

## MAST HÜCRELERİNİN IŞIK MİKROSKOBU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ\*

Murat Çetin Rağbetli\*\*, Dr.Alparslan Özyazıcı\*\*\*,  
Dr.Sait Bilgiç\*\*\*\*, Süleyman Kaplan\*\*\*\*\*,  
Dr.Nusret Çiftçi\*\*\*\*\*

### ÖZET

Bu çalışma sıçan ve tavşan mast hücrelerinin ışık mikroskobu düzeyinde araştırılmaları için yapıldı.

Materyaller, susa, alkol-formalin solusyonlarında tesbit edildi. Preparatlar, toluidine mavisi, Dominici, resorcin fuchsin, astra blue-safranin 0 (pH 2,3) ve Giemsa boyama yöntemleri ile boyandı.

Tavşanda mast hücreleri gözlenemedi. Sıçanların dil, özega-  
gus, mide, ince barsaklar ve lenf düğümlerinde mast hücre-  
leri bütün boyama yöntemleri ile gözlemlendi. Bulgular kaynak  
bilgiler ile karşılaştırılarak tartışıldı.

### SUMMARY

THE INVESTIGATION OF MAST CELLS UNDER THE LIGHT MICROSCOPE  
This study was carried out to investigate the mast cells

- \* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. ve Hacettepe Üni. Tıp Fak. Morfoloji Anabilim Dalları ortak çalışmalarından.
- \*\* Ondokuz Mayıs Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Araştırma Görevlisi.
- \*\*\* Hacettepe Üni, Tıp Fak. Morfoloji Anabilim Dalı Doçenti.
- \*\*\*\* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Morfoloji Anabilim Dalı Yardımcı Doçenti.
- \*\*\*\*\* Ondokuz Mayıs Üni, Tıp Fak. Morfoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi.
- \*\*\*\*\* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Morfoloji Anabilim Dalı Doçenti.

of the rat and rabbit under the light microscope.

The sections were fixed in Susa and alcohol - formalin (9/10 absolu alcohol and 1/10 formaldehyd) solutions. Preparations were stained by using the methods of toluidine blue, Dominici, resorcin fuchsin, astra blue-safranin O (pH 2,3) and Giemsa.

In rabbits the mast cells couldn't be observed. In tongue, esophagus, stomach, small intestine and lenf node of rat, the mast cells were seen by means of all the staining methods. The results were discussed with the present literature.

Key words: Mast cells, light microscope, rat, rabbit.

Anahtar kelimeler: Mast hücreleri, ışık mikroskobu, sıçan, tavşan.

Mast hücreleri, bazik boyalarla metakromatik boyanan sitoplazmik granüllerle tanınır<sup>1-3</sup>. "Labrosit" veya "Heparinosit" de denilen bu hücreler, yağ hücrelerinden sonra bağ dokunun en iri hücreleridir. İsimlerini de bu özelliklerinden dolayı alırlar (Mastosit: Semiz hücre). Mastositlerin büyüklükleri, şekil ve granüllerinin sayısı türden türe ve farklı dokulara göre değişir<sup>4</sup>. Gevşek bağ dokusunda yuvarlak veya oval olabilen hücrelerin, kan damarı civarında bulunanlarının boyu uzun, fibroz bağ dokuda ise daha değişik şekillerde bulunabilirler<sup>1,5</sup>. Mast hücrelerindeki değişiklikler çok hızlı olduğundan bu hücrelerin iyi tesbit edilebilmeleri için canlı dokuların ve vital boyaların kullanılması gerekmektedir<sup>6,7</sup>. Mast hücreleri alışılmış histolojik yöntemlerle kolayca farkedilmez ve çok defa gözden kaçarlar. Çünkü hücre granülleri su içeren solusyonlarla tesbit edildiğinde su ile temas sonucu granülleri boşalmaktadır. Hücrelerin gözlenebilmesinde en önemli nokta tesbit işlemidir<sup>8-10</sup>.

