

Koyun ve Keçi Derisinde Mast Hücreleri Üzerinde Morfolojik ve Histometrik Araştırmalar*

Mecit YÖRÜK¹ Ziya ÖZCAN²

ÖZET

Bu çalışma, koyun ve keçi derisinde mast hücrelerinin değişik yaş gruplarına, vücut bölgelerine ve mevsimsel dağılımlarına göre morfolojik ve histometrik olarak incelenmesi amacıyla yapıldı. Araştırmada kış, ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde, 1-2 ve 3-4 yaş gruplarına ayrılan hayvanların boyun, sırt ve karın bölgelerinden toplam 144 adet deri biyopsisi alındı. Işık mikroskopik incelemelerde mast hücreleri her iki hayvan türünde de metakromatik boyanmaları ile ayırt edildi. Bu hücrelerin dermisin stratum superfisiyale katmanında damarlar, stratum profundum katmanında bulunan ter bezleri, yağ bezleri ve kıl folliküllerinin çevresinde yoğunluk gösterdikleri saptandı. Elektron mikroskopik incelemelerde bu hücrelerin en çarpıcı özellikleri, farklı büyüklük ve miktardaki granülleridir. Koyunda bu granüller, sitoplazmanın hemen tamamını doldurmaktaydı. Keçide ise söz konusu granüller daha az miktardaydı ve genellikle sitoplazmanın periferinde yerleşmişti. Her iki hayvanda da elektron yoğun ve elektron açık görünümde olan granüller, matrikslerinde değişik figürler içermekteydi.

Koyun ve keçi derisinde bulunan mast hücrelerinin sayısal dağılımlarını belirlemek amacıyla yapılan hücre sayımları sonucunda, her iki türde de vücut bölgeleri arasında istatistiksel önemde bir fark ile karşılaşılmadı ($p>0.05$). Mevsimler arasındaki farklar ise, istatistiki yönden önemli bulundu ($p<0.01$).

Anahtar Kelimeler: Mast Hücresi, Koyun-Keçi, Deri, Morfoloji, Histometri

SUMMARY

Morphological and Histometrical Studies on the Mast Cells in Sheep and Goat Skin

This study was carried out to investigate mast cells in sheep and goat skin morphologically and histometrically with respect to different age groups, body regions and seasonal distribution. One hundred and forty four skin biopsy samples were collected from neck, back and abdomen regions of animals divided into 1-2 year-old and 3-4 year-old groups in the seasons of winter, spring, summer and autumn.

In light microscopic investigations, mast cells were detected by their metachromatic staining properties in both animal species. It was found that these cells intensified around blood vessels in stratum superficiale, around sweat glands, sebaceous glands and hair follicules in stratum profundum.

In electron microscopic investigations, the marked features of these cells were their granules of different size and quantity. These granules in sheep filled almost whole cytoplasm. But in goats, they were less and were located peripherilly in cytoplasm. Electron-dense and electron-lucent granules containing different configuration in their matrices were found in both animal species.

Cell counts were carried out to estimate the numerical distribution of mast cells in sheep and goat skin. No statistically significant differences were found between the body regions with respect to the number of mast cells distribution in both species ($p>0.05$). The differences between the seasons were found statistically significant ($p<0.01$).

Key Words: Mast Cell, Sheep-Goat, Skin, Morphology, Histometry

GİRİŞ

Mast hücreleri, uygun koşullarda meta-kromazi gösteren intrasitoplazmik granüllere sahip

bağ doku hücreleridir (1). Bu hücreler, omurgalıların hemen hemen tüm organlarının bağ dokusu içerisinde yaygın olarak gözlenirler (2,3).

* Bu çalışma A.Ü. Araştırma Fonu (Proje no:92-30-00-23) ve Y.Y.Ü. Araştırma Fonu (Proje no: 92-VF-185)

Kurumlarınca desteklenen Doktora Tezinden özetlenmiştir.

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, VAN.

² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

Mast hücrelerinin ışık mikroskopik görünüşleri, türlere ve buldukları dokulara göre değişmektedir. Genellikle yuvarlak veya ovalimsi olan bu hücreler, yerleşimlerine bağlı olarak mikik şeklinde de gözlenirler (1,4,5,6,7,8). Büyüklükleri ortalama olarak 5-15 µm arasındadır (1,9,10). Genellikle hücrenin merkezinde yer alan soluk boyanmış çekirdek, kan bazofillerinin aksine segmentsiz ve ovalimsidir (1,4,6.). Çekirdek, hücrelerin çoğunda sitoplazma granülleri tarafından örtülmüş durumdadır (6,11). Bu hücrelerin en önemli ayırt edici özellikleri, metakromazi gösteren bazofilik karakterde sılgı granülleri içermeleridir. Elektron mikroskopik bakıda, Golgi aygıtı tarafından sentezlenen bu granüller büyüklük, şekil ve sayı bakımından türler arasında çeşitlilik gösterirler (1,10); şekilleri oval, globuler, eliptik veya köşeli olabilir (5,10). Her bir granül, güçlükle ayırt edilebilen ünite membran yapısında bir membranla sarıdır (5,12). Granüllerin çapı, türlere göre değişmekle birlikte ortalama olarak 0.2-0.8 µm arasındadır (6). Elektron mikroskopik incelemelerde, aktif mast hücrelerinin membranı, hücre yüzeyine dik veya paralel konumlu ve farklı boyutlarda olan sitoplazmik uzantılar gösterir (5,6,12).

Deride bulunan mast hücrelerinin sayısal ve bölgesel dağılımı türler arasında değişmektedir (13). Köpeklerde, mast hücrelerinin dermis içersindeki dağılımı üniform değildir; bu hücreler daha çok dermisin stratum profundum katmanında, daha az olarak da stratum superfisiyalede bulunurlar. Stratum superfisiyalede bulunanlar çoğunlukla kılcal damarların etrafında, stratum profundumda ise kıl follikülleri, ter bezleri (Gl.sudoriferae) ve yağ bezlerinin (Gl.sebaceae) çevresinde yoğunlaşmışlardır (10,14). Köpekten farklı olarak insan derisinde mast hücrelerinin en yoğun olduğu bölge, dermisin epidermise yakın olan kısmıdır; derinin derin kısımlarına inildikçe yoğunluk giderek azalmaktadır birlikte, yine de kan damarları ve kıl folliküllerinin çevresinde bol miktarda bulunurlar (7,8,13,15). Atların derisinde yapılan bir çalışmada ise mast hücrelerinin dermisin tüm katmanlarında bulunduğu, fakat çoğunlukla dermo-epidermal sınırdaki yer aldıkları saptanmıştır (16).

