

278895

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BÖLÜMÜ  
Bölüm Başkanı: Prof.Dr. İlhan Kerse

SIĞAN İNGUİNAL LENF DÜĞÜMÜ MAST HÜCRELERİNİN  
ELEKTRON MİKROSKOPİK İNCELENMESİ

Vet.Hek. Aysel Şeftaliçoğlu

( Doktora Tezi )

ANKARA

1969

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ	1 - 2
MATERYAL VE METOD	2 - 4
BULGULAR	5 - 9
TARTIŞMA	9 - 16
ÖZET	16
KAYNAKLAR	17 - 20
ŞEKİL KISALTMALARI	21
TABLO	22 - 23
ŞEKİLLER	<b>24 - 33</b>

SIÇAN İNGUINAL LENF DÜĞÜMÜ MAST HÜCRELERİNİN

ELEKTRONMİKROSKOPİK İNCELENMESİ<sup>x</sup>

Vet.Hek. Aysel Şeftalioğlu<sup>xx</sup>

G i r i Ő

Mast hücrelerinin tanınmasından bu yana,<sup>1</sup> ışık mikroskopu ile yapılan pek çok çalışmalar, onun sahip olduğu morfolojik özellikleri gereği kadar aydınlatamamıştır. Bilhassa mitokondria, Golgi kompleksi, hücre ve çekirdek membranı gibi, mast hücrelerinin belli başlı organelle-ri hakkındaki gözlemler karanlık kalmıştır. Son yirmi yılda, normal mast hücrelerinin morfolojisi hakkında elde edilen oldukça geniş bilgiler, çeşitli memeli dokularının, çok ince kesitlerinin, elektron mikroskop seviyesinde incelenmeleri sonucu kazanılmıştır. Böyle çalışmalar, sıçan, fare ve hamster periton boşluğunda<sup>2,3,4</sup>, fare derisinde<sup>5</sup>, deri altı bağ dokusunda<sup>6,7</sup>, sıçan, hamster ve fare derisinde, dalakta, mesenter ve karaciğer kapsüllerinde<sup>2</sup>, sıçan timusunda<sup>8</sup>, sıçan ve insan pleura, submandibular bez, omentum ve karaciğerde<sup>9</sup>, insan tonsillasında<sup>10</sup>, ince barsak ve mide mukozasında<sup>11,12</sup> yapılmıştır.

Histokimyasal ve ultrastrüktürel olarak pek çok yönleri gösterilmiş olmasına rağmen, boyama ve elektron mikroskop tekniğinin gelişmesi, mast hücrelerine karşı olan ilgiyi halâ devam ettirmektedir.<sup>13-20</sup>

---

x Doktora tezi olarak hazırlanmıştır.

xx Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji bölümü asistanı ve MSEF doktora öğrencisi.

Bölüm Başkanı : Prof.Dr. İlhan Kerse

Burton<sup>21</sup>, sıçanların ergin ve embriyonal dokularına, astra mavisi - safranin boyama metodunu tatbik ederek, mast hücreleri gelişmelerini boyama karakterlerine göre tarif etti. Ona göre, ergin dokularda üç tip mast hücreleri bulunmaktadır. Bu hücreler mavi (astra mavisi pozitif), kırmızı (safranin pozitif) ve karışık (mikst) granüllü hücrelerdir.

Burtonun makalesinden alınan ilhamla, 48/80 (histamin salı-vericisi) ile stimule olmuş sıçanlarda inguinal lenf düğümü mast hücrelerinde aynı boyama metodu ile ne gibi histokimyasal ve morfolojik değişikliklerin olabileceği araştırıldı<sup>22</sup>. 48/80 nin mast hücrelerinde önce bir azalmaya sebep olduğu tesbit edildi. Bir süre sonra, mast hücrelerinde bir rejenerasyon gözlemlendi. Burton'u destekliyerek, mavi hücrelerin genç, kırmızı hücrelerin ergin ve mikst hücrelerin ise iki tip arasında bir geçiş halini temsil ettikleri sonucuna varıldı. Bundan sonra, sıçan inguinal lenf düğümünde, farklı boyanan üç tip mast hücrelerinin, elektronmikroskop seviyesinde incelenmesine karar verildi ve bu çalışmaya başlandı.

#### M a t e r y a l v e m e t o d

Çalışmada, ortalama 250 - 300 gr. ağırlığında, ergin, normal, erkek sıçanlar materyal olarak kullanıldılar. Sıçanların sağ ve sol inguinal lenf düğümleri, kloroformla narkoz altında iken zedelenmeden çıkarıldılar. Çıkarılan lenf düğümleri, aşağıdaki sıraya göre işlemlere tabi tutuldular.

1. PH : 7,5 olan ve 0,067 M Sorensen phosphate ile tamponlanmış bulunan % 6 glutraldehyde içine kullanılacağı

zaman 100 mgr. astra mavisi Chroma 10110 (Chromagesel - schaft Schmid ve Co) boyası ilâve edildi. Böylece, hem tesbit ve hemde boya solüsyonu elde edilmiş oldu. Özel bir kaba, bu solüsyondan bir kaç damla kondu. Dokular, burada ve disseksiyon mikroskopu altında jiletle mümkün olduğu kadan ufak parçalara ayrıldılar. Ufalanan parçalar, aynı solüsyon içinde özel tüplerinde  $0^{\circ} - 5^{\circ}C$  de, 4 - 24 saat tesbite terkâdildiler.

2. Doku parçaları, % 7,5 şeker ihtiva eden, PH : 7,4 ve 0,1 M'lık phosphate tamponunda,  $0^{\circ} - 5^{\circ}C$  de, 4-24 saat bırakıldılar.

3. % 2 osmium tetroxide ihtiva eden, PH : 7,4 ve 0,2 M s. Collidine tamponunda<sup>23</sup> 1 saat tekrar postfiksasyona terkâdildiler.

4. Dehidrasyon için parçalar oda sıcaklığında,

% 50 Etil Alkolde	15 dakika
% 60 Etil Alkolde	15 dakika
% 70 Etil Alkolde	1 saat
% 80 Etil Alkolde	15 dakika
% 90 Etil Alkolde	15 dakika
% 96 Etil Alkolde	30 dakika

ve absolü alkolde iki defa 30 dakika muamele gördüler<sup>17</sup>.

5. 1 kısım araldite 502, 1 kısım Dodecenyl Succinic Anhydride (DDSA) karışımında, 1 dakika, 25 devir yapan

"döndürücüde" parçalar bir gece döndüler (14 saat).

6. 1 kısım araldite 502, 1 kısım (DDSA), % 2 Benzyldimet-  
hylamine karışımına aktarılan parçalar, 2 saat oda sı-  
caklığında, 2 saat 40°C lik etüvde, "döndürücüde" dönmeye  
terkedildiler.
7. Zedelenmeden, 00 jelatin kapsüllere (Eli Lilly ve Co  
Indianapolis, U.S.A.), ikinci karışım ile gömülen par-  
çalar, 40°C lik etüvde 48 saat polimerizasyona tabi tu-  
tuldular.
8. 60°C lik etüv 48 saat sonra söndürüldü ve parça ihtiva  
eden kapsüller, yavaş yavaş etüv içinde 24 saat soğumaya  
bırakıldılar.
9. Gümüş rengi kesitler, Porter Blum MTI ultramikrotomu ve  
cam bıçaklarla elde edildiler. Bu kesitler, 3 mm çapta  
200 delikli flimsiz gridler (Netze gril) üzerine alın-  
dılar.
10. Uranyl acetate ve Reynolds'un<sup>24</sup> kurşun sitrat boyama  
metodu ile boyanan kesitler, Carl Zeiss EM 9 ve Carl  
Zeiss EM 9 A tipi elektron mikroskoplarla incelendi-  
ler.
11. Elektronmikrograflar, Kodalith LR film (Estar Base) ler  
ile çekildiler ve Ilford 5 ve Agfa Rapid kağıtlarına tab  
edildiler.

## B u l g u l a r

Kesitlerde mast hücrelerinin tanınması, hücrenin en gözeye çarpar özelliği olan spesifik granüllerinin rehberliği ile oldu. Şekilleri, granül yapıları ve organelleri dikkate alınarak 3 tip mast hücresi gözlemlendi.

- I. Genç mast hücreleri
- II. Mikst (ara tip) mast hücreleri
- III. Ergin mast hücreleri

I. Genç mast hücreleri : Primitif retiküler hücrelerin differansiyasyonu sonucu meydana gelen genç mast hücreleri, muhtemelen ışık mikroskop seviyesindeki astra mavisi pozitif hücrelere tekâbül etmektedirler. Genellikle oval şekildedirler. Yüzeyleri özelleşme göstermeyen bu tip hücreler, ünit bir sitoplazma membranı ile çevrilidirler. Sitoplazmalarında, çok fazla sayıda, ribozomlar, polizomlar, dar sisternalı granüllü endoplazmik retikulum, yuvarlak, oldukça fazla sayıda mitokondria, tübüller, veziküller ve vakuollerden ibaret bir Golgi kompleksi dikkati çekmektedir (Şekil 1,2,3,4,5,6).

Genç mast hücreleri olarak tanımlanan bu tip hücrelerde, dikkate değer morfolojik bulgular, onun sitoplazmik granüllerinde gözlemlendi. Sayıca az olan bu granüller, olgunlaşmanın başlangıç safhalarında olup, Golgi kompleksi bölgesinden, hücre periferisine doğru bir yayılma göstermektedirler (Şekil 1). Genellikle yuvarlak olan granüller, muhtelif çaplara sahiptirler. Bir perigranüler membranla çevrilidirler.

Genç mast hücrelerinde gözlenen sitoplazmik granüller, olgunlaşma sıralarına göre başlıca 6 safha göstermektedirler (Tablo 1).

1. Granüllü endoplazmik retikulumda sentez edilen maddelerin, granül halinde şekillenmesi, Golgi kompleksi vesiküllerinin progranüller halinde başlamaktadır (Şekil 1,2,3,4,5).

2. Muhtelif progranüller, genellikle Golgi bölgesi civarında müşterek bir membranda toplanarak kümeler teşkil etmektedirler. Maaşafih hem basit hem de kümelenmiş progranüller, arasına hücrenin periferinde de göze çarpmaktadırlar (Şekil 5,6 ).

3. Granüllü endoplazmik retikulum, sisternalarında bulunan ince granüllü materyali, progranül topluluklarını ihtiva eden vakuollere vermekte ve progranüller tekrar organize olarak ince granüllü materyalle gömülmüş dens kordonlardan ibaret granüller halinde şekillenmektedirler (Şekil 3,4,5,6).

4. Dens kordonlar ve ince granüllü materyal, tekrar organize olmakta ve daha kalın, daha dens kordon toplulukları ihtiva eden granülleri meydana getirmektedirler (Şekil 5,6).

5. Kalın dens kordonlar topluluğu, dens ve kaba granüllü yapıları granüllere dönüşmektedirler (Şekil 1,2,3,5,6).

6. Nihayet , granüller kompaktlaşmakta, dens, homojen ve kimyasal olarak son olgunluğa erişmiş mast hücresi granülleri olarak göze çarpmaktadırlar (Şekil 5,6). Yalnız bu safhadaki granüller, genç mast



hücrelerinde çok nadir olarak dikkati çekmektedir.