Memelilerin sindirim sistemi mukoza ve submukozası üzerinde birçok çalışmalar yapılmış, tesbit ve boyama özellikleri yönünden mukozal mast hücrelerinin, bağ dokusu mast hücrelerinden farklılıklar gösterdiği ortaya konmuştur. Bu amaçla araştırmacıların kullandığı tesbit solusyonları; Carnoy, formalin-asetik asit, kurşun asetat tamponlu solusyonlardır. Böylece sindirim sisteminde mast hücre topluluklarının farklı tesbit solusyonu istediği gösterilmiştir. Bundan dolayı mast hücreleri, bağ dokusu ve mukozal olmak üzere iki tipte incelenmiştir<sup>9,11-16</sup>.

Bu çalışmada tavşan ve sıçanlarda çeşitli tesbit solusyonları ve boyama yöntemleri kullanılarak mast hücrelerinin histolojik yapıları araştırıldı ve mevcut literatür bilgileri ışığında tartışıldı.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Bölümünden sağlanan ve ağırlıkları yaklaşık 200 gr, 15 adet sıçan ve ağırlıkları 3 - 3.5 kg'lık 15 adet dişi tavşan üzerinde yapıldı. Bir müddet aç bırakıldıktan sonra sıçanlara intraperitoneal; tavşanlara ise kulak veninden 1.5 gr/kg üreteran verildi.

Anestezi altında hayvanlardan dil, submandibular lenf düğümleri çıkarıldı. Göğüs kafesi açılarak özefagus, mide ve ince barsaklardan transvers ve longitudinal kesitler alındı. Organ parçaları ikiye bölünerek Susa ve alkol - formalin (9 kısım absolu alkol ve 1 kısım formaldehyde)'den oluşan tesbit solusyonlarına konuldu.

Susa'da 24 saat bekletilen dokular daha sonra yıkamaya alınmadan dereceli alkoller, ksilol ve parafinden geçirilerek bloklandı.

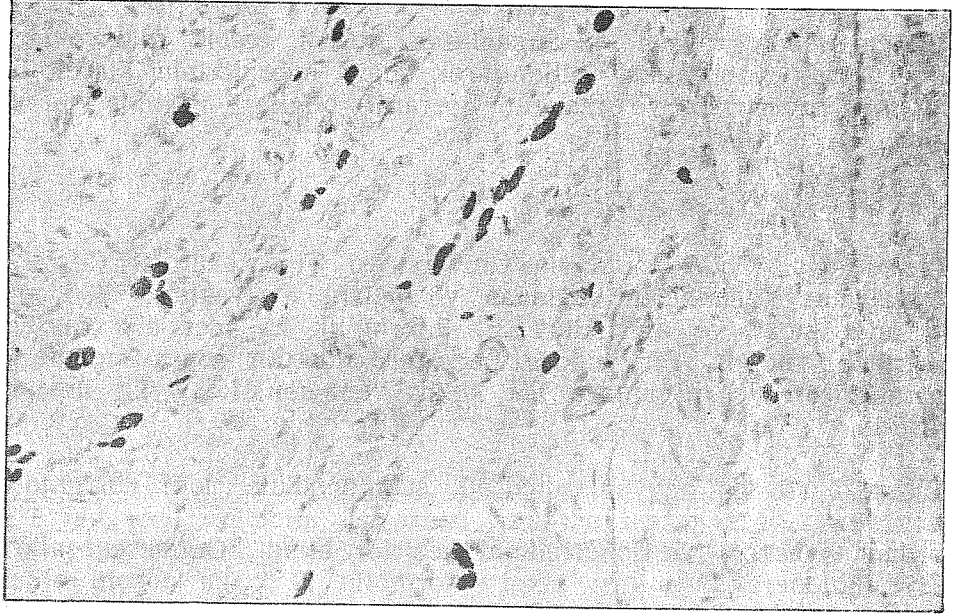
Alkol - formalin solusyonunda 24 saat tesbit edilen dokular doğrudan absolu alkole alınarak dereceli alkoller, ksilol ve parafinden geçirilerek bloklandı. Kesitler ayrı ayrı toluidine blue, Dominici, resorcin fuchsin, astra blue - safranin 0 (ph 2,3) ve Giemsa boyama metodları ile boyandılar<sup>17</sup>.