İnsan ve köpek derisinde, mast hücrelerinin dağılımını gösteren istatistiksel veriler sonucunda, yaş ve cinsiyet gözetildiğinde bu hücrelerin dağılımında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (8,9,10,14,17). Ratların derisinde yapılan bir çalışmada da farklı vücut bölgelerinde, farklı sayılarda mast hücresi saptanmıştır (18).

Doku örneklerinin tespit türü, kesit kalınlığı

ve boyama yöntemleri gibi bir çok faktörün, yukarıda anlatılan değişiklikleri etkilediği bildirilmektedir (17). Bu nedenle literatürde ortak bir görüş bulunamamıştır. Koyun ve keçi derisinde ise mast hücreleri ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma, organizmada önemli bir yere sahip olan mast hücrelerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelenmesinin, bilime ve uygulamaya katkısı olabileceği düşüncesi ile yapılmıştır.

Çalışmada, koyun ve keçi derisinde mast hücrelerinin değişik yaş gruplarına, vücut bölgelerine ve mevsimsel dağılımlarına göre morfolojik ve histometrik olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Amaca uygun olarak hazırlanan doku preparatlarından elde edilen bulgular değerlendirilerek, mast hücreleri yönünden koyun ve keçi derisi karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmamız için gerekli materyal (Akkarman, kıl keçisi), AÜ Veteriner Fakültesi Uygulama ve Araştırma Çiftliğinden sağlandı.

Araştırmada kullanılan deri materyali alımlarında mevsim, yaş ve farklı vücut bölgeleri gözetildi. Bu amaçla kış, ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde, 1-2 ve 3-4 yaş gruplarına ayrılan hayvanların boyun, sırt ve karın bölgesi olmak üzere üç farklı vücut bölgesinden deri biyopsi örnekleri alındı. Her mevsimde belirlenen yaş gruplarından üçer adet koyun ve üçer adet keçi kullanıldı. Böylece dört mevsimde klinik olarak sağlıklı toplam 24'er adet koyun ve keçiden 144 adet biyopsi örnekleri alındı. Alınan bu deri örnekleri aşağıda belirtilen yöntemlerle işlendi.

Işık Mikroskopik İncelemeler için : Deri örnekleri IFAA (izotonik formaldehit-asetik asit) tespit solusyonunda (pH 2.9) 24 saat süreyle tespit edildikten sonra, 12 saat süreyle 70° 'lik alkolde bırakıldı; daha sonra dereceli alkollerden, metilbenzoat-selloidin'den ve benzol serilerinden geçirilerek paraplast' ta bloklandılar (11). Hazırlanan bu bloklardan alınan 7 µm kalınlığındaki kesitler, mast hücrelerinin identifikasyon ve sayımlarının yapılması amacıyla Mc Ilvaine'nin sitrik asit disodyum fosfat tamponunda hazırlanan % 0.5'lik Toluidin blue O solusyonunda 8 dakika boyandılar (19). Ardından distile su, % 96 'lık ve absolu alkollerden hızlı bir şekilde geçirilerek ksilol'de parlatılıp sentetik yapıstırıcı ile kapatıldılar. Daha sonra bu preparatlar ışık mikroskopunda morfolojik ve histometrik amaçlarla incelenerek fotoğrafları çekildi.

Elektron Mikroskopik İncelemeler İçin : Biyopsi ile alınan deri örnekleri hemen küçük

parçalara bölünerek Karnovsky yöntemine (20) göre glutaraldehid-paraformaldehid ön tespitinde (pH 7.4) 24 saat tutuldu; kakodilat tamponunda her 15 dakikada bir değiştirilerek 3 saat yıkandı ve % 1'lik ozmik asitte 2 saat süre ile ikinci kez tespit edildiler. Daha sonra % 0.5'lik uranil asetat solusyonunda 2 saat bırakılıp dereceli alkoller ve propilen oksitten geçirilerek araldit M'de bloklandılar. Bu bloklardan alınan 300-400 Angstrom kalınlığındaki kesitler Venable ve Coggeshall (21) yöntemine göre kontrastlanarak Carl Zeiss EM 9 S-2 model transmission elektron mikroskobunda incelendiler.

Hücre Sayımları ve İstatistiksel Analizler :

Toluidin mavisi ile boyanan preparatlarda mast hücrelerinin sayısal dağılımını saptamak için yapılan hücre sayımlarında 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanıldı. 40'lık objektif büyütmesinde 100 kare içersine düşen birim alandaki mast hücreleri sayıldı. Her kesitte epidermisen hemen alt kısmından başlayarak kıl folliküllerinin bitimine kadar olan kısımda rastgele seçilen 12 büyütülmüş bölgede hücre sayımları yapıldı. Bu şekilde seri kesitlerin sayılması ile elde edilen rakamların aritmetik ortalaması alındı. Böylece 100 kare oküler mikrometrenin kapsadığı alandaki ortalama mast hücresi sayısı saptandı. 40'lık objektif büyütmesi için mikrometrik lam yardımıyla, 100 kare oküler mikrometrenin alanı saptandı (22). Daha sonra tüm sayısal veriler, 1 mm²'lik birim alandaki mast hücre sayısına dönüştürüldü.

Gruplar arasında varyasyon analizleri yapıldı (23). Farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu durumlarda Duncan testi (24) yapılarak farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı saptandı.

