

Hindi Lenfoid Organlarında (Timus, Dalak ve Bursa Fabricius) Yaşa Bağlı Olarak Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi

Turan KARACA✉ Mecit YÖRÜK Sema USLU

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji ABD, Kampus, 65080, VAN

Geliş ve kabul tarihi: 02.01.2006-14.02.2006, ✉ Sorumlu araştırmacı, 432 2251700/1527, turankarca74@hotmail.com

ÖZET

Bu çalışma, hindilerde bazı lenfoid organlarda yaşa bağlı olarak mast hücrelerinin dağılımının belirlenmesi amacıyla yapıldı. Araştırmada, yörede aynı koşullarda yetiştirilen 15, 30 ve 120 günlük yaşlarında ve her yaş grubunda 6 adet olmak üzere toplam 18 Bronz hindi kullanıldı. Hindiler dekapite edilerek timus, dalak ve bursa Fabricius'dan doku örnekleri alındı. Alınan örnekleri Mota'nın bazik kurşun asetat (BLA) tespit solüsyonunda tespit edildi. Mast hücrelerin demonstrasyonu için toluidine blue ve Alcian blue/safranin O boyama metotları kullanıldı. Timusta tüm yaş gruplarında medullada korteksten daha fazla mast hücresi olduğu belirlendi. Timus ve bursa Fabricius'da 15. günde en yüksek seviyede olan mast hücre sayısı, 30 ve 120. günlerde anlamlı olarak düşüş gösterdi ($P<0.05$). Dalakta ise 30. günde 15. güne göre artma olmakla beraber 120. günde tekrar azaldığı tespit edildi. Alcian blue/Safranin boyamasında safranin pozitif mast hücresine çalışılan yaş gruplarında ve organlarda rastlanmadı. Sonuç olarak, yaşa bağlı olarak hindi lenfoid organlarında mast hücre dağılımının değiştiği gözlemlendi.

Anahtar Sözcükler: Mast hücresi, lenfoid organ, hindi, yaş

Age-Related Distribution and Heterogeneity in the Number of Mast Cells Lymphoid of the Organs in Turkey

SUMMARY

This study was carried out to determine the distribution of mast cells in the lymphoid organs of turkey. The materials were obtained from a local turkey farm. A total of 18 Bronze turkeys were divided into three groups according to their ages (15, 30 and 120-days-old). After having been sacrificed by decapitation, the turkeys' thymus, spleen and bursa of Fabricius tissue samples were taken. Tissues were fixed in Mota's fixative (BLA) for 24 h and embedded in paraffin. The histologic sections were stained with toluidine blue and alcian blue – safranin O in order to determine the mast cells distribution. In all age groups, MC density was higher in medulla than cortex in the thymus. Mast cells were the highest at the 15-days-old group, however, the numbers were significantly decreased in the thymus and bursa of Fabricius at 30 and 120-day-old group ($P<0.05$). At the 30-days-old group, the number of mast cell in spleen was higher than at 15-days-old but was lower than at 120-days-old group. Safranin positive MCs were not observed in all organs and in all age groups. These results showed age-related changes in the number of MCs of the lymphoid tissues in turkey.

Keywords: Mast cell, lymphoid organ, turkey, age

GİRİŞ

Mast hücreleri hücre membranlarında IgE ve IgG alt sınıfları için özel reseptörler içerirler. Bu hücreler aşırı duyarlılık reaksiyonlarında ve paraziter hastalıkların savunmasında görev alırlar. Bununla birlikte mast hücreleri sitoplazmik granüllerinde bulunan histamin, heparin, bazı türlerde serotonin, nötral proteazlar, eozinofilik kemotaktik faktör vb. kimyasallarla birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olaylara katılan bağdokusu hücreleridir. Sitoplazmik granüllerinde yer alan histamin ve heparin, kemiklerin şekillenmesinde ve bütünlüğünün korunmasında, bağdokuların onarımında ve devamlılığının sağlanmasında, yara iyileşmelerinde, dokularda yenilenme ve deri gibi dokularda kan akımının düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (1, 4, 7, 17).