Genç mast hücreleri, unit membranlı ve delikli (porus) bir çekirdeğe sahiptirler. Genellikle, hücrenin bir tarafına yerleşmiş olup, muntazam oval şekildedirler (Şekil 1,2 ). Kromatin dağılımı düzensizdir.

II. M i k s t (ara tip) m a s t h ü c r e l e r i : Astramavisi safranin boyama metodu ile, hem mavi, hemde kırmızı granüllere sahip hücrelere tekabül edebileceği düşünülen bu hücreler, yuvarlak, oval veya gayri muntazam şekildedirler (Şekil 7,8,9,10). Yüzeylerinde çok sayıda mikrovilluslar dikkati çekmektedir. Bunların bir kısmı hücreye, bir kısmı ise, ileriye doğru bir yön göstermektedirler. Hem hücre membranı, hemde mikrovilluslar unit membranla çevrilidirler. Bazan bu hücrelerin yüzeylerinde, bir membranla sarılı keseler içinde, atılmakta olan granüller dikkati çekmektedir (Şekil 7).

Mikst hücrelerin sitoplazmalarında, ribozomlar, polizomlar, granüllü endoplazmik retikulum ve hattâ mitokondria, genç mast hücrelerine nazaran daha az sayıdadırlar. Bu tip hücrelerde de, iyi gelişmiş bir Golgi kompleksi ayırt edilmektedir (Şekil 11,12). Granülleri, genç hücrelerin granüllerine kıyasla fazladır ve sitoplazmasının her tarafına dağılmış, olgun ve olgunlaşmakta olan granülleri ihtiva etmektedirler. Yani Golgi kompleksi vakuollerinde yerleşik küçük dens granüllerin yanı sıra (Şekil 12), 2 ci, 3 cü, 4 cü, 5 ci, 6 cı safhalardaki granüller de dikkati çekmektedir (Şekil 7,8,9,10,11,12,13). Bu hücrelerde yine endoplazmik retikulumun sisternaları, olgunlaşmakta olan granüllerle münasebettir (Şekil 9,13).

Ünit membranlı ve delikleri ihtiva eden mikst mast hüoresi çekirdeği oldukça büyük olup, muntazam oval (Şekil 8,9) ve hafif çentiklidir (Şekil 7,10). Genellikle merkezde yerleşmiştir. Çekirdek, bir veya iki çekirdekoik ihtiva etmektedir (Şekil 10,11). Kromatin dağılımı, genç hücrelere kıyasla, periferde daha yoğun ve düzenlidir.

III. E r g i n m a s t h ü c r e l e r i : Safranin pozitif mast hücrelerinin karşıtı olabileceği düşünölen bu hücreler, muntazam oval hücrelerdir. Hücre yüzeyinde yine çok sayıda mikrovilluslar mevcuttur (Şekil 14,15,16). Hücre membranı ve villuslar ünit membranla çevrilidirler. Sitoplazmada ribozom kümeleri görölmeyip, az sayıdaki ribozomlar bütün sitoplazmaya dağılmış durumdadırlar (Şekil 14,15,16). Granüllü endoplazmik retikulum çok az olup nadiren gözlenmektedir (Şekil 15). Granüller arasına sıkışmış oval şekilli mitokondria bu tip hücrelerde nadiren görölmektedir (Şekil 15). Golgi kompleksi, bazı ergin hücrelerde dikkati çekmektedir (Şekil 14,15).

Ergin hücreleri, diğör iki hücre çeşidinden ayıran en göze çarpıcı özelliğı, dens ve homojen yapıdaki sitoplazmik granüllerle tıka bası dolu olmasıdır (Şekil 14,15,16). Bu granüller arasında, diğör hücrelerde rastladığımız granül tipleri de göze çarpmaktadır (Şekil 15).

Ergin hücrelerin çekirdekleri, genellikle merkezde yerleşmiş olup mikst hücrelerininkine kıyasla daha küçüktürler. Oval, düzgün şekilli veya hafif girintiler göstermektedirler. Ünit membranlı ve delikli olup, kromatin dağılımı yoğun ve düzenlidir. Bir veya iki çekirdekoik, genellikle hücrelerde ayırt edilmektedir (Şekil 14, 15).

Bazı hücrelerde, büyük ve küçük çapta , yuvarlak, perigranüler membranla aralarında az veya çok bir boşluk bırakırcasına tertiplenmiş retiküler veya vaküollü yapıda granüller de gözlemlendi. Hatta bazılarında perigranüler membran tefrik edilmemekteydi (Şekil 1, 7, 14).

### T a r t ı Ő m a

Üç tip mast hücresinde gözlenen hücre membranı, granüllü endoplazmik retikulum, ribozomlar, polizomlar, Golgi kompleksi, çekirdek, çekirdek membranı ve çekirdekcik yönündeki bulgularımız, Smith ve Lewis<sup>2</sup>, Rogers<sup>5</sup>, Policard ve arkadaşları<sup>9</sup>, Gusek<sup>25</sup>, Klug<sup>8</sup>, Smith<sup>26</sup>, Fernando ve arkadaşları<sup>13</sup>, Thierry<sup>14,15</sup>, Fujita<sup>27</sup>, Weinstock ve arkadaşları<sup>18</sup>, Kerse<sup>17</sup>, Gustafan ve arkadaşları<sup>19</sup>, Geoffreyl<sup>20</sup>, Takası ve arkadaşları'nın<sup>28</sup> bulguları ile özdeştir.

Yeni doğmuş ve ergin sıçan dokuları mast hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada<sup>13</sup>, ergin olmayan mast hücrelerinde, sitoplazmik granüllerin azlığı, Golgi kompleksi ve granüllü endoplazmik retikulunun çok iyi gelişmiş olduğu, mitokondria ve ribozomların fazlalığı gözlenmiştir. Ergin hücrelerde ise, sıkıca istiflenmiş dens granüller yanı sıra, az granüllü endoplazmik retikulum, Golgi kompleksi, az sayıda mitokondria ve hücre yüzeyinde mikrovilluslar tesbit edilmiştir.

Sıçanların çeşitli yaşlardaki normal deri altı mast hücreleri üzerinde yapılan çalışmada<sup>27</sup>, spesifik mast hücresi granüllerinin Golgi bölgesi vakuollerinde husule gelerek devamlı olarak düzgün

bir membran içinde olgunlaştıkları gözlenmiştir. Genç sıçan mast hücreleri granüllerinin şekil ve büyüklük bakımından çeşitlilik gösterdiği bu hücrelerde granüllerin hızlı bir şekilde şekillenmeleri ve dışarı atılmaları tesbit edilmiştir. Yaşlı sıçan mast hücrelerinin ise, depolanmış granül topluluklarına, hücre yüzeyinde çok sayıda mikrovilluslara sahip olduğu gözlenmiş ve bu hücrelerde aktivitenin az olduğuna işaret edilmiştir.

Embriyonik sıçan mast hücrelerinin differansiyasyon ve proliferasyonu, histokimyasal ve otoradiografik yünden incelenmiş ve mast hücrelerinin differansiyasyon seyri dört safhada mütalâa edilmiştir<sup>29</sup>.

S a f h a I m a s t h ü c r e l e r i : Az sayıda sitoplazmik granül ihtiva eden bu hücreler, alsian mavisi safranin boyama tekniği ile daima mavi renge boyanmaktadırlar. Bu hücrelerin çok az miktarda sulfatlı almaları, safha I mast hücrelerinin pek az miktarda sulfatlı polisakkaritleri ihtiva ettiklerini göstermektedir.

S a f h a II m a s t h ü c r e l e r i : Safha I mast hücrelerinden daha fazla sitoplazmik granüllere sahiptirler. Alsian mavisi - safranin boyama tekniği ile çoğunluğu teşkil eden alsian mavisi pozitif granüller yanı sıra, bir kaç tane kırmızı safranin pozitif granüller ihtiva etmektedirler.

S a f h a III m a s t h ü c r e l e r i : Çoğunluğu teşkil eden safranin pozitif granüllerle beraber az sayıda alsian mavisi pozitif granüllere sahiptirler.

S a f h a IV m a s t h ü c r e l e r i : Alsian mavisi safranin boyama tekniği ile daima safranin metakromazisine boyanmaktadırlar.

Yine aynı çalışmada, radyosulfatın mast hücreleri tarafından alınma hızının, granül boyanmasının, alsian mavisinden safranin kırmızısı rengine sapması ile arttığı gözlenmiştir. Mast hücresi granüllerinin şekillenmesi seyrinde, önce alsian mavisi granüllerde bir heparin habercisinin sentezi, bunu takiben mast hücresi chyma'sı ile beraber yüksek seviyede N-sülfatlı heparinin toplanması ve nihayet safranin pozitif granüllerde histamin tesbiti açıklanmıştır.

Combs<sup>30</sup>, mast hücrelerinin differansiyasyon ve proliferasyon üzerindeki bu histokimyasal ve otoradiografik bulguların ışığı altında, ultrastrüktürel seviyede, sıçan embriyonal ve ergin dokularında mast hücrelerinin olgunlaşması üzerinde bir çalışma yapmıştır. Araştırmacıya göre, ~~er~~ erken tefrik edilebilen mast hücreleri, çevresindeki differansiye olmamış mezenşimal hücrelere benzemektedirler. Fakat granül ihtiva etmeleri ile mezenşimal hücrelerden ayrılmaktadırlar. Hücre yüzeyinde bir özelleşme görülmeyen bu hücrelerde, çok az sitoplazmik granüller bulunmaktadır. Sitoplazmalarında çok iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum, ribozomlar, polizomlar, küçük bir Golgi kompleksi ve yuvarlak mitokondria gözlenmektedir. Differansiyasyonun ilerlemesi ile mast hücrelerinin yüzeylerinde mikrovillusların belirdiği, 70 - 100 milimikron çapında dens granüllerle bağıntılı bir Golgi kompleksinin mevcudiyeti, mitokondria ve granüllü endoplazmik retikulum sisternaları ile münasebette olan sitoplazmik granüllerin arttığı gözlenmektedir. Granül teşekkülünün devam etmesi ile granüller arası sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulum, mitokondria,

ribozomlar azalmakta ve granüller sıkı bir şekilde hücrede depolanarak olgunlaşma tamamlanmaktadır. Combs, ultrastrüktürel seviyede, bu hücrelerdeki granül olgunlaşma seyri için ise, kimyasal ilişkilerle beraber, aşağıdaki şekilde özetlemiştir.

1. Granül sentezi, Golgi bölgesinin santral kısmında membranlarla sınırlanmış küçük vakuoller içinde progranüllerin şekillenmesi ile başlar (heparin öncülerinin şekillenmesi, O - sulfatlanma).

2. Progranüller, Golgi bölgesinin periferine göç ederek daha dens bir şekil alırlar. Golgi bölgesinin periferinde veya periferine yakın bölgelerde bir membran içinde toplanırlar ( gelecekteki mast hücre granüllerine bir ortam sağlamak için heparin öncülerinin birleşmesi).

3. Muhtemelen, granüllü endoplazmik retikulumdan husule gelen ince granüllü materyal, granüllü endoplazmik retikulumun sisternası ile progranül topluluklarını ihtiva eden vakuollere ilâve olunur (mast hücresi ohymasını ihtiva eden bazik proteinlerin ilâvesi).