BULGULAR

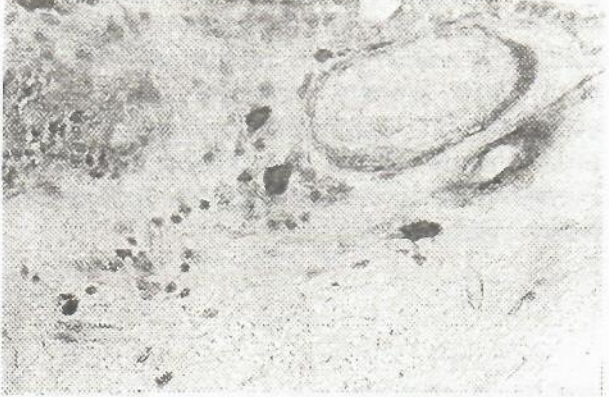
Işık ve elektron mikroskopik bulgular : Her iki hayvan türünde de Toluidin mavisi ile boyanan deri kesitlerinde mast hücreleri, metakromazi göstermeleri ile belirgin olarak ayırt edildiler (Şekil 1,3). Bu hücrelerin, dermisen stratum superfisyalesi içindeki damarlar (Şekil 1, oklar), stratum profundum katmanında bulunan ter bezleri, yağ bezleri (Şekil 2) ve kıl folliküllerinin çevresinde yoğunluk gösterdikleri saptandı. Dermo-epidermal sınırdan seyrek olarak dağılmış bir kaç mast hücresine rastlanırken dermisen daha derin kısımlarında ise bu hücrelere hemen hemen hiç rastlanmadı. Ayrıca epidermis içersinde de hiçbir vakada mast hücrelerine rastlanılmadı.

Mast hücreleri değişik irilikte idiler ve ovalden yassıya kadar değişik şekiller gösteriyorlardı (Şekil 1). Koyunda, ışık mikroskobu ile hücrelerin

granüler yapısı güçlükle ayırt edilmekteydi. Metakromatik olarak boyanan sitoplazma, çoğunlukla homojen görünümündeydi. Çekirdek, uygun düşen kesitlerde heterokromatik olarak boyanmıştı (Şekil 3). Keçide ise hücrelerdeki intrasitoplazmik granüller ışık mikroskobunda bile belirgin olarak ayırt edilebilmekteydi (Şekil 3). Hücrelerin bir bölümünde yaklaşık olarak merkezi yerleşimde bulunan çekirdek koyuna göre daha zayıf bir heterokromazi gösteriyordu.



Şekil 1. Koyun derisinde, damarlar boyunca sıralanan mast hücreleri. Toluidin blue. x 120.

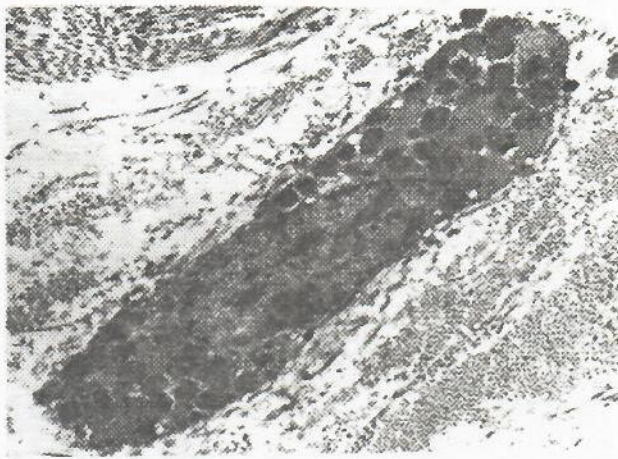


Şekil 2. Koyun derisinde, yağ bezi çevresinde yerleşen mast hücreleri. Toluidin blue. x 480.

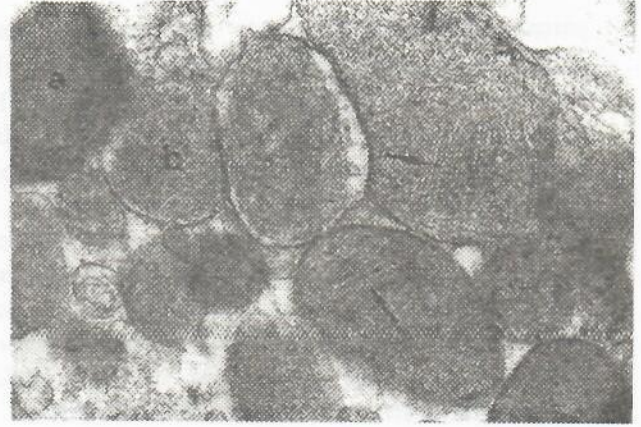


Şekil 3. Keçi derisinde, mast hücrelerinde granüler yapının ışık mikroskopik görünümü. Toluidin blue. x 480.

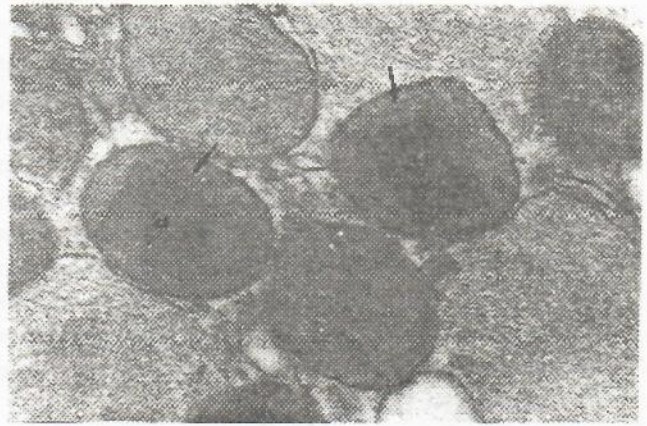
Her iki yaş grubundaki koyun ve keçilerde mast hücrelerinin ışık mikroskopik görünümü açısından, mevsimlere ve farklı vücut bölgelerine bağlı belirgin bir fark saptanamadı. Koyun derisinden hazırlanan kesitlerin elektron mikroskopta incelenmesinde yassı, oval ve üçgen şeklinde mast hücrelerine rastlandı. Hücre yüzeyi, sayıca çok fazla olmayan ve dallanan sitoplazmik uzantılar taşımaktaydı (Şekil 4). Merkezi veya eksantrik yerleşimde gözlenen çekirdek, kimi hücrelerde sitoplazmanın çoğunluğunu kaplamaktaydı. Heterokromatik görünümlü olan bu oluşum genellikle düzgün yüzeyli idi ve şekli, içinde bulunduğu hücrenin şekline uygundu (Şekil 4). Sitoplazmada gözlenen en çarpıcı özellik, farklı büyüklük ve miktardaki granüllerdi. Koyun derisinde bulunan mast hücrelerinin çoğunluğunda bu granüller sitoplazmanın hemen hemen tamamını doldurmaktaydı (Şekil 4). Her bir granülü saran membran belirgindi (Şekil 5). Büyüklükleri birbirinden çok farklı olan bu granüllere bakıldığında, elektron yoğun (Şekil 5 a) ve elektron açık (b) görünümde oldukları saptandı. Granüllerin iç yapıları arasında da farklılıklar vardı. Elektron yoğun ve elektron açık granüllerin çoğunluğu homojen olarak dağılmış ince tanecikli yapıdaydı (Şekil 5). Ancak bazı granüllerin matrisinde çubuk benzeri yapılara da rastlanmaktaydı (oklar). Bununla birlikte bazı elektron yoğun granüllerin orta kısımlarında kare veya dikdörtgen şeklinde yoğun kitlelerle de karşılaşıldı (Şekil 6, a). Bu yoğun kitlenin çevresinde yan yana dizilmiş çubuk benzeri yapılar da vardı (oklar).