Mast hücre popülasyonlarındaki histokimyasal heterojenitede Enerback (1966a) tarafından yapılan tanımlama halen geçerlidir. Bu tanımlamanın temelini, mast hücre granüllerinin formaldehite duyarlı olması oluşturmaktadır. Buna göre, formaldehite duyarlı ve dokularda mukozal alanlarda yerleşik olan mast hücreleri mukozal mast hücreleri (mucosal mast cell – MMC),

çoğunlukla deride ve organların serozal kısımları ile kas katmanlarında bulunan ve formaldehite dirençli olan mast hücreleri ise bağdoku mast hücreleri (connective tissue mast cell - CTMC) adlandırılır.

Bu araştırma, 15-, 30- ve 120 günlük hindilerin lenfoid organlarından timus, dalak ve bursa Fabricius'larında mast hücrelerin dağılımı ve heterojenitesinin belirlenmesi amacı ile planlandı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada 15, 30 ve 120 günlük olmak üzere her grupta 6'şar adet toplam 18 Bronz hindi kullanıldı. Çalışmada kullanılan hindiler yörede aynı koşullarda yetiştirilen işletmelerden sağlandı ve özel bir diyet uygulanmadı. Hindiler dekapite edildikten hemen sonra timus, dalak ve bursa Fabricius'dan doku örnekleri alınarak Mota'nın bazik lead asetat (BLA - 1g basic lead asetat, 50 ml etanol, 50 ml distile su, 0.5 ml glasiyal asetik asit) tespitinde 24 saat süre ile tespit edildi (20). Tespit edilen örnekler rutin histolojik tekniklerle paraplastta bloklandılar (5).

Hazırlanan bloklardan alınan 6 µm kalınlığındaki seri kesitler, mast hücrelerinin identifikasyonu ve sayımlarının yapılması için Mc Ilvaine'nin sitrik asit disodyum fosfat tamponunda hazırlanan % 0.5'lik Toluidine blue (Merck, CI No. 52040) solüsyonunda 5-8 dakika (pH 0,5) (6) ve 0,2M asetat tamponunda hazırlanan alcian blue 8GX- safranin O kombine boyaları (pH 1,42) ile boyandılar (2, 21). Daha sonra bu preparatlar ışık mikroskopunda (Nikon AFX-DX Optiphot-2, Japan) incelenerek gerekli alanların fotoğrafları çekildi.

Toluidine blue ile boyanan preparatlarda mast hücrelerinin dağılımını belirlemek için yapılan hücre sayımlarında 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanıldı. 40'lık objektif büyümesinde oküler mikrometrenin 100 kare birim alanındaki mast hücreleri sayıldı. Timusta her kesitte korteks ve medulla katmanlarından ayrı ayrı, dalak ve bursa Fabricius'dan rast gele seçilen her bir bölgeden 12 büyütülmüş alanda hücre sayımı yapıldı. Seri kesitlerin sayılması sonucu bu rakamların aritmetik ortalaması alındı. Böylece 100 kare oküler mikrometrenin kapsadığı alandaki ortalama mast hücresi saptandı. 40'lık objektif büyütmesi için mikrometrik lam yardımıyla, 100 kare oküler mikrometrenin alanı hesaplandı. Daha sonra elde edilen tüm veriler, 1 mm²'lik birim alandaki mast hücre sayısına dönüştürüldü (3).

Mast hücre sayım sonuçlarının varyans analizleri SAS v.12.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Grup içi ve gruplar arası farklılıklar Duncan testi ile belirlendi (19).

BULGULAR

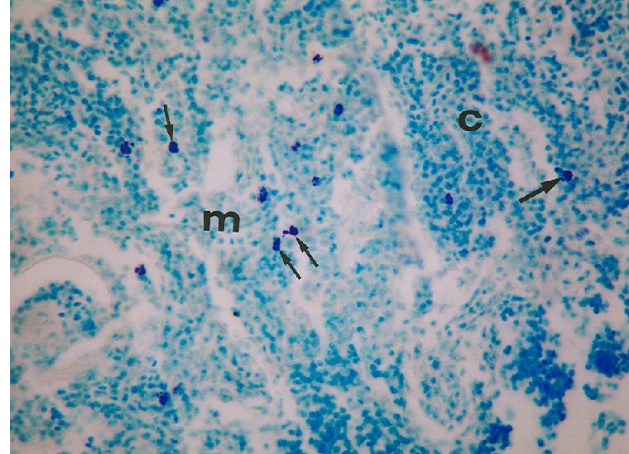
Sonuçlar Tablo 1 ve Şekil 1, 2, 3'de özetlendi. Timusta hem yaşa bağlı olarak hem de organın korteks ile medulla katmanları arasında mast hücrelerinin dağılımının farklılık gösterdiği tespit edildi (P<0.05). Mast hücre sayısal yoğunluğu dalakta 30 ve 120. günler arasında istatistiksel olarak anlamsız iken (P>0.05), bursa Fabricius'da yaş grupları arasında istatistiksel olarak farklılık gösterdiği belirlendi (P<0.05). Bununla birlikte tüm yaş gruplarında, timusun medullasındaki mast hücrelerinin korteksindekinden daha yoğun olduğu belirlendi (P<0.05). İncelenen her üç organda da mast hücrelerinin kan damarları etrafında daha fazla lokalize oldukları saptandı. Dalak ve bursa Fabricius'da lenf folikülleri içerisinde mast hücrelerine rastlanmadı (Şekil 3).

