

# Tavşan Ağız Mukozasında Mast Hücrelerinin Dağılımı

Dr. Semra Erpek\*, Dr. Ali Otlu\*

Tavşan ağız mukozasının değişik bölgelerindeki (dil, yanak, damak, dişeti) mast hücreleri ışık mikroskobu düzeyinde incelendi. Materyaller Karnoy, izotonik formol asetik asit (İFAA) ve formalin solusyonlarında tesbit edildi. Hazırlanan blokların herbirinden dört seri kesit alındı. Birinci kesit Crossmann'ın üçlü boyama metodu ile, ikinci ve üçüncü kesitler toluidine blue ile (ikinci kesit bir dakika, üçüncü kesit yedi gün süreyle), dördüncü kesit astra blue/safranin ile ardışık olarak boyandı. Bu kesitlerdeki mast hücreleri oküler mikrometre yardımıyla sayılarak her bölgeye ait mast hücre yoğunluğu saptandı. Her bir fiksatif ve boya kombinasyonuna ait değerler birbirleriyle istatistiksel yönden karşılaştırıldı. Kullanılan fiksatiflerden formalin ile istenilen başarı sağlanamazken diğer iki fiksatifle tesbit edilen kesitlerde mast hücreleri gözlemlendi. Uzun süreli TB ve astra blue/safranin (ABS) ile boyanan kesitlerde mavi renkte boyanan mast hücreleri gözlemlendi. Uygulanan yöntemlerle elde edilen ortalama mast hücre sayıları birbirleriyle karşılaştırıldığında en iyi sonucun Karnoy solusyonu ile tesbit edilen kesitlerde elde edildiği saptandı. Bu yöntemle fiksasyondan sonra TB ile 7 gün boyamanın tavşan ağız mukozasındaki mast hücrelerinin incelenmesi için uygun bir yöntem olduğuna karar verildi. Karnoy solusyonu ile tesbit edilen kesitlerde ağız mukozasının değişik bölgeleri arasında içerdikleri ortalama mast hücre sayısı bakımından istatistiksel bir farklılık bulunamadı. İFAA solusyonunda tesbit edilenlerde ise hem TB hem de ABS ile boyanan kesitlerde dişeti mukozasında diğer bölgelerden daha fazla mast hücresi bulunduğu saptandı.

**Anahtar kelimeler:** Tavşan, ağız mukozası, mast hücresi.

## Distribution of mast cells in the rabbit oral mucosa

Mast cells were identified by light microscopy in various oral mucosal sites (tongue, cheek, palate, gingiva) of the rabbits. Materials were fixed in Carnoy, IFAA, formalin solutions and embedded in paraffin. Four consecutive sections were taken from each sample. The first section was stained by Crossmann's triple staining method, the second and third with toluidine blue, for 1 minute and 7 days and the last section was double stained in astra blue safranine. Mast cells in these sections were counted by using an ocular micrometer and for each field mast cell population is calculated. Statistical comparisons were made for each fixation and staining method combination. Mast cells were not identified in formalin fixed sections but were shown with toluidine blue after a seven day staining period and astra blue safranine. The average mast cell numbers were compared according to the fixation and staining methods. The sections fixed in Carnoy solution and stained with toluidine blue for 7 days were demonstrated as the appropriate methods for identifying the rabbit oral mucosa mast cells. There was no statistical difference in the number of mast cells between the various sites of oral mucosa in Carnoy fixed sections. However, in IFAA fixed sections there were more mast cells observed in gingiva than the other sites, either with toluidine blue stain or with astra blue/safranine stain.

**Key words:** Rabbit, oral mucosa, mast cell.

---

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından (İÜAF 94/13) desteklenen bu çalışma ilk yazarın aynı başlıklı Histoloji ve Embriyoloji uzmanlık tezinden hazırlanmıştır.

## GİRİŞ

İlk kez Paul Ehrlich tarafından tanımlanmış olan mast hücrelerinin en karakteristik özelliği sitoplazmalarında çok sayıda granülün bulunmasıdır. Bu granüller glikozaminoglikan (proteoglikan) içeriğinden dolayı metakromatiktir (1). Granüllerdeki glikozaminoglikanların en iyi örneği heparindir. Mast hücresi granüllerinde histamin de bulunur. Bazı hayvanların mast hücrelerinde insanda bulunmayan serotonin içeren granüller de saptanmıştır (2).