4. Sonra progranüller erimeğe ve ince granüler materyale gömülmüş 70 - 100 milimikron çapında dens kordonlar şekillenmeğe başlar ( N - sülfatlanma).

5. Dens kordonlar tekrar organize olarak 20-30 milimikron çapında elektron dens kordonlar topluluğunu meydana getirirler. Bu kordonlar topluluğu, dens ve kaba granüler yapıları granüllerle

dönüşerek, perigranüler membran içinde sıkı bir şekilde toplanırlar (N-sülfatlanma).

6. Nihayet bu granüller, dens , homojen granülleri meydana getirirler (bazık proteinlerle heparin arasındaki maksimum iyonik bağlanma).

Çalışmamızda, Combs'un elektron mikroskopik olarak , embriyonal ve ergin sıçanlarda incelediği mast hücresi granüllerinin olgunlaşma safhalarını, biz de ergin sıçan inguinal lenf düğümü mast hücrelerinde izledik. Hücre membranında bir özelleşme göstermeyen, iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikuluma, zengin ribozom topluluklarına, heparin öncülerini ihtiva eden progranüllere ve olgunlaşma safhasının henüz başlangıcında bulunan granüllere sahip hücreleri genç mast hücreleri olarak vasıflandırdık. Ultrastrüktürel seviyede böyle özelliklere sahip bir hücrenin, alsian mavisi pozitif granüllü mast hücrelerinin karşıtı olabileceğini belirten Combs'un bulguları, bulgularımızdaki aynı ultrastrüktürel karakterlere sahip genç mast hücrelerinin , astra mavisi pozitif granüllü mast hücrelerine tekabül edebileceği fikrini uyandırdı.

Yüzeyinde çok sayıda mikrovilluslar bulunan sitoplazmalarında, azalmış ribozom, polizom, mitokondria ve granüllü endoplazmik retikulum yanı sıra, hem olgun, he de olgunlaşmakta olan sitoplazmik granülleri diğerk bir deyimle, sülfatlanmış ve sülfatlanmakta olan polisakkaritleri ihtiva eden ve aktif granül sentezi devresinde bulunan mast hücrelerine, genç ve olgun hücreler arasında bir geçiş halini temsil ettiklerinden dolayı, mikst mast hücreleri adını verdik.

Bundan böyle, ultrastrüktürel seviyede bu özelliklere sahip mast hücrelerinin, histokimyasal olarak, gerek alsian mavisi - safranin, gerekse astra mavisi - safranin boyama metodu ile hem mavi hem de kırmızı granülleri ihtiva eden mast hücrelerine tekabül edebileceğini düşündük.

Granüllü endoplazmik retikulumun yokluğu, Golgi kompleksinin küçüklüğü ve çok sayıda dens homojen granüllerin mevcudiyeti, hüresel olgunluğun, buna karşılık sentetik aktivite yokluğunun göstergeleri olmaları sebebiyle, bulgularımızda böyle karakterli hücrelerin, ergin hücreler olarak vasıflandırılmasında bir sakınca olmadığı kanaatine vardık. Ayrıca, kimyasal olarak her şeyi tamamlanmış, yani bazik proteinli ve sülfatlanmış polisakkaritli granüllerle tamamen dolu olan bu hücrelerin, alsian mavisi - safranin metodu ile olduğu gibi astra mavisi - safranin metodu ile safranin metakromazisine boyanan mast hücrelerinin, karşıtı olabileceğini düşündük.

Elektronmikroskopta, mast hücreleri için uygun bir tesbit solüsyonu seçmek gerçekten problem olmuştur. Bundan böyle, elektronmikroskopun mast hücreleri için işe yararlığı, elverişli bir şekilde tesbit edilmiş mast hücreleri elde etme güçlüğü sebebiyle, tahdit edilmiştir.

Granül ince yapısının, retiküler veya vakuoler görünüşü, granülleri saran perigranüler membranın boşluklar bırakarak, granüller materyalden ayrılışları birçok araştırmacılar tarafından mast hücrelerinin elektron mikroskopik işlemlere ve osmik aside karşı gösterdikleri hassasiyet olarak izah edilmiştir. 5, 9, 31, 26, 13, 27.



30  
Combs , uygun bir tampona, mast hücrelerinin polisakka-  
ritleri için özel olan alsian mavisi ve glutraldehyde ilave edip mast  
hücrelerini tesbit ettikten sonra, osmium tetroxyde ile post fiksas-  
yona tabi tutmuştur. Ultrastrüktürel seviyede, çok iyi muhafaza edil-  
miş farklı yapı ve densitedeki mast hücreleri granülleri yanı sıra, bil-  
hassa genç hücrelerde, boş bir hale ile sarılmış belirsiz hudutlu ,  
retiküler ve kaba yapıda granüller gözlemiştir. Böyle granüllerin, el-  
verişsiz işlemler ve iyi tesbit edilememe sebebiyle, mast hücrelerin-  
den histamin salıverilmesinin ve degranülasyonla beraber granül eri-  
mesinin bir neticesi olduğunu ileri sürmüştür. Bulgularımız, Combs'un  
bulgularını desteklemektedir. Zira, çalışmamızda, elektronmikroskop  
ön hazırlık işlemleri için Combs'un tekniğini ufak bir modifikasyon-  
la kullandık. Mikrograflarımızda, çok iyi muhafaza edilmiş perigra-  
nüler membranlı, farklı yapı ve densitedeki mast hücreleri granülleri  
yanı sıra, bazı hücrelerde büyük ve küçük çapta, perigranüler membran-  
larından ayrılmış, belirsiz hudutlu, retiküler ve vakuoler yapıllı  
sitoplazmik granülleri çok seyrekte olsa izledik.

Mast hücreleri yüzeyindeki mikrovillusların, sitoplazmik gra-  
nüllerin dışarı atılmasında bir fonksiyona sahip oldukları ileri sürül-  
müştür<sup>9</sup>. Diğer araştırmacılar ise, granüllerin dışarı atılmasının ya  
hücre membranı yolu ile vukubulabileceğini<sup>26,14</sup>, yahut perigranüler  
büyümüş vakuollerin hücre kenarından kopmaları veya hücre membranının  
eriyip, granüllerin kılıfları ile birlikte hücre dışına atılmaları  
şeklinde olduğunu belirtmişlerdir<sup>27</sup>.

Mikrograflarımızda, bilhassa mikst mast hücreleri yüzeyinde  
bir membranla sarılı olarak granülleri gözlememiz, bize granüllerin

mast hücreleri membranının açılıp, kendi perigranüler membranları içinde olarak dışarı atıldıkları kanısını vermiştir.

### Ö z e t

Ergin erkek sıçanların inguinal lenf düğümü, astra mavisi - glutraldehide karışımından ibaret solüsyonda tesbit edilip, osmium tetroxyde ile post fiksasyondan sonra elektronmikroskop ile incelendi. Dokunun sadece mast hücreleri, hücre şekli, organelleri ve granülleri dikkate alındıkta, üç tip mast hücreleri olarak ayırt edildi.

1. G e n ç m a s t h ü c r e l e r i : Yüzeyleri özelleşme göstermeyen oval şekilli, sitoplazmalarında yaygın olarak granüllü endoplazmik retikulum, ribozom, polizom, ve mitokondria bulunan, olgunlaşma safhalarının başlangıcındaki az sayıda granüllere sahip hücrelerdir. Muhtemelen histokimyasal olarak astra mavisi pozitif granüllü hücrelere tekabül etmektedirler.

2. M i k s t ( a r a t i p ) m a s t h ü c r e l e r i : Yüzeyleri çok sayıda mikrovillüslara sahiptir. sitoplazmaları genç hücrelere kıyasla, fazla sayıda olgun ve olgunlaşmakta olan sitoplazmik granülleri ihtiva etmektedir. Buna karşılık, ribozomlar, polizomlar, endoplazmik retikulum, mitokondria azalmış durumdadır. Bu hücrelerin astra mavisi - safranin metodu ile hem mavi hem kırmızı granüllere sahip, mast hücrelerinin karşıtı olabileceği düşünölmektedir.

3. E r g i n m a s t h ü c r e l e r i : Dens ve homojen yapıdaki olgun sitoplazmik granüllerle tıkabasa dolu olan, buna karşıt, sitoplazmik organellerden fakir hücrelerdir. Safranin pozitif kırmızı granüllü mast hücreleriyle eş olduğu kabul edilmektedir.

K A Y N A K L A R

1. Ehrlich, P. : Beitragezün Kennthis der Anibijar bungen und ihrer Vermundung in der mikrospischen Yecnik, Arch. Mikr. Anat., 13: 263, 1877.
2. Smith, D.E., and Lewis, Y.S. : Electron microscopy of the tissue mast cell, J. Biophys. Biochem. Cytol., 3:9, 1957.
3. Welsch, R.A., and Geer, J.C. : Phagocytosis of mast cell granule by the eosinophilic Leukocyte in the rat, Am. J. Pathol., 35:103, 1959.
4. Hagihara, M. : Phase contrast microscopic and electron microscopic observation of mast cells, Acta. Haematol. Japan., 23: 747, 1960.
5. Rogers, G.E. : Electron microscopy of mast cells in the skin of young mice, Exptl Cell Res., 11: 393, 1956.
6. Köksal, M. : Doku mast hücreleri hakkında, Acta Med. Turcica, 5: 85, 1953.
7. Asboe - Hansen, G. : The mast cell, Intern. Rev. Cytol., 3: 399, 1954.
8. Klug, H. : Zur submikroskopischen Struktur der Mastzellen des Thymus, Acta Biol. Med. Ger., 6: 545, 1961.

9. Policard, A., Collect, A., and Pregermain, S. : Etude au microscope électronique des mastocytes des Tissus chez les mammifères, Rev. Hematol, 15: 374, 1960.
10. Stoeckenius, W. : Zur Feinstruktur der Granula menschlicher Gewebsmastzellen Exptl. Cell Res., 11: 656, 1956.
11. Hibbs, R.G., Burch, G.E., and Phillips, J.H. : Electron microscopic observations on the human mast cell, Am. Heart J., 60: 121, 1960.
12. Hibbs, R.G., Phillips, J.G., and Burch, G.E. : Electron microscopy of human tissue mast cells, J. Am. Med. Assoc., 174: 508, 1960.
13. Fernando, N.V., and Movat, H.Z. : Fine structure of connective tissue III. The mast cell, Exp. Molec. Path., 2: 450, 1963.
14. Thiéry, J.P. : Etude au microscope électronique de la maturation et de l'excretion des granules des mastocytes, J. Microscopie, 2: 549, 1963.
15. Thiéry, J.P. : Mise en evidence de polisaccarides acides (heparin) dans les granules des mastocytes, Czechoslovak Academy of sciences, P : 209, 1964.
16. Nelson, N.S., and Gabut, M.S. : Observations and fixation for electron microscopy of mast cell isolated from rat peritoneum and biologically intact, Path. Biol., 15: 140, 1967.