Tablo 1. Toluidine blue ile boyanmış kesitlerde hindi lenfoid organlarına ait mast hücre sayısı (n=6)

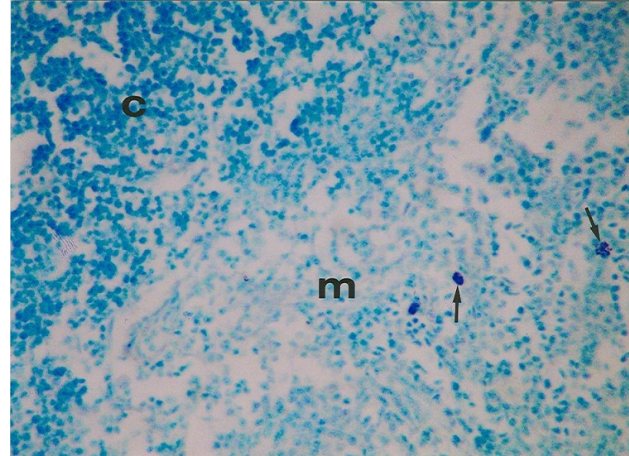
Günler	Timus		Bursa Fabricius	Dalak
	Korteks	Medulla		
15	35±12.5 ^a	112±24.6 ^{a*}	67±14.3 ^a	71±9.1 ^b
30	31±9.4 ^{a,b}	96±16.3 ^{b,*}	14±3.2 ^b	145±30.1 ^a
120	27±4.6 ^b	92±13.7 ^{b,*}	10±2.8 ^c	121±20.3 ^a

a, b, c: Aynı sütunda yer alan farklı harfler arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0.05).

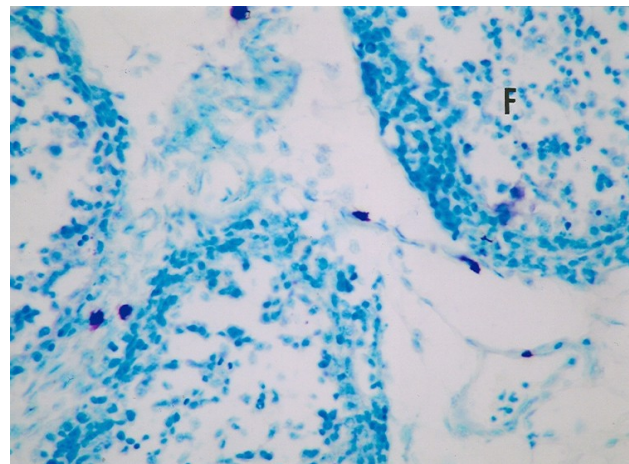
*: Aynı yaş grubu timus korteks ve medullası arasında istatistiksel olarak fark vardır (P<0.05).



Şekil 1. 15. günde hindi timusunda mast hücrelerinin dağılımı, C: korteks, M: medulla, oklar: Mast hücresi, Toluidine blue, X150



Şekil 2. 120. günde hindi timusunda mast hücrelerinin dağılımı, C: korteks, M: medulla, oklar: Mast hücresi, Toluidine blue, X150



Şekil 3. 30. günde hindi bursa Fabricius'unda mast hücrelerinin dağılımı, F: lenf folikülü, Toluidine blue, X150

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaşa bağlı değişim gösteren kanatlı timus ve bursa Fabricius'unun içerdiği hücre dağılımları da değişmektedir (10, 18). Timus dokusunda bulunan ve T – lenfositlerin farklılaşmasına katılan hücreler arasında epitel hücrelerin farklı 6 alt grubu, değişik şekillerdeki dendritik hücreler, granulositler, plasma ve B hücreleri, fibroblastlar ve yağ hücreleri temel hücreler olarak yer alırlar (24).

