

Kaz (*Anser anser*) Özofagus'undaki Mast Hücre Yoğunluğunun Farklı Fiksatiflerle Belirlenmesi

Seval KELEK*, Nagehan ÇİMENÖĞLU, Kenan ÇINAR
Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü/ISPARTA
Alınış Tarihi:02.03.2011, Kabul Tarihi:08.05.2011

Özet: Bu çalışma farklı tespit solüsyonlarındaki (Bouin, Carnoy, %10'luk formaldehit, alkolik formaldehit, nötral formalin ve izotonik formalin asetik asit) kaz (*Anser anser*) özofagusunda mast hücrelerinin yoğunluklarının belirlenmesi amacıyla yapıldı. Mast hücrelerinin belirlenmesi için Toluidine O Blue boyama yöntemi uygulandı. Mast hücrelerinin lamina propriada bulunan kan damarı ve bez çevresinde daha yoğun olarak buldukları belirlendi. Ayrıca en fazla mast hücresine Bouin, en az ise %10'luk Formaldehitte tespit edilen özofagus dokularında rastlandı.

Anahtar kelimeler: Mast Hücre, Özofagus, Kaz.

The Determination of Mast Cell Density with Different Fixatives in the Esophagus of the Goose (*Anser anser*)

Abstract: This study was carried out to determine of the mast cells densities with different fixatives (Bouin, Carnoy, 10% formaldehyde, alcoholic formaldehyde, neutral formalin and isotonic acetic acid) in the esophagus of the geese. Toluidine Blue O staining method was applied for determination of mast cell. Mast cells in the lamina propria and glands around the blood vessels that were found to be more intense. There were numerous and less number of mast cells in the esophagus tissue which were fixed in Bouin and 10% formaldehyde solutions respectively.

Keywords: Mast Cells, Esophagus, Goose

Giriş

Mast hücreleri kemik iliğindeki kök hücrelerden oluşup önce kana geçen, daha sonra bağ dokuda yerini alan farklılaşmış hücrelerdir (Akay, 2001; Öber ve Turgay İzzetoğlu, 2006). Gevşek lifli bağ doku içinde tipik sabit hücreler olan mast hücreleri dermiste, sindirim ve soluk borusundaki bağ dokuda bulunurlar (Öber ve Turgay İzzetoğlu, 2006). Sitoplazmaları genellikle yuvarlak ve irili ufaklı granüllerle doludur (Sağlam vd., 2001). Mast hücresi granülleri, asidik karakterdekimast hücresi granülleri toluidin mavisi, metilen mavisi, tiyonin gibi bazik boyandıkları zaman metakromazi gösterirler (Coleman ve De Savla, 1966; Sağlam vd., 2001). Granülleri bol miktarda heparin, histamin, serotonin, nötral proteaz, aril sülfataz'lar, eosinofilik ve nötrofilik kemotaktik faktörler, platelet aktivasyon faktörü, tümör dejenere edici faktör ve bradikinin'ler gibi sekonder medyatörler içerirler. Mast hücreleri, akut alerji ve anafilaksi olaylarının şekillenmesinde rol oynayan hücrelerdir (Roitt vd., 1997; Özbal, 2000; Sağlam vd., 2001; Öber ve Turgay İzzetoğlu, 2006).

Farklı kuş türlerinin sindirim kanalı mast hücreleri üzerine yapılmış çalışmalar (Wight, 1970; Fei ve Lee, 1985; Wang, 1991; Karaca ve Yörük, 2004; Morris vd., 2004; Liu vd., 2006; Aksoy ve Çınar, 2008; Hristov vd., 2008; Uslu ve Yörük, 2008) bulunmasına rağmen, kaz (*Anser anser*)'ların özofagusuna yönelik çalışma bulunmaması konunun önemini artırmaktadır.