17. Kerse (Büyüközer), İ. : Lenf düğümünün elektronmikroskopik yapısı, Deniz Tıp Bülteni, 13: 1, 1967.
18. Weinstock, A., and Albright, J.T. : The fine structure , of mast cell in normal human gingiva , J. Ultra struct. Res., 17:245, 1967.
19. Gustafsan, G.T. : Histochemical application of ruthenium red in the study of mast cell ultrastructure, Acta, Path. Microbiol. Scand., 69: 393, 1967.
20. Geoffreyl, B. : The mast cell in normal human bronchus and lung, J. ultrastruct. Res., 23: 115, 1968.
21. Burton, A.L. : Histochemical studies on developing mast cells, Anat. Rec., 150 : 265, 1964.
22. Şeftalioğlu, A. : 48/80 ile stimule olmuş sıçan inguinal lenf düğümü mast hücrelerinin histokimyasal ve morfolojik değişiklikleri, Deniz Tıp Bülteni, 12: 1, 1966.
23. Bennet, H.S., and Luft, J.H. : J. Biophy Biochem. Cytol., 6: 113, 1959 (Desmond'tan).
24. Reynolds, E.S. : The use of Lead<sup>c</sup> citrate at high PH as an electron-opaque stain in electron microscopy, J. Cell Biol., 17: 208, 1963.

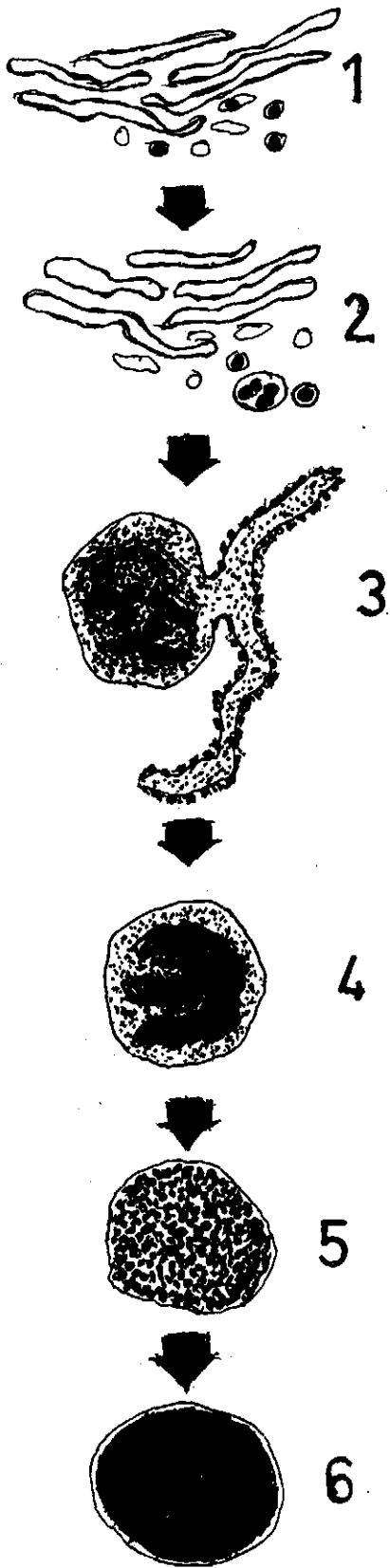
25. Gusek, W. : Zur ultrastruktur und Genese von Mastzellen und mastzellen granula, proceedings of the European Regional Conference on electron mikroskopy, 2: 912, 1960.
26. Smith, D.E. : Electronmikroskopy of normal mast cells under various experimental conditions, Ann. N.Y. Acad. Sci., 103: 40, 1963.
27. Fujita, T. : On the granül type of secretion of mast cells in rats, Z. Zellforsch., 66: 66, 1965.
28. Takasu, K., Midgard, K., and Asboe - Hansen, G. : Ultrastructure of human mast cells granules J. Ultrastruct. Res., 23: 153, 1968.
29. Combs, J. W., Lagunoff, D., and Benditt, E.P. : Differentiation and proliferation of embryonic mast cells of the rat, J. cell. Biol., 25 : 577, 1965.
30. Combs, J.W. : Maturation of rat mast cells. An electronmicroscopic study, J.Cell. Biol., 31: 563, 1966.
31. Bloom, G., Friberg, U., and Larsson, B. : Some observation on the fine structure of mast cell tumors, Nord. Vet.Med., 8: 43, 1956.

ŞEKİL KISALTMALARI

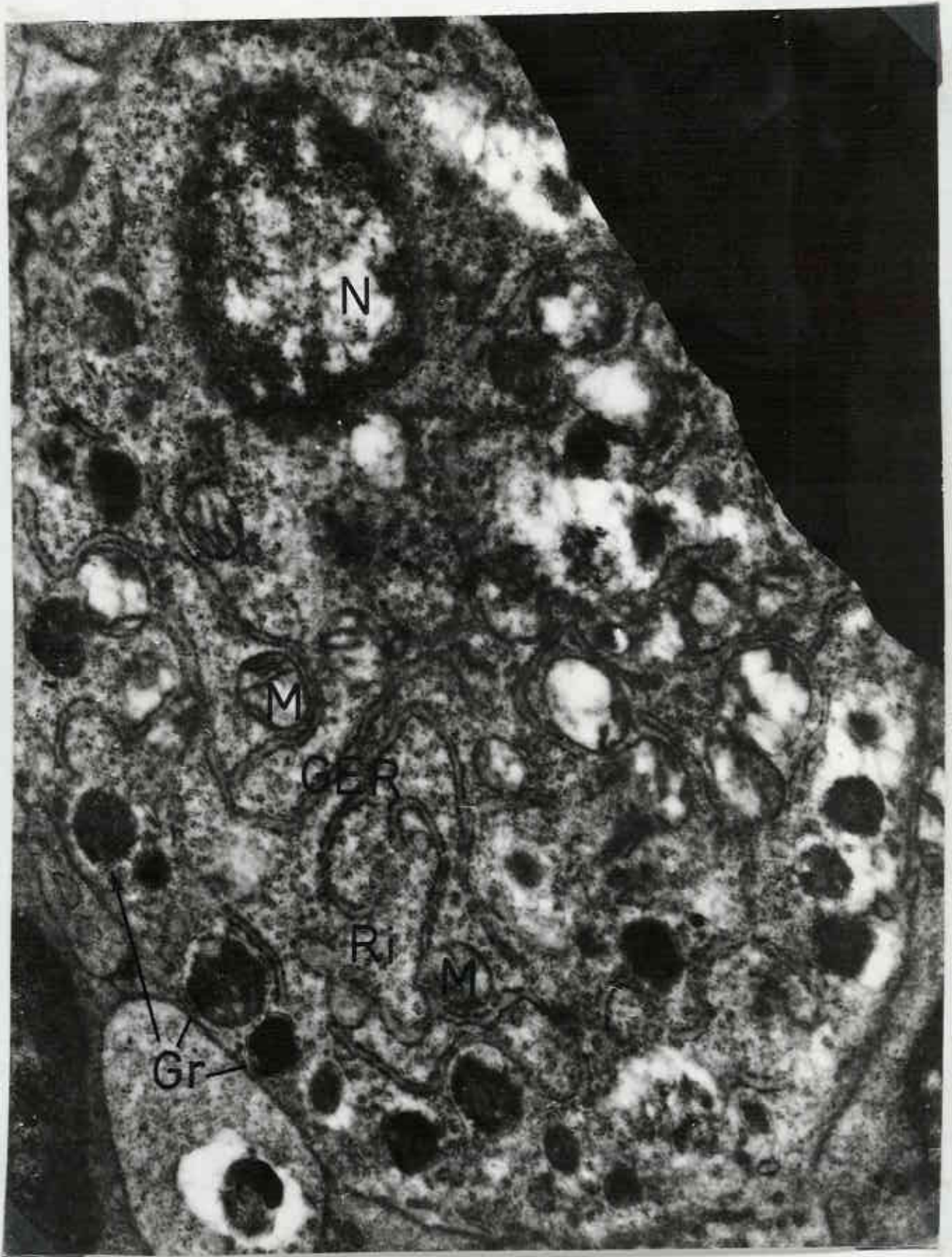
- Cm : Hücre membranı  
GER : Granüllü endoplazmik retikulum  
Gö : Golgi kompleksi  
Gr : Granül  
M : Mitokondrium  
Mv : Mikrovillus  
N : Nukleus  
n : Nukleolus  
Po : Polizom  
Ri : Ribozom  
1 : Progranül  
2, 3, 4, 5, 6, 7 : Farklı olgunlaşma safhalarındaki granüller.

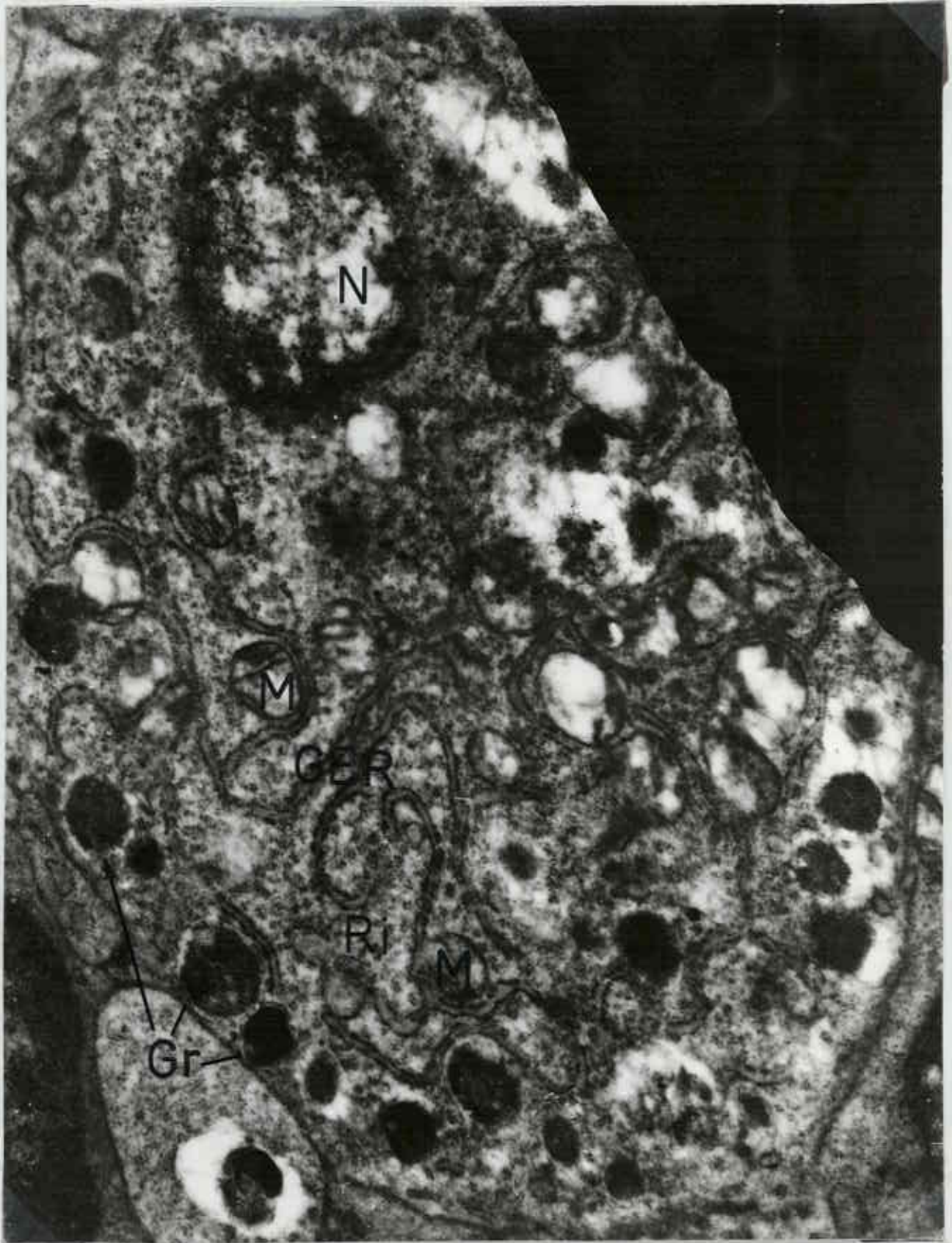
Tablo 1. Mast hücre si sitoplazmik granüllerinin olgunlaşma saf-  
haları Combs'dan çizilmiştir.





