

## SIÇAN NASAL MAST HÜCRELERİNİN IŞIK MİKROSKOPİK SEVİYEDE HİSTOLOJİK METODLARLA İNCELENMESİ

Dr. Aydan CANBİLEN, Dr. Refik SOYLU

S.Ü.T.F. Morfoloji Anabilim Dalı

### ÖZET

*Bu çalışmada, sıçan nasal mast hücrelerinin morfolojisi alsian mavisi- safranin 0 ve toluidin mavisi boya metodları kullanılarak ışık mikroskopik seviyede incelendi.*

*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilen 10 adet albino dişi ve erkek sıçan eterle bayıldı ve regio respiratoria nasi'den frontal kesiler alınarak Carnoy fiksatifinde oda ısısında üç gün bekletildi. Alkol tabiki yapılan dokulardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak alsian mavisi- safranin 0 ve toluidin mavisi ile boyanarak incelendi.*

*Yapılan çalışma sonunda, nasal mast hücrelerinin mukozal ve bağ dokusu mast hücreleri olmak üzere iki alt grubunun olduğu, alsian mavisi -safranin 0 boyasının mukozal mast hücrelerini mavi, bağ dokusu mast hücrelerini ise kırmızı ve kırmızımtrakmavi renkte boyadığı, toluidin mavisinin ise bütün mast hücrelerini koyu menekşe- mor boyadığı görüldü.*

*Anahtar Kelimeler: Sıçan, mast hücresi, burun mukoza ve bağ dokusu*

### SUMMARY

#### *Light Microscopic Investigation of Nasal Mast Cells of Rat Using Histological Methods*

*In this light microscopic study, morphology of nasal mast cells was investigated in rats using alcian blue- safranin 0 and toluidin blue staining methods.*

*The investigation was performed on 10 male and female albino rats which were obtained from the Experimental Animal Laboratory of the Faculty of Medicine, Selçuk University. 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 micrometer sections were cut from the paraffin blocks using rotary microtome and stained with alcian blue-safranin 0 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 0 solution while connective tissue mast cells stained red and reddish- blue. Both mast cell populations stained dark violet by toluidin blue solution.*

*Key Words: Rat, mast cell, mucosa and connective tissue of nose*

### GİRİŞ

Mast hücreleri ilk olarak 1863 yılında von Renklinghausen tarafından kurbağa peritonunda görülmüş ve tanımlanmıştır (1,2,3). Bununla beraber mast hücrelerinin ilk klasik tanımlaması ancak 1879 yılında bir tıp öğrencisi olan Ehrlich tarafından yapılmıştır (1).Ehrlich granül içeren bu hücrelerin mavi

bazik anilin boyası ile kırmızı ve mor boyandığını görmüş ve bu hücrelerin fazla beslenmiş hücreler olduklarına inanarak Almanca'da beslenme anlamına gelen "Masten" kelimesinden türeyen "mast hücresi" adını vermiştir (1,2,3,4,5).

Mast hücreleri (mastosit, labrosit) gevşek bağ dokusunda, bazı organların fibröz kapsülü içinde,

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 (6,7,8,9,10). Mast hücrelerinin sitoplazmaları bazik boyalarla boyanan granüllerle doludur ve bu granülleri sayesinde kolayca tanınırlar (11,12).

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) (13,14,15,16,17,18,19). Bağ dokusu mast hücrelerine tipik mast hücreleri de denir. Seröz kaviterlerde, intestinal submukozada (14), deride, bağ dokusu içinde, düz ve çizgili kasta bulunur (16). Bağ dokusu mast hücreleri formaldehit fiksasyonundan etkilenmez ve proteoglikan olarak heparin içerirler (18, 20, 21).

Mukozal mast hücrelerine atipik mast hücreleri de denir. Bunlar gastrointestinal sistemde (13) ve nasal mukozada (9,14) görülmektedir. Mukozal mast hücreleri laboratuvarlarda rutin olarak kullanılan formaldehit içeren birçok fiksatiften etkilenir. Böyle fiksatiflerle tesbit edilen dokularda mukozal mast hücreleri gösterilemez (17,18). Formalin ile fiksasyon normal boyanma şartlarında mukozal mast hücre granüllerine boya bağlanmasını engellemektedir (15). Mukozal mast hücreleri kondroidin sulfat denen bir non- heparin proteoglikan içermektedir (17,18,22).