## BULGULAR

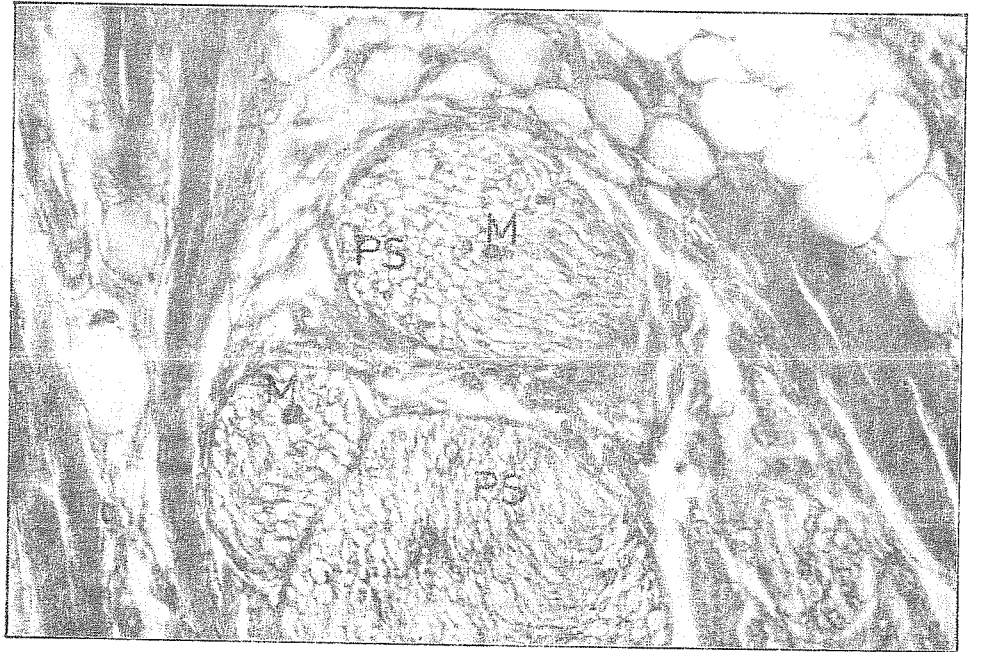
### I : Susa Tespitli Materyaller :

Susa solusyonu içinde tesbit edildikten sonra; toluidine blue, Dominici resorcin fuchsin, astra blue-safranin 0 ve Giemsa boyaları uygulanmış preparatların hepsinde mast hücreleri gözlemlendi (Resim 1-6).

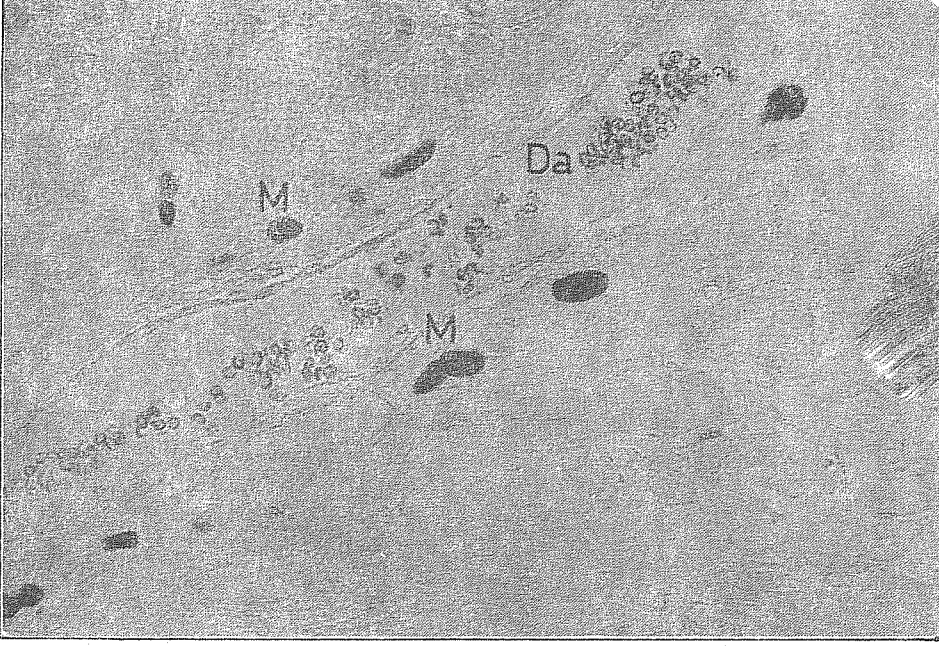
Uygulanan bütün boylarla dilde oldukça bol miktarda mast hücreleri görüldü. Hücrelerin çoğunluğu çekirdek gözlenemeyecek kadar bol granül içeriyordu. Özellikle damar duvarlarında yer almışlardı (Resim 3). Uzun oval veya yuvarlak şekilde olanlarına bolca rastlandı (Resim 1). Yer yer dildeki periferik sinir kesitleri içindeki bağ dokusu kılıflarında da gözlenebildi (Resim 2).