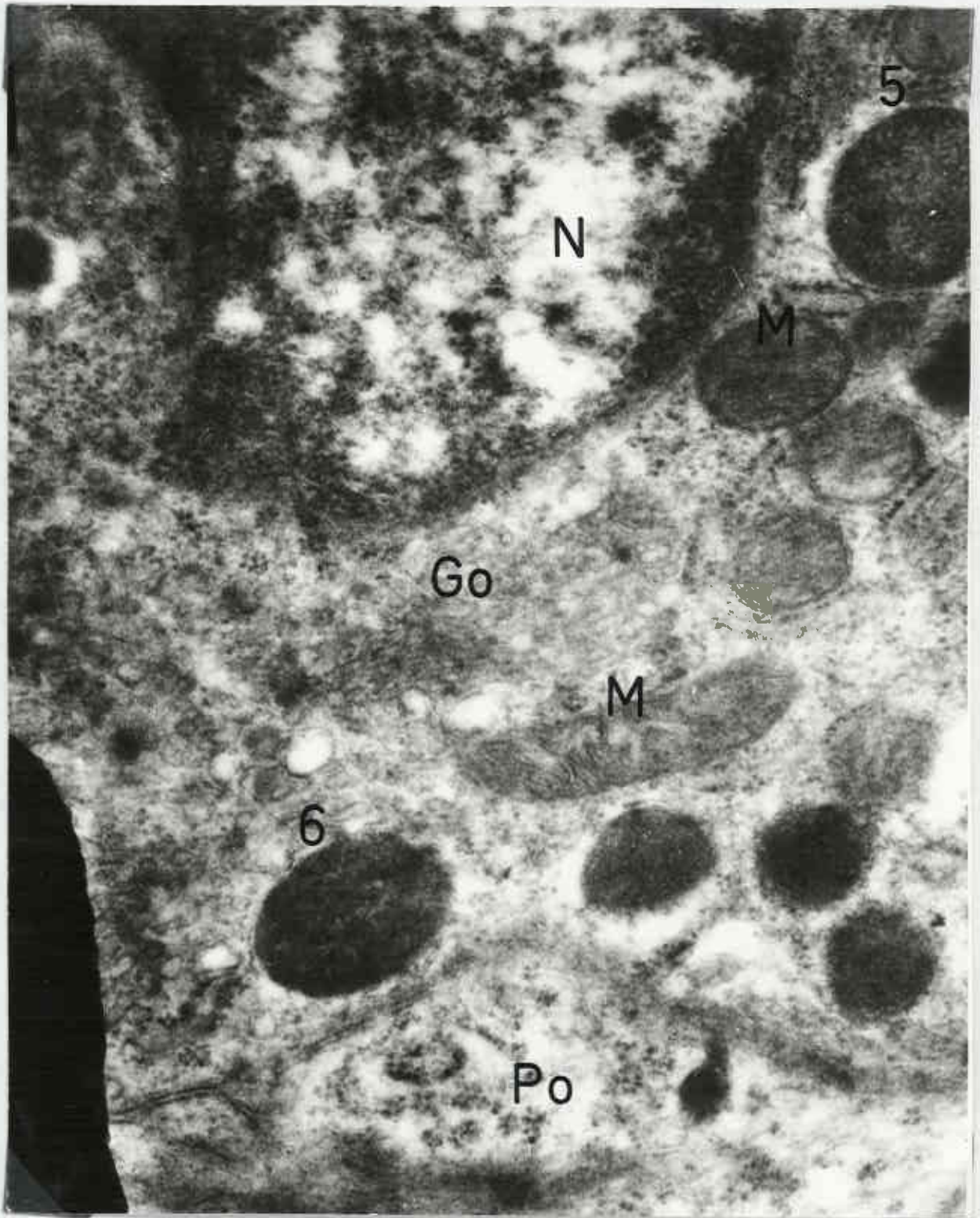
Şekil 1. Genç bir mast hücresi. N, nukleus; M, mitokondria;  
GER, granüllü endoplazmik retikulum; Gr, Granül;  
Ri, ribozom. X 18.000





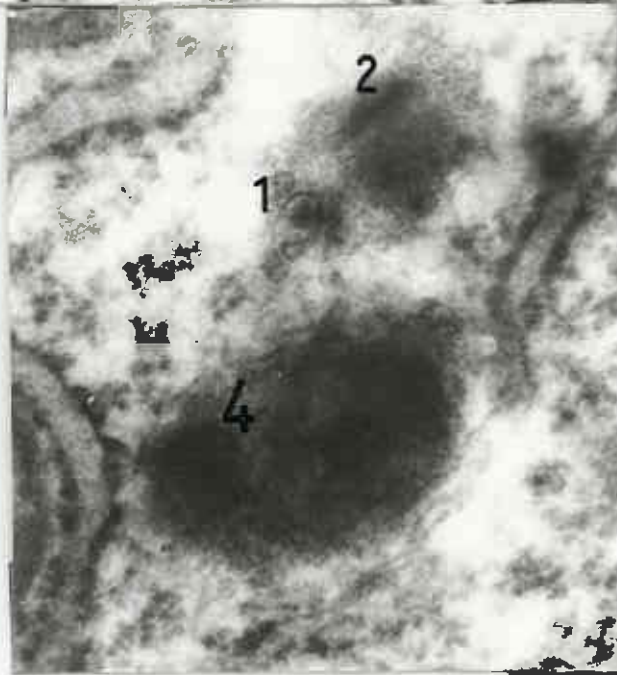
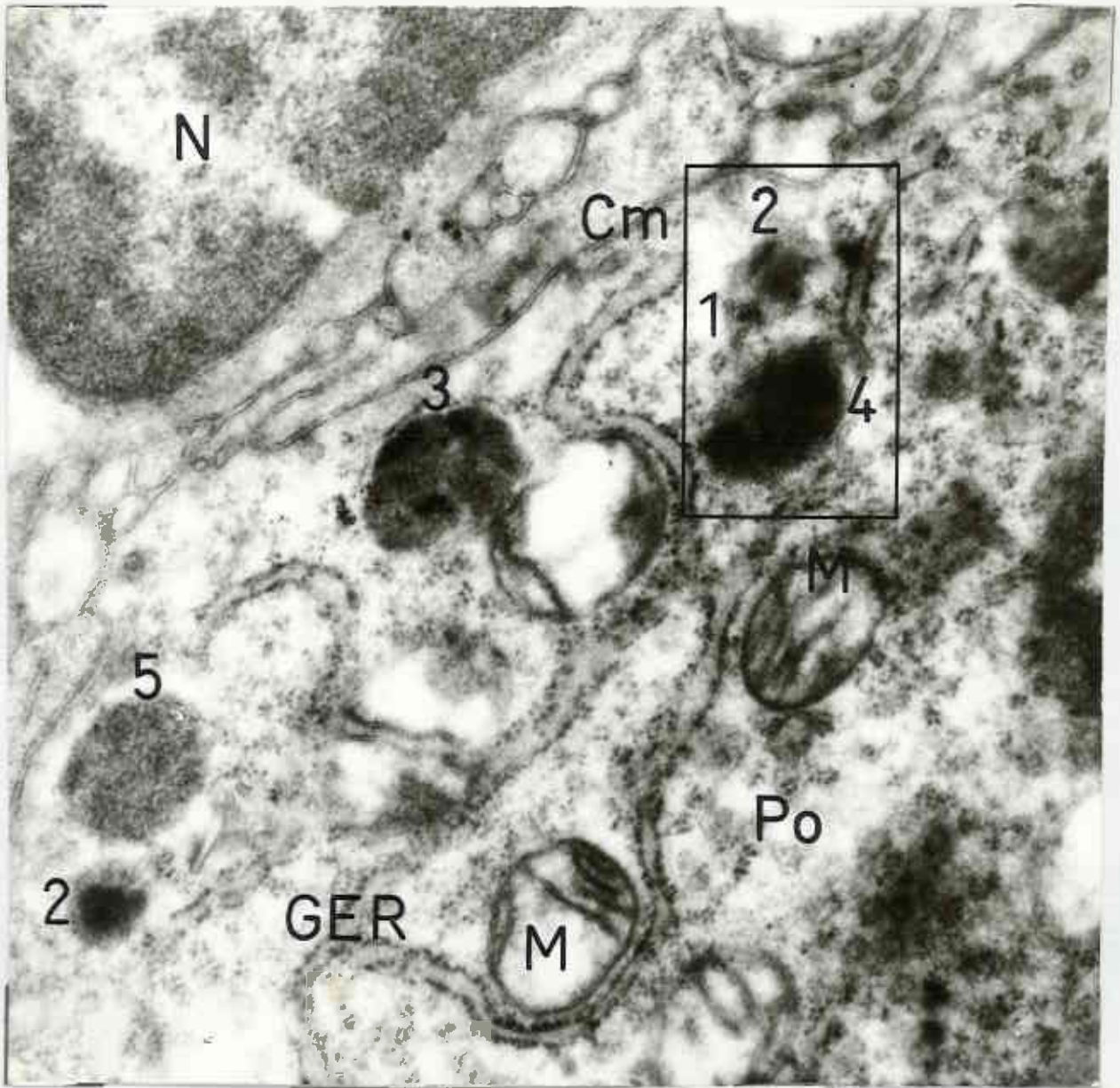
Şekil 2. Genç mast hücreleri. Go, Golgi kompleksi; M, mitokondri; Po, polizom; 5 ve 6, olgunlaşma safhalarındaki granüller. X 63.000





