

24534

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STİMÜLE VE İNHİBE EDİLMİŞ
SIÇAN NASAL MAŞT HÜCRELERİNİN IŞIK
MİKROSKOBİK SEVİYEDE HİSTOKİMYASAL
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Biolog Aydan CANBİLEN

Morfoloji Anabilim Dalı

Danışman: *Prof. Dr. Refik SOYLU*

KONYA - 1992

İÇİNDEKİLER

1- GİRİŞ.....	1
2- LİTERATÜR BİLGİ.....	2
2.1. MAST HÜCRELERİNİN TARİHÇESİ.....	2
2.2. MAST HÜCRELERİNİN ORJİNİ.....	4
2.3. MAST HÜCRELERİNİN MORFOLOJİSİ	7
2.4. MAST HÜCRELERİNİN ALT GRUPLARI.....	10
2.5. MAST HÜCRELERİNİN GRANÜLLERİNDE BULUNAN MADDELER	13
2.6. MAST HÜCRE DEGRANÜLASYONUNUN MEKANİZMASI.....	14
2.7. MAST HÜCRELERİNİN FARKLILAŞMASI.....	16
3- MATERYAL VE METOT	17
4- BULGULAR.....	20
4.1. RESİMLER	22
5- TARTIŞMA VE SONUÇ	36
6- ÖZET	44
7- SUMMARY.....	45
8- LİTERATÜR.....	46
9- ÖZ GEÇMİŞ	54

1. GİRİŞ

Mast hücresi ilk tanımlandığı yıldan beri birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve birçok araştırmacı bu konuda çalışmalar yapmıştır. Yapılan araştırmaların ışığında, mast hücrelerinin anaflaktik ve inflamatuvar reaksiyonlardan başka gecikmiş tip hipersensitivitede de rol aldığı kanıtlanmıştır. Mast hücrelerinin orijini ve morfolojik özellikleri hakkında da birçok çalışma yapılmış, fakat bu konularda araştırmacılar henüz bir görüş birliğine varamamışlardır. Bu yüzden, mast hücrelerine ilgi her geçen gün biraz daha artarak devam etmektedir. Mast hücrelerinden kültürler hazırlanarak morfolojik özellikleri ve orijinleri elektron mikroskop yardımı ile incelenmekte; bunların fizyolojik ve patolojik durumlardaki rolleri araştırılmaktadır.

Sıçan (rat) kullanılarak yapılan bu araştırmanın amacı da mast hücrelerinin varlığını nasal dokuda tesbit etmek, çeşitli boya metotları uygulayarak alt gruplarının boyanma özelliklerini ve bu hücelere bazı kimyasal maddelerin etkilerini inceleyerek bilime bir nebze katkıda bulunmaktır.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. MAST HÜCRELERİNİN TARİHÇESİ

Mast hücreleri ilk olarak 1863 yılında von Renklinghausen tarafından kurbağa peritonunda görülmüş ve tanımlanmıştır (2,3,14). Bununla beraber, mast hücrelerinin ilk klasik tanımlaması ancak 1879 yılında bir tıp öğrencisi olan Ehrlich tarafından yapılmıştır (2). Ehrlich granül içeren bu hücrelerin mavi bazik anilin boyası ile kırmızı veya mor boyandığını görmüş ve bu hücrelerin fazla beslenmiş hücreler olduklarına inanarak Almanca'da beslenme anlamına gelen "Masten" kelimesinden türeyen "mast hücresi" adını vermiştir (2,3,13,14,36,48).

1891 yılında Ehrlich Westphal ile birlikte granüllerin suda erime özelliklerini bildirmiştir (2).

Mast hücre araştırmalarının ikinci safhası esas olarak bunların kimyasal bileşimleri üzerinde yoğunlaşmıştır; Archer'in bildirdiğine göre (2), 1936'da Jorbes, 1937'de Holmgren ve Wilander mast hücrelerinin heparin içerdiğini, kan pıhtılaşmasının heparin ile engellendiği ve heparinin vücut dokularındaki dağılımı ile mast hücrelerinin dağılımının birbirine paralel olduğunu göstermişlerdir.

1953'de mast hücreleri ile doku histamini arasında kuvvetli bir bağlantı bulunduğu; fetal dönemde ve çok genç hayvanlarda mast hücre sayısı ile histamin seviyesinin düşük olduğu, buna karşılık ergin hayvanlarda her ikisinde yüksek olduğu rapor edilmiştir (60).

Bloom'un bildirdiğine göre (14) 1955 yılında Benditt ve arkadaşları sıçan mast hücrelerinde 5-hidroksitriptamin (5-HT) veya serotonin denen diğer bir aminin varlığını göstermişlerdir. 1957'de ise Parratt ve West serotoninin rat ve fare hücrelerinde bulunmasına karşılık insan dahil diğer bütün türlerin mast hücrelerinde önemli miktarda bulunmadığını gözlemişlerdir.

Archer (2), 1964'de Benditt ve Lagunoff'un mast hücrelerinin yapı ve fonksiyonlarını yeniden incelediklerini ve bunların sadece heparin ve histamine değil aynı zamanda 5-hidroksitriptamin (5-HT) ve anafilaksinin yavaş etki eden maddesine (Slow Reacting Substance of Anaphylaxis SRS-A) de sahip olduklarını gösterdiklerini bildirmiştir.

Archer (2) ve Bloom'un (14) raporlarına göre 1968'de Fernex mast hücrelerinin artışı ile eozinofili arasında bir ilişki olduğunu bulmuştur. 1971'de Ishizaka ve Ishizaka reagenik antikörlerin (özellikle immunglobulin E-IgE) granüllerin salgılanmasında mast hücreleri üzerinde etkileri olduğunu göstermişlerdir.

Önemi gün geçtikçe daha çok anlaşılan mast hücrelerinin yapı ve fonksiyonlarının daha iyi anlaşılabilmesi için birçok araştırma yapılmış ve araştırmalara hala devam edilmektedir.

2.2. MAST HÜCRELERİNİN ORİJİNİ

Mast hücrelerinin orijinleri hakkında birçok araştırma yapılmasına rağmen bu konu hala tartışmalıdır.

Literatürler incelendiğinde, mast hücrelerinin fibroblastlar, lenfositler, büyük mononükleer hücreler, adventisyal hücreler, lökositler ve plazma hücreleri gibi bağ dokusu elemanlarının hemen bütün tiplerinden geliştiği hakkında teoriler göze çarpmaktadır (14).

Bazı araştırmacılara göre, mast hücrelerinin kaynağı kemik iliği, timus, dalak gibi organlardaki ve lenfoid dokudaki lenfoid hücrelerdir. Bu hücreler kana ve lenfoid dolaşıma karıştıktan sonra kapiller duvarını geçerek buradan fonksiyonel ve morfolojik olarak olgunluğa eriştikleri yer olan bağ dokusu içine girerler (49).

Diğer bazı araştırmacılar ise bu hücrelerin mezenşimal kökenli, bazıları ise kemik iliği kökenli olduklarını ileri sürmektedirler (49).

Mast hücrelerinin kemik iliği prekürsörlerinden geliştiği hakkında birçok kanıt vardır (5,34).

İn vivo ve in vitro hayvan deneyleri bu probleme bir nebze ışık tutmuştur (6).

Ginsburg ve arkadaşları (32) yaptıkları in vitro çalışmalar sonunda bağ dokusu mast hücrelerinin fetal karaciğer ve kemik iliğinden, mukozal mast hücrelerinin ise lenfoid dokudan geliştiklerini ileri sürmüşlerdir.

Bazı araştırmacılar fareler üzerinde yaptıkları deneylerde bağ dokusu mast hücre prekürsörlerinin kaynağının kemik iliği olduğunu göstermişlerdir (6).

Monosit-makrofaj sıvı kültürlerinde mast hücrelerine benzer hücrelerin oluşması, mast hücrelerinin orijinlerinin mononükleer fagositler olabileceğini düşündürmüştür (55).

Combs ve arkadaşları (17) yaptıkları araştırma sonunda, mast hücrelerinin mezodermal kökenli farklılaşmamış hücrelerden geliştiklerini ve spesifik granüllerin belirmesi ile tanınabildiklerini bildirmişlerdir.

Czarnetzki ve arkadaşları (19) ise monositlerin bağ dokusu mast hücrelerinin prekürsörleri gibi olduklarını ileri sürmüşlerdir.

Crowle ve Reed (18) bağ dokusu mast hücrelerinden ve mukozal mast hücrelerinden yoksun atimik farelere çeşitli hemopoietik ve lenfoid doku enjekte etmişler ve kemik iliği ile dalak hücrelerinin hem bağ dokusu hem de mukozal mast hücre prekürsörleri için iyi birer kaynak olduklarını, timik lenfoid dokunun ise iyi bir kaynak olmadığını gözlemişlerdir.

Andrew ve Rawdon'un (1) raporlarına göre, araştırmacıların bazıları mast hücrelerinin belirli şartlar altında melanin sentezleme yeteneğine sahip olduklarını göstermişler; bir başka araştırmacı ise mast hücrelerinin APUD (Amine Precursors Uptake and Decarboxylation) hücre grubunun bir üyesi olduğunu ve bu grubun diğer üyeleri gibi nöral krest'den geliştiklerini öne sürmüştür.

Andrew ve Rawdon (1) mast hücrelerinin nöral krest'den mi yoksa mezodermden mi geliştiğini açıklığa kavuşturmak amacıyla nöral krestti çıkarılmış kuş blastoderm dokusunu civcivlerin korio-allantoik membranlarında geliştirmişler, sonuç olarak bağ dokusu mast hücrelerinin nöral krest'den çok mezodermal kökenli olduklarına karar vermişlerdir.

Mast hücrelerinin morfolojik, biyokimyasal ve fonksiyonel özellikleri buldukları çevreye göre değişmektedir. Örneğin fare peritoneal kavitesindeki prekürsörlerden elde edilen mast hücre grupları, eğer farenin derisine enjekte edilirse bağ dokusu mast hücrelerinin özelliklerini, karın içine enjekte edilirse mukozal mast hücrelerinin özelliklerini gösterirler (61).

Fibroblastlara mast hücrelerinin kültürleri yapıldığı zaman interlokin-3 bağımlı kemik iliği kökenli mukozal mast hücrelerinin interlokin-3 bağımsız bağ dokusu mast hücrelerine farklılaştığı gözlenmiştir (61).

Embriyodaki mast hücrelerinin hemapoietik dokudan ziyade gevşek bağ dokusundan geliştiği ve olgun mast hücrelerinin çoğalma yeteneklerini kaybettikleri ancak özel bir fonksiyonel yetenek kazandıkları; mast hücrelerinin mitotik çoğalmalarının, hücre sitoplazmasında belirli miktarda granülün oluşmasına kadar devam ettiği de verilen bilgiler arasındadır (17).

Bütün bu verilerden mast hücrelerinin ortak prekürsörlerden geliştiği ve gelişiminin farklı safhalarının olduğu, farklılaşmanın ise spesifik mikro ortamlardan büyük ölçüde etkilendiği sonucunun ortaya çıktığı bildirilmektedir (61).

2.3. MAST HÜCRELERİNİN MORFOLOJİSİ

Mast hücreleri (mastosit-labrosit) gevşek bağ dokusunda, bazı organların fibröz kapsülü içinde (karaciğer gibi), deride, timusta, uterusu, lenfoid dokuda, idrar kesesinde, sinoviada, mezenterde, küçük ve büyük kan damarları çevresinde, sindirim ve solunum sistemlerinin submukozal bağ dokusunda ve epitelinde bulunurlar (29,38,45,49,56).

İnsanlarda mast hücreleri organların gevşek bağ dokusunda, özellikle sinir fibrilleri, glandular kanallar ve kan damarları çevresindeki subepitelyal bölgede bulunurlar (54,49).

Mast hücreleri bağ dokusu içinde karakteristik olarak damarlar çevresinde hücre grupları halinde yer alır (29,38,45).

Bağırsakta mast hücreleri villuslarda, Lieberkühn bezlerinin çevresinde, ince barsak ve çekumda ise submukozada bulunabilirler (20).

Ayrıca sıçan timpanik membranının Shrapnell membranının (pars flaccida) da mast hücrelerinden zengin olduğu gösterilmiştir (64). Spiral kullanan kadınlardan alınan smearlarda mast hücrelerinin varlığı bildirilmiştir (39).