**Resim 1.** Sıçan dilinden bir kesit. Koyu mor renkte birçok mast hücresi görülmekte. Susa, Toluidine blue, x 20.



**Resim 2.** Sıçan dilinde periferik sinirlerin (PS) bağ dokusu kılıflarında mast hücreleri (M). Susa, Dominici, x40.



**Resim 3.** Sıçan dilinde damar (Da) duvarına dizilmiş yuvarlak veya oval şekilli mast hücreleri (M). Susa, Giemsa, x 40.

Özefagusta mast hücreleri lamina propriada bulunmasına karşılık midede hemen muskularis mukozanın altında bir dizilim gösteriyordu.

Lenf düğümlerinde hilus bölgesinden geçen kesitlerde birçok mast hücrelerine rastlandı. Astra mavisi- safranin 0 ile boyanan lenf düğümü kesitlerinde mast hücrelerinin hepsi açık mavi renge boyanmışlardı. Bu preparatlarda kırmızı ve mikst tiplerine rastlanmadı. Hücreler genellikle granüllerini muhafaza etmekte idiler.

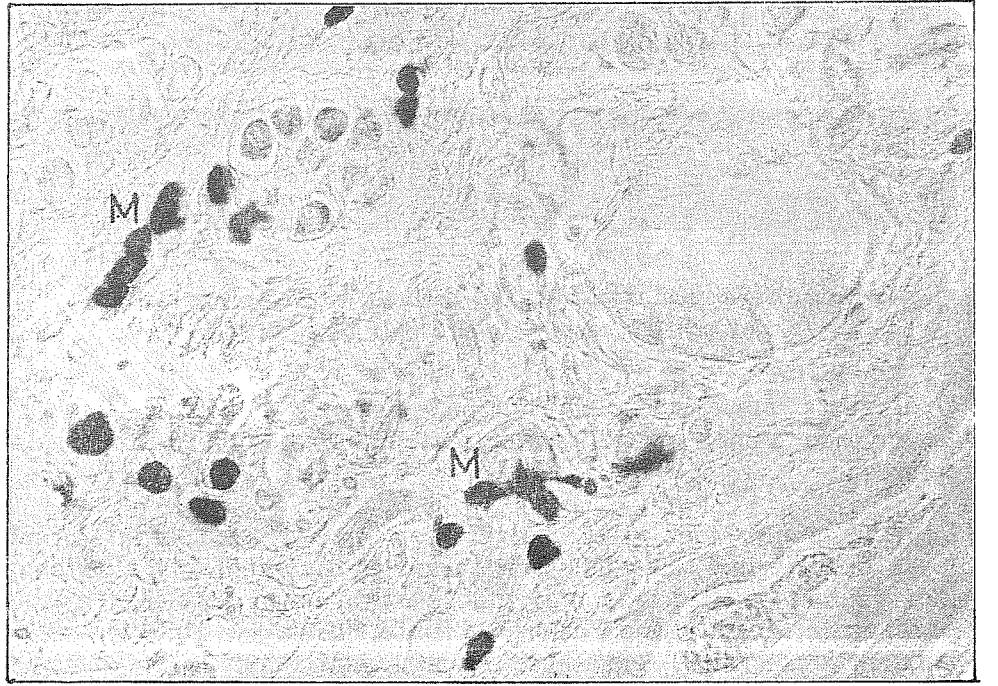
Toluidine mavisi ile boyanan preparatlarda genellikle çekirdek gözlenemedi. Ancak Giemsa, astra blue - safranin 0 ve resorchin fuchsin ile boyanmış preparatlarda çekirdek belirgin bir şekilde ve açık renkte gözlemlendi. Bazı hücrelerde çekirdek ortada olmakla beraber bazılarında eksantrik bir yerleşim düzeni gösteriyordu (Resim 3).