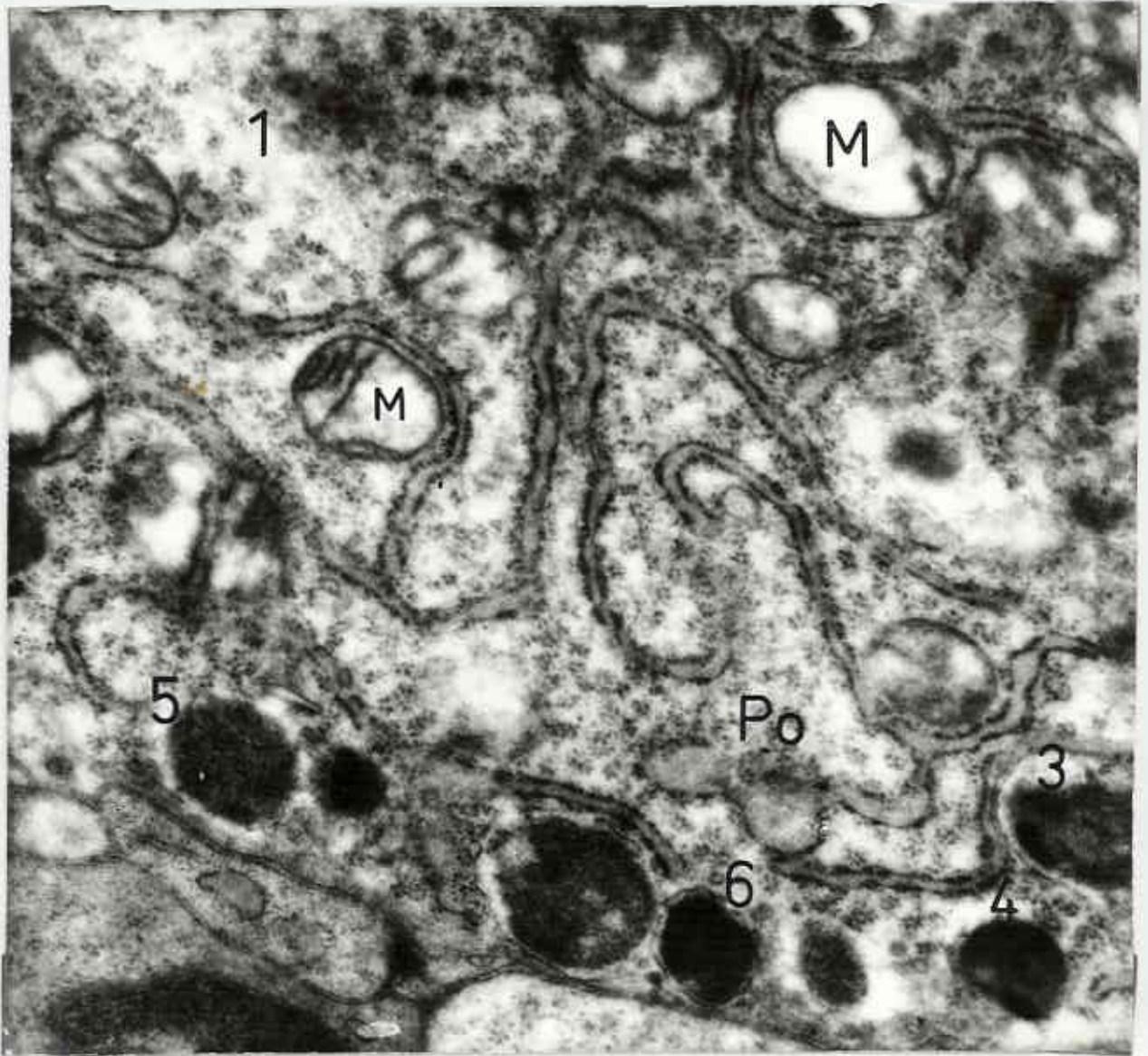
Şekil 3. Genç mast hücresi. Sol üst köşede hücre membranı ayırt edilmektedir (Gm); 1,2,3,4,5 farklı olgunlaşma safhalarındaki granüller görülmektedir. M, mitokondria; Po, polizom. X 63.000

Şekil 4. Şekil 3'deki(kare içinde) 1,2,3 nolu granüllerin büyütülmüş hali. X 120.000

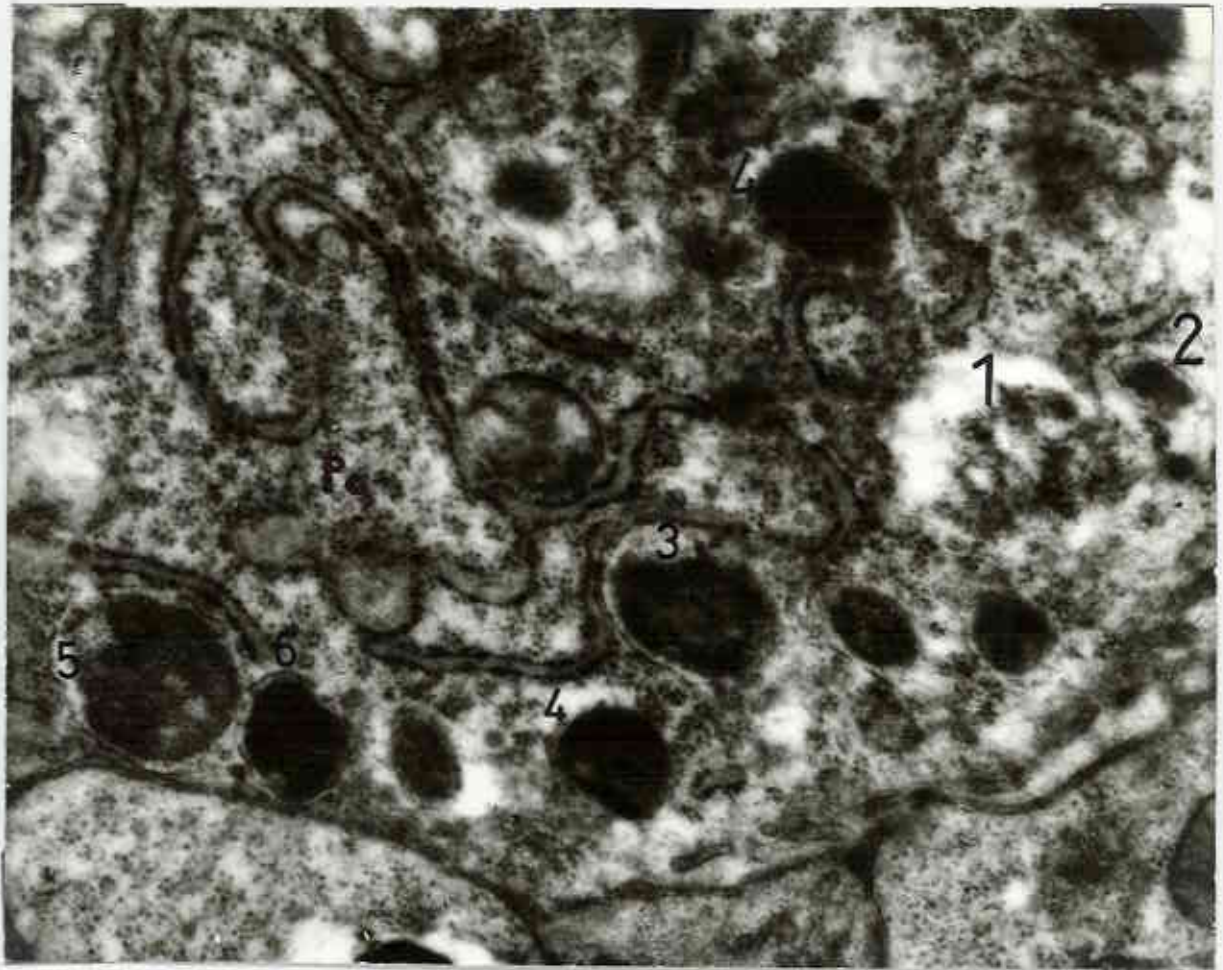




Şekil 5. Genç bir mast hücresi. 1, veziküller içinde progranüller görülmektedir. 3,4,5,6, farklı olgunlaşma safhalarındaki granüller. M, mitokondria; Po, polizom.  
X 44.000

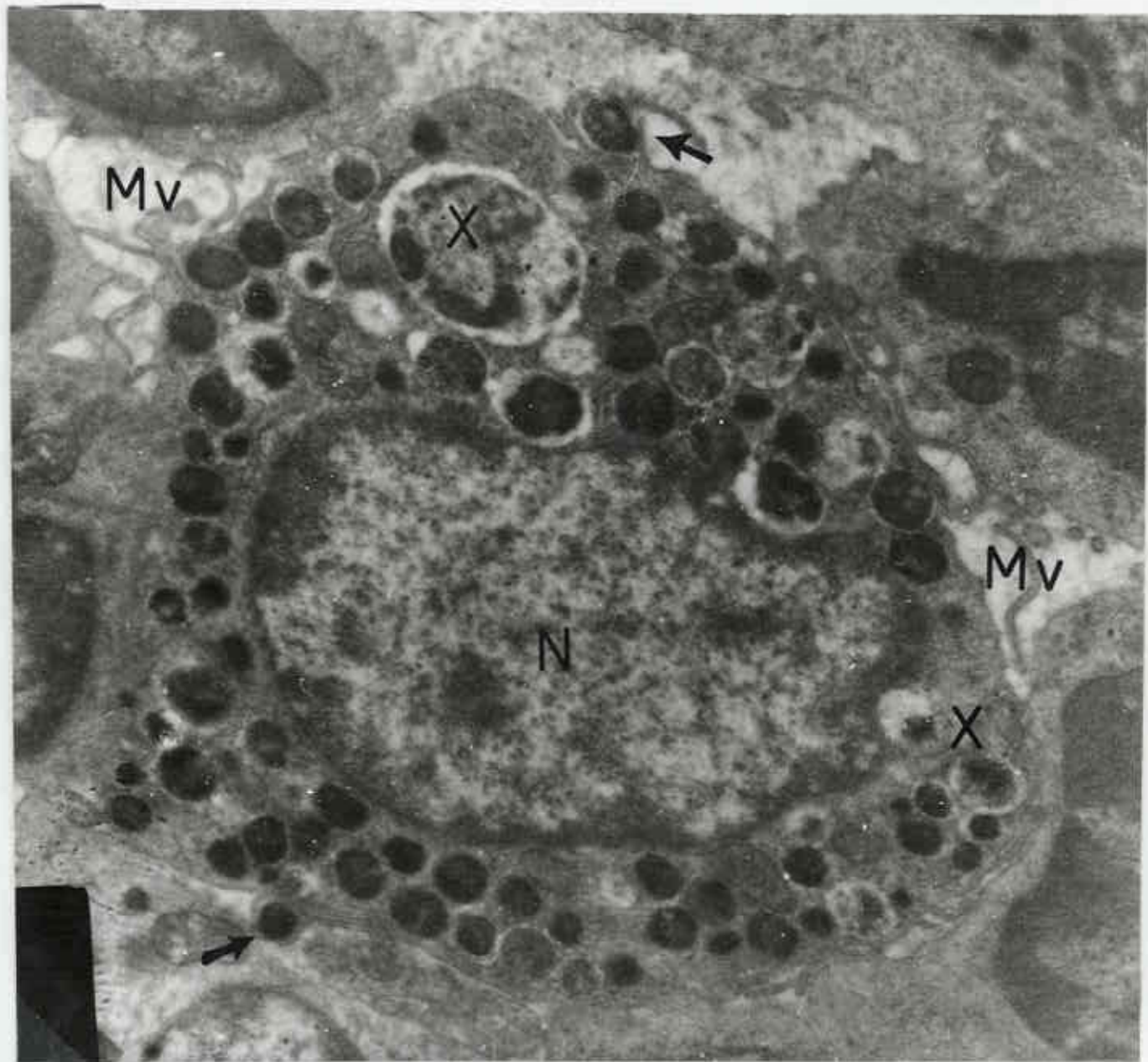


Şkil 6. Genç bir mast hücre. Granüllü endoplazmik retikulum (GER); polizom (Po) ve farklı safhalardaki granüllerin mevcudiyeti (1,2,3,4,5,6) bu hücrelerin en göze çarpar karakteristiğidir. 4 nolu granülün endoplazmik retikuluma münasebeti aşikar olarak görülmektedir. X 44.000