Nasal mukozadaki mast hücreleri de birçok araştırmacı tarafından tanımlanmıştır (6,49).

Mast hücrelerinin sayısı doğumdan itibaren genç yaşlara doğru giderek artar (20,60).

Normal insan derisinin ortalama olarak mm^3 başına 7000 (11), sindirim sisteminde 20.000 ve akciğer dokusunda gram başına 1×10^6 mast hücresi bulunduğu bildirilmiştir (3,4).

Mast hücreleri 7-20 mikrometre çapında, yuvarlak veya oval şekilli uzantısız hücrelerdir (29,38,42,45,48). Bazen yıldız ve fusiform biçimli olanlarına da rastlanmaktadır (36).

Mast hücrelerinin çekirdeği kan bazofillerinininkinin aksine oval, tek loblu, sentrik yerleşmiş ve küçüktür (38,42,45).

Mast hücrelerinin sitoplazmaları bazik boyalarla, metakromatik boyanan granüllerle doludur Mast hücreleri spesifik granülleri ile kolayca tanınırlar (15,58).

Bu granüllerin en önemli özellikleri suda erimeleridir (38,42,45). Bazen bu granüller o kadar yoğundur ki çekirdeği görmek mümkün olmamaktadır (38,45). Granüller nötral kırmızı ile kızıl-kahve, toluidin mavisi ile mor, alcian mavisi- safranin O boyasıyla da kırmızı ve mavi boyanırlar. Ayrıca (Periodic Acid Schiff - PAS) pozitif boyanırlar (29,41,45).

Ekstrasellüler mast hücre granüllerinin ruthenium kırmızısı ile vital olarak kırmızı renkte boyandığı rapor edilmiştir (43).

Mast hücreleri, musin boyası olan, floresan boya metodu ile boyandıklarında granülleri oldukça net olarak gözlenir (36). Mast hücrelerinin granül içeriği türlere göre değişmektedir (45).

Elektron mikroskopik incelemelerde mast hücrelerinin periferinde geniş ve uzun villuslar görülür. Genellikle yuvarlak şekilli olan mast hücrelerinin çekirdeklerinin bazen çentikli ve kromatin içeriğinin de dağınık olduğu gözlenir. Nadiren, hücre çekirdeği iki lobludur ve arasına da küçük bir çekirdekçik içerir (30).

Mast hücre stoplazmasında bulunan granüller yuvarlak, oval veya köşeli şekillerde ve membranla çevrili, homojen görünümlüdür. Lamella ve elektron yoğun ince granüler materyal olmak üzere iki kısım içeren olgun granüllerin çapları 0.8 mikrometreye kadar ulaşabilir. Lamella enine kesitlerde kalın, kıvrık, paralel filamanların oluşturduğu tomarlar şeklinde görülür ve yerleşimleri parmak izlerini andırır (47).

Her lamella 7-12 nanometre genişliğinde ve lamellalar arası yaklaşık 12 nanometredir. Büyük büyütmelemlerde lamellalar yaklaşık 6 nano-

metre aralıklı enine çizgilenme gösterir. Lamellaların teğet kesitleri enine çizgilenme nedeniyle parakristalin kafeslenmeler gösterir. Bazı granüllerde, lamellalar tanımlanamaz ve granüllerin içi oldukça granüllü görünür. Diğer granüller hem lamellaları hemde ince granüler materyali içerir (47).

Mast hücre granülleri ayrıca partiküllü ve kristalin materyal ihtiva eder (5).

Mast hücrelerinin stoplazmalarında granüllerden başka lipid cisimcikleri, mitokondriyonlar, granüler ve agranüler endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi bulunur (22,30,38,42).



2.4. MAST HÜCRELERİNİN ALT GRUPLARI

Mast hücreleri yerleşimleri, boyanma özellikleri, timus bağımlılıkları, ultrastrüktürleri ve degranülasyon maddelerine olan cevaplarına göre iki tiptir; bağ dokusu mast hücreleri (BDMH) ve mukozal mast hücreleri (MMH) (5,6,12,18,27,33,35).

Bağ dokusu mast hücrelerine tipik mast hücreleri de denir. Seröz kaviterlerde, intestinal submukozada (6), deride, bağ dokusu içinde, düz ve çizgili kasta bulunur (18).

Mukozal mast hücrelerine atipik mast hücreleri de denir. Bunlar gastrointestinal sistemde (5) ve nazal mukozada (6,49) görülmektedir. İnce ve kalın barsaktaki mukozal mast hücrelerinin sayıları intestinal parazit enfeksiyonu sırasında artar (18).

Mast hücrelerindeki heterojenlik formalin ve Mota'nın bazik kurşun asetat veya Carnoy solusyonu gibi diğer fiksatiflerle fiksasyonuna bağlı olarak boyanmalarındaki farklılıklara da dayanmaktadır (8, 12, 31, 33, 52).

Boyaların bağlanmaları özellikle mast hücre granüllerinin glikozaminoglikanlar ile etkileşmelerine bağlıdır ve düşük konsantrasyonlardaki alcian mavisi - safranin O ile boyanmaları gibi tekniklerin uygulanması ile mast hücrelerinin heterojen oldukları açıklığa kavuşmuştur (40).

İki hücre tipinin proteoglikan yapılarındaki farklılık bunların katyonik boya bağlamalarında formaldehitin engelleyici bir etki göstermesine sebep olur (27).

Bağ dokusu mast hücreleri formaldehit fiksasyonundan etkilenmez ve proteoglikan olarak heparin içerirler (33,37,40).

Bağ dokusu mast hücreleri nötral toluidin mavisi gibi metakromatik boyalarla kolayca boyanarak metakromazi gösterirler (4). Alcian

mavisi-safranin O ile boyandığında kırmızı rengini alır (33). Berberin boyası bağ dokusu mast hücrelerinin heparin proteoglikanının makromoleküler tipi ile kuvvetli bir floresan kompleks oluşturur (27).

Mukozal mast hücreleri laboratuvarlarda rutin olarak kullanılan formaldehit içeren birçok fiksatiften etkilenir. Böyle fiksatiflerle tesbit edilen dokularda mukozal mast hücreleri gösterilemez (27,33). Formalin ile fiksasyon normal boyanma şartlarında mukozal mast hücre granüllerine boya bağlanmasını engellemektedir (12). Histokimyasal bulgular aldehit tarafından boyanmanın engellenmesinin protein yapının diffüzyon bariyerinden kaynaklandığını göstermektedir (65). Carnoy solusyonu mukozal mast hücrelerini korumaktadır (37,48).

Mukozal mast hücreleri kondroidin sulfat denen bir non-heparin proteoglikan içermektedir (4,27,33). Az miktarda serotonin de içerirler (12).

Mukozal mast hücreleri toluidin mavisi ile zayıf boyanırlar (4). Alcian mavisi-safranin O boya metodu ile boyandığında alcian mavisi gibi bakır phthalocyanine ile mavi boyanır (27,33,48). Berberin boyası mukozal mast hücrelerinin kondroidin sulfat proteoglikanı ile floresan kompleks oluşturmaz (27).

Timus bağımsız hücreler olan bağ dokusu mast hücrelerinin atimik farede normal sayıda veya artmış olduğu, timus bağımlı hücreler olan mukozal mast hücrelerinin atimik faredeki sayısının ise oldukça az olduğu gözlenmiştir (18).

Bağ dokusu mast hücreleri genellikle oval veya uzun düzensiz bir şekle sahiptir. Sitoplazma, çekirdeği maskeleyecek kadar yoğun granüller içerir (4). Elektron mikroskopik incelemeler de bu hücrelerin 0.2-0.4 mikrometre çapında yaklaşık 1000 kadar granül içerdikleri ve homojen oldukları gözlenmiştir (6).

Daha küçük olan mukozal mast hücrelerinin ince yapıları incelendiğinde, bu hücrelerin granüllerinin sayısının bağ dokusu mast hücrelerine oranla daha az olduğu, çaplarının da daha küçük olduğu bildirilmiştir (6,12,37).

Bağ dokusu mast hücreleri sadece yüzeyel IgE'ye sahiptir. Mukozal mast hücreleri ise hem yüzeyel hem de sitoplazmik IgE içerir (33).

48/80 gibi poliaminler kullanıldığında bağ dokusu mast hücreleri bundan etkilenirler, halbuki mukozal mast hücreleri bundan etkilenmezler (33).

Bazı araştırmacılar, üçüncü bir mast hücre grubunun varlığını iddia etmektedirler. Bu hücreler intraepitelyal mast hücreleri veya globüler lökositler olarak isimlendirilmiş ve intestinal epitelde görüldüğü ileri sürülmüştür (6). Bu hücrelerin diğer mast hücreleri ile bağlantıları tam olarak açıklanamamıştır, fakat bunların kısmi degranulasyondan sonra epitel içine göç eden mukozal mast hücrelerinden gelişmiş olabilecekleri rapor edilmiştir (6,27). Bu hücreler mast hücre boyaları ile boyanan büyük globüller veya granüllere sahiptirler (6).

2.5. MAST HÜCRELERİNİN GRANÜLLERİNDE BULUNAN MADDELER

Mast hücre granüllerinde birçok madde bulunmaktadır. Bunlar salgılanma şekillerine göre üç grupta incelenir.

1- PRİMER MEDIATÖRLER: Hazır olarak bulunurlar ve fizyolojik koşullarda hızla salgılanırlar. Histamin, eosinofil kemotaktik faktör (ECF), nötrofil kemotaktik faktör (NCF), serotonin (5-hydroxytryptamin veya 5-HT), anflaksinın prostaglandin yapıcı faktörü (PGF-A), arilsulfataz A ve kiningogenaz bu tip mediatörlerdendirler (48).

2- SEKONDER VEYA YENİ OLUŞMUŞ MEDIATÖRLER: Primer mediatörlerin etkisi ile yeni oluşturulan mediatörlerdir. Bu tip mediatörler şunlardır: anflaksinın yavaş etileyen maddesi (SRS-A), lökotrien B, tromboksanlar, trombosit aktive edici faktör (PAF) ve anflaksinın prostaglandin yapıcı faktörü (PGF-A) (48).

3- GRANÜL MATRİKS MEDIATÖRLERİ: Hazır olarak bulunan ancak granül boşalmadan matriksden ayrılmayan mediatörlerdir. Heparin, kimotripsin, tripsin, anflaksinın inflamatuvar faktörü (IF-A) ve arilsulfataz B bu gruba ait mediatörlerdir (48).

2.6. MAST HÜCRE DEGRANULASYONUNUN MEKANİZMASI

Mast hücre degranülasyonundan sorumlu immunolojik mekanizma iki ağır ve iki hafif zincirli tipik bir monomerik immunoglobulin olan IgE'dir. IgE Fc kısmı ile mast hücre ve bazofil membranlarının yüksek affinite reseptörlerine bağlanır. IgE mast hücrelerine, bazofillere ve diğer hücrelere yapıştığında stabilize olur ve haftalarca fonksiyonlarını devam ettirebilir. IgE'nin F(ab)₂ parçası spesifik antijen bağlantısı için tanıtıcı bölge olarak fonksiyon yapar. İki IgE molekülü, spesifik bir antijenle, mast hücresi yüzeyinde köprülenirse degranülasyon meydana gelir (48).

Mast hücreleri ve bazofiller üzerindeki IgE yüksek-affinite reseptörü, alfa, beta ve gama denilen üç alt ünitelerden oluşan bir glikoproteindir. Reseptör, alfa kısmının hücre dışına doğru uzandığı plazma membranını çaprazlar. Beta ve gamma alt üniteleri ise intramembranözdür. Bu reseptör (yüksek-affinite reseptörü) hareketli, tek valanslı ve kümeler oluşturmamıştır ve biraraya gelme kapasitesi degranülasyonu başlatır. Reseptörler mast hücre yüzeyindeki IgE antikörlerini yaklaşık 6 hafta yoğunlaştırmaya yarar (48).