## II. Alkol - Formalin Tespitliler :

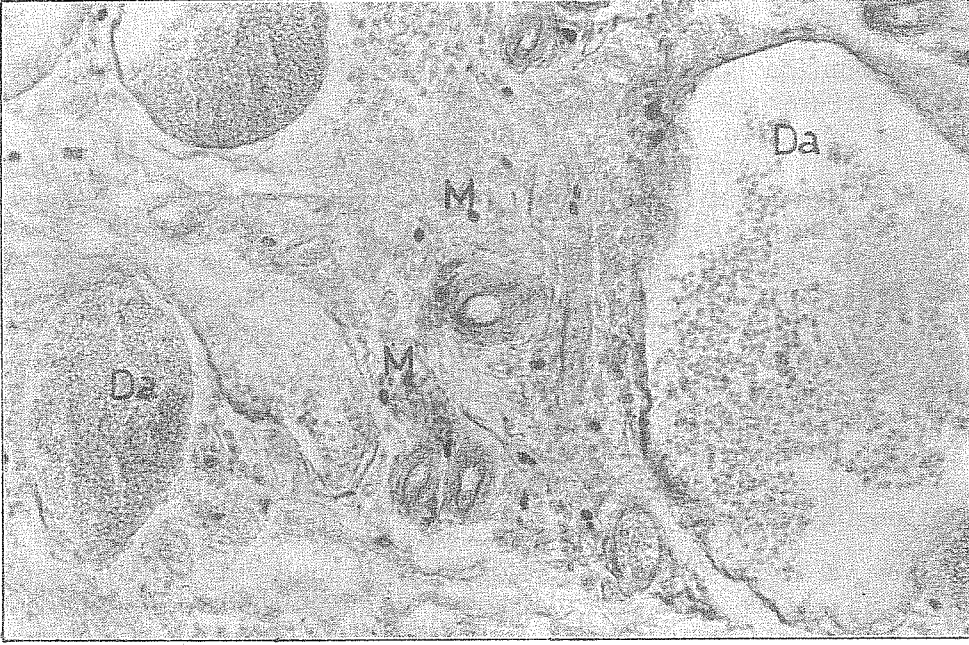
Bu solusyonda tespit edilmiş sıçan materyallerinde mast hücreleri belirgindi (Resim 4). Lenf düğümlerinin hiluslarında ve da-

marlar çevresinde bol miktarda değişik büyüklük ve şekillerde mast hücrelerine rastlandı (Resim 5). Astra mavisi - safranin 0 ile boyalı midenin submukoza ile lenf düğümlerinin kapsüla bölgesinde mavi, kırmızı ve mikst tiplerinde mast hücreleri görüldü (Resim 6). Her iki tespitle, preparatlarda üçgen ve damla şeklinde mast hücreleri az da olsa gözlemlendi.

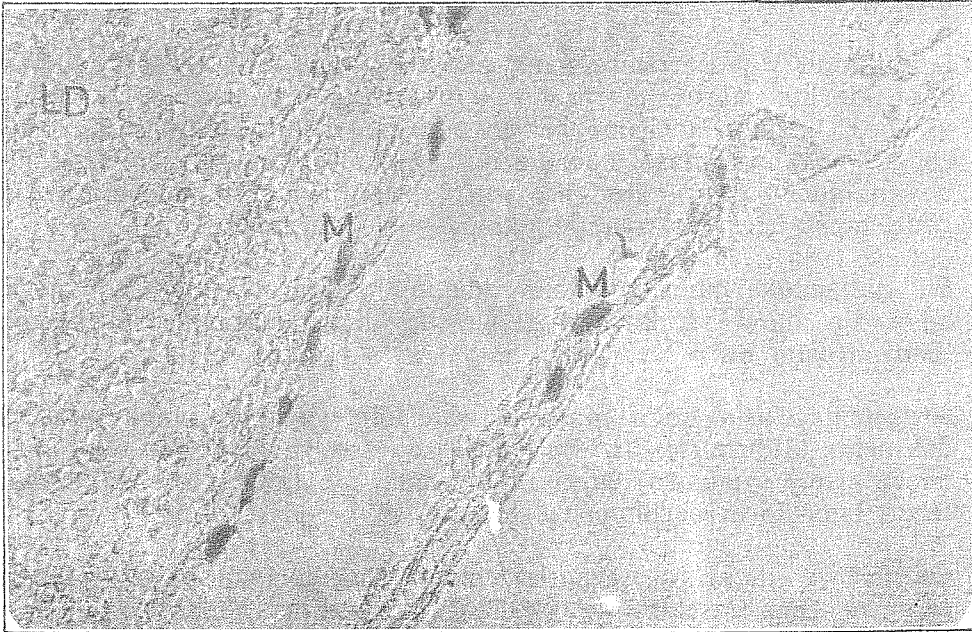
Aynı tespit ve boyama yöntemleri tavşan materyalleri için de uygulandı. Ancak hiçbir preparatta mast hücrelerine rastlanmadı.