Şekil 4. Koyun derisinde bulunan bir mast hücresi. x 7470.



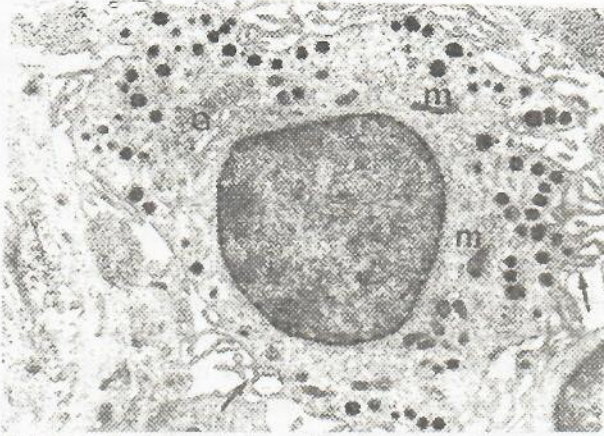
Şekil 5. Koyun derisinde mast hücresi sitoplazmasından görünüm. a:elektron yoğun granüller, b: Elektron açık granüller. Oklar: granüllerin içerdiği çubuk benzeri yapılar. x 47600.



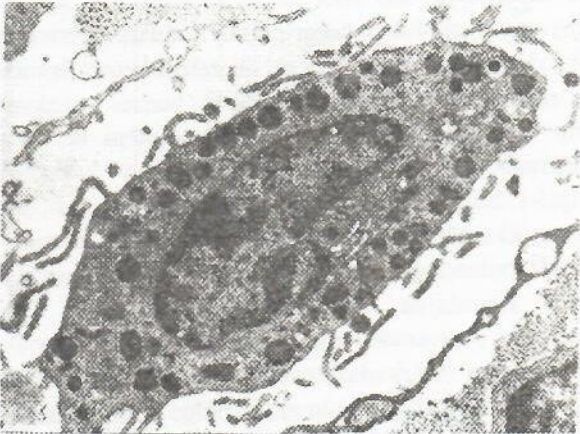
Şekil 6. Koyun derisi mast hücresinde rastlanan granül tipleri; a: elektron yoğun granüllerde kare veya dikdörtgen şekilli yoğun kitleler. Oklar: yoğun kitle çevresinde çubuk benzeri yapılar. x 50400.

Keçi derisinde bulunan mast hücrelerinin elektron mikroskopik incelenmesinde, koyunlarda olduğu gibi bu hücrelerin çok değişik şekillerine rastlandı. Hücre yüzeyinin oluşturduğu sitoplazmik uzantılar koyuna göre çok daha belirgindi (Şekil 7, ve 8 oklar). Heterokromatik özellikte olan irice çekirdek merkezi ya da eksantrik bir yerleşim göstermekteydi. Heterokromatinin, daha çok çekirdek membranı altında olmak üzere, çekirdek içersinde düzensiz kümeler oluşturduğu gözlemlendi (Şekil 7). Sitoplazma içersinde yayılmış olarak bulunan bir kaç adet yuvarlak veya oval şekilli mitokondriyona, (Şekil 7 m) ve iyi gelişmiş birer Golgi aygıtına sahipti (G). Kimi hücrelerde Golgi aygıtı yakınında sentrozoma da rastlandı (Şekil 8, s).

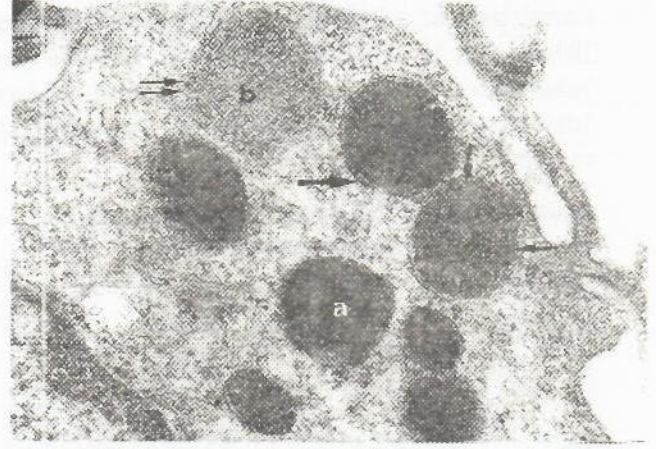
Keçi mast hücrelerinin ince yapılarında saptanan en belirgin özellikler de, yine intrasitoplazmik granüller ile ilgiliydi. Bunların miktarı, koyundakilere kıyasla daha azdı ve mevcut granüller genellikle sitoplazmanın perifer kısımlarında yerleşmişti (Şekil 7 ve 8). Perigranüler membran, granüllerin çoğunda rahatlıkla ayırt edilmekteydi (Şekil 9, kalın ok), ancak, membranları belirgin olmayan granüller de bulunmaktaydı (çift ok). Elektron yoğun (Şekil 9, a ve 10, a) ve elektron açık (Şekil 9, b ve 10, b) özelliklerde olan ve tanecikli yapıda görülen granüller yanında, içlerinde kafes benzeri yapılar (Şekil 10, ok) ya da konsentrik lameller (Şekil 9, ince oklar) içeren granüllerle de karşılaşıldı.