Degranüle hücrelerdeki ilk tanımlanabilir ultrastrüktürel değişiklikler granüllerin şişmesi ve granül matriksinin elektron yoğunluğunun azalmasıdır (23). Bu arada granül membranlarında birleşmeler görülür. Değişmiş granül matriksini içeren degranülasyon kanalları oluşur ve sonunda hücre membranındaki porlara açılır. Değişmiş matriks materyali bu kanallardan dışarı atılır (22).

Degranülasyondan yaklaşık 3 gün sonra mast hücre mitozları gözlenmiştir. Bu sırada yapılan elektron mikroskopik incelemelerde, mast hücreleri farklı morfolojik özellikler gösterir. Çekirdekleri büyümüştür ve daha açık, dağınık kromatin düzenlenmesi gösterir. Golgi bölgeleri, mitokondriyonlar ve diğer sitoplazmik organelleri kontrol mast hücrelerine nazaran büyümüş ve sayıca artmış olarak gözlenir (21).

Mast hücrelerinde degranulasyonu stimüle ve inhibe eden birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlar bulunmaktadır.

Degranülasyona sebep olan kimyasal maddelerden bazıları şunlardır: morfin, polymyxin B, stilbamidin (25), 48/80 maddesi (21,60) kas gevşeticiler, opioidler, katyonik proteinler, kalsiyum, anaflatoksinler, nörohormonlar (21), enzimler ve lektinlerdir (44,63).

Sıcak, soğuk, güneş ışığı ve basınç gibi fiziksel stimulanlar da degranülasyona yol açmaktadır (21).

Quercetin, acacetin, chrysin, apigenin ve phloretin mast hücrelerinden salgılanan histamini inhibe edici özelliğe sahip maddelerdir (54).

Tetrazol ve doxantrazol hem mukozal hemde peritonal mast hücrelerinde degranulasyonu inhibe edici etkiye sahiptir (54).

Ayrıca kromolin sodyum'un da mast hücrelerini stabilize etme özelliğinde olduğu bildirilmiştir (10,66).

2.7. MAST HÜCRELERİNİN FARKLILAŞMASI

Morfolojik özelliklerinin kombinasyonu ve alcian mavisi-safranin O yöntemi ile boyanma özellikleri mast hücrelerinin gelişiminin dört farklı evreye ayrılmasına imkan sağlamıştır (16,17).

Evre I: Bu evredeki mast hücreleri toluidin mavisi ile boyandığında orthokromatik mavi ile metakromatik kırmızı-mor arası bir renk gösteren ve alcian mavisi - safranin O ile mavi boyanan sitoplazmik granüllerinin varlığı ile diğer mezenşimal hücrelerden ayrılan yuvarlak embriyonik lenfosit benzeri hücrelerdir (16,17).

Evre II: Çoğu alcian mavisi ile az bir kısımda safranin ile boyanan granüllerin bulunduğu az ve oldukça bazofil bir sitoplazmaya sahip mast hücreleri gözlenir (16,17). Bazı granüller toluidin mavisi ile belirgin bir metakromazi gösterir (17).

Evre III: Bu evredeki mast hücreleri granüllerle doludur. Granüllerin büyük bir kısmı safranin pozitifdir, az miktarda alcian mavisi pozitif granüller de mevcuttur (16). Toluidin mavisi ile metakromatik boyanan granüller de görülmüştür (17).

Evre IV: Tamamen olgunlaşmış evredir. Hücreler büyüktür ve oldukça küçük olan çekirdekleri toluidin mavisi ile metakromatik boyanan yoğun granüller tarafından örtülmüştür. Alcian mavisi-safranin O reaksiyonu ile bütün granüller metakromatik tuğla kırmızısı renkte boyanmışlardır (17).

3. MATERYAL VE METOT

MATERYAL

Bu çalışmada aynı bakım ve beslenme koşullarında yetiştirilen otuz adet albino erkek ve dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney hayvanları Laboratuvarından temin edildi.

Sıçanlar, her grupta on adet olmak üzere, üç gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak kullanıldı. İkinci gruba morfin sülfat, üçüncü gruba ise kromolin sodyum verildi.

Birinci gruptaki sıçanlar hiçbir madde verilmeden eterle bayıldıktan sonra regio respiratoria nasi'den frontal kesiler alınarak tesbit için Carnoy fiksatifinde oda sıcaklığında üç gün bekletildi.

İkinci gruba, perkutan yoldan 200 mg/kg morfin sülfat verilerek histamin salgılanmasının kanıtı olan sıçanın kuyruğunda dikleşme gözlenene kadar (24) beklendi ve sıçanların burunları kesilerek tesbit için Carnoy fiksatifinde oda sıcaklığında üç gün bırakıldı.

Üçüncü gruptaki sıçanların burunları içine kromolin sodyum bir enjektör yardımı ile pürkürtüldükten sonra etkisini göstermesi için 15 dakika beklendi (53). Burunlar kesilerek Carnoy fiksatifinde oda sıcaklığında üç gün bekletildi.

Alkol takibi yapılan dokulardan parafin bloklar hazırlanarak bir gece buzdolabında bekletildi. Ertesi gün, bloklardan rotatif mikrotom yardımı ile beş mikrometre kalınlığında kesitler alınarak deparafinize edildi ve boyamaya hazır hale getirildi.

METOT

Boyamaya hazır hale getirilen preparatlar toluidin mavisi ve alcian mavisi-safranin O boya metotları kullanılarak boyandı.

Toluidin mavisi boya metodu:

1. Deparafinize kesitler iki kez ksilenden geçirilir.
2. Absolu ve % 95'lik alkollerden geçirilir.
3. Distile su ile iyice yıkanır.
4. % 0.1'lik toluidin mavisi solusyonunda 1-2 dakika boyanır
5. Distile su ile fazla boya alınır.
6. % 95'lik alkollerden ve absolu alkolden geçirilerek diferansiye edilir.
7. İki kez ksilenden geçirilerek parlatılır.
8. Entellan damlatılarak lamel ile kapatılır.

Alcian mavisi-safranin O boya metodu

1. Deparofinize kesitler 5 dakika distile suda bekletilir
2. Alcian mavisi-safranin O solusyonunda 15 dakika bekletilir.

Alcian mavisi..... 900 mg

Safranin O 45 mg

Ferrik amonium sulfat..... 1.2 mg

Asetat buffer (pH= 1.42)..... 250 cc

3. Çeşme suyunda çalkayarak yıkanır.
4. Absolü alkol ile dehidratasyonu sağlanır.

5. İki kez ksilenden geçirilerek parlatılır.

6. Entellan damlatılarak lamel ile kapatılır.

Doku kesitleri Olympus BH-2 ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.



4. BULGULAR

Otuz adet sıçanın nasal mukozası ve nasal bağ dokusu mast hücreleri ışık mikroskopuyla incelendi.

Kontrol grubundaki sıçanların burunlarından alınan kesitler toluidin mavisi ve alcian mavisi-safranin O boya metotları ile boyandığında, bol miktarda mast hücrelerinin bulunduğu görüldü (Resim 1,2).

Nasal mukozadaki mast hücrelerinin alcian mavisi-safranin O boya metodu ile açık pembe zemin üzerinde mavi boyalı granüller içerdiği (Resim 3), toluidin mavisi ile boyandığında ise mast hücrelerinin metakromazi göstererek koyu menekşe-mor boyandığı görüldü (Resim 4).

Nasal bağ dokusundaki mast hücreleri incelendiğinde ise, alcian mavisi-safranin O boya metodu ile boyanan kesitlerdeki mast hücrelerinin granüllerinin kırmızı ve mavi boyandığı, bazı mast hücrelerinde ise hem kırmızı hem de mavi boyanan granüller bulunduğu gözlemlendi (Resim 5,6,7). Toluidin mavisi ile mast hücre granülleri koyu menekşe-mor renkte boyandı (Resim 8).

Kontrol grubunda hem granüle hem de degranüle mast hücrelerinin bulunduğu, ancak degranüle mast hücrelerinin sayısının granüle mast hücrelerine oranla, daha az olduğu görüldü (Resim 9,10).

Morfin sulfat verilen gruptaki sıçanların burunlarından alınan kesitler incelendiğinde mast hücrelerinin hepsinin tamamen degranüle olduğu gözlemlendi. Ancak mast hücre granüllerini tek tek görmek mümkün olmadı. Alcian mavisi-safranin boyası ile boyanan kesitlerde mast hücrelerinin turkuvaz renkte boyandığı (Resim 11), toluidin mavisi ile de degranüle mast hücrelerinin damarlar çevresinde mor boyandığı tesbit edildi. (Resim 12).

Kromolin sodyum verilen üçüncü gruptaki sıçanların burunlarından alınan kesitler incelendiğinde, mast hücrelerinin boyanma özelliklerinin kontrol grubundakiler ile aynı olduğu görüldü (Resim 14,15,16).

Birinci (kontrol) ve üçüncü (kromalin sodyum) gruplarda gözlenen mukozal mast hücrelerinin bağ dokusu mast hücrelerine nazaran daha küçük, granüllerinin daha az olduğu ve alcian mavisi-safranin O boya metodu ile boyandığında sadece mavi boyandığı gözlemlendi. Çekirdek çoğu zaman granüller tarafından gizlenmekteydi ancak granüllerin az olduğu hücrelerde çekirdeğin açık pembe renkte boyandığı görüldü (Resim 17).

Bağ dokusu mast hücrelerinin (Resim 5,6,18) mukozal mast hücrelerinden (Resim 17) daha büyük olduğu, daha fazla granül içerdiği ve alcian mavisi-safranin O boya metodu ile kırmızı ve kırmızımtrak-mavi boyandığı gözlemlendi.

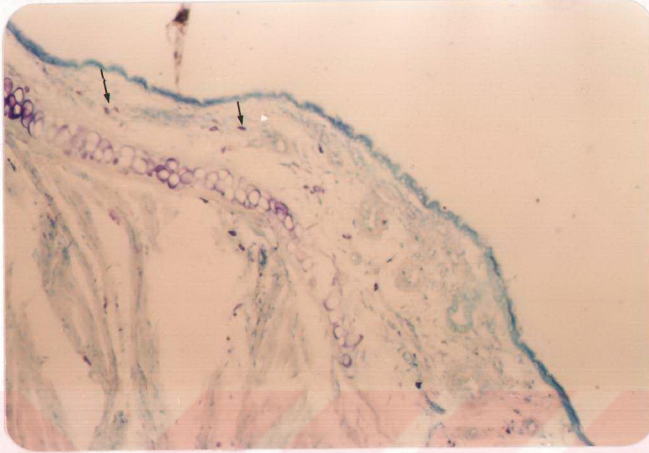
Toluidin mavisinin hem mukozal hem de bağ dokusu mast hücrelerini koyu menekşe-mor renkte boyadığı, çekirdekleri ise açık mavi renkte boyadığı görüldü (Resim 19,20).

Mast hücrelerinin şekillerinin mukozada ve bağ dokusunda oval, yuvarlak ve iğ şekilli olduğu, çekirdeklerinin merkezi yerleştiği tesbit edildi (Resim 20,21,22).

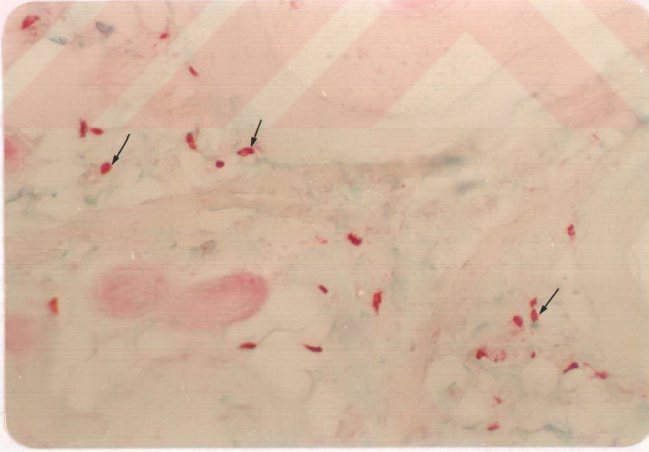
İncelenen bütün kesitlerde (morfin sulfatlı hariç) mukozal mast hücre sayısının bağ dokusu mast hücre sayısından daha az olduğu gözlemlendi. Toluidin mavisi boya metodunun mukozal mast hücrelerini göstermede daha etkili olduğu, bağ dokusu mast hücrelerinin boyanmasında ise her iki boya yönteminin de iyi sonuç verdiği gözlemlendi.