Kanatlı lenfoid organlarındaki mast hücre popülasyonu ve fonksiyonları hakkında çok fazla literatüre rastlanılmamıştır. Wight'ın tavuklarda yaptığı kalitatif bir araştırmada, lenfoid organlardan timus ve dalaktaki mast hücreleri sayısının “çok miktarda (+++)” olduğu tespit edilmiştir (22). Tavuklarda yapılan araştırmada (9), timus korteks ve medullası ile dalakta 0. günden 21. güne kadar mast hücreleri sayısının arttığı, 30. günden 120. güne kadar ise azaldığı tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada, bursa Fabricius'da 7. günde 0. güne göre artma olmakla beraber 21.- 30.- ve 120. günlerde mast hücre sayısında yaşın artmasına paralel azalma olduğu belirlenmiştir.

Majeed'in (1994) farelerde yaptığı bir çalışmada, incelenen vücut organları içinde mast hücre yoğunluğu en az lenf düğümlerinde olduğu belirlenmiştir (12). Yine Majeed tarafından yapılan çalışmalarda, rat mezenterik lenf düğümlerinde mast hücresi tespit edilmişken farelerde mezenterik lenf düğümlerinde mast hücresi belirlenmemiştir (13). Ratlarda yapılan diğer bir çalışmada (16), lenf düğümlerinde mast hücreleri sayısı genç hayvanlarda az sayıda ve çoğunlukla medullar sinus alanlarında yerleşik oldukları tespit edilmiştir. Bazı lenf düğümlerinde yaşla birlikte medullaya komşu ektrafoliküler alanlarda mast hücrelerin sayısında artma olduğu görülmüştür. Gebelik ve laktasyon gibi durumlarda, memeli timus hücre popülasyonlarında değişimlerin olduğu saptanmıştır (11).

Mastositozisin tüm şekillerinde, mast hücrelerinin sayısı özellikle deri, sindirim sistemi kanalı, karaciğer, dalak ve lenf düğümleri gibi organlarda artma eğilimi göstermektedir. Lenfoid organlarda mast hücreleri sayısal olarak artmasına rağmen B- ve T-lenfositlerin fonksiyonlarında önemli bir değişiklik olmamaktadır (14)

Normal durumlarda lenf folikülleri içerisinde mast hücresi yoğunluğu çok azdır. Medullar sinus alanları ise mast hücreleri için rezerv alan görevi yapmaktadır (15). Kanatlı bursa Fabriciusunda bulunan lenf foliküllerinin medulla bölgesi lenfositler, makrofajlar, sekretorik dendritik hücreler ve medullar retiküler epitel hücreleri gibi heterojen hücre gruplarını içermektedir. (18). Yapılan bu çalışmada da, dalak ve bursa Fabricius'da bulunan lenf folikülleri içerisinde mast hücresine rastlanmadı. Bu organlarda mast hücrelerinin çoğunlukla foliküller arası bölgelerde bulunduğu tespit edildi. Çalışılan tüm yaş gruplarında, timusta mast hücre yoğunluğu medullada korteksten daha fazla olduğu belirlendi (P<0.05). Yine

timusta subkapsular alanda bulunan mast hücreleri medullada bulunanlardan daha oval oldukları tespit edildi.

Tavuklarda yapılan bir çalışmada timus, dalak ve bursa Fabricius'da AB/S boyaması sonucunda, adı geçen organlarda safranin pozitif mast hücresine rastlanmamıştır (9). Bu çalışmada da timus, dalak ve bursa Fabricius'da AB/S boyamasında tüm yaş gruplarında safranin pozitif mast hücresine rastlanılmadı.

