

KROMOLİN SODYUM İLE STABİLİZE EDİLMİŞ NASAL MAST HÜCRELERİNİN IŞIK MİKROSKOBİK SEVİYEDE İNCELENMESİ

Dr. Aydan CANBİLEN *, Dr. Ahmet SALBACAK **, Dr. Selçuk DUMAN *

* S.Ü.T.F. Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, ** S.Ü.T.F. Anatomi Bilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, bir bis-kromon türevi olan kromolin sodyum'un sıçan nasal mast hücrelerine olan etkisi ışık mikroskopik seviyede incelendi.

Kullanılan 20 adet albino dişi ve erkek sıçan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edildi.

Sıçanlar iki gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki 10 sıçan hiçbir madde verilmeden eterle bayıltıldı ve regio respiratoria nasi'den frontal kesiler alındı. İkinci gruba inhalasyon yoluyla kromolin sodyum verildikten sonra 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 O boyaları ile boyanarak incelendi.

Sonuçta, nasal mukozada gözlenen mast hücre degranülasyonunda hiç bir azalmanın olmadığı, buna karşılık bağ dokusu mast hücre degranülasyonunda belirgin ölçüde bir azalmanın olduğu tesbit edildi.

Anahtar Kelimeler: Sıçan, nasal mast hücresi, kromolin sodyum, degranülasyon.

SUMMARY

Light Microscopic Investigation of Stabilized Nasal Mast Cells of Rats

In this light microscopic study, the effects of cromolyn sodium on nasal mast cells of rat was investigated using alcian blue-safranin O and toluidin blue staining methods.

The investigation was performed on 20 male and female albino rats which were obtained from the Experimental Animal Laboratory of the Faculty of Medicine, Selçuk University.

Rats were divided into two groups of ten rats each. First group was considered as control group. Cromolyn sodium was administered to the second group. 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 and stained with alcian blue-safranin O and toluidin blue solutions.

In conclusion, this study revealed that, as an inhibitory agent, cromolyn sodium is ineffective on nasal mucosal mast cells but significantly effective on connective tissue mast cells.

Key Wods: Rat, nasal mast cell, cromolyn sodium, degranulation.

GİRİŞ

Mast hücreleri yerleşimleri, boyanma özellikleri, timus bağımlılıkları, ultrastrüktürleri ve degranülasyon maddelerine olan cevaplarına göre iki tiptir; bağ dokusu mast hücreleri ve mukozal mast hücreleri (1-7).

Bağ dokusu mast hücreleri (tipik mast hücreleri)

seröz kaviteelerde, intestinal submukozada (2), deride, bağ dokusu içinde, düz ve çizgili kasta bulunur (4). Mukozal mast hücreleri (atipik mast hücreleri) gastrointestinal sistemde (1) ve nasal mukozada (2,8) görülmektedir.

Mast hücrelerinin sitoplazmaları bazik boyalarla metakromatik boyanan, yuvarlak, oval veya köşeli şekillerde ve membranla çevrili, homojen görümlü

granüllerle doludur (9,10). Mast hücreleri stres, sıcak, soğuk, basınç gibi fiziksel (11), morfin sulfat, polimiksin B(12), 48/80 maddesi, kas gevşeticiler ve nörohormonlar (11) gibi kimyasal stimulanlardan etkilenerek degranüle olurlar. Degranülasyondan sorumlu immunolojik etken immuno globulin E'dir. Degranülasyon olayı aslında mast hücresi içindeki histaminin dışarı salınması olayıdır.

Mast hücrelerinin degranülasyonunu stimüle eden maddelerin yanısıra inhibe edici maddelerde mevcuttur. Bunlardan bazıları şunlardır: quarcetin, acaceticin, chrysin, apigenin, tetrazol, dexantrazol (13) ve kromolin sodyum'dur (sodyum kromoglikat) (14-15).

Bu maddeler hücre içinde siklik AMP düzeyini yükselterek kalsiyumun içeri girişini ve hücre içinden mobilizasyonunu inhibe ederler. Böylece antijen-antikor birleşmesinin, histamin salıverici ilaç ve kimyasal etkenlerin ve irritan maddelerin yaptığı, histamin, lökotrienler gibi bronkokonstriktör ve pro-inflamatuvar otakoid salıverilmesini inhibe eder. Etkileri belirli bir allerjen türüne yönelik değildir. Hangi allerjene bağlı olursa olsun hem klasik IgE antikorlarının hem de IgG antikorlarının aracılık ettiği allerjik astmaya, allerjik rinite ve allerjik konjunktivite karşı koruma sağlarlar (16).