Mast hücrelerinin genelde kas dokusu, bezler ve damarlar çevresinde bulunduğu tesbit edildi. (Resim 23,24,25,26,27,28).

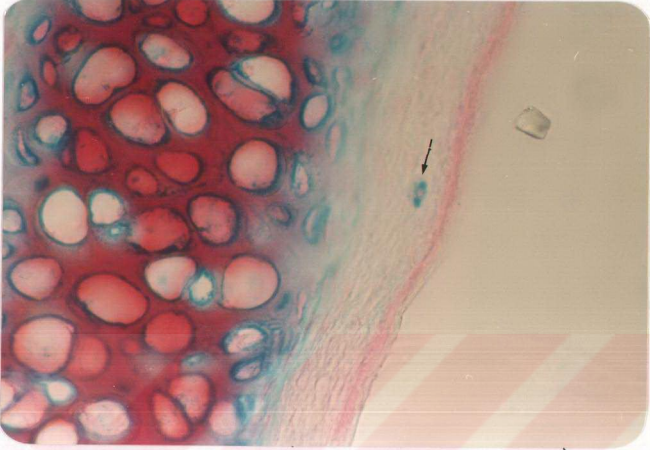
4.1. RESİMLER



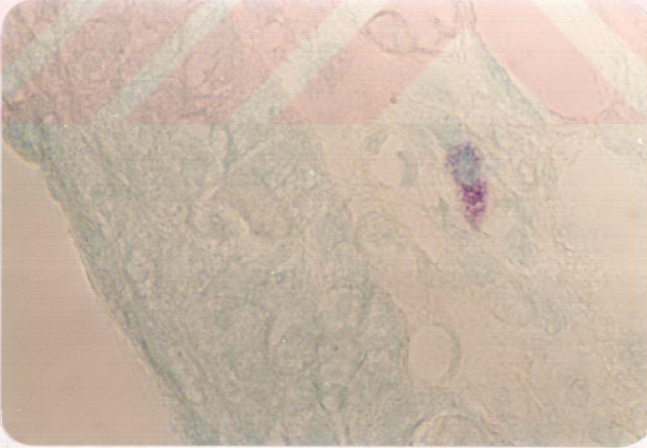
RESİM 1: Kontrol grubunda mukozal mast hücrelerinin genel görünümü.
Toluidin mavisi, Mikroskopik büyüme (MB) : x 100.



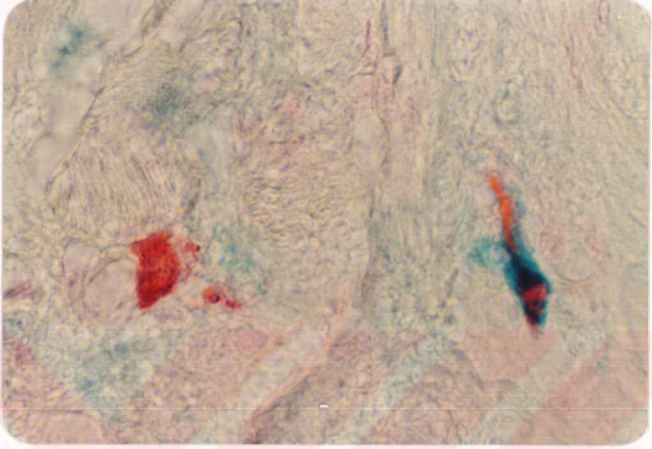
RESİM 2: Kontrol grubunda bağ dokusu mast hücrelerinin genel görünümü.
Alcian mavisi - safranin O, MB: x 200.



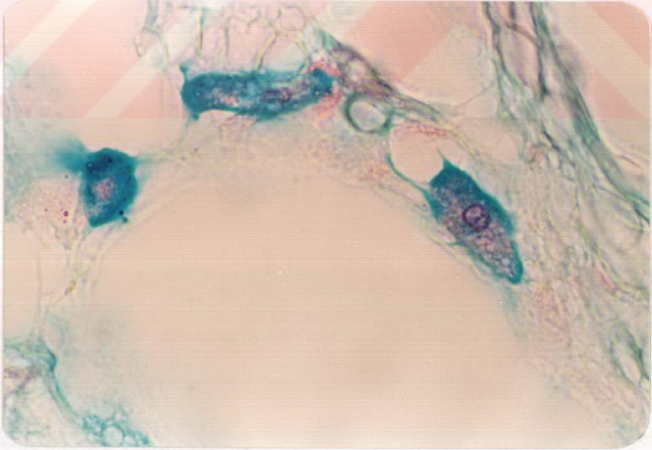
RESİM 3: Kontrol grubunda mukozal mast hücresi - Alcian mavisi - saf-
ranin 0, MB: x 400.



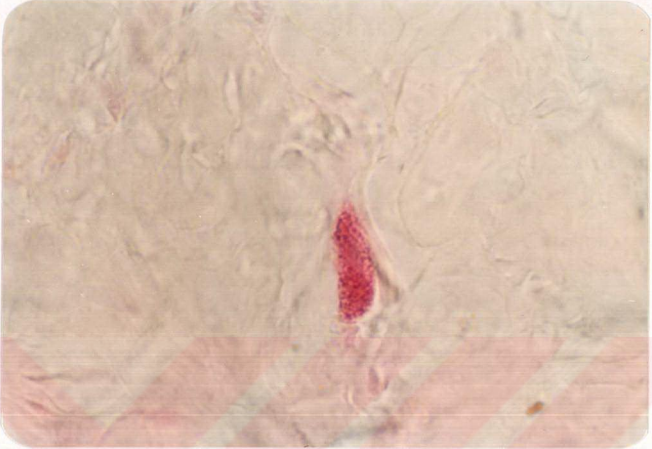
RESİM 4: Kontrol grubunda mukozal mast hücresi. Toluidin mavisi, MB:
x 1000.



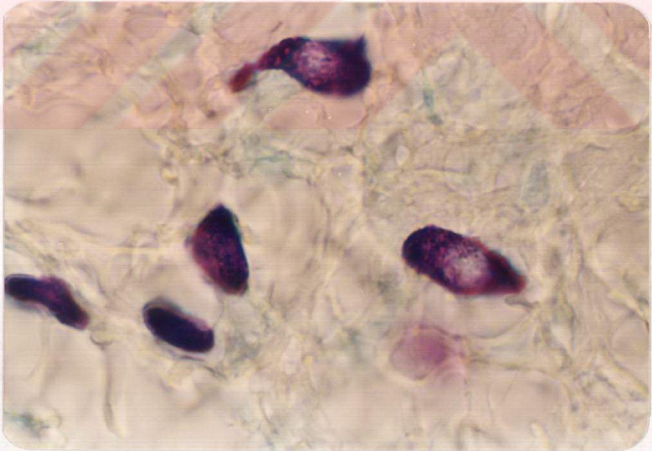
RESİM 5: Kontrol grubunda alcian mavisi - safranin 0 boyası ile hem kırmızı hem de kırmızımtrak - mavi boyanan bir bağ dokusu mast hücreleri. MB: x 1000.



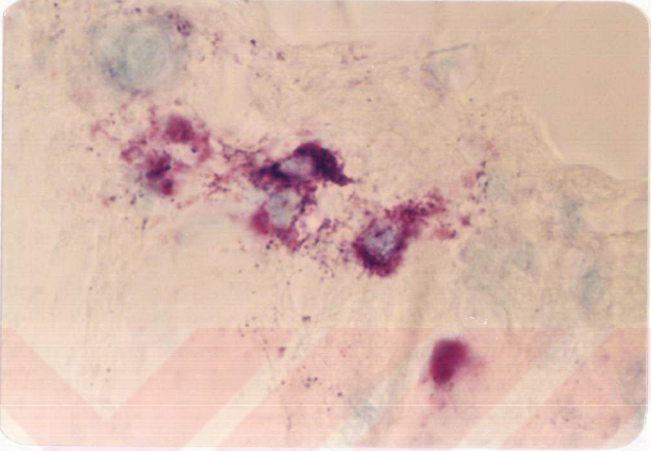
RESİM 6: Kontrol grubunda kırmızımtrak-mavi boyanan bağ dokusu mast hücreleri. Alcian mavisi - safranin 0. MB: 1000.



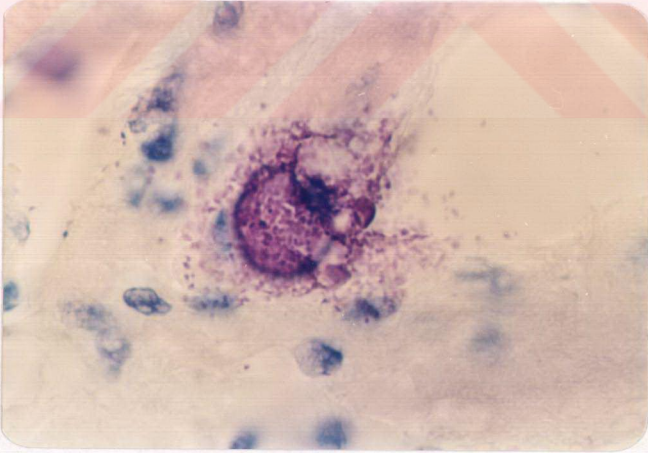
RESİM 7: Kontrol grubunda kırmızı boyanmış bağ dokusu mast hücresi.
Alcian mavisi - safranin 0, MB: x 1000.



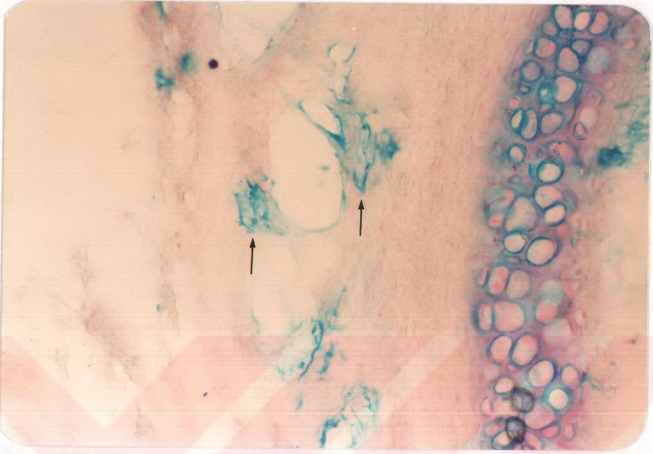
RESİM 8: Kontrol grubunda toluidin mavisi ile koyu menekşe - mor boyanan bağ dokusu mast hücreleri. MB: x 1000.



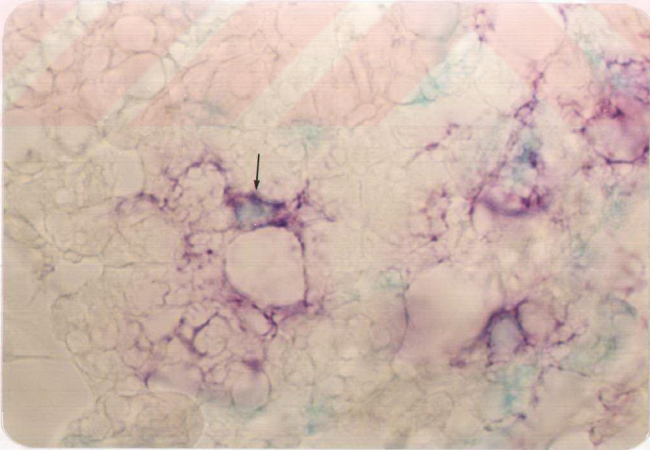
RESİM 9: Kontrol grubunda granüle ve degranüle mast hücreleri. Toluidin mavisi, MB: x 1000.