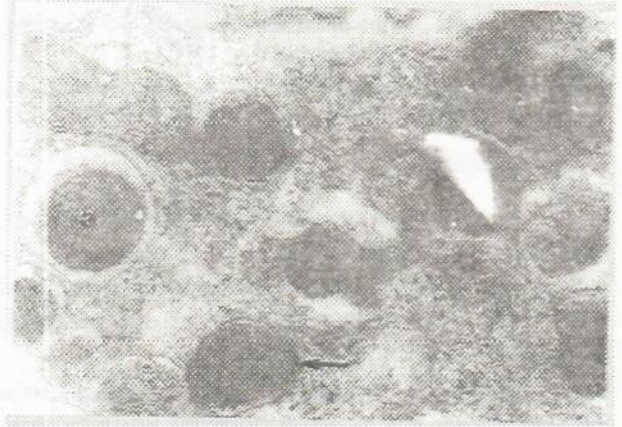
Şekil 7. Keçi derisinde perifer yerleşimde granüller içeren bir mast hücresi. G: Golgi aygıtı, m: mitokondriyon, oklar: sitoplazmik uzantılar. x 7700.



Şekil 8. Keçi derisinde granülleri periferde yerleşen bir mast hücresi, ok. Golgi aygıtı, s: sentriyol. x 9600.



Şekil 9. Keçi derisindeki mast hücrelerinde a: elektron yoğun ve b: elektron açık granüller. Perigranüler membranın belirgin olan (kalın ok) ve olmayan (çift ok) durumu görülmekte. İnce oklar: bir granüldeki konsentrik lamelleşmeyi göstermekte. x 44800.



Şekil 10. Keçi derisindeki mast hücrelerinde elektron yoğun (a), elektron açık (b) ve kafes görünümlü (ok) granüller. x 50400.

İstatistiksel Bulgular

Koyunda :

Koyun derisinde mast hücrelerinin yaşa, mevsimlere ve vücut bölgelerine göre dağılımını saptamak amacıyla yapılan hücre sayımları sonucunda elde edilen ortalama değerler ve bunlarla ilgili istatistiksel sonuçlar Tablo 1' de verildi.

Mevsimler arası farkı ve yaş-mevsim etkileşimini saptamak amacıyla Duncan testi uygulandı. Sonuçlar Tablo 1'de verildi. Varyans analizinde bölgeler arası fark anlamsız bulunduğundan Duncan testi uygulanırken biyopsi sayısı n ola-rak kabul edildi.

Tablo 1'de görüldüğü gibi 1-2 ve 3-4 yaş grupları arasında mevsimlere göre görülen farklar yalnızca sonbaharda $p < 0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulundu. Böylece varyans analizinde

önemli bulunan interaksiyonun, 1-2 yaş grubunda kış-ilkbahar ve kış-sonbahar mevsimleri farkı ile sonbahar mevsiminde yaş grupları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlılığından kaynaklandığı saptandı.

Tablo 1. Koyun derisinde mast hücrelerinin yaş ve mevsimlere göre dağılımı (n= biyopsi sayısı).

MEVSİM	YAŞ GRUPLARI				GENEL	
	n	1-2 Yaş $\bar{X} \pm S\bar{X}$	n	3-4 Yaş $\bar{X} \pm S\bar{X}$		n
Kış	9	62.6 ± 4.51 ^a	9	59.9 ± 4.67 ^a	18	61.2 ± 3.16 ^a
İlkbahar	9	89.9 ± 3.96 ^b	9	78.1 ± 4.54 ^a	18	84.0 ± 3.25 ^b
Yaz	9	57.8 ± 3.68 ^a	9	73.0 ± 7.89 ^a	18	65.4 ± 4.61 ^a
Sonbahar	9	103.6 ± 9.75 ^{bA}	9	73.1 ± 8.72 ^{aB}	18	88.3 ± 7.34 ^b
Genel	36	78.4 ± 4.31	36	71.0 ± 3.41	72	74.7 ± 2.76

a,b,c,d : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir (p < 0.05).

A,B: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir (p < 0.01).

Keçide :

Keçi derisinde bulunan mast hücrelerinin yaş, mevsim ve vücut bölgesi faktörlerine göre dağılımlarını belirlemek ve istatistiksel önemliliğini ortaya koymak amacıyla yapılan analizlerden elde edilen değerler Tablo 2'de verildi.

Varyans analizinde biyopsi örneklerinin alındığı boyun, sırt ve karın bölgeleri arasında mast hücrelerinin sayısal dağılımı yönünden bu hayvanda da önemli bir fark bulunamadı (p>0.05).

Tablo 2 . Keçi derisinde mast hücrelerinin yaş ve mevsime göre dağılımı (n= biyopsi sayısı).

MEVSİM	YAŞ GRUPLARI				GENEL	
	n	1-2 Yaş $\bar{X} \pm S\bar{X}$	n	3-4 Yaş $\bar{X} \pm S\bar{X}$		n
Kış	9	126.7 ± 13.20 ^{aA}	9	45.4 ± 5.20 ^{aB}	18	86.1 ± 12.0 ^a
İlkbahar	9	95.9 ± 4.52 ^b	9	81.3 ± 8.20 ^b	18	88.6 ± 4.87 ^a
Yaz	9	120.3 ± 8.94 ^{ab}	9	116.0 ± 19.30 ^c	18	118.1 ± 10.3 ^b
Sonbahar	9	140.4 ± 10.10 ^a	9	149.3 ± 4.07 ^d	18	144.9 ± 5.38 ^c
Genel	36	120.8 ± 5.38 [*]	36	98.0 ± 8.39 [*]	72	109.4 ± 5.13

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.05).