Yapılan bir çalışmada Karaca ve Yörük (2004), tavuk ve bildircin mast hücreleri için Carnoy ve BLA tespit solüsyonlarının iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise BLA tespit solüsyonunun hindi mast hücreleri için iyi sonuç verdiği gözlenmiştir (8). Valsala ve ark. (1985)'ın ördeklerde, Wight ve Mackenzie (1970) tavuklarda benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Sonuç olarak, hindi lenfoid organlarında mast hücrelerinin yaşa bağlı olarak değiştiği, timus medullasında korteksten daha fazla olduğu, dalak ve bursa Fabricius'da lenf folikülleri içerisinde bulunmadığı tespit edildi. Dalakta timus ve bursa Fabricius'tan farklı olarak 15. güne göre 30. günde mast hücre sayısının arttığı, 120. günde ise azaldığı gözlemlendi. Elde edilen bu bulguların az sayıda araştırma bulunan kanatlıların lenfoid organları ile ilgili literatüre katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1. Arda M (1994):** İmmunolojik Reaksiyonlarda Fonksiyonları olan Diğer Hücreler. Immunoloji. Medisan Yayınevi, 170-172.
- 2. Bancroft JD, Cook HC (1984):** Manuel of Histological Techniques, Churchill Livingstone Inc. New York.
- 3. Böck P (1989):** Romeis Mikroskopische Technik, 17. Aufl. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore.
- 4. Eren Ü, Aştı RN, Kurtkede N, Sandıkcı M, Sur E (1999):** The Histological and Histochemical Properties of the Mast Cells and the Mast Cell Heterogeneity in the Cow Uterus. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 23: 193-201.
- 5. Enerback L (1966a):** Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: I. Effects of Fixation. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 66: 289-302.
- 6. Enerback L (1966b):** Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa. II. Dye-Binding and Metachromatic Properties. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 66: 303-312.
- 7. Huntley JF (1992):** Mast Cells and Basophils: A Review of their Heterogeneity and Function, J. Comp. Path., 107: 349-372.
- 8. Karaca T, Yörük M (2004):** A Morphological and Histometrical Study on Distribution and Heterogeneity of Mast Cells of Chicken's and Quail's Digestive Tract. YYÜ. Vet. Fak. Derg., 15(1-2):115-121.

9. Karaca T, Yörük M and Uslu S.: Age-Related Changes in the Number of Mast Cells in the Avian Lymphoid Organs. *Anat. Histol. Embryol.* **(In Press)**.

10. Kendall MD (1980): Avian Thymus Glands: A Review. *Dev. Comp. Immunol.*, 4: 191–209.

11. Kendall MD, and Clarke AG (2000): The Thymus in the Mouse Changes its Activity During Pregnancy: A Study of the Microenvironment. *J. Anat.*, 197: 393-411.

12. Majeed SK (1994a): Mast Cell Distribution in Mice. *Arzneimittel-forsch.*, 44(10): 1170-1173.

13. Majeed SK (1994b): Mast Cell Distribution in Rats. *Arzneimittel-Forsch.*, 44(3): 370- 374.

14. Mekori YA (2000): Lymphoid Tissue and the Immune System in Mastocytosis. *Hematol. Oncol. Clin. N.*, 14(3): 569-577.

15. Pearce FL (1986): On the Heterogeneity of Mast Cells (Current Review), *Pharmacol.*, 32: 61-71.

16. Sainte-Marie G, Peng FS (1990): Mast Cells and Fibrosis in Compartments of Lymph Nodes of Normal, Gnotobiotic, and Athymic Rats. *Cell Tissue Res.*, 261: 1-15.

17. Sağlam M, Aştı RN ve Özer A (1997): Genel Histoloji, Genişletilmiş 5. Baskı, Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti., Ankara.

18. Sanchez-Refusta F, Ciriaco E, Germana A, Germana G, Vega JA (1996): Age-Related Changes in the Medullary Reticular Epithelial Cells of the Pigeon Bursa of Fabricius. *Anat. Rec.*, 246(4): 473-80.

19. SAS (1998): Uses's Guide: Statistics, Version 12.0 Edition. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

20. Strobel S, Miller HRP and Ferguson A (1981): Human Intestinal Mucosal Mast Cells: Evaluation of Fixation and Staining Techniques, *J. Clin. Pathol.*, 34: 851-858.

21. Wang T (1991): Mast Cells in Chicken Digestive Tract. II. Fixation, Distibution, Histochemistry and Ultrastructure, *Tokai J. Exp. Clin. Med.*, 16(1): 27-32.

22. Wight PAL (1970): The Mast Cells of Gallus Domesticus, *Acta Anat.*, 75: 100-113.

23. Wight PA, Mackenzie GM (1970): The Mast Cells of Gallus domesticus. II. Histochemistry. *Acta Anat. (Basel)*, 75(2): 263-75.

24. Zoller M (1990): Intrathymic Presentation of Nominal Antigen by B Cells. *Int. Immunol.*, 2(5): 427-34