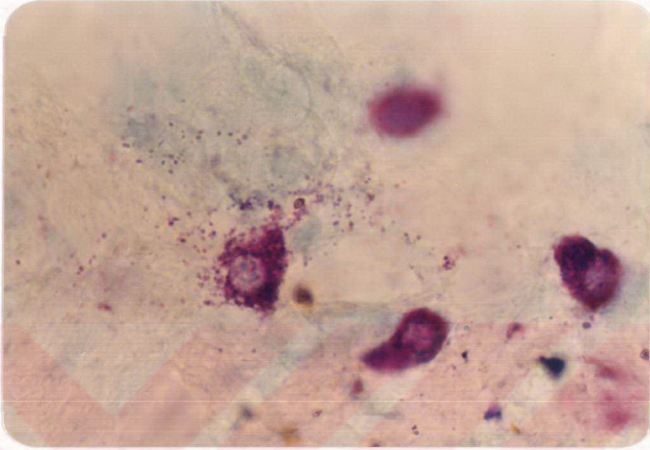
RESİM 10: Kontrol grubunda degranüle mast hücresi. Toluidin mavisi, MB: x 1000.



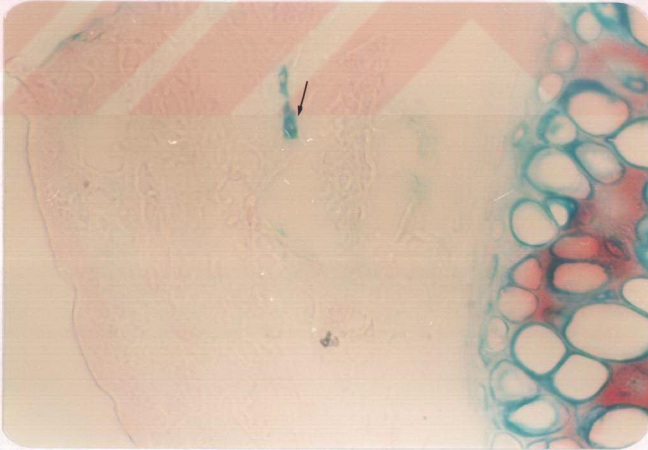
RESİM 11: Morfin sulfatlı gruptan alınan kesit. Alcian mavisi - safranin 0, MB: x 200.



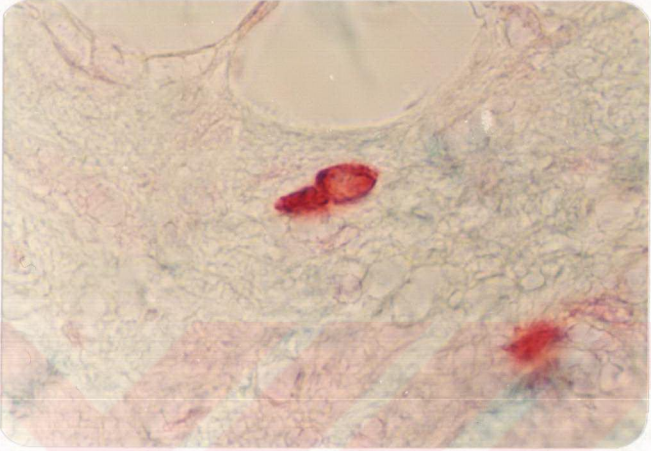
RESİM 12: Morfin sulfatlı grupta damarlar çevresinde görülen degranüle mast hücreleri. Toluidin mavisi. MB: x 400.



RESİM 13: Kromolin sodyum verilen grupta granüle ve degranüle bağ dokusu mast hücreleri Toluidin mavisi, MB: x 1000.



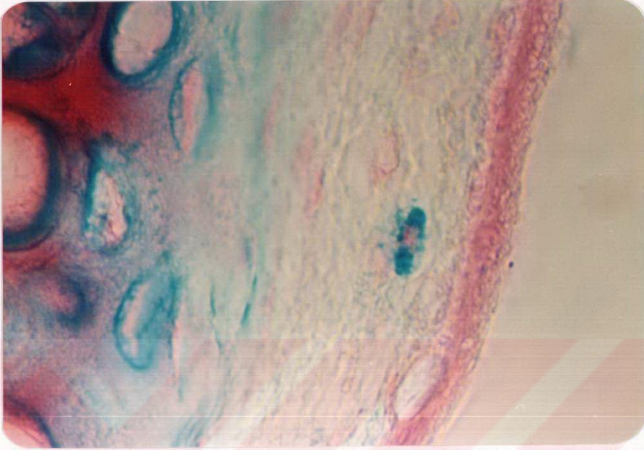
RESİM 14: Kromolin sodyum verilen gruptaki mukozal mast hücresi.
Alcian mavisi - safranin O, MB: x 400.



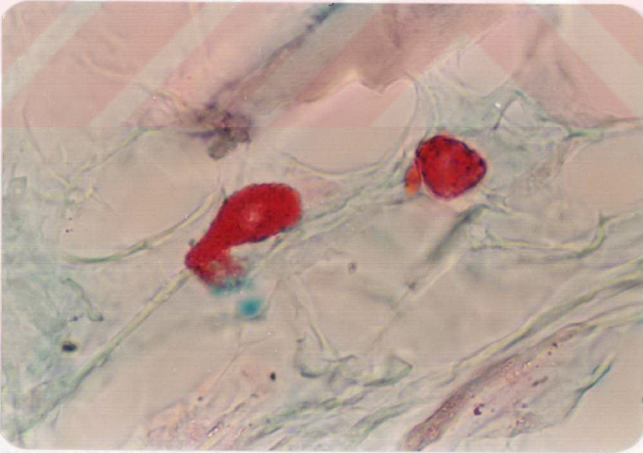
RESİM 15: Kromolin sodyum verilen gruptaki bağ dokusu mast hücreleri.
Alcian mavisi-safranin O, MB: x 1000.



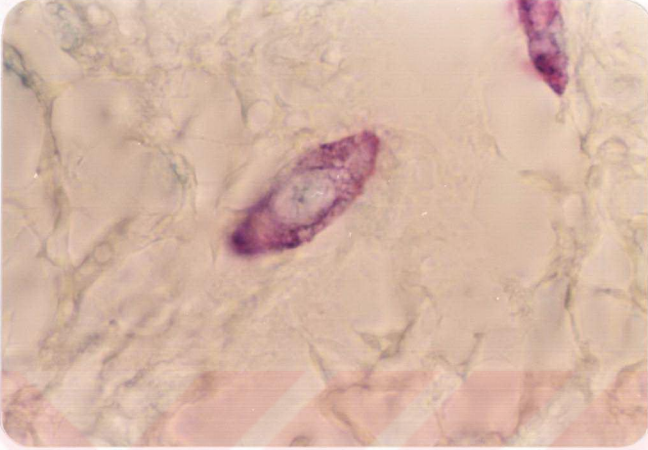
RESİM 16: Kromolin sodyum verilen gruptaki mukozal mast hücresi. To-
luidin mavisi, MB: x 1000.



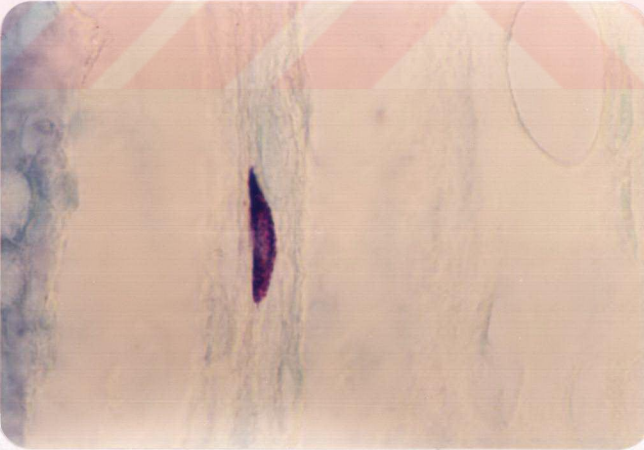
RESİM 17: Alcian mavisi - safranin O ile granülleri mavi boyanmış mukozal mast hücresi, MB: x 1000.



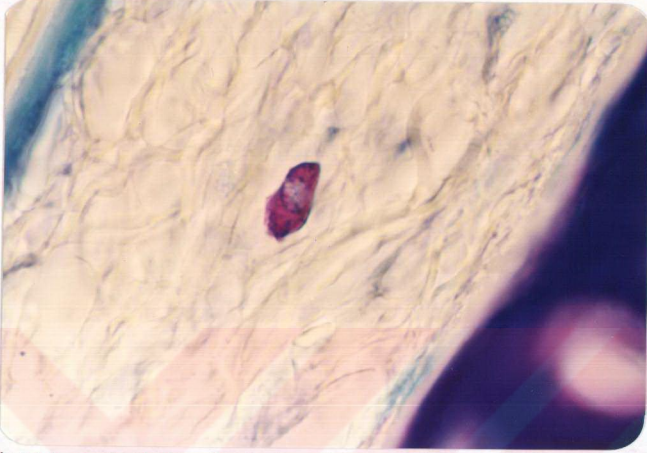
RESİM 18: Bağ dokusu mast hücresi. Alcian mavisi - safranin O, MB: x 1000.



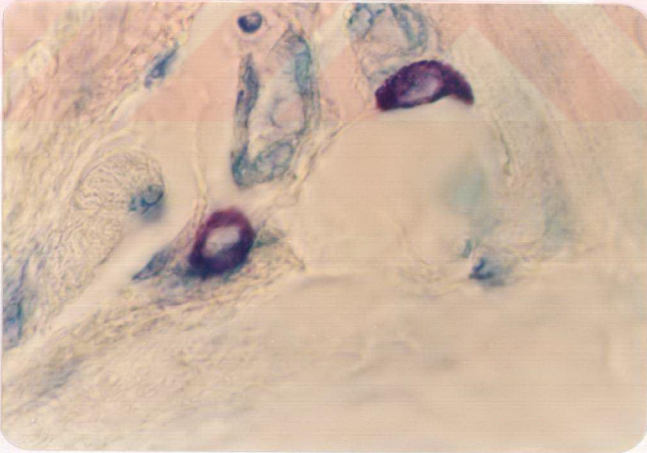
RESİM 19: Toluidin mavisi ile koyu menekşe - mor renkte boyanan, çekirdeği merkezi yerleşmiş ve açık mavi boyalı bağ dokusu mast hücresi. MB: x 1000.



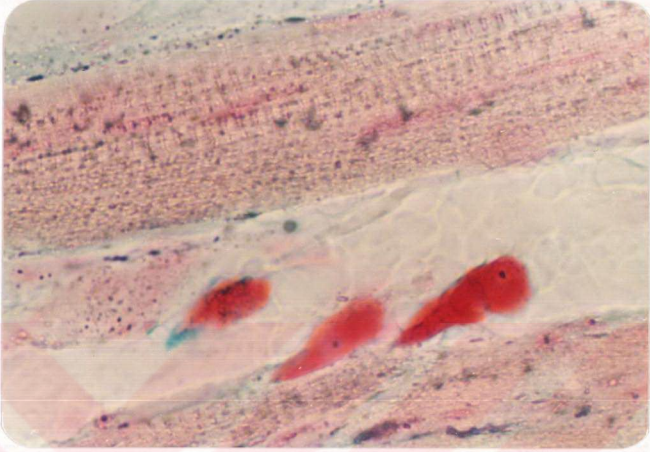
RESİM 20: İğ şekilli mukozal mast hücresi. Toluidin mavisi, MB: x 1000.



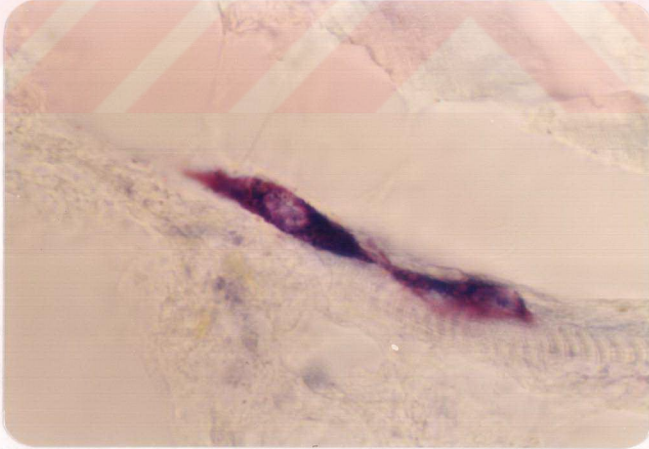
RESİM 21: Oval şekilli, çekirdeği merkezi yerleşmiş mavi boyalı mukozal mast hücresi. Toluidin mavisi, MB: x 1000.