A,B: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.01).

* : İki grup arası fark önemlidir (p<0.01).

Duncan testine göre 1-2 yaş grubunda ilkbahar-kış ve ilkbahar-sonbahar mevsimlerine ait ortalamalar arası fark p<0.05 düzeyinde anlamlı bulundu. Bu yaş grubunda ilkbaharda en fazla, sonbaharda en az sayıda mast hücresine rastlandı. Aynı yöntem ile yapılan analizlerde 3-4 yaş grubunda, dört farklı mevsim arasında da istatistiksel farkın, p<0.05 düzeyinde anlamlı olduğu saptandı.

Mast hücrelerinin sayısal dağılımı yönünden söz konusu yaş grupları arasında yalnızca kış mevsiminde istatistiksel önemde bir fark bulundu (p<0.01).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyun ve keçi derisinden hazırlanan preparatlarda mast hücrelerini tanımlamak amacıyla tiyazin grubu bir boya olan toluidin mavisi kullanıldı. Bu boya ile boyanan her iki hayvan türüne ait deri kesitlerinde mast hücreleri tipik olarak metakromazi gösterdiler. Literatürde mast hücrelerinin ışık mikroskopta tanımlanmaları için bunların metakromatik boyanma özellikleri, en önemli histolojik kriter olarak kabul edilmektedir (25).

Literatür araştırmalarında koyun ve keçi derisinde bulunan mast hücrelerinin morfolojisi ve sayısal dağılımlarını bildiren herhangi bir bilgiye rastlanmadı. Bu nedenle bu araştırmadaki bulgular diğer hayvan türleri ve insan ile ilgili literatür verileriyle tartışıldı; ayrıca, koyun ile keçinin kendi aralarındaki karşılaştırılması da yapıldı.

Koyun derisinde bulunan mast hücrelerinin, dermisin stratum superfisiyale katmanındaki damarlar ile, stratum profundum içindeki ter bezleri, yağ bezleri ve kıl folliküllerinin çevresinde yoğunluk gösterdikleri saptandı. Stratum profundum katmanının superfisiyal katmana yakın kısımları, bu hücrelerin en yoğun olduğu bölge olarak bulundu. Dermisin daha derin kısımlarında ise bu hücrelere hemen hemen hiç rastlanmadı. Keçi derisinde de benzer gözlemlerle karşılaşıldı. Köpek derisinde yapılan iki ayrı çalışmada (10,14) mast hücreleri için bildirilen bölgeler, bulgularımızla paralellik göstermekteydi. At derisindeki mast hücrelerinin dermisin tüm katmanlarında bulunduğu, fakat daha çok da epidermise yakın kısımlarda ve özellikle buralardaki kan damarları çevresinde yoğunlaştıkları bildirilmektedir (26). Cowen ve arkadaşları (13) insan derisinde mast hücrelerinin en yoğun bulunduğu bölge olarak dermo-epitelyal sınırın hemen alt kısmını tanımlamaktadırlar. İnsan derisinde çalışan Olafsson ve arkadaşları (15) ise mast hücrelerine dermisin tüm katmanlarında rastladıklarını fakat bu hücrelerin yoğun olarak

stratum superfisiyalede bulduklarını saptamışlardır. Yine aynı araştırmacılar epidermis içersinde mast hücrelerine rastlamadıklarını da bildirmektedirler. Mikhail ve Miller-Milinska (8) insan derisinin epidermis-dermis sınırı da ve epidermisi oluşturan keratinositler arasında bulunan ve dermiste yer alanlara göre daha küçük ve granül açısından da daha fakir olan mast hücrelerinden söz etmektedirler. Ratların derisinde çalışan Coleman ve De Salva (18) da epidermis içersinde çok az sayıda benzer hücrelerin bulunduğunu bildirmektedirler. Bu araştırmada çalışılan her iki hayvan türünde epidermis içersinde mast hücrelerine rastlanamadı.

Toluidin mavisi ile boyanan koyun derisine ait kesitlerde mast hücrelerinin granül yapısı güçlkle ayırt edilmekteydi. Bu hücrelerin metakromatik olarak boyanan sitoplazmaları daha çok homojen görünümdeydi. Buna karşılık aynı yöntemle boyanan keçi derisine ait kesitlerde ise mast hücrelerinin granül yapısı belirgin olarak görülebilmekteydi. Koyun derisinde gözlenen bu durumun, koyun mast hücre granüllerinin sayıca keçiye göre çok daha fazla olmasından kaynaklandığı kanısına varıldı. Morrow ve arkadaşları (26) at derisinde yapmış oldukları çalışmanın bazı vakalarında toluidin mavisi ile metakromatik olarak boyadıkları preparatlarda mast hücrelerinin karakteristik granül yapısını saptarken diğer bazı vakalarda ise aynı yoğunlukta metakromatik boyanma elde edememişlerdir. Chen ve arkadaşları (5) ise, sığırların solunum kanalında bulunan mast hücrelerini metakromatik olarak boyadıklarını fakat intrasitoplazmik granülleri belirgin şekilde ayırt edemediklerini bildirmektedirler. Bu yönüyle koyun derisindeki mast hücreleri, sığır solunum kanalında bulunanlarla aynı boyanma özelliklerini göstermektedir.

Bu çalışmada kullanılan her iki hayvan türünde de 1-2 ve 3-4 yaş grupları arasında mast hücrelerinin mevsimlere ve farklı vücut bölgelerine göre ışık mikroskopik görünümleri arasında belirgin bir fark saptanamadı.