**Resim 4.** Sıçan dilinde koyu mor renkte mast hücreleri (M). Yer yer granülleri dağılmış mast hücrelerine de rastlanmakta. Alkol-Formalin, Giemsa, x 40.



Resim 5. Sıçan dilinde mavi-mor renkte bol miktarda mast hücreleri gözleniyor. Alkol-Formalin, Astra Blue-Safranin O, x 10.



Resim 6. Sıçan lenf düğümünün (LD) kapsül bölgesinde uzunca ve oval şekillerde kırmızı ve mavi renkte mast hücreleri (M). Alkol-Formalin, Astra Blue-Safranin O, x 40.

## TARTIŞMA

Çalışmamızda iki ayrı tespit solusyonu kullanarak mast hücrelerinin karakteristik yapısını gözledik. Şeftalioğlu<sup>18</sup> ile Peker ve Kerse<sup>19</sup>'ye göre alkol formalin solusyonu mast hücreleri için uygun bir fiksatifdir. Ancak Susa'nın da mast hücreleri için uygun bir fiksatif olduğunu gözledik. Bu tesbit ile hücreleri ve granüllerini gayet belirgin olarak gözledik. Ayrıca bu tespit solusyonu ile mast hücreleri üzerinde yapılmış bir çalışmaya da rastlayamadık. Birçok araştırmacı mast hücrelerinin tespitinde sulu fiksatiflerden kaçınmışlardır. Çünkü su, hücrelerdeki granüllerin erimesine sebep olmaktadır. Susa tespit solusyonunda su bulunmasına rağmen hücrelerin granüllerinde bir erime gözlenmedi. Fakat alkol-formalin tespit materyalinin bir üstünlüğü her üç tip mast hücrelerini de göstermesidir. Buna karşılık susa tespit solusyonu uygulanmış dokularda sadece mavi mast hücreleri gözlenebilmiştir.

Peker ve Kerse<sup>19</sup> mast hücrelerindeki granüllerin sık ve iri olduklarını bazik boyalarla da koyu boyanmalarından dolayı çoğu kez çekirdeği görülmez hale getirdiğini bildirmişlerdir. Bu durum Greenberg ve ark.<sup>20</sup> ile Hals<sup>21</sup> gibi birçok araştırmacı tarafından da desteklenmiştir. Bu çalışmada da granüllerin bolluğundan dolayı çoğu kez mast hücrelerinin çekirdekleri gözlenememiştir.

Şeftalioğlu<sup>18</sup> mast hücrelerini; astra blue-safranin 0 ile boyanma özelliklerine göre üç gruba ayırmıştır. Bunlar mavi, kırmızı ve her ikisinin karışımı renge boyanan hücre gruplarıdır. Mavi renge boyanan mast hücrelerinin olgunlaşmamış, kırmızı renge boyananların ergin, her iki renk granülü içeren hücrelerin ise genç mast hücreleri olabileceği üzerinde durmuştur.

Bu çalışmada da sıçan lenf düğümü preparatlarında adı geçen boya ile mavi ve kırmızı renge boyanmış mast hücreleri gözlemlendi (Resim 6).

Araştırmacıların çoğu mast hücrelerinin yuvarlak veya oval olduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise yuvarlak ve oval mast hücrelerinin yanısıra gayri muntazam ve üçgene benzer şekillerde hücrelere rastlanmıştır (Resim 4).