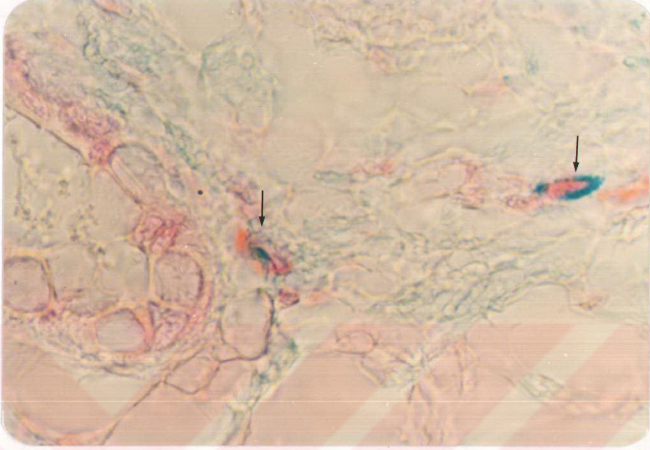
RESİM 22: Yuvarlak şekilli bağ dokusu mast hücresi. Toluidin mavisi, MB: x 1000.



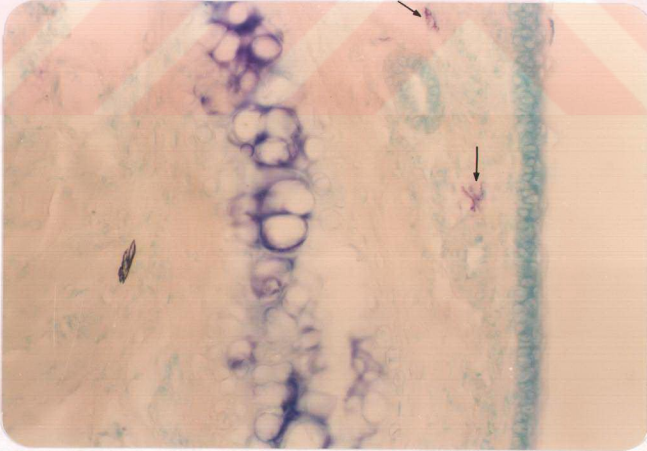
RESİM 23: Kas dokusu arasında yerleşmiş bağ dokusu mast hücreleri.
Alcian-mavisi safranin 0, MB: x 1000.



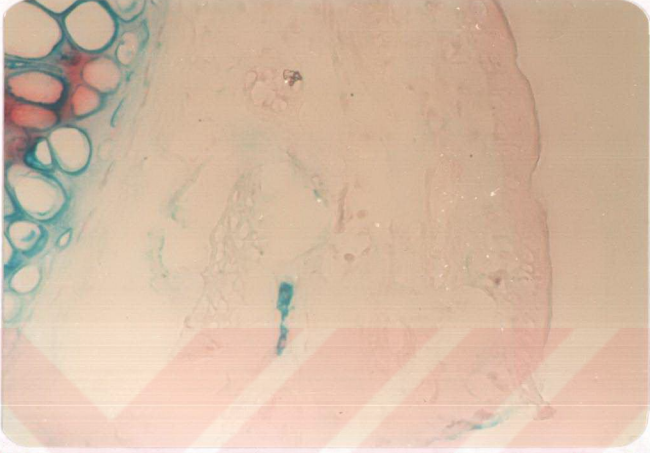
RESİM 24: Kas dokusu yanında yerleşmiş bağ dokusu mast hücreleri. To-
luidin mavisi, MB: x 1000.



RESİM 25: Mukozal bez çevresinde yerleşmiş mukozal mast hücreleri.
Alcian mavisi - safranin O, BM: x 1000.



RESİM 26: Damar ve bez çevresinde yerleşik mukozal mast hücreleri.
Toluidin mavisi, MB: x 200.



RESİM 27: Damarlar çevresinde yerleşmiş mukozal mast hücreleri. Alcian mavisi - safranin 0, MB: x 400.



RESİM 28: Damarlar çevresinde yerleşmiş bağ dokusu mast hücreleri. Alcian mavisi - safranin 0, MB: x 1000.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, sıçanların nasal mukoza ve bağ dakusundaki mast hücreleri iki ayrı boya metodu kullanılarak, stimule ve inhibe edici maddeler verilerek incelenmiştir. Elde edilen bulgular daha önce mast hücreleri ile çalışmış olan diğer araştırmacıların bulguları ile karşılaştırılmıştır.

Literatürler incelendiğinde mast hücrelerinin birçok organda bulunduğu gibi solunum sisteminde de yer aldığı gözlenmiştir (29, 38, 45, 49,56).

Otsuka ve arkadaşlarının (52) bildirdiğine göre, mast hücreleri nasal sekresyonda, nasal mukozada, tükürükte, ve bronşial lavajda görülmektedir.

Miecznik (49) nasal sekresyonlardan hazırlandığı yayma preparatlarda mast hücrelerinin varlığını göstermiştir.

Enerbäck ve arkadaşları (28) yaptıkları çalışma sonunda, mast hücrelerinin allerjik reaksiyon sonucu nasal bağ dokusu stromasından epitel içine göç ettiklerini tesbit etmişlerdir.

Okuda ve arkadaşları (51) ise nasal kazıntılardan hazırlandıkları preparatları incelendiklerinde, sıçan bağırsağındaki mukozal mast hücrelerine benzer özellikler gösteren mast hücrelerinin bulunduğunu gözlemişlerdir.

Trotter ve arkadaşları (62) nasal mukozadaki mast hücre dağılımının uniform olmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada sıçanların nasal mukozası ve bağ dokusu içindeki mast hücrelerinin varlığı gözlemlendi. Nasal mukozada görülen ve mukozal mast hücreleri olarak nitelendirilen mast hücrelerinin sayısının bağ dokusu içinde görülen ve bağ dokusu mast hücresi olarak nitelendirilen mast hücre sayısından daha az olduğu tesbit edildi.

Birçok araştırmacı mast hücrelerinin fiksasyonunda kullanılan fiksatiflerin, mast hücrelerinin alt gruplarının tanımlanmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir (8,31,33,52).

Trotter ve arkadaşları (62) fiksasyonun nasal mast hücrelerine etkilerini göstermek amacıyla yaptıkları çalışmada, paraformaldehit ile fikse edilen dokuların formalin ile fikse edilenlerden daha fazla mast hücresi içerdiğini gözlemişlerdir.

Strobel ve arkadaşları (59) ise yaptıkları çalışma sonunda Carnoy veya bazik kurşun asetat fiksatifleri ile fikse edilen dokularda % 10'luk formalin içeren fiksatiflerle fikse edilenlerden daha fazla mukozal mast hücresi gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Befus ve arkadaşları (8) da formalin, Carnoy veya bazik kurşun asetat kullanarak fikse ettikleri dokularda, Carnoy ve bazik kurşun asetat fiksatiflerinin dokuları ve mast hücrelerini morfolojik açıdan daha iyi koruduklarını gözlemişlerdir.

Yukarıda adı geçen araştırmacıların yanı sıra Otsuka ve arkadaşları (52), Gomez ve arkadaşları (33) ve Garrett ve arkadaşları (31) yaptıkları araştırmalarda diğer araştırmacılarla aynı sonucu elde etmişlerdir.

Wingren ve Enerbäck (65) yaptıkları araştırma sonucunda formalinin bağ dokusu mast hücrelerinin görülmesini engellemediğini, ancak mukozal mast hücrelerinin görülmesini engellediğini bildirmişlerdir.

Formalin ile fiksasyonun mukozal mast hücre granüllerine boya bağlanmasını engellendiği bildirilmiştir (12). Wingren ve Enerbäck (65) aldehitin boya bağlanmasını engellemesinin protein yapının diffüzyon bariyerinden kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

Bütün bu araştırmacıların bulgularına dayanarak, bu çalışmada hem mukozal hem de bağ dokusu mast hücrelerini gözlemek amacıyla, fiksatif olarak Carnoy solusyonunun kullanılmasına karar verildi.

Mast hücrelerini boyamak için çeşitli boya metotları kullanılmakla beraber bunların arasında en çok kullanılanları toluidin mavisi ve alcian mavisi - safranin O metotlarıdır.

Şeftalioğlu (60) astra mavisi-safranin O boya metodunu kullanarak hazırladığı preparatlarda bazı mast hücrelerinin mavi, bazılarının kırmızı, bazılarının ise kırmızımtrak-mavi boyandığını gözlemiş, bu renk farkının sebebini araştırmak amacıyla tüp deneyi yapmıştır. Bu deneyde, tüplerden birincisine heparin, ikincisine histamin ve sonuncu tüpe ise heparin-histamin karışımı koyarak bu tüplere astra mavisi-safranin O boyası ilave etmiş ve birinci tüpün kırmızı, ikinci tüpün mavi, sonuncusunun ise kırmızımtrak-mavi bir renk aldığını gözlemiştir. Tüp deneyinin sonucunda, preparatlarda gözlenen mavi boyanan mast hücrelerinin histamin, kırmızı boyananların heparin, kırmızımtrak-mavi boyananların ise histamin ve heparini birlikte içerdikleri kanısına varmıştır.

Mukozal mast hücrelerinin alcian mavisi-safranin O ile mavi renkte boyandığı gözlenmiştir (27). Mukozal mast hücrelerini en iyi alcian mavisinin boyadığı bildirilmiştir (46,48).

Gomez ve arkadaşları (33) yaptıkları araştırmada insan nasal mukozal mast hücrelerinin alcian mavisi-safranin O boya metodu ile boyandığında granüllerin mavi, zeminin ise uçuk pembe boyandığını; granüllerin hiçbirinin kırmızı safranin O boyasını almadığını gözlemişlerdir.

Strobel ve arkadaşları (59) toluidin mavisinin mast hücre granüllerini koyu menekşe renkte boyadığını bildirmişlerdir.

Mast hücrelerini en iyi şekilde boyayan toluidin mavisi ve alcian mavisi-safranin O boya solusyonlarının kullanıldığı bu çalışmada toluidin mavisi ile mast hücrelerinin granüllerinin metakromazi göstererek koyu menekşe-mor, çekirdeklerinin ise açık mavi boyandığı gözlendi. Alcian mavisi - safranin O boyasının mukozal mast hücrelerinin granüllerini mavi, çekirdeklerini ise pembe boyadığı görüldü. Bu şekilde boyanmasının

Şeftalioğlu'nun bildirdiği gibi histamin içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Enerbäck (26) sıçanlarla yaptığı bir çalışmada, gastrointestinal sistem mukozasındaki mast hücrelerinin genelde daha küçük, değişik şekillerde, granüllerinin daha az ve çekirdeklerinin oval veya yuvarlak olduğunu gözlemiştir.

Barrett ve Metcalfe'nin (6) bildirdiklerine göre de, mukozal mast hücreleri bağ dokusu mast hücrelerinden daha küçük olup daha az sayıda ve daha küçük granüller içermektedirler. Aynı çalışmacılara göre bağ dokusu mast hücreleri mukozal mast hücrelerinden daha büyüktür.

Bu araştırmanın bulguları da yukarıda adı geçen araştırmacıların bulgularını destekler niteliktedir. İncelenen preparatlarda mukozal mast hücrelerinin çaplarının daha küçük ve granüllerinin daha az olduğu gözlemlendi. Çekirdeklerinin oval veya yuvarlak olduğu ve merkezi yerleştiği, görüldü. Ayrıca nasal mukozadaki mast hücre sayısının bağ dokusundakinden daha az olduğu da tesbit edildi.

Enerbäck'ın (27) bildirdiğine göre, alcian mavisi-safranin O boyası ile boyanan kesitlerde bağ dokusu mast hücreleri kırmızı renkte görülmektedir.

Le Roy Ladurie ve Fournier (46) de yaptıkları çalışma sonunda, alcian mavisi-safranin O boyasının bağ dokusu mast hücrelerini boyadığını bildirmişlerdir.