Sıçan kullanılarak yapılan bu araştırmanın amacı mast hücrelerinin varlığını nasal dokuda tesbit etmek ve alsian mavisi- safranin 0 ve toluidin mavisi boya metodlarını uygulayarak alt gruplarının boyanma özelliklerini incelemektir.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada aynı bakım ve beslenme koşullarında yetiştirilen on adet albino erkek ve dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar eterle bayıldıktan sonra regio respiratoria nasi'den frontal kesiler alınarak tesbit için Carnoy fiksatifi içinde 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.

Preparatlar alsian mavisi- safranin 0 ve toluidin mavisi boya metodları kullanılarak boyandı. Boyanan kesitler Olympus BH-2 ışık mikroskobu ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

## BULGULAR

Nasal mukozadaki mast hücrelerinin alsian mavisi- safranin 0 boya metodu ile açık pembe zemin üzerinde mavi boyalı granüller içerdiği (Resim 1), toluidin mavisi ile boyandığında ise mast hücrelerinin metakromazi göstererek koyu menekşe - mor boyandığı görüldü (Resim 2). Mukozal mast hücrelerinin bağ dokusu mast hücrelerine nazaran daha küçük olduğu ve alsian mavisi- safranin 0 boya metodu ile boyandığında sadece mavi boyandığı, granüllerin az olduğu hücrelerde çekirdeğin açık pembe renkte boyandığı tesbit edildi (Resim 1).

Nasal bağ dokusu mast hücreleri incelendiğinde, alsian mavisi -safranin 0 ile boyanan kesitlerdeki mast hücrelerinin granüllerinin kırmızı ve mavi boyandığı, bazı mast hücrelerinde ise hem kırmızı hem de mavi boyanan granüllerin bulunduğu gözlemlendi (Resim 3). Toluidin mavisi ile mast hücre granülleri koyu menekşe- mor renkte boyandı (Resim 4).

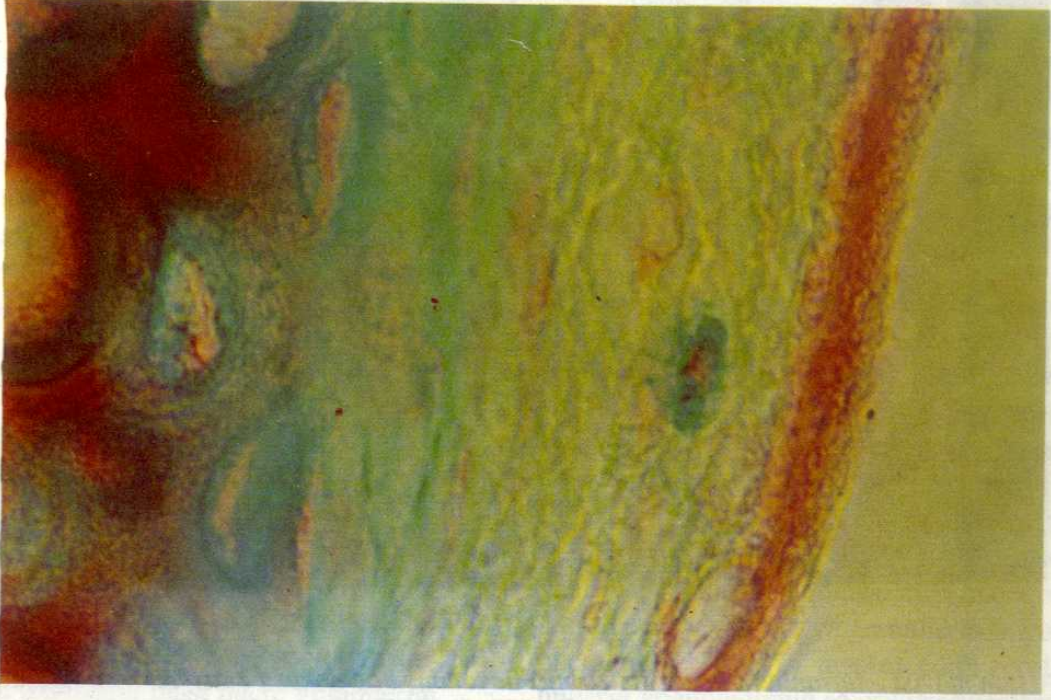
Mast hücrelerinin şekillerinin mukozada ve bağ dokusunda oval, yuvarlak ve iğ şekilli olduğu çekirdeklerinin merkezi yerleştiği; mukozal mast hücre sayısının bağ dokusu mast hücre sayısından daha az olduğu, mast hücrelerinin genelde kas dokusu, bezler ve damarlar çevresinde yerleştiği tesbit edildi.