Kromolin sodyum klinikte ilk defa 20 sene önce astma profilaksisinde direkt olarak insanlarda kullanılmıştır (17). Allerjik rinit'in tedavisinde de kromolin sodyumun yararlı olduğu bildirilmiştir (18).

Kromolin sodyum sentetik bir bis-kromon türevidir ve suda çözünme özelliği vardır. Bronşial astmada inhalasyon, allerjik rinit ve konjunktivite karşı ise lokal uygulama suretiyle kullanılır (16).

Sıçan kullanılarak yapılan bu araştırmanın amacı, kromolin sodyumun rat'ın nasal mast hücrelerine olan etkisini araştırmaktır.

MATERYEL VE METOD

Bu çalışmada, aynı bakım ve beslenme koşullarında yetiştirilen 20 adet albino erkek ve dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlardan 10 tanesi kontrol grubu olarak kullanıldı ve bunlar hiçbir madde verilmeden eterle bayıldıktan sonra regio respiratoria nasi'den frontal kesiler alınarak tesbit için Carnoy fiksatifinde oda sıcaklığında üç gün bekletildi.

Geri kalan 10 sıçanın burunları içine bir enjektör yardımı ile kromolin sodyum püskürtüldükten sonra etkisini göstermesi için 15 dakika beklendi (17). Burunlar kontrol grubundaki gibi kesilerek Carnoy fiksatifinde oda sıcaklığında üç gün bekletildi.

Alkol takibi yapılan dokulardan parafin bloklar hazırlanarak bir gece buzdolabında bekletildikten sonra, bloklardan rotatif mikrotom yardımı ile 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak deparafinize edildi ve boyamaya hazır hale getirildi. Preparatlar alsian mavisi-safranin O ve toluidin mavisi boya metodları kullanılarak boyandı. Boyanan kesitler Olympus BH-2 ışık mikroskobu ile incelenerek fotoğrafları çekildi.

BULGULAR

Kontrol grubu sıçanların nasal mukozaları ve bağ dokusu, mast hücreleri yönünden incelendiğinde, nasal mukozadaki mast hücrelerinin küçük, granüllerinin ise az olduğu gözlemlendi. Alsian mavisi-safranin O boya metodu ile çekirdek açık pembe, sitoplazma ise mavi renkte boyandı. Toluidin mavisi ile mast hücrelerinin sitoplazmalarının koyu menekşemor renkte, çekirdeklerinin ise açık mavi renkte boyandığı gözlemlendi. Mukozada hem granüle hem de degranüle mast hücrelerine rastlandı (Resim 1). Bağ dokusu mast hücrelerinin mukozal mast hücrelerine nazaran daha büyük olduğu, daha fazla granül içerdiği ve alsian mavisi-safranin O boya metodu ile kırmızı ve kırmızımtırak-mavi boyandığı görüldü. Bağ dokusunda da hem granüle hem de degranüle mast hücrelerinin bulunduğu, ancak degranüle mast hücrelerinin sayısının granüle mast hücrelerine oranla daha fazla olduğu gözlemlendi (Resim 2). Toluidin mavisi ile bağ dokusu mast hücrelerinin mukozal mast hücreleri ile aynı renkte boyandığı tesbit edildi.