Atkins ve arkadaşları (4) yaptıkları derlemede, bağ dokusu mast hücrelerinin genelde oval veya düzensiz şekilli olduklarını ve çekirdeği maskeleyebilecek yoğunlukta sitoplazmik granüller içerdiklerini ve nötral toluidin mavisi ile iyi boyandıklarını rapor etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, nasal bağ dokusu mast hücrelerinin alcian mavisi-safranin O boyası ile kırmızı, bazılarının ise kırmızımtrak-mavi boyandıkları gözlemlendi. Bağ dokusu mast hücrelerinin kırmızı renkte boyanmasının, Şeftalioğlu'nun (60) bildirdiği gibi heparin içeriğinden, kırmızımtrak-mavi boyanmasının ise histamin ve heparinin birlikte bulunmasından kaynaklandığı düşünüldü. Toluidin mavisi ile boyanan kesitlerde, bağ dokusu mast hücrelerinin metakromatik boyandığı ve granüllerin yoğun olduğu hücrelerde çekirdeğin maskelendiği görüldü. Bağ dokusu mast hücrelerinin şekillerinin genelde oval ve yuvarlak olduğu gözlemlendi. Granüllerin yoğunluğunun az olduğu hücrelerde çekirdeğin oval veya yuvarlak olduğu ve sentrik yerleştiği tesbit edildi.

Bütün preparatlarda, mast hücrelerinin damarlar, bezler ve kas dokusu çevresinde yerleştikleri gözlemlendi.

Mast hücrelerinde histamin salgılanmasını stimüle eden ve dolayısıyla ile degranülasyona neden olan birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlar mevcuttur.

Shanahan ve arkadaşları (57) mast hücre kültürlerine dynorphin ve antijeni beraber ilave ettiklerinde degranülasyonun 30 saniye içinde tamamlandığını görmüşlerdir.

Polymiyxin B, morfin sulfat, stilbamidin ve d-tubocurarin'in histamin salgılanmasını stimüle ettiği Ellis ve arkadaşları (25) tarafından yapılan deneyler sonucunda kanıtlanmıştır.

Benyon ve arkadaşlarının (9) hücre kültürlerinde yaptıkları bir araştırmada morfinin mast hücrelerinden histamin salgılanmasını indüklediğini, histamin salgılanmasının morfin konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığını ve salgılanmanın 10-15 saniye içinde gerçekleştiğini gözlemişlerdir.

Ebertz ve arkadaşları (24) da morfin sulfat ile oluşturulan histamin salgılanmasının morfin konsantrasyonu ile birlikte arttığını, sıçanların 150-200 mg/kg morfin sulfatı tolere edebildiklerini bildirmişlerdir.

Dvorak ve arkadaşlarının (21) bildirdiklerine göre, degranülasyon sadece kimyasal maddelerin etkisi ile oluşmamakta, sıcak, soğuk, güneş ışığı ve basınç gibi fiziksel stimulanlar da degranülasyona sebep olmaktadır.

Degranülasyonu stimule etmek amacıyla morfin sulfatın seçildiği bu çalışmada, morfin sulfatın mast hücre degranülasyonunda oldukça etkin bir madde olduğu gözlemlendi. Morfin sulfat verilen sıçanların burunlarından alınan kesitlerin hiçbirinde granüle mast hücrelerine rastlanmadı. Bunun sebebinin, morfin sulfat verilerek oluşturulan degranülasyonun çok kısa sürede meydana gelmesinin olduğu düşünüldü. Degranülasyon anındaki mast hücre granülleri tek tek gözlenemedi. Degranüle mast hücrelerinin damarlar ve bezler çevresinde turkuvaz (alcian mavisi - saf-ranın 0 ile) ve mavi renkte (toluidin mavisi ile) boyandığı tesbit edildi. Halbuki kontrol grubundaki degranüle mast hücrelerinin granülleri tek tek görülmekteydi. Ayrıca kontrol grubunda hem granüle hem de degranüle mast hücreleri gözlemlendi. Kontrol grubundaki degranüle mast hücrelerinin stress, mekanik travma gibi fiziksel etkilerden kaynaklandığı düşünüldü. Aynı şartlarda korunan ancak morfin sulfat verilen gruptan alınan kesitlerde hiç granüle mast hücresi görülmemesi ilgi çekicidir.

Mast hücrelerinin degranülasyonunu stimule edici maddelerin yanı sıra inhibe edici maddeler de vardır.

Quarcetin, acacetin, chrysin, apigenin ve phloretin mast hücrelerinden salgılanan histamini inhibe edici özelliğe sahip maddelerdir. Tetrazol ve doxantrazolun hem mukozal hem de peritoneal mast hücrelerinde degranülasyonu inhibe edici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (54).

Disodyum kromoglikat olarak da bilinen kromolin sodyum mast hücre degranülasyonu ile birlikte görülen proflaksi durumlarında mast hücrelerini stabilize etme özelliğinde olan bir lipofilik tuzdur (10,66).

Befus ve arkadaşları (7) insan intestinal lamina propria'sından izole ettikleri mast hücrelerinden salgılanan histamine kromolin sodyumun etkisini incelemişler ve sonuçta kromolin sodyumun histamin salgılanmasının inhibisyonunda istatistiksel bir öneminin olmadığını görmüşlerdir.

Befus ve arkadaşlarının (7) bildirdiklerine göre, Selbekk kromolin sodyumun insan jejenumunda mast hücre degranülasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. Ancak Befus ve arkadaşlarına göre kromolin sodyum sadece aldehite karşı duyarız mast hücrelerini inhibe etmekte, aldehite duyarlı mast hücrelerinde ise etkili olamamaktadır.

Brenenstock ve arkadaşları (11) mukozal mast hücrelerinden salgılanan antijenle indüklenmiş histamine disodyum kromoglikatın hiçbir etkisi olmadığını, ancak bağı dokusu mast hücreleri üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Pearce ve arkadaşları (54) da sıçanın intestinal mast hücreleri ile yaptıkları bir araştırmada, kromoglikat'ın mukozal mast hücrelerinden histamin salgılanmasını inhibe ettiğini görmüşlerdir.

Okuda ve arkadaşları (50) bu konu ile ilgili olarak yaptıkları in vitro çalışma sonunda mukozal mast hücrelerinin kromolin sodyuma duyarız olduklarını, bağı dokusu mast hücrelerinin ise duyarlı olduklarını göstermişlerdir.

Bu çalışmada, birçok sistemik mastositozis ve yiyecek allerjisinde iyileştirici etkiye sahip olan, kromolin sodyumun nasal mast hücreleri üzerindeki etkisi araştırıldı. Mukozada görülen mast hücre sayısındaki azalma, kromolin sodyumun mukozal mast hücrelerindeki degranülasyonu

çok az inhibe ettiğini düşündürmektedir. Ancak kromolin sodyumun bağ dokusu mast hücrelerine olan etkisinin ise, diğer araştırmacıların belirttiği gibi, oldukça fazla olduğu görülmüştür. Kromolin sodyum verilen sıçanlarda gözlenen bağ dokusu mast hücre degranülasyonu, kontrol grubunda görülen degranülasyonla karşılaştırıldığında, yok denecek kadar az bulundu.

Sonuç olarak, sıçan burnundaki mast hücrelerinin de mukozal ve bağ dokusu mast hücreleri olmak üzere iki tip olduğu görüldü. Bu hücreleri ayırtmakta kullanılan boyalardan alcian mavisi-safranin o boyasının mukozal mast hücrelerini mavi, bağ dokusu mast hücrelerini ise kırmızı ve kırmızımtrak-mavi renkte boyadığı saptandı. Toluidin mavisi ile boyanan kesitlerde, mast hücrelerinin her iki grubunun da koyu menekşe-mor rengini aldığı görüldü. Morfin sulfatın degranülasyonu stimule ettiği; kromolin sodyumun bağ dokusu mast hücre degranülasyonunu inhibe ettiği, mukozal mast hücrelerine ise etkisinin olmadığı tesbit edildi.

6. ÖZET

Bu çalışmada, sıçanlarda nasal mast hücrelerinin morfolojisi ve morfin sulfat ve kromolin sodyumun etkisi çeşitli boya metodları kullanılarak ışık mikroskopik düzeyde araştırıldı.

Kullanılan 30 adet albino dişi ve erkek sıçan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edildi.

Sıçanlar üç gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki sıçanlar hiçbir madde verilmeden eterle bayıldı ve regio respiratoria nasi'den frontal kesiler alındı. İkinci gruba perkutan yoldan 200 mg/kg morfin sulfat, üçüncü gruba ise inhalasyon yolu ile kromolin sodyum verildi ve burunları kesildi. Kesilen burunların hepsi oda ısısında üç gün Carnoy fiksatifinde tesbit edildi. Alkol takibi yapılan dokulardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak toluidin mavisi ve alcian mavisi-safranin 0 ile boyanarak incelendi.

Sonuçlar nasal mast hücrelerinin mukozal ve bağ dokusu mast hücreleri olmak üzere iki alt grubunun olduğunu, alcian mavisi-safranin 0 boyasının mukozal mast hücrelerini mavi, bağ dokusu mast hücrelerini ise kırmızı ve kırmızımtrak-mavi renkte boyadığını; toluidin mavisinin ise bütün mast hücrelerini koyu menekşe-mor boyadığını gösterdi. Morfin sulfatın stimule edici, kromolin sodyumun ise inhibe edici maddeler olduğu tesbit edildi.

7. SUMMARY

LIGHT MICROSCOPIC INVESTIGATION OF STIMULATED AND INHIBITED NASAL MAST CELLS OF RAT USING HISTOCHEMICAL METHODS

In this light microscopic study, morphology of nasal mast cells and the effects of morphine sulfate and cromolyn sodium was investigated in rats using alcian blue-safranin O and toluidin blue staining methods.

The investigation was performed on 30 male and female albino rats which were obtained from the Experimental Animal Laboratory of the Faculty of Medicine, Selçuk University.

Rats were divided into three groups of ten rats each. First group was considered as control group. Percutaneous injection of 200 mg/kg morphine sulfat was administered to the second group and cromolyn sodium was given to the third group by inhalation. Rats were anesthetized by ether and regio respiratoria nasi of rats were frontally excised. Tissues were fixed in Carnoy solution for three days at room temperature, dehydrated with absolute alcohol and embedded in paraffin. Five micrometre sections were cut from the paraffin blocks using rotary microtome and stained with alcian blue - safranin O and toluidin blue solutions.

In conclusion, this study revealed that there are two distinct mast cell population in the rat nose: mucosal mast cells and connective tissue mast cells. Mucosal mast cells stained blue with alcian blue - safranin O solution while connective tissue mast cells stained red and reddish - blue. Both mast cell populations stained dark violet by toluidin blue solution. This study indicates that, as an inhibitory agent, cromolyn sodium is ineffective on nasal mucosal mast cells but significantly effective on connective tissue mast cells, on the other hand, morphine sulfate, as histamine - releasing agent, is found to be effective on both mast cell population.

8. LITERATÜR

1. ANDREW, A. and RAWDON, B.B. (1987) The embryonic origin of connective tissue mast cells. *J. Anat.* 150: 219-227.
2. ARCHER, R.K. (1980) The mast cell. *Journal of the Royal Society of Medicine.* 73: 318-319.
3. ATKINS, F.M. (1987) Mast cells an fibrosis. *Arch. Dermatol.* 123: 191-193.
4. ATKINS, F.M., FRIEDMAN, M.M., SUBBA RAO, P.V. and METCALFE, D.D. (1985) Interactions between mast cells, fibroblasts and connective tissue components. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 77: 96-102.
5. BARDADIN, K.A and SCHEVER, P. (1986) Mast cells in acute hepatitis. *Journal of Pathology* 149: 315-325.
6. BARRETT, K.E. and METCALFE, D.D. (1987) Heterogeneity of mast cells in the tissues of the respiratory track and other organ systems. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135: 1190-1195.
7. BEFUS, A.D., DYCK, N., GOODACRE, R. and BIENENSTOCK, J. (1987) Mast cells from the human intestinal lamina propria: isolation, histochemical subtypes, and functional characterization. *Journal of Immunology.* 138: 2604-2610.
8. BEFUS, D., GOODACRE, R., DYCK, N. and BIENENSTOCK, J. (1985) Mast cell heterogeneity in man. I. Histologic studies of the intestine. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 76: 232-236.
9. BENYON, R.C., LOWMAN, M. A. and CHURCH, M.K. (1987) Human skin mast cells: their dispersion, purification, and secretory characterization. *Journal of Immunology* 138: 861-867.