Mast hücrelerinin organ ve dokulardaki dağılımı farklı türler arasında değişiklikler göstermekle birlikte genellikle tüm organların bağ dokularında yaygın olarak bulunmaktadır. Daha çok kan damarları ve sinirlerin yakınında, deri, solunum ve gastrointestinal sistem gibi çevresel antijenlere maruz kalınan epitelyal yüzeylerin altında yerleşmişlerdir (1-5).

Mast hücreleri çevrelerindeki dokunun yapısına göre yuvarlak, oval veya fuziform şekil alabilirler. Yuvarlak hücreler başlıca gevşek bağ dokusunda bulunurlar. Uzamış görünümli hücreler kollagen liflerinin yoğun olduğu deri ve organ kapsüllerinin yoğun bağ dokusu içinde görülürler. Nükleus hücre şekliyle uyumlu olarak yuvarlak, oval ya da uzamış görünümli olup sıklıkla intrasitoplazmik granüller tarafından maskelenmiştir (3, 6, 7).

Mast hücrelerini ışık mikroskopunda göstermek için kullanılan boya metodlarının esası katyonik boyaların granüllerdeki glikozaminoglikanlara olan ilgisine dayanır. Optimal fiksasyon glikozaminoglikanların boya bağlanması için uygun olan polianyonik bölgelerini bırakarak presipitasyonu ile sonuçlanır (8). Bu yüzden mast hücrelerinin gösterilmesinde en önemli nokta tesbit işlemidir. Mast hücrelerinin fikse edilmiş dokularda gösterilmesindeki başarısızlık ya nonpresipite glikozaminoglikanların dissolusyonu

(9) ya da katyonik proteinler tarafından polianyonların blokajı nedeniyle olabilir. Deneysel veriler ikinci hipotezi desteklemektedir (10). Karnoy solusyonunun genellikle glikozaminoglikanlar için uygun bir fiksatif olduğu ve etkisinin asiditesi ile ilgili olduğu proteinlere iyonik bağlanmayı kolaylaştırdığı düşünülmüştür (9). Ayrıca Karnoy dokulara hızla penetre olur ve hem glikozaminoglikanları hem de proteinleri presipite eder (8). Eskiden beri granüllerin suda eriyebileceği düşünülerek mast hücrelerinin gösterilmesinde aköz formaldehit pek kullanılmamıştır. Bununla birlikte son yıllardaki deneyimler aköz formaldehit ile fiksasyonun granül içeriğini eritmekten çok granül morfolojisini değiştirdiğini göstermiştir. Mukozal mast hücresi glikozaminoglikanının normal aldehit fiksasyonundan sonra eğer çok uzun boyama süresi kullanılırsa gerçekten boyanabildiği görülmüştür (11). Formaldehit mast hücrelerini fikse etmek için asetik asit ile kombine edilmiştir. İzotonik formol asetik asit (İFAA) solusyonunun Karnoy ve kurşun tuzları içeren fiksatiflere alternatif olarak kullanılabilmesi ve ratlardaki her iki tip mast hücresi için toluidine blue (TB) ile boyanabilirliği korumada iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (9).

Bugün mast hücreleri rodentlerde morfolojik, histokimyasal, immünokimyasal, biyokimyasal ve fonksiyonel özelliklerine göre tanımlanmış ve mast hücrelerinin farklı iki tipi olduğu kabul edilmiştir. Bu populasyonlar daha çok buldukları anatomik yerlere göre bağ doku mast hücresi (BDMH) ve mukozal mast hücresi (MMH) olarak adlandırılmıştır (12). MMH'ler daha küçük olup yüzey epitelinin altında bulunurken, BDMH'ler daha büyük olup daha çok granüle sahiptirler ve daha derinde bulunurlar (13). MMH'lerin Karnoy veya kurşun asetat fiksasyonundan sonra kolaylıkla görülebildikleri, standart formalin veya aldehite dayanan fiksatiflerle fiksasyonu takiben boyanma özelliklerinin bazılarını kaybedebilecekleri iyi

bilinmektedir (9). Bu farklılıklar granüllerdeki glikozaminoglikanların tipleriyle ilgili olabilir. MMH'ler yüksek sülfatlanmış kondroitin sülfatlara sahiptir (14), BDMH'ler ise heparin içerirler (5,15). Düşük pH'da alcian blue/safranin O (ABS) boyanması mast hücrelerinin proteoglikan içeriklerine bağlıdır (15). ABS boyanmasında MMH'ler sadece alcian blue (veya astra blue) ile mavi boyanırken BDMH'ler safraninle kırmızı boyanırlar (16).