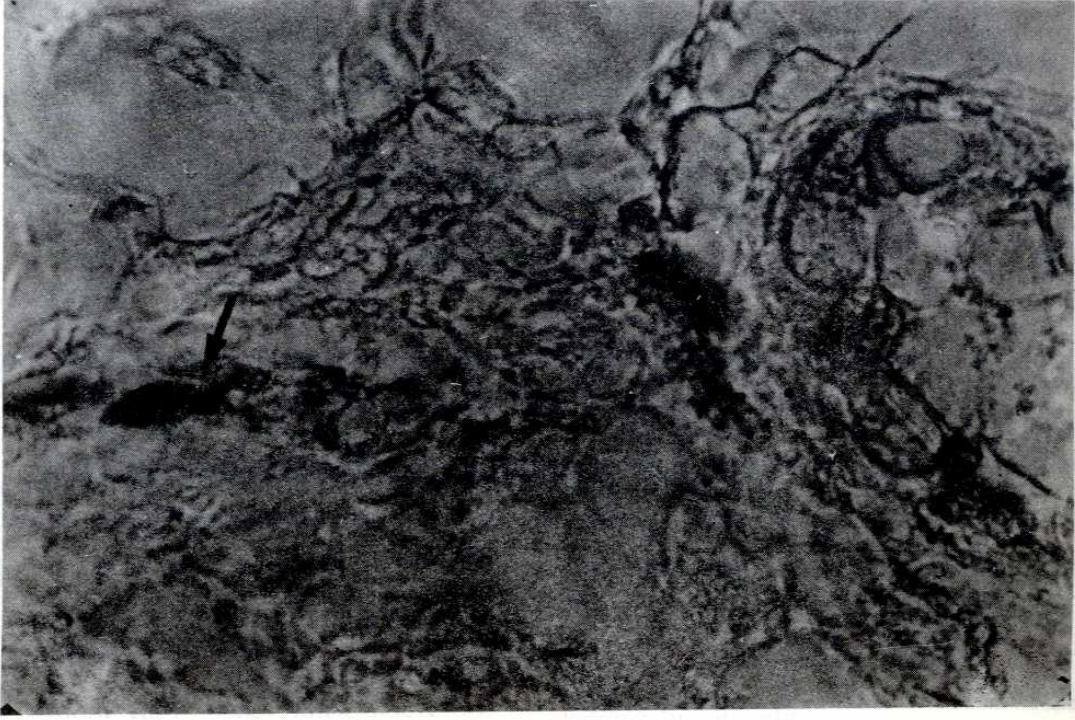
Kromolin sodyum verilen sıçanların nasal mukozalarındaki mast hücre sayısının kontrol grubundakilerden farklı olmadığı görüldü (Resim 3). Bağ dokusu mast hücre sayısının ise kontrol grubundakilerle aynı olduğu, ancak degranüle mast hücre sayısının kontrol grubuna oranla yok denecek kadar az olduğu tesbit edildi (Resim 4).

TARTIŞMA

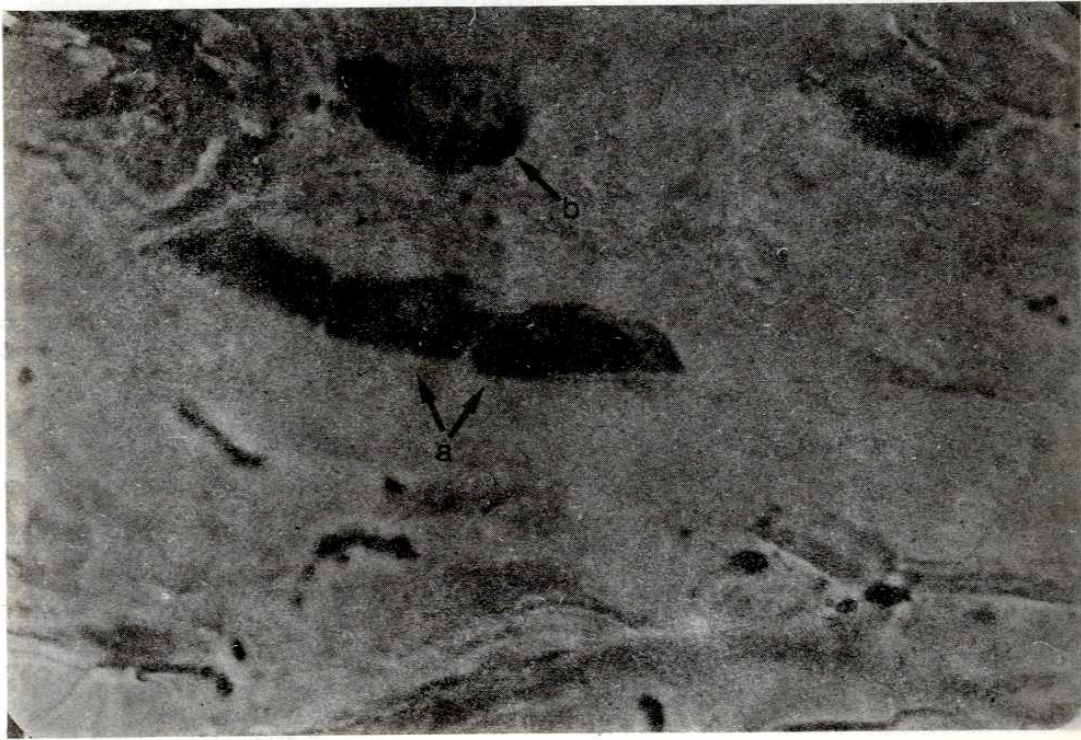
Quarcetin, acatecin, chrysin, apigenin, phloretin, tetrazol, doxatrazol (19), kromolin sodyum(14) ve nedokromil sodyum'un (16) mast hücrelerinde degranülasyonu inhibe edici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Disodyum kromoglikat olarak da bilinen kromolin sodyum mast hücre degranülasyonu ile birlikte görülen profeksi durumlarında mast hücrelerini stabilize etme özelliğinde olan bir lipofilik tuzdur (14,15).