Bu çalışmada farklı fiksatifler kullanılarak kaz özofagusu lamina propriası'ndaki mast hücre yoğunluğunun belirlenmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada 5 adet kazın özofagusundan alınan örnekler materyal olarak kullanıldı. Uzun süre (15-20 dk) eter etkisinde bırakılan kazların özofagusundan alınan örnekler Bouin (18 saat), Carnoy (2 saat), %10'luk formaldehit (48 saat), alkolik formaldehit (4 saat), nötral formalin (6-12 saat) (Bancroft ve Stevens, 1996) ve İzotonik formalin asetik asit (İFAA) (24 saat) (Enerback, 1966) fiksatiflerinde tespit edildi. Daha sonra uygun histolojik doku takibi işleminden geçirilen örnekler parafinde bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan 6-7 µm kalınlığında alınan kesitlere mast hücrelerinin belirlenmesi için Toluidine O Blue boyama metodu (Kramer ve Windrum, 1955) uygulandı. Farklı fiksatifler uygulanarak hazırlanan örneklere ait 5'er preparatın her birinden 8 mm²'lik alanda mast hücrelerinin sayımı Olympus CX 41 tipi ışık mikroskobu ile yapıldı ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekildi. Elde edilen veriler SPSS 15 istatistik programında analiz edildi.

Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskobunda incelendi ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekimi yapıldı.

Bulgular

Farklı fiksatifler kullanılarak tespit edilen özofagus örneklerinden alınan kesitler mast hücre yoğunlukları ile ilgili olarak elde edilen bulgular Çizelge 1'de verildi.

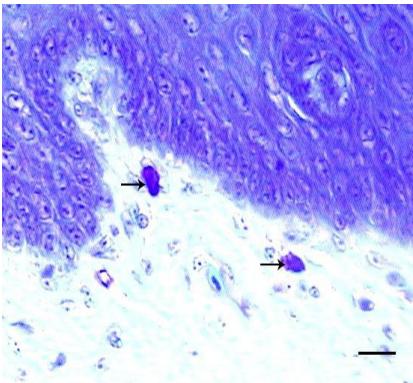
*sevalkelek@stud.sdu.edu.tr

Çizelge 1. Farklı fiksatifler uygulanan Kaz özofagusunun lamina propriasında bulunan mast hücrelerinin sayısal dağılımı

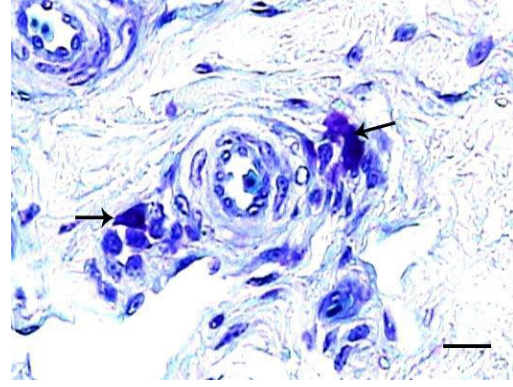
Ma	Bouin	Carnoy	İFAA	Nötral formalin	Alkolik formalin	%10'luk formaldehit
Hü	609.4±105.77	465.8±140.3	410.6±125.96	148.2±95.2	13.4±4.67	0.40±0.89
P<0,05	1.00	0.374	0.374	1.00	0.833	0.833

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Bouin solusyonunda tespit edilen dokulara ait kesitlerde lamina propria'da mast hücrelerin diğer fiksatiflerle tespit edilenlere göre çok daha yoğun olduğu belirlendi. Mast hücrelerinin epitel altında çok sayıda buldukları, şekillerinin ise oval ve yassı olduğu belirlendi (Şekil 1). Damar çevresinde yoğun şekilde oval (Şekil 2) ve bez çevresinde daha az sayıda yuvarlak ve oval yapıli mast hücreleri tespit edildi.



Şekil 1. Epitel altında yerleşmiş mast hücreleri (oklar). Bouin. TB. Bar: 50 µm



Şekil 2. Kan damarı çevresindeki mast hücreleri (oklar). Bouin. TB. Bar: 50 µm

Carnoy ve İFAA (İzotonik formalin asetik asit) fiksatifleriyle bu hücelere ait yoğunluğun hemen hemen aynı olduğu saptandı.