10. BERMAN, B.A. and ROSS, R.N. (1984) Mast cells: part II. *Cutis*, 33 (5): 448-452.
11. BIENENSTOCK, J., BEFUS, A.D., PEARCE, F., DENBURG, J. and GOODACRE, R. (1982) Mast cell heterogeneity: derivation and function, with emphasis on the intestine. *J. Allergy Clin. Immunol.* 70: 407-412.
12. BIENENSTOCK, S., BEFUS, D., DENBURG, J., GOTO, T., LEE, T., OTSUKA, H., and SHANAHAN, F. (1985) Comparative aspects of mast cell heterogeneity in different species and sites. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 77: 126-129.
13. BIENENSTOCK, J., TOMIOKA, M., STEAD, R., ERNST, P., JORDANA, M., GAULDIE, J., DOLOVICH, J., and DENBURG, J. (1987) Mast cell involvement in various inflammatory processes. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135: 55-58.
14. BLOOM, G.D. (1984) A short history of the mast cell. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 414: 87-92.
15. CAWLEY, E. P. and HOCH-LIGETI, C. (1961) Association of tissue mast cells and skin tumors. *Archives of Dermatology* 83: 146-150.
16. COMBS, J.W. (1966) Maturation of rat mast cells: an electron microscopic study. *Journal of Cell Biology* 31: 563-575.
17. COMBS, J.W., LAGUNOFF, D. and BENDITT, E.P. (1965) Differentiation and proliferation of embryonic mast cells of the rat. *Journal of Cell Biology* 25: 577-592.
18. CROWLE, P.K. and REED, N.D. (1984) Bone marrow origin of mucosal mast cells. *Int. Arch Allergy appl. Immun.* 73: 242-247.

19. CZARNETZKI, B.M., FIGDOR, C.G., KOLDE, G., WROM, T., AATBERSE, R. and DE VRIES, J.E. (1984) Development of human connective tissue mast cells from purified blood monocytes. *Immunology* 51: 549-554.
20. DOLLBERG, L., GUREVITZ, M. and FREIER, S. (1980) Gastrointestinal mast cells in health, and in coeliac disease and other conditions. *Archives of Disease in Childhood* 55: 702-705.
21. DVORAK, A.M., MIHM, M.C. and DVORAK, H.F. (1976) Morphology of delayed-type hypersensitivity reactions in man. *Laboratory investigation* 34: 179-191.
22. DVORAK, A.M., SCHLEIMER, R.P. and LICHTENSTEIN, L.M. (1987) Morphologic mast cell cycles. *Cellular Immunology* 105: 199-204.
23. DVORAK, A.M., GALLI, S.J., SCHULMAN, E.S., LICHTENSTEIN, L.M., and DVORAK, H.F. (1983) Basophil and mast cell degranulation: ultrastructural analysis of mechanisms of mediator release. *Federation Proc.* 42: 2510-2515.
24. EBERTZ, J.M., HERMENS, J.M., Mc MILLAN, J.C., UNO, H., HIRSHMAN, C. and HANIFIN, J.M. (1986) Functional differences between human cutaneous mast cells and basophils: a comparison of morphine - induced histamine release. *Agents and Actions* 18: 455-462.
25. ELLIS, H.V., JOHNSON, A.R. and MORAN, N.C. (1970) Selective release of histamine from rat mast cells by several drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 175: 627-631.
26. ENERBÄCK, L. (1966) Mast cells in gastrointestinal mucosa. I. Effects of fixation. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.* 66: 289-302.

27. ENERBÄCK, L. (1987) Mucosal mast cells in the rat and in man. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 62: 249-255.
28. ENERBÄCK, L., PIPKORN, U. and OLOFSSON, A. (1986) Intraepithelial migration of mucosal mast cells in hay fever: Ultrastructural observations. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 81: 289-297.
29. ERKOÇAK, A. (1983) Genel Histoloji, 4. Baskı. Okan Dağıtımçılık Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul.
30. GALLI, S.J., DVORAK, A.M., MARCUM, J.A., ISHIZAKA, T., NABEL, G., DER SIMONIAN, H., PYNE, K., GOLDIN, J.M., ROSENBERG, R.D., CANTOR, H. and DVORAK, H.F. (1982) Mast cell clones: a model for the analysis of cellular maturation. *Journal of Cell Biology* 95: 435-444.
31. GARRETT, J.R., OSMAN, I.A. and SMITH, R.E. (1987) Selection of a simple protease procedure for identifying mast cells in routinely processed human tissues, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 35: 541-547.
32. GINSBURG, H., BEN-SHAHAN, D. and BEN-DAVID, E. (1982) Mast cell growth on fibroblast monolayers: two-cell entities. *Immunology* 45: 371-380.
33. GOMEZ, E., CORRADO, O.J. and DAVIES, R.J. (1987) Histochemical and functional characteristics of the human nasal mast cell. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 83: 52-56.
34. GUY-GRAND, D., DY, M., LUFFAU, G. and VASSALI, P. (1986) Gut mucosal mast cells: origin, traffic and differentiation in mice and rats. *Ann. Inst. Pasteur/Immunol.* 137 D: 215:222.
35. IRANI, A.A., SCHECHTER, N.M., CRAIG, S.S., DE BLOIS, G. and SCHWARTZ, L.B. (1986) Two types of human mast cells that have distinct neutral protease composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 4464-4468.

36. JAGATIC, J. and WEISKOPF, R. (1966) A fluorescent method for staining mast cells. *Arch Path.* 82: 430-432.
37. JARRETT, E.E.E. and HAIG, D.M. (1984) Mucosal mast cells in vivo and in vitro. *Immunol. Today* 5:115-119.
38. KALAYCI, Ş. (1986) *Histoloji*. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.
39. KALKAN, S.S., ÇAPAR, M., SOYLU, R., CÜCE, H. ve GÜNGÖR, S. (1991) Mast hücreleri ve rahim içi araç. *S.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 7(2): 197-202.
40. KIRKPATRICK, C.J., JONES, C.J.P. and STODDART, R.W. (1988) Lectin histochemistry of the mast cell: a light microscopical study. *Histochemical Journal* 20:139-146.
41. KORETOU, O. (1988) Relationship between the staining property of mast cell granule with alcian blue - safranin O and toluidin blue O, and the content of mast cell protease I in the granule of rat peritoneal mast cell. *Acta Histochem. Cytochem.* 21:25-32.
42. KRÜGER, P.G. (1984) Morphology of normal and secreting mast cells. *Acta Otolaryngol. (Stockh)* 414:118-123.
43. LAGUNOFF, D. (1972) Vital staining of mast cells with ruthenium red. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 20:938-944.
44. LAGUNOFF, D. and MARTIN, T.W. (1983) Agent that release histamine from mast cells. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23:331-351.
45. LEESON, T.S., LEESON, C.R. and PAPARO, A.A. (1988) *Text/Atlas of Histology*. W.B. Saunders, Philadelphia.
46. LE ROY LADURIE, F. and FOURNIER, M. (1986) Tracheal globule leucocytes and subepitelial mast cells: a comparative study in the rat. *Ann. Ins. Pasteur/Immunol.* 137 D: 273-280.

47. LEVER, W.F. and SCHAUMBURG - LEVER, G. (1990) Mast cells. In: Histopathology of the skin. 7 th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
48. MELMAN, S.A. (1987) Mast cells and their mediators. Emphasis on their role in type I immediate hypersensitivity in canines. International Journal of Dermatology 26:335-344.
49. MIECZNIC, B. (1980) Mast cells in the cytology of nasal mucosa: a quantitative assessment and their diagnostic meaning. Ann. Allergy 44:106-111.
50. OKUDA, M., OHNISHI, M. and OTSUKA, H. (1985) The effects of cromolyn sodium on the nasal mast cells. Annal. Allergy 55:721-723.
51. OKUDA, M., OTSUKA, H. and KAWABORI, S. (1985) Studies of nasal surface basophilic cells. Am. Allergy 54:69-71.
52. OTSUKA, H., DENBURG, J., DOLOVICH, J., HITCH, D., LAPP, P., RAJAN, R.S., BIENENSTOCK, J. and BEFUS, A.D. (1985) Heterogeneity of metachromatic cells in human nose: significance of mucosal mast cells. J. Allergy Clin. Immunol. 76: 695-702.
53. PEARCE, F.L., AL - LAITH, M., BOSMAN, L., BROSTOFF, J., CUNNIFFE, T.M., FLINT, K.C., HUDSPITH, B.N., JAFFAR, Z.H., JOHNSON, N. McI., KASSESSINOFF, T.A., LAU, H.Y.A., LEE, P.Y., LEUNG, K.B.P., LIU, W.L. and TAINSH, K.R. (1989) Effects of sodium cromoglycate and nedocromil sodium on histamine secretion from mast cells from various locations. Drugs 37 (suppl. 1): 37-43.
54. PEARCE, F.L., BEFUS, A.D. and BIENENSTOCK, J. (1984) Mucosal mast cells. III. Effect of quercetin and other flavonoids on antigen - induced histamine secretion from rat intestinal mast cells. J. Allergy Clin. Immunol. 73:819-823.

55. RIMMER, E.F. and HORTON, M.A. (1987) Origin of human mast cells studied by dual immunofluorescence. *Clin Exp. Immunol.* 68:712-718.
56. ROSS, M.H. and REITH, E.J. (1985) *Histology: A Text and Atlas*. J.B. Lippincott Company, New York.
57. SHANAHAN, F., LEE, T.D.G., BIENENSTOCK, J. and BEFUS, A.D. (1984) The influence of endorphins on peritoneal and mucosal mast cell secretion. *J. Allergy Clin. Immunol.* 74:499-504.
58. SOYLU, R. (1984) Sıçan mezenter lenf düğümü makrofajlarının değişik koşullarda yapısal niteliklerinin transmisyon elektron mikroskopu düzeyinde incelenmesi. *S.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 1(1): 195-220.
59. STROBEL, S., MILLER, H.R.P. and FERGUSON, A. (1981) Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. *J. Clin. Path.* 34: 851-858.
60. ŞEFTALIOĞLU, A. (1966) 48/80 ile stimule olmuş sıçan inguinal lenf düğümü mast hücrelerinin histokimyasal ve morfolojik değişiklikleri. *Deniz Tıp Bülteni* 12: 1-20.
61. THARP, M.D., KAGEY - SOBOTKA, A., FOX, C.C., MARONE, G., LICHTENSTEIN, L.M. and SULLIVAN, T.J. (1987) Functional heterogeneity of human mast cells from different anatomic sites: In vitro responses to morphine sulfate. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79: 646-653.
62. TROTTER, C.M., SALTER, D.M., WILSON, J.A. and HALL, G.H. (1990) A comparison of methods for nasal mast cell demonstration. *Rhinology* 28:17-23.
63. WEST, G.B. (1983) Histamine releasers and rat mast cells. *Int. Archs Allergy appl. Immunol.* 72:284-286.

64. WIDEMAR, L., HELLSTRÖM, S., STENFORS, L.E. and BLOOM, G.D. (1986) An overlooked site of tissue mast cells - the human tympanic membrane. *Acta Otolaryngol.* 102:391-395.
65. WINGREN, U. and ENERBÄCK, L. (1983) Mucosal mast cells of the rat intestine: a re-evaluation of fixation and staining properties, with special reference to protein blocking and solubility of the granular glycosaminoglycan. *Histochemical Journal* 15:571-582.
66. WYNN, S.D. (1989) Mast cell stabilizers, anticholinergics, corticosteroids, and troleandomycin. *J. Allergy Clin. Immunol.* 84:1100-1103.



9. ÖZGEÇMİŞ

1957 yılında Malatya'da doğdum. İlk ve orta tahsilimi Malatya'da, liseyi İzmir Kız Lisesinde tamamladıktan sonra, 1976 yılında Amerika'da El Paso Texas Üniversitesinde öğrenime başladım. 1980 yılı yaz döneminde Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun olup Türkiye'ye döndüm. 1984 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak atandım ve 1985 yılında yüksek lisans eğitimine başlayarak 1988 yılında eğitimimi tamamladım. Aynı yıl doktora eğitimine başladım. Halen S.Ü. Tıp Fakültesi Morfoloji Anabilim Dalı'nda öğretim görevlisi olarak çalışmaktayım.

Aydan CANBİLEN