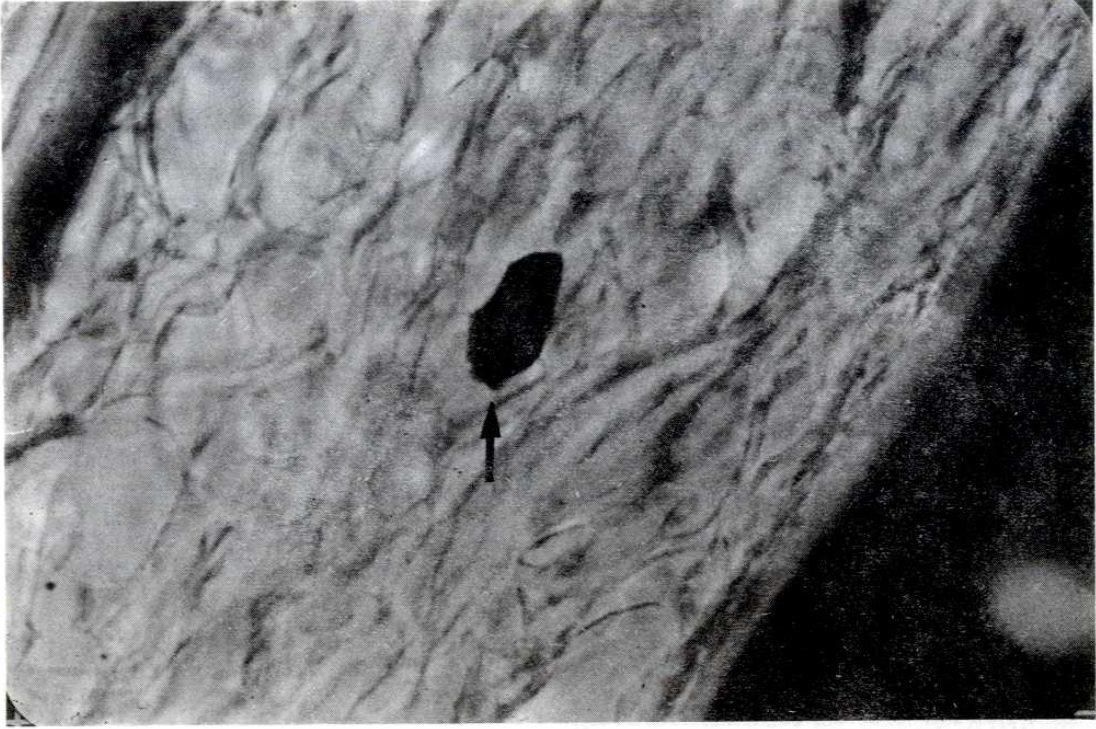
Befus ve arkadaşları (19) insan intestinal lamina