Galli<sup>22</sup> ve diğer araştırmacılar mast hücrelerinin büyük lökositlere ve fibroblastlara ve pigment hücrelerine benzeyebildiklerini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada ise mast hücrelerini diğer hücrelerden ayırmak



hiç zor olmamıştır. Çünkü doku örneklerini aldığımız bölgeler pigment hücrelerinin bulunmadığı bölgelerdir. Mast hücrelerinin fibroblastlarla karışması ise bu çalışmada söz konusu olmamıştır. Çünkü mast hücreleri uyguladığımız bütün boyalarla belirgin ve koyu renkte gözlenmiştir (Resim 1-3,5). Lenf düğümlerinde lenfositlerin üst üste gelip koyu boyandıkları bölgelerde bile mast hücrelerini ayırmak kolay oldu. Lenfositler mavi, mast hücreleri ise koyu mor boyanmaktaydı. Bizim uyguladığımız boyama yöntemlerinin hepsi mast hücreleri için özel yöntemlerdir. Bu yöntemlerle mast hücrelerinin granülleri muhafaza edilmekte ve çok belirgin boyanmaktadır. Belki de bu sebepten ötürü mast hücrelerinin tanımlanmasında zorluk çekmedik. Ancak alkol-formalin tespitli sıçan dilinin Giemsa ile boyalı preparatında bulunan bir görünüm bizi tereddüte düşürmüştür. Bu preparatda mor renkli birçok mast hücreleri gözlenmiştir. Mast hücrelerinin yanı sıra sekiz-on kadar mavi renkli hücre topluluğu dikkatimizi çekti. Bu hücreler çevreden belirgin bir kapsüle ile ayrılmaktaydılar. Hücrelerin içlerinde gözlenen açık bölge çekirdeğe benzerlik gösteriyordu. Hücreler bu görünümleri ile sinir hücrelerine benzemekteydiler. Hücre topluluğunun etrafında bulunan kapsüleye çok yakın yerleşim gösteren mast hücrelerine de rastlandı. Ancak bu yapının kesin açıklaması yapılamamakla beraber bir kas içiğinin enine kesiti olabileceği ihtimali üzerinde duruldu (Resim 4).

Strobel ve ark<sup>23</sup> farklı tespit solusyonları ile mukozalarda yerleşmiş iki farklı tip mast hücrelerinin varlığını iddia etmiştir.

Bu çalışmada iki ayrı tespit maddesi kullanılmıştır. Ayrıca sıçanların dil, özefagus, mide, duodenum ve ileumlarından kesitler alınıp çeşitli boyalar ile boyanmış olmasına rağmen bu bölgelere yerleşmiş mast hücreleri arasında belirgin bir farklılık gözlenememiştir.

Kaynak taramalarımızda araştırmacıların birleştikleri ortak nokta mast hücrelerinin bağ dokularında daha çok damar duvarlarına yakın bölgelerde lokalize olmalarıdır. Hatta bazı hayvanlarda mast hücrelerinin damar duvarının geçirgenliğini arttırarak özellikle kandaki yağın bağ dokusunda bulunan yağ hücrelerine depolanmasına yardım ettiği bildirilmektedir. Bu çalışmada da gözlendiği gibi mast hücreleri daha çok damarların çevrelerinde yerleşim göstermektedir (Resim 3, 5).

Birçok araştırmacı, mast hücrelerinin göbek bağından beyin zarlarına kadar değişen alanlarda bulunduğunu bildirmişlerdir<sup>24, 25</sup>. Bu çalışmada sıçan dilinde bir periferik sinir kesitinin endonör-

yumunda mast hücreleri gözlenmiştir.

Smith<sup>10</sup> birçok hayvanda periton sıvısında mast hücrelerinin bol bulunmasına karşılık kobay, kedi ve tavşanda bulunamadığını bildirmiştir. Köksal<sup>7</sup> deri altına kan pıhtısı yerleştirerek mast hücrelerinin ameboid hareket gösterdiklerini bildirmiştir.