Ağız mukozalarında mast hücrelerinin varlığı insanda (17, 18, 19), köpeklerde (20), hamsterde (21), ratlarda (22-24) ve yarasalarda (25) gösterilmiştir. Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise tavşanların dil, özofagus, mide, barsaklar ve lenf düğümlerinde mast hücresi görülmediği bildirilmiştir (26).

Bu araştırmada tavşan ağız mukozasını temsil eden değişik bölgelerdeki (dil, yanak, damak, dişeti) mast hücrelerinin farklı tesbit ve boya yöntemleri kullanılarak ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi, ayrıca bu bölgelerdeki mast hücrelerinin oküler mikrometre yardımıyla sayılarak yoğunluklarının saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada materyal olarak Hıfzısıhha Enstitüsü Serum Üretme Çiftliği'nden alınan 2-3 aylık, ağırlıkları 2100-2700 gram arasında değişen, sağlıklı, 20 adet Yeni Zelanda albino cinsi erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar "overdose" thiopental verilerek öldürüldü. Her hayvandan ölümden hemen sonra dil, sert damak, yanak mukozası (dudak komissüründen yaklaşık 1 cm uzaklıkta), üst kesici diş dişeti (marjinal gingiva) ve jejunumdan doku örnekleri alındı. Alınan doku parçaları serum fizyolojik içinde yıkandıktan sonra üç eşit parçaya bölünerek Karnoy, IFAA ve %10'luk formalinden oluşan tesbit solusyonlarına konuldu.

Karnoy solusyonunda 4-6 saat oda ısısında tesbit edilen dokular yıkamaya alınmadan absolu alkole alındı. Daha sonra ksilol ve parafinlerden geçirilerek bloklandı. IFAA solusyonuna alınan dokular 24 saat buzdolabında tesbit edildikten ve 12 saat süreyle %70'lik alkolde tutulduktan sonra dereceli alkol, ksilol ve parafinlerden geçirilerek bloklandı. %10'luk formalin solusyonunda 24 saat oda ısısında tesbit edilen dokular ise 24 saat yıkandıktan sonra dereceli alkol, ksilol ve parafinlerden geçirilerek bloklandı.

Hazırlanan blokların herbirinden mikrotom ile 5µ kalınlığında dört seri kesit alındı. Birinci kesite doku hakkında genel bir bilgi edinebilmek için Crossman'ın üçlü boyama metodu uygulandı (27). Mast hücrelerinin identifikasyonu ve sayımlarının yapılması amacıyla ikinci kesit 1 dk, üçüncü kesit 7 gün süreyle %0.5'lik toluidine blue (0.5 N HCl'de çözündürülerek, pH 0.5) ile boyandı (11,16). Dördüncü kesit ise %0.5'lik astra-blue (0.7 N HCl'de çözündürülerek, pH 0.3) %0.5'lik safranin (0.125 N HCl'de çözündürülerek, pH 1) ile ardışık olarak boyandı (16).

Her beş hayvanın aynı doku örneğine ait farklı solusyonlarda tesbit edilmiş olan tüm kesitler aynı boya solusyonunda eşzamanlı olarak boyandı.

TB ve ABS ile boyanan kesitlerde mast hücrelerinin sayısal dağılımını saptamak için yapılan hücre sayımlarında 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanıldı. Kırklık objektif büyütmesinde 100 karenin oluşturduğu birim alana düşen mast hücreleri sayıldı.

Dil, yanak mukozası, damak ve dişetine ait kesitlerde herbiri epitelin hemen altından başlayan 0.25X0.25 mm boyutlarında birbirine bitişik 20 alandaki mast hücreleri sayıldı. Jejunuma ait kesitlerde ise muskularis mukozanın üstünde kalan 0.25X0.25 mm boyutlarında birbirine bitişik 20 alandaki mast hücreleri sayıldı. Kırklık objektif büyütmesi için mikrometrik lam yardımıyla 100 kare oküler mikrometrenin alanı hesaplandı. Daha

sonra tüm sayısal veriler 1 mm<sup>2</sup> lik birim alandaki mast hücre sayısına dönüştürüldü.

Uygulanan farklı tesbit ve boya yöntemlerine göre örnekler 4 guruba ayrıldı. Gurupların genel karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi uygulandı. Varyans analizi sonucu farklılık bulunduğu ikili karşılaştırmalar en küçük önemli fark yöntemine göre yapıldı (28).