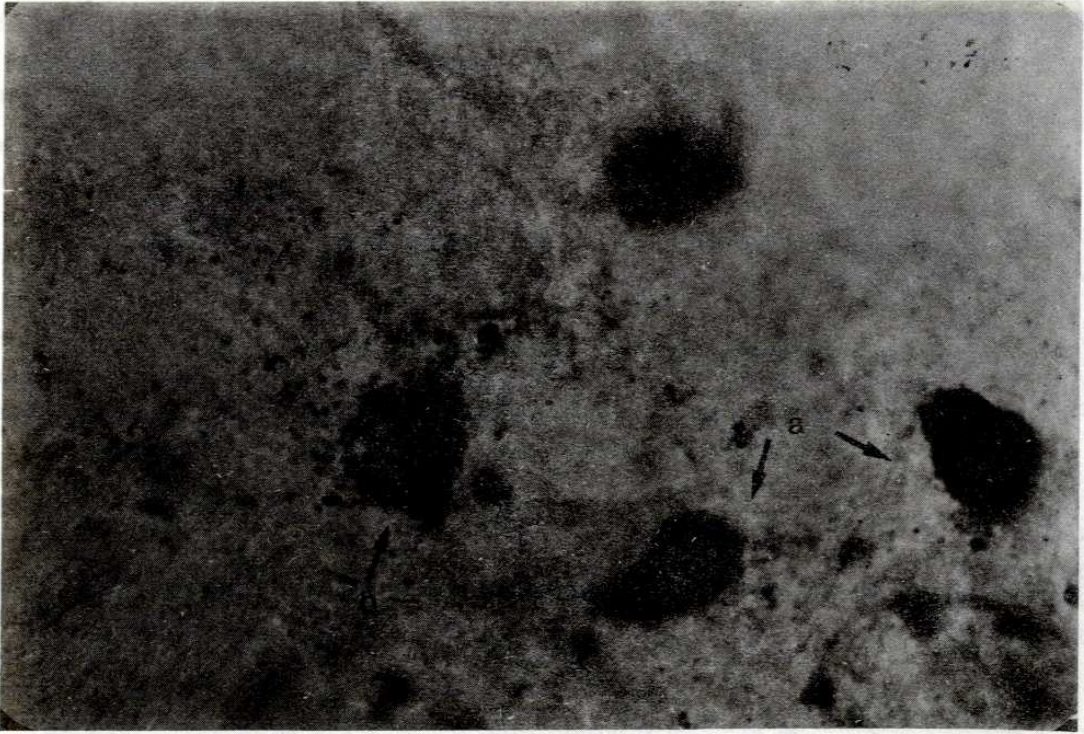
Resim 1. Kontrol grubunda mukozal mast hücresinin görünümü.
Alcian mavisi-safranin 0, MB: X1000



Resim 2. Kontrol grubunda bağ dokusu mast hücrelerinin görünümü.
a) Granüle mast hücresi, b) Degranülasyonunu tamamlamak üzere olan mast hücresi.
Toluidin mavisi, MB: X1000.



Resim 3. Kromolin sodyum verilen gruptaki mast hücresi.
Toluidin mavisi, MB:X1000



Resim 4. Kromolin sodyum verilen grupta mast hücrelerinin görünümü.
a) Granüle mast hücresi, b) Degranülasyona yeni başlamış bir mast hücresi. Toluidin mavisi, MB: X1000.

propria'sından izole ettikleri mast hücrelerinden salgılanan histamine kromolin sodyumun etkisini incelemişler ve sonuçta kromolin sodyumun histamin salgılanmasının (degranülasyonun) inhibisyonunda istatistiksel bir öneminin olmadığını görmüşlerdir.

Bienenstock ve arkadaşları (17) yaptıkları araştırma sonunda mukozal mast hücrelerinden salgılanan antijenle indüklenmiş histamine kromolin sodyumun hiçbir etkisinin olmadığını, ancak bağ dokusu mast hücreleri üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Okuda ve arkadaşları (20) bu konuda yaptıkları in vitro çalışma sonunda mukozal mast hücrelerinin kromolin sodyum'a duyarlı olduklarını, bağ dokusu mast hücrelerini ise duyarlı olduklarını göstermişlerdir.

Bu çalışmada, birçok sistemik mastositozis ve yiyecek allerjisinde iyileştirici etkiye sahip olan kromolin sodyumun ratın nasal mast hücreleri üzerindeki etkisi araştırıldı.

Çalışmanın sonucunda, nasal mukozada gözlenen mast hücre degranülasyonu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kromolin sodyum verilen gruptaki degranülasyonda hiçbir azalmanın olmadığı

gözlemlendi. Bu sonuç, diğer araştırmacıların da bildirdiği gibi kromolin sodyumun genel olarak mukozal mast hücrelerindeki degranülasyonu inhibe etmediğini göstermiştir.