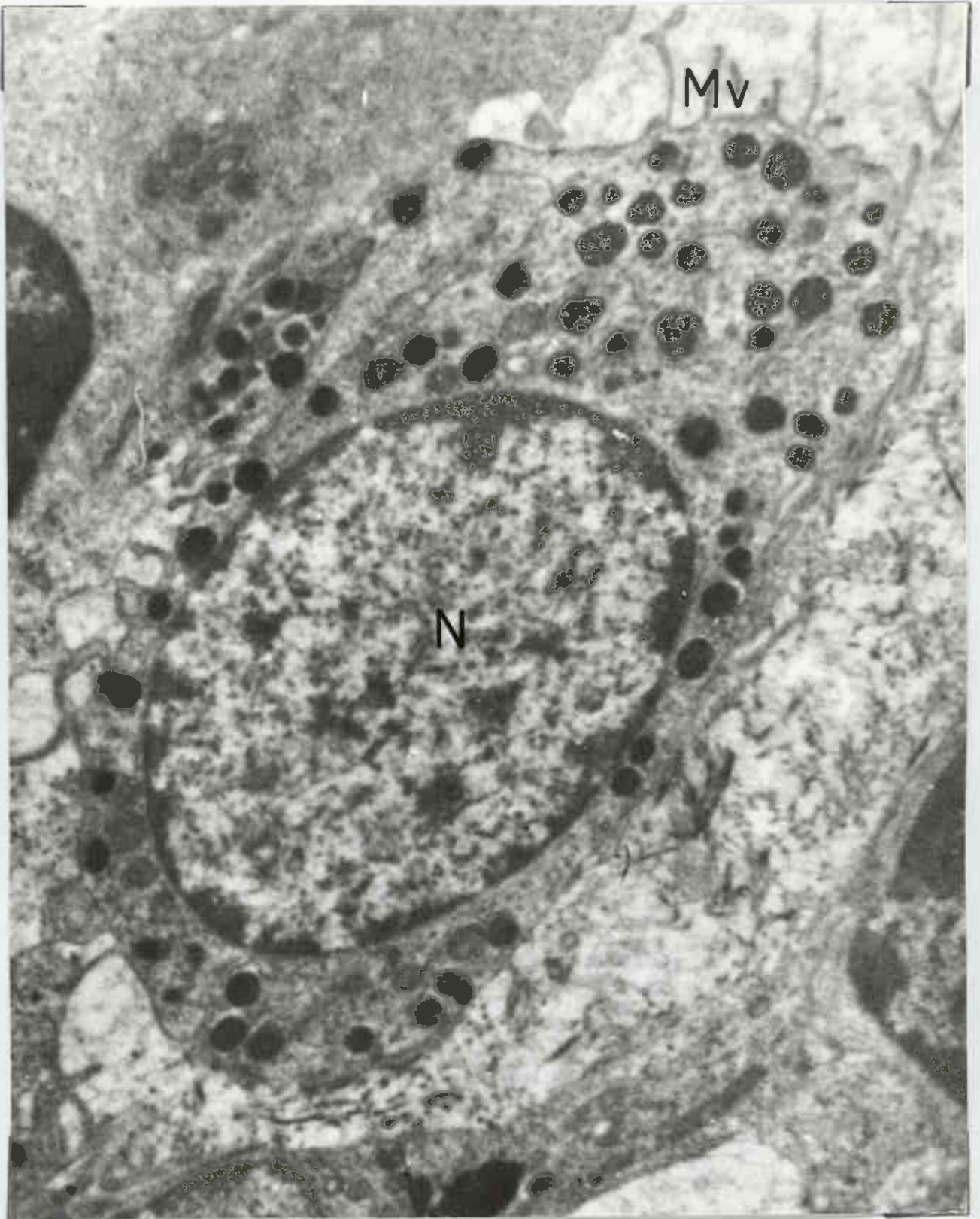


Şekil 7. Mikst tip (ara tip) mast hücresi. Bu tip hücrede endoplazmik retikulumun azlığı, buna karşılık farklı safhalardaki granüllerin çokluğu ve hücre yüzeyindeki mikrovillusların (Mv) mevcudiyeti dikkati çekmektedir. Okla işaret edilen yerde, hücreden atılmakta olan iki granül görülmektedir. Granüller arasında hiçbir safhaya sokulamayan, muhtemelen iyi tesbit edilememe sebebiyle bozulmuş granüller (X), görülmektedir. X 21.000





Şekil 8. Mikst tip mast hücresi. Hücrenin oval çekirdeği (K), oldukça fazla sayıda granüller ve hücre yüzeyindeki mikrovilluslar aşikârdır. X 16. 500

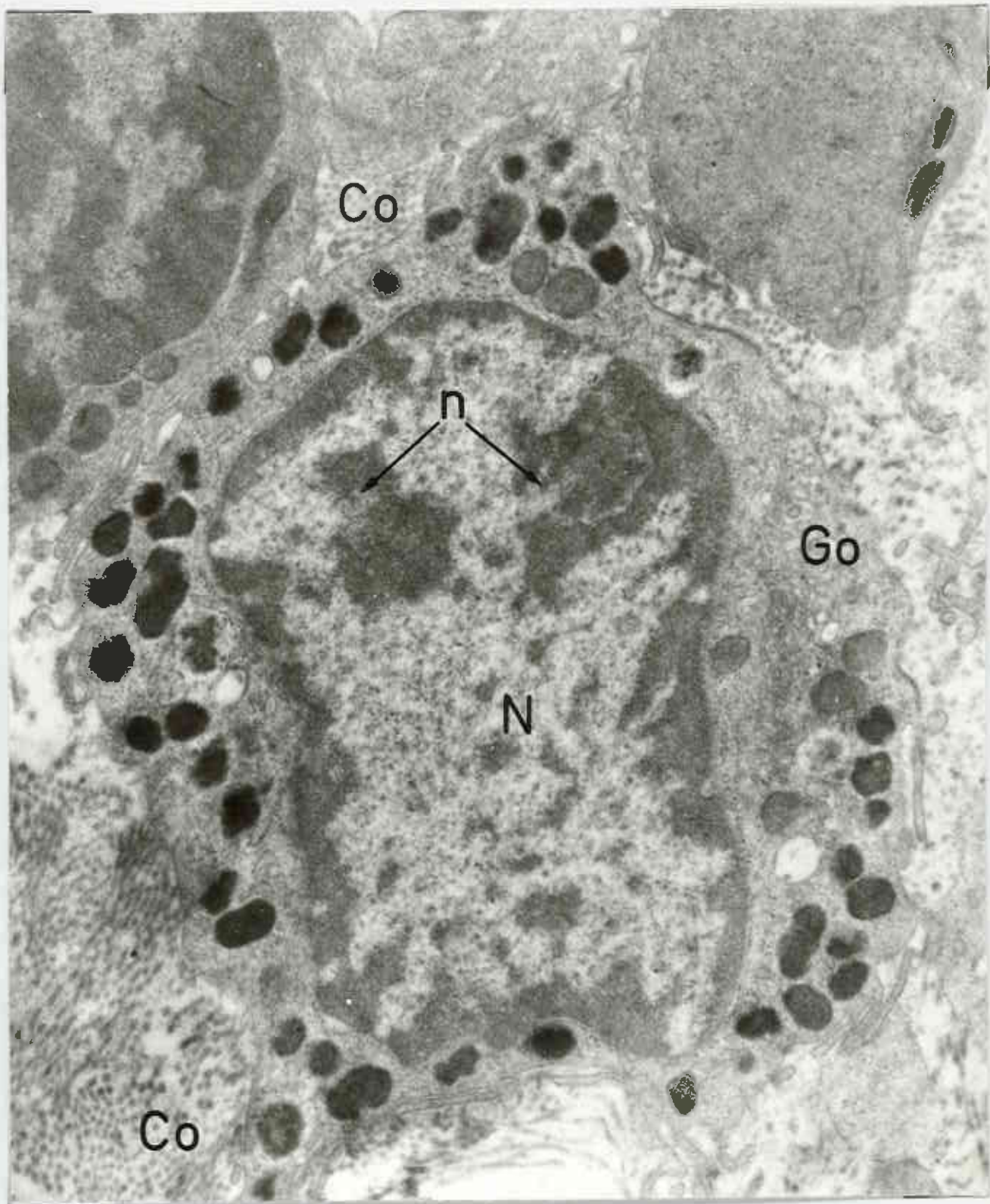




Şekil 9. Şekil 8 deki mast hücresinin büyütülmüş görünümü. Hücre yüzeyindeki mikrovilluslar, sitoplazmada azalmış endoplazmik retikulum, ribozomlar ve fazla sayıda farklı olgunlaşma safhasındaki granüller ayırt edilmektedir. Ok, perigranüler bir membranı işaretlemektedir. X 24.000



Şekil 10. Büyük çekirdekli (N), mikrovilluslu (Mv) ve oldukça fazla granüllü ara tip bir mast hücresi. Çekirdek iki adet nukleolusu (n) taşımaktadır. Sağ alt köşede, lenf düğümü stromasına ait kollagen demetlerin (Co), enine kesitleri görülmektedir. X 16.500

