinalis'te gri cevherin ground substansı<sup>5</sup>.

e) Çoğu türde bazal membranlar: renal tubullerde, glomerulusta, kornea'da descement membran, subendotelial ve epidermal bazal membranlar<sup>5,8</sup>. Schindelmeiser (1986), Salamandra salamandra testislerinde lobuller arasındaki bağ dokusunda, bazal lamina ve fibröz yapıların PAS (+) reaksiyon verdiğini gözlemlemiştir<sup>9,11</sup>.

f) Spermatozoa'nın akrozomu ve bas kepi, oositte zona pellusida, oosit, renal tubullerin fırçamsı sınırları, plazma ve serum, vas deferens epitelinde non-spesifik intranuklear inklüzyon cisimcikleri<sup>5</sup>.

PAS tekniği, incelikleri ve ayrıcalıkları iyi anlaşılıp uygulandığı zaman dokularla çalışılan laboratuvarlarda, sadece araştırma çalışmalarında değil, aynı zamanda biyopsi materyallerine teşhiste de geniş bir kullanım alanı bulacaktır.

Dr. Melda YARDIMOĞLU  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji ABD  
Tel: 4428006-08 / 21137-21281  
16059 Görükle / BURSA

### Kaynaklar

1. Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO: Cytochemistry and Histochemistry. Basic Histology. A Lange Medical Book, Sixth ed, 1990.
2. Cook HC: Carbohydrates. Periodic acid-Schiff reaction (PAS). Theory and Practice of Histological Techniques. Editors: Bancroft JD, Stevens A, Second ed., Churchill Livingstone, 1982, pp 188-198.
3. Davenport HA: Organic constituents of tissues: polysaccharides. Histological and histochemical technics. WB Saunders Company, Philadelphia-London, 1960, p 295.
4. Erdoğan D, Hatiboğlu MT, Ilgaz C, Görgün M: PAS. Histoloji Laboratuvar Kılavuzu. 2. Bası, Sayı: 01, Gazi Üniv. Tıp Fak., Ankara, 1990, s. 16.
5. Thompson SW: Periodic acid-Schiff reaction (Hotchkis, Mc Manus, Lillie). Selected histochemical and histopathologic methods. Charles C Thomas. Publisher, Springfield, Illinois, USA, 1966, pp 480-496.
6. Yamabayashi S: Periodic acid-Schiff-Alcian blue: a method for the differential staining of glycoproteins. Histochem J 19:565-71, 1987.
7. Poddar S, Jacob S: Mucosubstances in the colonic goblet cells of the ferret. Acta Histochem, 68:279-89, 1981.
8. Fakan F, Adamkova J: Diagnostic value of PB/KOH/PAS method for identification of primary cancer from metastases. Acta Histochem 68:176-80, 1981.
9. Quintero-Hunter I, Hrier H, Muscato M: Enhancement of Histological Detail Using Metanil Yellow as Counterstain in Periodic acid Schiff's Hematoxylin Staining of Glycol Methacrylate Tissue Sections. Biotechnic & Histochemistry 66(4):169-72, 1991.
10. Sasai Y, Nagata M, Inokuchi K, Namba K: Histochemical investigation of acid mucopolysaccharides in amyloid, colloid and hyaline. Acta Histochem 62:223-36, 1978.
11. Schindelmeiser J: Light and electron microscopic study on complex carbohydrates in the testis of Salamandra salamandra L. (Amphibia, Urodela). Acta Histochem, 78:189-95, 1986.