Nasal bağ dokusu hücreleri incelendiğinde, kromolin sodyum verilen gruptaki degranüle mast hücre sayısının kontrol grubundakine nazaran dikkati çekecek kadar az olduğu gözlemlendi. Bu sonuç, kromolin sodyumun nasal bağ dokusu mast hücre degranülasyonunda oldukça etkili bir madde olduğunu göstermiştir. Mukozal ve bağ dokusu mast hücrelerinin degranülasyonundaki bu farkın mast hücre degranülasyonundan sorumlu IgE moleküllerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü bağ dokusu mast hücreleri sadece yüzeyel IgE molekülleri içerirken, mukozal mast hücreleri hem yüzeyel hem de sitoplazmik IgE molekülleri içermektedir. İki IgE molekülünün spesifik bir antijenle mast hücre yüzeyinde köprülenmesi sonucu degranülasyonun meydana geldiği ve inhibitör maddenin de bu köprülenmeyi engellediği bilinmektedir.

Sonuç olarak; mukozal mast hücrelerinde, kromolin sodyum'un yüzeyel IgE moleküllerini inhibe ettiği, sitoplazmik IgE moleküllerini ise inhibe etme özelliğinin olmaması nedeniyle degranülasyon oluştuğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Bardadin KA and Schever P. Mast cells in acute hepatitis. *Journal of Pathology* 1986; 149:315-25.
2. Barrett KE and Metcalfe DD. Heterogeneity of mast cells in the tissues of the respiratory track and other organ systems. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 1190-5.
3. Bienenstock S, Befus D, Denburg J, Goto T, Lee T, Otsuka H and Shanahan F. Comparative aspects of mast cells heterogeneity in different species and sites. *Int Archs Allergy appl Immun* 1985; 77: 126-9.
4. Crowle PK and Reed ND. Bone marrow origin of mucosal mast cells. *Int Arch Allergy appl Immun* 1984; 73:242-9.
5. Enerbäck L. Mucosal mast cells in the rat and in man. *Int Archs Allergy appl Immun* 1987; 62:249-55.
6. Gomez E, Corrado OJ and Davies RJ. Histochemical and functional characteristics of the human nasal mast cell. *Int Archs Allergy appl Immun* 1987; 83:52-6.
7. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, De Blois G and Schwartz LB. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease composition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83:4464-8.
8. Miecznic B. Mast cells in the cytology of nasal mucosa: a quantitative assessment and their diagnostic meaning. *Ann Allergy* 1980; 44:106-111.
9. Cawley EP and Hoch-Ligeti C. Association of tissue mast cells and skin tumors. *Archives of Dermatology* 1961; 83: 146-50.
10. Lever WF and Schaumburg-Lever G. Mast cells. In: *Histopathology of the skin*. 7 th ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1990; 62.
11. Dvorak AM, Mihm MC and Dvorak HF. Morphology of delayed-type hypersensitivity reactions in man. *Laboratory investigation* 1976; 34:179-91.
12. Ellis HV, Johnson AR and Moran NC. Selective release of histamine from rat mast cells by several drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1970; 175:627-31.
13. Pearce FL, Befus AD and Bienenstock J. Mucosal mast cells. III. Effect of quercetin and other flavonoids on antigen-induced histamine secretion from rat intestinal mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:819-23.

14. Berman BA and Ross RN. Mast cells: Part II. *Cutis* 1984; 33(5): 448-52.
15. Wynn SD. Mast cell stabilizers, anticholinergics, corticosteroids and troleandomycin. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 1100-3.
16. Kayaalp O. *Tıbbi farmakoloji 2. Cilt. 6. Baskı.* Ankara: Feryal Matbaacılık 1992; 1610.
17. Pearce FL, Al-Laith M, Bosman L, Brostoff J, Cunniffe TM, Flint KC, Hudspeth BN, Jaffar ZH, Johnson NMcl, Kassessinoff TA, Lau HYA, Lee PY, Leung KBP, Liu WL and Tainsh KR. Effects of sodium cromoglycate and nedocromil sodium on histamine secretion from mast cells from various locations. *Drugs* 1989; 37(supp 1): 37-43.
18. Bienenstock J, Befus AD, Pearce F, Denburg J and Goodecre R. Mast cell heterogeneity: derivation and function, with emphasis on the intestine. *J Allergy Clin immunol* 1982; 70: 407-412.
19. Befus AD, Dyck N, Goodacre R and Bienenstock J. Mast cells from the human intestinal lamina propria: isolation, histochemical subtypes, and functional characterization. *Journal of Immunology* 1987; 138: 2604-10.
20. Okuda M, Ohnishi M and Otsuka H. The effects of cromolyn sodium on the nasal mast cells. *Annal Allergy* 1985; 55: 721-3.