Bu çalışmada da sıçanlar için uygulanan bütün tesbit ve boyama yöntemleri tavşanlar için de uygulanmasına rağmen tavşanlarda mast hücrelerine rastlanamamıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology, Philadelphia, Eleventh Edition, Saunders, 1986.
2. Erkoçak A. Genel Histoloji, İstanbul, Kan Dağıtımçılık ve Yayıncılık, Ltd Şti, 1983.
3. Warwick R, and Williams PL. Anatomy of Humans Body, 35 th. Ed. Philadelphia, Lea - Febiger, 1985.
4. Sağlam M. Genel Histoloji, Ankara, Ogun Kardeşler Matbaacılık, 1984.
5. Reshef A, and Mac Glashan DW. Immunogold probe for the light microscopic phenotyping of human mast cells and basophils. *Journal of Immunological Methods* 99, 213-219, 1987.
6. Bancroft JD, Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques (Second Edition). Churchill Livingstone, New York, 1982.
7. Köksal M. Doku Mast hücreleri hakkında. *Acta Medica Turcica* 5, 85-111, 1953.
8. Enerback L. Mast cells in gastrointestinal mucosa. 2. Dye-Binding and metachromatic properties. *Acta Path et Microbiol, Scandinav*, 66, 303-312, 1966.
9. Enerback L, Pipkorn U, Olafsson A. Intraepithelial migration of mucosal mast cells in hay fever: Ultrastructural observation. *Int Arch Allergy Appl Immun* 81, 289-297, 1986.
10. Smith DE. The Tissue Mast Cells. *Int Review of Cytology* 14, 327-400, 1963.

11. Befus D, Goodacre R, Dyck N, Bienenstock S. Mast cell heterogeneity in man, I. Histologic studies of the intestine. *Int Archs Allergy Appl Immun* 76, 232-236, 1985.
12. Guy-Grand D, DY, M, Luffau G. and Wassali P. Gut mucosal mast cells origin, traffic, and differentiation. *Exp Med* 1, 1: 160, 12-28, 1984.
13. Ruitenberg EJ, Gustowska L, Elgersma A, Ruitenberg HM. Effect of fixation on the light microscopical visualization of mast cells in the mucosa and connective tissue of the human duodenum. *Int Arch Allergy Appl Immun* 67, 233-238, 1982.
14. Sonoda S, Sonoda T, Nakano T, Kanayama Y, Kanakura Y, Asai H, Yonezawa T, Kitamura Y. Development of mucosal cells after injections of single connective tissue mast cell in the stomach mucoza of genetically mast cell - deficient w/w mice. *The Journal of Immunology* 4, 137, 1319-1322, 1986.
15. Stanownik L, Legonder-Mlinsek M, and Erjavec F. The effect of compound 48/80 and of electrical field stimulation. On Mast cells in the isolated mouse stomach. *Agents and Actions* 3/4, 23, 300-303, 1988.
16. Woodbury RG, Miller HRP, Huntley JF, Nevlands GFJ, Pallise AC, Wakelin D. Mucosal mast cells are functionally active during spontaneous expulsion of intestinal nematode infections in rat. *Nature* 29, 312, 450-452, 1984.
17. Koretou O. Relationship between the staining property of mast cell granule with alcian blue-safranin O and toluidine blue O and the content of mast cell protease 1 in the granule of rat peritoneal mast cell. *Acta Histochem Cytochem* 21, 25-33, 1988.
18. Şeftalioğlu A. 48/80 ile stimule olmuş sıçan inguinal lenf düğümü mast hücrelerinin histokimyasal ve morfolojik değişiklikleri. *Deniz Tıp Bülteni* Cilt.12, Sayı 3-4, 1-20, 1966.
19. Peker Ş, Kerse İ. İnsan derisi mast hücrelerinin histokimyasal incelenmesi. *Hacettepe Tıp/Cerrahi Bülteni* 2,1, 49-62, 1969.
20. Greenberg G, and Burnstock G. A Novel cell-to-cell interaction between mast cells and other cell types. *Experimental Cell Research* 147, 1-13, 1983.

21. Hals E. Fluorescence microscopic demonstration of rat. Mast cells stained with acid dyes. *Acta Odanthol* 36, 57-66, 1977.
22. Galli SJ. New approaches for the analysis of mast cell maturation heterogeneity an function. *Federation Proceedings* 5, 46, 1906-1915, 1987.
23. Strobel S, Miller HRP, Ferguson A. Human intestinal mucosal mast cell, evaluation of fixation and staining techniques. *J Clin Path* 34, 851-858, 1981.
24. Schoenberg MD, Hinman A, and Moore RD. Studies on connective tissue. V Fiber formation in Wharton's Jelly. *Lab invest* 9, 350-355, 1960.
25. Ibrahim MZM. The mast cells of the mammalia central nervous system. *Acta Anat* 124, 149-158, 1985.