## TARTIŞMA

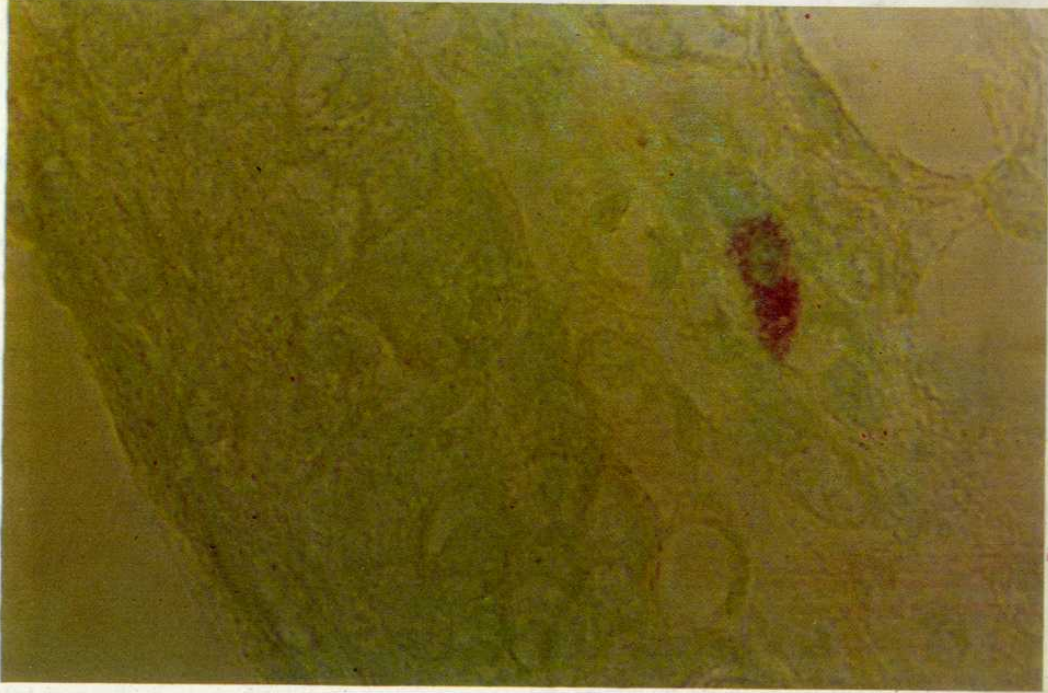
Literatürler incelendiğinde mast hücrelerinin birçok organda bulunduğu gibi solunum sisteminde de yer aldığı gözlenmiştir (6,7,8,9,10). Mast hücreleri nasal sekresyonda, nasal mukozada, tükürükte ve bronşial lavajda gözlenmiş (23) ve bunların dağılımının uniform olmadığı bildirilmiştir (24).

Mast hücrelerini boyamak için çeşitli boya metodları kullanılmaktadır. Bu boya metodlarından en çok kullanılanları toluidin mavisi ve alsian mavisi - safranin 0 boya metodlarıdır.

Şeftalioğlu (25) astra mavisi- safranin 0 boya metodunu kullanarak hazırladığı preparatlarda bazı mast hücrelerinin mavi, bazılarının kırmızı bazılarının ise kırmızımtrak- mavi boyandığını gözlemiş,