Koyun ve keçi derisinde bulunan mast hücrelerinin elektron mikroskopik incelenmesinde, bu hücrelerin çok değişik şekillerine rastlandı. Hücreler yüzeylerinde sitoplazmik uzantılar içermekteydiler. Keçide bu uzantılar, literatürde (1,4,5,6,8,12,27) diğer canlılar için tanımlandığı gibi, iyi gelişmişti ve bol miktarda bulunuyordu. Koyunda ise uzantılar keçidekine kıyasla daha seyrek ve daha kısa idi. Koyunda mast hücrelerinin granülleri, sitoplazmayı tamamen doldurdıkları halde, keçide bunların, daha çok sitoplazmanın periferine doğru yerleştikleri gözlemlendi. Bu durum granül miktarı yönünden

koyunun keçiye kıyasla daha zengin olduğunu göstermektedir.

Çalışılan her iki hayvan türünde de değişik boyutlarda gözlemlenen bu granüllerin şekilleri uzun, oval ve yuvarlak olmak üzere farklılıklar göstermekteydi. Chen ve arkadaşları (12) da koyunların solunum yollarında bulunan mast hücrelerinde, granüllerin değişik boyut ve şekillerde olduğunu göstermişlerdir. Literatürde sığır ve kedi için de aynı bulgulardan söz edilmektedir (5,27). İnsanda ise granüllerin hemen hemen aynı irilikte olduğu bildirilmektedir (1). Literatürde bu granüllerin perigranüler birer membranla çevrili olduğu gösterilmiştir (5,12). Biz benzer bulgulara rastladık.

Ratlarda, ince taneciklerden oluşan granül matriksi homojen elektron yoğun bir yapıya sahiptir (1,28). Kedide granüller orta derecede yoğun bir yapı gösterirler (27). Ayrıca bu hayvanda, sözü edilen bu granül tipi yanında içlerinde elektron yoğun iplik veya ağ benzeri yapılar bulunan granüllerin varlığına da değinilmektedir (27). Köpekte granüller elektron yoğun özelliktedir ve granül matriksini homojen yerleşmiş tanecikler oluşturur (29). İnsanda homojen bir matrikse sahip olan elektron yoğun granüller yanında, içlerinde kristalimsi yapıda ya da konsentrik lamellerden oluşmuş figürler içeren granüllerin bulunduğu da bildirilmektedir (1,3,6,28,30,31,32). Mast hücrelerini sığır ve koyunun solunum kanalı ve akciğerlerinde incelemiş olan Chen ve arkadaşları (5,12), sığırdaki homojen matriksli elektron açık granüller yanında yine elektron açık matriks içinde ağ biçiminde elektron yoğun yapılar içeren granüller bulunduğunu; koyunda ise elektron yoğun ve elektron açık tipte granüllerin homojen yapıda olup, içlerinde hiç bir konfigürasyon içermediklerini bildirmektedirler.

Koyun ve keçide mast hücrelerinin çoğunluğu, Chen ve arkadaşlarının (12) belirttiği gibi elektron yoğun ve elektron açık tipte granüller içermektedir. Ancak insanlarda tanımlandığı gibi (1,3,6,28,30,31,32) koyu ve açık görünüşlü kimi granüller içersinde değişik biçimler gösteren kristal kuruluşunda yapılarla da karşılaşıldı. Koyundaki bir kısım kristal yapılar belirgin sınırlı ve çok yoğun görünümlü idiler. Keçide ayrıca yine insanda olduğu gibi konsentrik lameller içeren granüller de bulunmakta idi. Literatürde koyun mast hücrelerinde bu tip yapılardan söz edildiğine rastlanmadı.

Koyun ve keçi derisindeki mast hücrelerinin sayısal dağılımını belirlemek amacıyla yapılan hücre sayımları ve değerlendirilmesi sonucunda varyans analizi yöntemiyle koyunların 1-2 ve 3-4 yaş grupları arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($P>0.05$).

Keçilerin aynı yaş grupları arasında ise farkın $P < 0.01$ düzeyinde istatistiksel önemde olduğu görüldü. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda deride bulunan mast hücrelerinin sayısı ile deneklerin yaşları arasında istatistiksel önemde farkın bulunmadığı bildirilmektedir (8,17). Emerson ve Cross (10) 1 ve 3 yaşlarındaki köpeklerin derisindeki bu hücrelerin sayıları arasında fark bulunmadığından söz etmektedirler. Köpekler üzerinde yapılan bir diğer çalışmada da mast hücrelerinin yoğunluğu ile köpeklerin yaşları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (14).

Çalışmamızda kullandığımız her iki hayvan türünde de boyun, sırt ve karın bölgeleri arasında mast hücrelerinin sayısal dağılımı açısından fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$). İnsanlarda yapılan benzer çalışmalarda vücut bölgelerine göre mast hücrelerinin dağılımları arasındaki farkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu bildirilmektedir (8,13,17). Coleman ve De Salva (18) ise ratların derisinde bölge faktörünün istatistiksel önemde olduğunu göstermişlerdir. Bu konudaki bulgularımız insanlara ait literatür verileri ile paralellik göstermektedir.

Literatürde mast hücrelerinin farklı mevsimlere göre dağılımlarına ait herhangi bir bilgiye rastlanamadı.

Sonuç olarak, keçi derisinde bulunan mast hücrelerinde ışık mikroskobu altında intrasitoplazmik granüllerin seçilebilmesinin, buna karşılık koyunlarda sitoplazmanın homojen metakromatik bir kütle görünümünde olmasının nedenini, elektron mikroskopik bulguların da desteklediği gibi, söz konusu hücrelerin keçilerde koyuna göre çok daha az sayıda granül içermelerine bağlanabilir.

Koyun ve keçi derisinde bulunan mast hücrelerinin granüllerinde gözlenen ince yapı düzeyindeki morfolojik bulgularımızın, daha çok insana ait literatür verilerine paralellik gösterdiğini söylenebilir.

Çalışılan her iki hayvan türünde de mast hücrelerinin sayısal dağılımı açısından vücut bölgeleri arasındaki farkların istatistiksel olarak önemsiz olduğunu, mevsimler arasında ise farkların önemli bulunduğu saptandı. Diğer yandan, yalnızca keçide, çalışılan yaş grupları arasındaki farklar da önemliydi. Bu farkların nedenini açıklayabilmek için de biyokimyasal ve fizyolojik araştırmalar yapılmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kruger, P.G.: Morphology of Normal and Secreting Mast Cells. *Acta Otolaryngol. (Stockh)*. 414: 118-123, (1984).