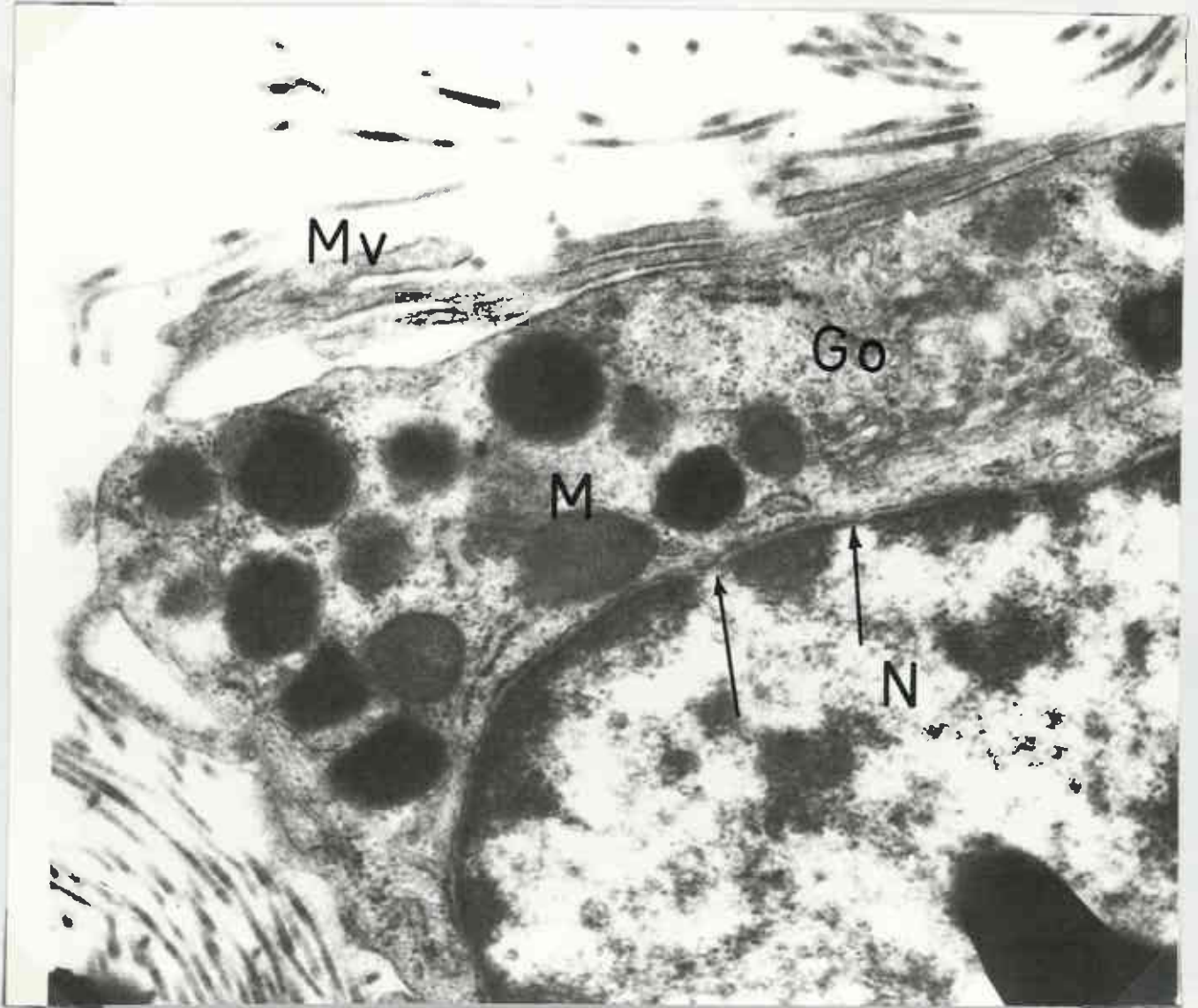


Şekil 11. Şekil 10'un üst yarısının büyütülmüş görünümü. Golgi sahası (Go), farklı olgunlaşma safhelerindeki granüller (Gr), gözlenmektedir. 2 nolu granülde muhtelif progranüllerin birleşmiş olduğu aşıkarak görülmektedir. X 36.000





Şekil 12. Ara tip bir mast hücrelerinde çekirdeğin unit membranı ve porları (ok); Go Golgi kompleksi; M, mitokondrium ve granüller görülmektedir. X 63.000

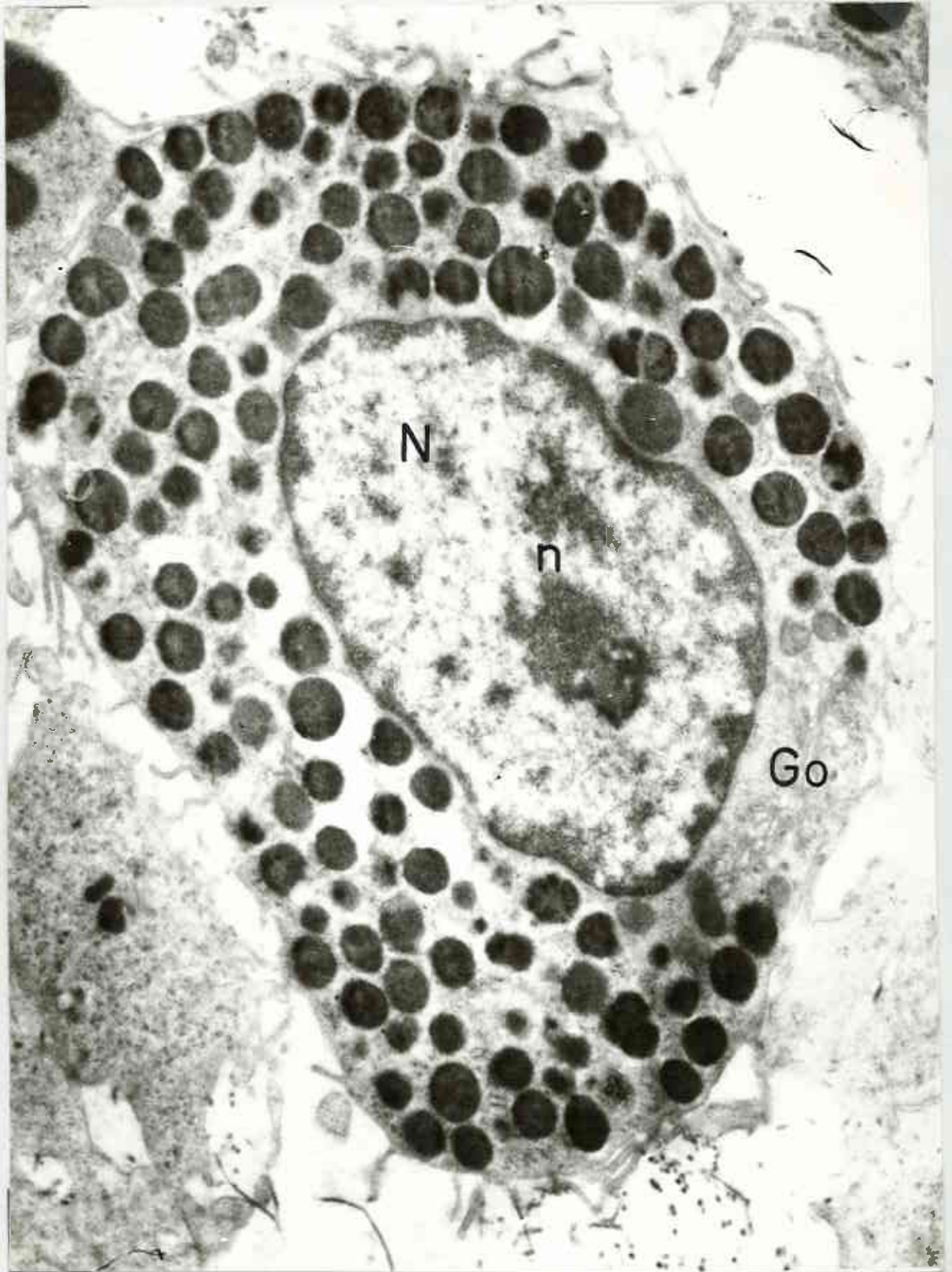




Şekil 13. Ara tip mast hücrelerinin ufak bir bölümü. Mv, Mikroval-  
luslar; 3,4,6 cı safhalardaki granüller; Co, kollagen  
fibril demetler aşıkardır. X 63,000

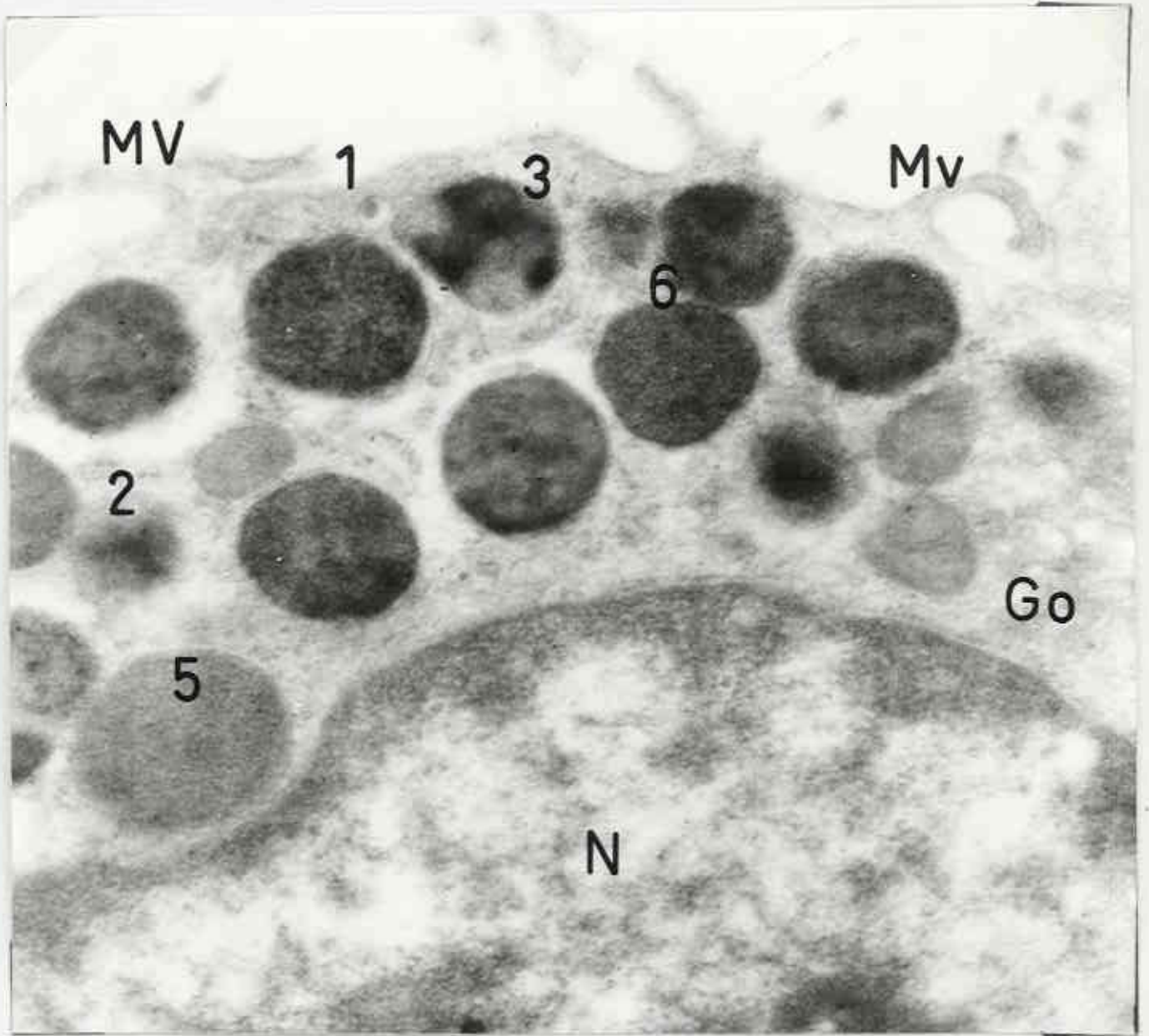


Şekil 14. Ergin tip mast hücresi. Bir adet nukleolusu (n), ihtiva eden çekirdek oldukça büyüktür. Sitoplazma, ileri olgunluk derecelerindeki, pek çok granüllerle tıkabasa dolu görünümündedir. Çekirdeğin sağında belirgin bir Golgi kompleksi (Go) ve hücre yüzeyinde pekçok mikrovilluslar dikkati çekmektedir. X 24.000



Şekil 15. Şekil 14'deki ergin hücrenin bir bölgesinin büyütülmüş görünümü. Çoğunluğu 5 ve 6 cı safhadaki granüller teşkil etmekle beraber, az sayıdaki daha erken safhadaki granüllere de rastlanmaktadır. Bu ergin hücrenin bu bölgesinde, bir tek progranül (1), 2 ve 4 cü safhalardaki granüller de ayırt edilmektedir. 5 ve 6 olgun tip granüllerdir. Şeklin sağında, Golgi sahası (Go) ve hücre yüzeyindeki mikrovilluslar aşıkâr olarak gözlenmektedir. X 63.000





Şekil 16. Ergin tip mast hücresi. Sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulum ve polizom yokluğu, buna karşılık olgun safhalardaki granüllerin bolluğu aşikâr olarak görülmektedir. X 27.000