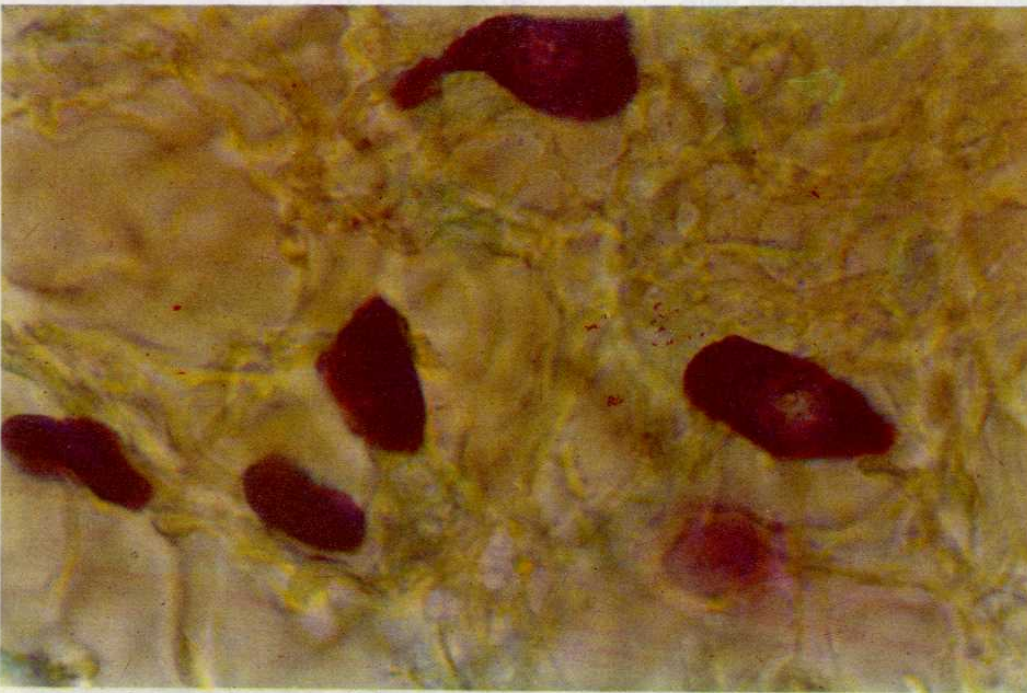
Resim 1. Alsiyan mavisi- safranin O boyası ile graniülleri mavi, çekirdeği pembe boyanmış mukozal mast hücresi, MB: X 1000.



Resim 2. Toluidin mavisi ile metakromazi göstererek graniülleri mor boyanmış mukozal mast hücresi. Çekirdek graniüllerin yoğunluğunun az olması nedeniyle net olarak görülebilmektedir, MB:X 1000.



Resim 3. Alsiyan mavisi - safranin O boyası ile kırmızı boyanmış bağ dokusu mast hücresi. Granüllerin yoğun olması nedeniyle çekirdek seçilememektedir, MB: X 1000



Resim 4. Toluidin mavisi ile koyu menekşe- mor boyanan bağ dokusu mast hücreleri. Çekirdekler açık mavi boyalı olarak görülebilmektedir, MB: X 1000.

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 mavis - safranin 0 boyası ilave etmiş ve birinci tüpün kırmızı, ikinci tüpün mavi, sonuncusunun ise kırmızıtrak- mavi bir renk aldığını gözlemiştir. Tüp deneyinin sonucunda, preparatlarda gözlenen mavi boyalı mast hücrelerinin histamin, kırmızı boyananların heparin, kırmızıtrak- mavi boyananların ise histamin ve heparini birlikte içerdikleri kanısına varmıştır.

Gomez ve arkadaşları (18) yaptıkları araştırmada insan nasal mukozal mast hücrelerinin alsian mavis- safranin 0 boya metodu ile boyandığında granüllerin mavi, zeminin ise uçuk pembe boyandığını; granüllerin hiç birinin kırmızı safranin 0 boyası almadığını gözlemişlerdir. Strobel ve arkadaşları (26) ise toluidin mavis boya metodu ile yaptıkları deneylerde toluidin mavisinin mast hücre granüllerini koyu menekşe renkte boyadığını tesbit etmişlerdir.

Alsian mavis- safranin 0 ve toluidin mavis boya metodlarının kullanıldığı bu çalışmada, alsian mavis-safranin 0 boyasının mukozal mast hücrelerinin

granüllerini mavi, çekirdeklerini ise pembe boyadığı gözlemlendi. Toluidin mavis ile mast hücrelerinin granüllerinin metakromazi göstererek koyu menekşe- mor, çekirdeklerinin ise açık mavi boyandığı görüldü. Mukozal mast hücrelerinin çekirdeklerinin oval veya yuvarlak olduğu ve merkezi yerleştiği, sayılarının ise bağ dokusu mast hücrelerine nazaran daha az olduğu tesbit edildi.

Nasal bağ dokusu mast hücrelerinin alsian mavis- safranin 0 boyası ile kırmızı, bazılarının ise kırmızıtrak- mavi boyandıkları gözlemlendi. Bağ dokusu mast hücrelerinin kırmızı boyanmasının, Şeftalioğlu'nun (25) bildirdiği gibi heparin içeriğinden, kırmızıtrak - mavi boyanmasının ise histamin ve heparinin birlikte bulunmasından kaynaklandığı düşünüldü. Toluidin mavis ile boyanan kesitlerde, bağ dokusu mast hücrelerinin metakromatik boyandığı ve granüllerin yoğun olduğu hücrelerde çekirdeğin maskelendiği görüldü. Granüllerin yoğunluğunun az olduğu hücrelerde çekirdeğin yuvarlak veya oval olduğu ve merkezi yerleştiği tesbit edildi. İncelenen bütün preparatlarda mast hücrelerinin damarlar, bezler ve kas dokusu çevresinde yerleştiği gözlemlendi.