Carnoy uygulanan doku kesitlerinde lamina propriya, damar çevresinde ve bezlerin etrafında bulunan mast hücrelerinin yuvarlak şekilli olduğu belirlendi.

İFAA ile tespit edilen dokulara ait kesitlerde lamina propriyada yerleşmiş olan mast hücrelerinin şekillerinin yassı ve yuvarlak biçimli oldukları belirlendi. Hemen hemen bütün damarların çevresinde yuvarlak şekilli mast hücrelerine rastlandı. Bez çevresinde ise mast hücrelerinin çoğunlukla oval şekilli daha az olarak da yuvarlak tipte oldukları tespit edildi.

Alkolik formaldehitte lamina propriyada yerleşen mast hücrelerinin az sayıda ve yassı şekilli oldukları saptandı. Damar ve bez çevrelerinde mast hücrelerinin az sayıda ve oval şekilli olduğu belirlendi.

Nötral formalinde lamina propriyada yerleşen mast hücrelerinin yuvarlak ve yassı tipte, damar ve bez çevresindeki mast hücrelerinin ise oval ve yuvarlak şekilli olduğu belirlendi. Hücre sayısının ise daha az olduğu tespit edildi. %10'luk formalinde ise bu hücelere lamina propriyada nadiren rastlandı.

Tartışma ve Sonuç

Mast hücrelerinin yerleşim yerlerine bağlı olarak yuvarlak, oval ve mekik şeklinde olabileceği bir çok çalışmada bildirilmiştir (Wight, 1970; Kurtdede ve Yörük, 1995; Karaca ve Yörük, 2004; Uslu ve Yörük, 2008).

Wight (1970) tavuk özofagusunda yaptığı çalışmada bağ dokuda bulunan mast hücre sayısının orta yoğunlukta olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada da farklı fiksatiflerde tespit edilen özofagus örneklerinden alınan kesitlerde farklı mast hücre yoğunlukları tespit edildi.

Valsala vd. (1985) ördeklerde Carnoy fiksatifinde yaptıkları çalışmada özofagusdaki mast hücrelerinin çoğunlukla lamina propriyada bulunduğunu ve az sayıda da damar çevresinde yerleştiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da Carnoy fiksatifinde araştırmacılarla benzer bulgular elde edilmiştir.

Wang (1991) civciv sindirim kanalındaki mast hücrelerin tespitinde en iyi fiksatifin Carnoy olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ise özofagustaki mast hücrelerin en iyi Bouin fiksatifinde tespit edildiği belirlendi. Aynı

çalışmada (Wang, 1991) Formalin fiksatifindeki mast hücre sayısının Carnoy fiksatifindeki mast hücre sayısından az olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada %10'luk formaldehitteki mast hücre sayısının Carnoy fiksatifindeki mast hücre sayısından oldukça az olduğu belirlendi.

Karaca ve Yörük (2004) Carnoy fiksatifinin İFAA'ya göre mast hücrelerin metakromatik özelliklerinin belirlenmesi ve sayısal dağılımının ortaya konmasında daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Uslu ve Yörük (2008) Carnoy ve İFAA tespit sıvılarında mast hücrelerin özofagusun lamina propriasında sayısal olarak farklılıklar gösterdiğini, İFAA fiksatifindeki mast hücre sayısının Carnoy fiksatifindeki mast hücre sayısından fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise Carnoy ve İFAA fiksatiflerinde mast hücre sayısının hemen hemen aynı olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak, mast hücrelerinin belirlenmesi için bu çalışmada kullanılan tespit solusyonları arasında Bouin tespit solusyonunun en uygunu olduğu belirlendi. Ayrıca, farklı tespitler uygulanan özofagus örneklerinin içerdiği mast hücre yoğunluğunda gözlenen farklılıkların bu hücrelerin içerdiği madde çeşitliliği ve bu maddelerin tespit sıvılarıyla etkileşiminden ileri gelebileceği kanısına varıldı. Öte yandan bu konuda daha fazla sayıda tespit solüsyonlarının ve farklı pH'ta Toluidine Blue kullanılarak mast hücrelerin belirlenmesine yönelik daha ileri çalışmalara gerek bulunmaktadır.