2. Huntley, J.F.: Mast Cells and Basophils: A Review of Their Heterogeneity and Function. *J.Comp.Path.* 107: 349-372, (1992).

3. Parwaresch, M.R., Horny, H.P., Lennert, K.: Tissue Mast Cells in Health and Disease. *Path.Res.Pract.* 179: 439-461, (1985).

4. Banks, W.J.: *Applied Veterinary Histology*. Second Edition, Williams and Wilkins Co., Baltimore. pp. 98-99, (1986).

5. Chen, W., Alley, M.R., Manktelow, B.W., Slack, P.: Mast Cells in the Bovine Lower Respiratory Tract: Morphology, Density and Distribution. *Br.Vet.J.* 146: 425-436, (1990).

6. Cormack, D.H.: *Ham's Histology*. Ninth Edition. J.B.Jippincott Co., Philadelphia. pp. 177-180, (1987).

7. Eady, R.A.J., Cowen, T., Marshall, T.F., Plummer, W., Greaves, M.W.: Mast Cell Population Density, Blood Vessel Density and Histamine Content in Normal Human Skin. *British J.Dermatol.* 100: 635-640, (1979).

8. Mikhail, G.R., Miller-Milinska, A.: Mast Cell Population in Human Skin. *J.Invest.Dermatol.* 43: 249-254, (1964).

9. Benyon, R.C.: The Human Skin Mast Cell. *Clin and Exp.Aller.* 19:375-387, (1989).

10. Emerson, J.D., Cross, D.V.: The Distribution of Mast Cells in Normal Canine Skin. *Am J Vet.Res.* 26: 1379-1382, (1965).

11. Enerback, L.: Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa. I. Effects of Fixation. *Acta.pathol.Microbiol.Scand.* 66: 289-302, (1966).

12. Chen, W., Alley, M.R., Manktelow, B.W., Davey, P.: Mast Cells in the Ovine Lower Respiratory Tract: Heterogeneity, Morphology and Density. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.* 93: 99-106, (1990).

13. Cowen, T., Trigg, P., Eady, R.A.J.: Distribution of Mast Cell in Human Dermis: Development of a Mapping Technique. *British J.Dermatol.* 100: 623-633, (1979).

14. Becker, A.B., Fan Chung, K., McDonald, D.M., Lazarus, S.C., Frinc, O.L., Gold, W.M.: Mast Cell Heterogeneity in Dog Skin. *Anat.Rec.* 213: 477-480, (1985).

15. Olafsson, J.H., Roupe, G., Enerback, L.: Dermal Mast Cells in Mastocytosis. Fixation, Distribution and Quantitation. *Acta Derm. Venereol (Stockh)*. 66: 16-22, (1986).

16. Talukdar, A.H., Calhoun, M.L., Stinson, A.W.: Microscopic Anatomy of The Skin of The Horse. *Am J Vet.Res.* 33: 2365-2390, (1972).

17. Marshall, J.S., Ford, G.P., Bell, E.B.: Formalin Sensitivity and differential Staining of Mast Cells in Human Dermis. *British J.Dermatol.* 117: 29-36, (1987).

18. Coleman, E.J., De Salva, S.J.: Mast Cell Population Density in Rat Skin. *Proc. Soc.Exp.Biol.Med.* 122: 945-949, (1966).

19. Enerback, L.: Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa. II. Dye-Binding and Metachromatic Properties. *Acta.pathol.Microbiol.Scand.* 66:303-312, (1966).

20. Karnovsky, M.J.: A Formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use in Electron Microscopy. *J.Cell Biol.* 27: 137A-138A, (1965).

- 21.Venable, J.H., Coggeshall, R.: A Simplified Lead Citrate Stain for Use in Electron Microscopy. *J.Cell.Biol.* 25: 407-408, (1965).
- 22.Böck, P.: *Romeis Mikroskopische Technik*. 17.Aufl. Urban und Schwarzenberg. München, Wien, Baltimore. pp. 329-332, (1989).
- 23.Heperkan, Y.: *Tıp'ta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları*. AÜ Tıp Fak. Yayınları Sayı 415. Ankara. (1981).
- 24.Düzgüneş, O., Akman, N.: *Variasyon Kaynakları*. AÜ Ziraat Fakültesi Ofset Basım Ünitesi. Ankara. (1991).
- 25.Schwartz, L.B., Austen, K.F.: Structure and Function of the Chemical Mediators of Mast Cells. *Prog.Allergy* 34: 271-321, (1984).
- 26.Morrow, A.N., Baker, K.P., Quinn, P.J.: Skin Lesions of Sweet Itch and the Distribution of Dermal Mast Cells in the Horse. *J.Vet.Med.* 34: 347-355, (1987).
- 27.Ward, J.M., Hurvitz, A.I.: Ultrastructure of Normal and Neoplastic Mast Cells of the Cat. *Vet.Path.* 9: 202-211, (1972).
- 28.Dixon, F.J., Fisher, D.W.: The Biology of Immunologic Disease. In: AUSTEN, K.F.: *Tissue Mast Cells in Immediate Hypersensitivity*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 223-233, (1983).
- 29.Calonico, L.D., Phillips, M.J., McDonald, D.M., God, W.M.: An Ultrastructural Analysis of Dog Mastocytoma Cells and Mast Cells. *Anat.Rec.* 212: 399-407, (1985).
- 30.Tharp, M.D., Glass, M.J., Seelig, L.L.: Ultrastructural Morphometric Analysis of Lesional Skin: Mast Cells from Patients with Systemic and Nonsystemic Mastocytosis. *J.Am.Acad.Dermatol.* 18: 298-306, (1988).
- 31.Tharp, M.D., Glass, M.J., Seelig, L.L.: Ultrastructural Morphometric Analysis of Human Mast Cells in Normal Skin and Pathological Cutaneous Lesions. *J.Cutan.Pathol.* 15: 78-83, (1988).
- 32.Weidner, N., Austen, K.F.: Evidence for Morphologic Diversity of Human Mast Cells. *Lab.Invest.* 63: 63-72, (1990).