## KAYNAKLAR

1. Archer RK. The mast cell. Journal of the Royal Society of Medicine 1980; 73: 318-319.
2. Atkins FM. Mast cells and fibrosis. Arch Dermatol 1987; 123: 191-193.
3. Bloom GD. A short history of the mast cell. Acta Otolaryngol (Stockh) 1982; 414: 87-92.
4. Jagatic J and Weiskopf R. A fluorescent method for staining mast cell. Arch Path 1966; 82: 430-432.
5. Melman SA. Mast cells and their mediators. Emphasis on their role in type I immediate hypersensitivity in canines. Int J Dermatol 1987; 26: 335-344.
6. Erkoçak A. Genel Histoloji, 4. Baskı. İstanbul; Okan Dağıtım Yayıncılık Ltd. Şti. 1983: 164.
7. Kalaycı Ş. Histoloji. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1986: 114.
8. Le Roy Ladurie F and Fuornier M. Tracheal globule leucocytes and subepithelial mast cells : a comparative study in the rat. Ann Ins Pasteur/ Immunol 1986; 137 D: 273-280.
9. Miecznic B. Mast cells in the cytology of nasal mucosa: a quantitative assesment and their diagnostic meaning. Ann Allergy 1980; 44: 106-111.
10. Ross MH and Reith EJ. Histology: A text and atlas. New York: JB Lippincott Company, 1985; 93.
11. Cowley EP and Hoch- Ligeti C. Association of tissue mast cells and skin tumors. Arch Dermatol 1961; 83: 146-150.
12. Soylu R. Sıçan mezenter lenf düğümü makrofajlarının değişik koşullarında yapısal niteliklerinin transmisyon elektron mikroskobu düzeyinde incelenmesi. S.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 1984; 1 (1): 195-220.
13. Bardadin KA and Schever P. Mast cells in acute hepatitis. J Pathol 1986; 149: 315-325.
14. Barrett KE and Metcalfe DD. Heterogeneity of mast cells in the tissue of the respiratory tract and other organ systems. Am Rev Respir Dis 1987; 135: 1190-1195.
15. Bienenstock S, Befus D, Denburg J, et al. Comparative aspects of mast cell heterogeneity in different species and sites. Int Archs Allergy appl Immun 1985; 77: 126-129.
16. Crowle PK and Reed ND. Bone marrow origin of mucosal mast cells. Int Arch Allergy appl Immun 1984; 73: 242-247.
17. Enerbäck L. Mucosal mast cells in the rat and in man. Int Archs Allergy appl Immun 1987; 62: 249-255.

18. Gomez E, Corrado OJ and Davies RJ. Histochemical and functional characteristics of the human nasal mast cell. *Int Archs Allergy appl Immun* 1987; 83: 52-56.
19. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, De Blois G and Schwarz LB. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease composition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4464-4468.
20. Jarrett EEE and Haig DM. Mucosal mast cells in vivo and in vitro. *Immunol Today* 1984; 5: 115-119.
21. Kirkpatrick CJ, Jones CJP and Stoddart RW. Lectin histochemistry of the mast cell: a light microscopical study. *Histochemical Journal* 1988; 20: 139-146.
22. Atkins FM, Friedman MM, Subba Rao PV and Metcalfe DD. Interactions between mast cells, fibroblasts and connective tissue components. *Int Archs Allergy appl Immun* 1985; 77: 96-102.
23. Otsuka H, Denburg J, Dolovich J, et al. Heterogeneity of metachromatic cells in human nose: a significance of mucosal mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 695-702.
24. Trotter CM, Salter DM, Wilson JA and Hall GH. A comparison of methods for nasal mast cell demonstration. *Rhinology* 1990; 28: 17-23.
25. Şeftalioğlu A. 48/80 ile stimüle olmuş sıçan inguinal lenf düğümü mast hücrelerinin histokimyasal ve morfolojik değişiklikleri. *Deniz Tıp Bülteni* 1966; 12:1-20.
26. Strobel S, Miller HRP and Ferguson A. Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. *J Clin Path* 1981; 34: 851-858.