Kaynaklar

- Akay, M.T. 2001. Genel Histoloji. 5. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 262 s.
- Aksoy, A., Çınar, K. 2008. Prenatal ve Postnatal Dönemlerde *Gallus gallus domestica*'nın Bezsel Midesinde Mast Hücrelerinin Ontogenisi, Dağılımı ve Histokimyasal Karakterleri. YYÜ Vet Fak Derg. 2, 25-29.
- Bancroft, J.D., Stevens, A. 1996. Theory and Practice of Histological Techniques. Hong Kong: Churchill Livingstone, 680 s.
- Coleman, E.J., De Savla, S.J. 1966. Mast Cell Population Density in Rat Skin. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 122, 945-949.
- Enerback, L. 1966. Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa. I. Effect of Fixation. Acta Path Microbiol Scand, 66, 289-302.
- Fei, A.C.Y., Lee, Y.C. 1985. The Fixation Effects of Mast Cells in Chicken Intestinal Mucosa. Department of Veterinary Medicine National Taiwan University, 21, 67-72.
- Hristov, H., Vodenicharov, A., Dimitrov, R., Kostadinov, G., Stamatova, K. 2008. Study of the Mast Cell Morphology in the Duodenum of the Canary-Bird (*Serinus canarius*). Trakya Journal Science, 6, 62-65.
- Karaca, T., Yörük, M.A. 2004. Morphological and Histometrical Study on Distribution and Heterogeneity of Mast Cells of Chicken's and Quail's Digestive Tract. Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15, 115-121.
- Kramer, H., Windrum, G.M. 1955. The Metachromatic Staining Reaction. J Histochem Cytochem, 3, 227-237.
- Kurtdede, N., Yörük, M. 1995. Tavuk ve Bildircin Derisinde Mast Hücrelerinin Morfolojik ve Histometrik İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 42, 77-83.
- Liu, Y.H., Piao, X.S., Ou, D.Y., Cao, Y.H., Huang, D.S., Li, D.F. 2006. Effects of Particle Size and Physical Form of Diets on Mast Cell Numbers, Histamine, and Stem Cell Factor Concentration in the Small Intestine of Broiler Chickens. Poult Science, 85, 2149-2155.
- Morris, B.C., Danforth, H.D., Caldwell, D.J., Pierson, F.W., McElroy, A.P. 2004. Intestinal Mucosal Mast Cell Immune Response and Pathogenesis of two *Eimeria acervulina* Isolates in Broiler Chickens. Poult Science, 83, 1667-1674.
- Öber, A., Turgay İzzetoğlu, G. 2006. Histoloji. 1. Basım, Nobel Kitabevi, Ankara, 338 s.
- Özbal, Y. 2000. Temel İmmunoloji, 2. Baskı, Nobel Kitabevi, Ankara. 528 s.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. 1997. Immunology. 5th Edition, Barcelona: Mosby. 416 pp.
- Sağlam, M., Aştı, R.N., Özer, A. 2001. Genel Histoloji. 6. Baskı, Yorum Kitabevi, Ankara, 319 s.
- Uslu, S., Yörük, M. 2008. Hindilerde Sindirim Sisteminde Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi Üzerine Morfolojik ve Histometrik Araştırmalar. YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi, 2, 47-51.
- Valsala, K.V., Jarplid, B., Hansen, H.J. 1985. Distribution and Ultrastructure of Mast Cells in the Duck. Avian Diseases, 30, 653-657.
- Wight, P.A.L. 1970. The mast cells of *Gallus domesticus*. I. Distribution and Ultrastructure. Acta Anatomica, 75, 100-113.
- Wang, T. 1991. Mast Cells in Chicken Digestive Tract. II. Fixation, Distibution, Histochemistry and Ultrastructure. Tokai Journal of Experimental and Clinical Medicine, 16, 27-32.