## BULGULAR

### Genel Bulgular

Crossmann'ın üçlü boyama metodu uygulanan kesitlerde ağız boşluğunu sınırlandıran yapıların genel özellikleri incelendi. Örneklerde herhangi bir patolojik görünüm saptanmadı.

TB solusyonunda 1 dk süreyle boyanmış olan kesitlerin hiçbirinde mast hücrelerine rastlanmadı. TB solusyonunda 7 gün süreyle boyanan Karnoy ve IFAA tesbitli kesitlerde mast

hücreleri açık mavi zeminde koyu mavi-mor renkte boyanan granülleri ile kolaylıkla seçilebiliyordu. Formalin tesbitli kesitlerde ise sadece yanak ve dişeti mukozasına ait birer kesitte çok az sayıda mast hücrelerine rastlandı. Bu yüzden formalin tesbitli kesitler sayısal değerlendirmeye alınmadı.

ABS boyası uygulanan Karnoy ve IFAA tesbitli kesitlerde astra blue ile mavi renkte boyanan mast hücreleri safraninle boyanmadılar. Formalin tesbitli kesitlerde ise mast hücrelerine rastlanmadı.

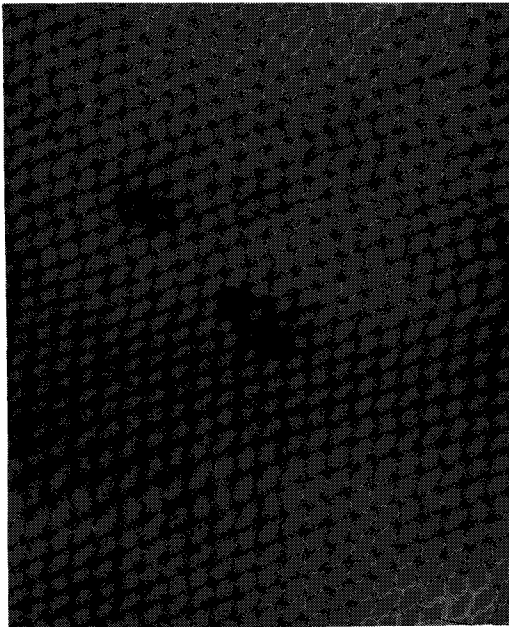
Toluidine blue ve astra blue ile boyanan mast hücreleri genellikle lamina propriada yer almışlardı. Jejunum dışında submukozada mast hücreleri hemen hemen hiç görülmedi. Yine jejunuma ait kesitlerdeki birkaç mast hücreleri dışında intraepitelyal yerleşime rastlanmadı. Ancak dişetine ait bir kesitte epitele bitişik birkaç mast hücreleri gözlemlendi. Mast hücreleri daha çok damarlara yakın ve birkaç tanesi birarada olarak yerleşmişlerdi. Astra blue ile boyanan kesitlerde zemin toluidine blue ile boyananlardan çok daha soluk boyanmış olup doku oryantasyonu güçlü.

Mast hücrelerinin şekli genellikle yuvarlak ya da oval (Resim I) olup arasına uzamış, iğ şeklindeki (Resim II) hücrelere de rastlandı. Nükleus hücre şekliyle uyumlu olarak yuvarlak ya da ovaldı (Resim I). Nükleus sınırları çoğu kez nükleusu örten granüller yüzünden belirgin değildi. Genellikle hücrenin ortasında yer alan nükleus arasına ekzantrik bir yerleşim de gösteriyordu.

### Hücre sayımlarının değerlendirilmesi

Yalnızca TB ile 7 gün boyanan birkaç kesitte mast hücreleri görülebildiği için formalin tesbitli kesitler sayısal değerlendirmeye alınmadı. Hücre sayımları sonucu her bir fiksatif/boya kombinasyonuna ait elde edilen ortalama değerler tablo I ve II'de gösterilmiştir.

**Resim I.** Damak mukozasında oval mast hücresi. Tesbit: Karnoy solusyonu, Boya: Astra blue/safranin. Büyütme: 330X.



**Tablo I.** Kullanılan metodlara göre ortalama mast hücre sayıları.

	K/TB ort.±sd	K/ABS ort.±sd	IFAA/ TB ort.±sd	IFAA/ABS ort.±sd
Dil	4.36 ± 1.844	4.88 ± 1.852	4.16 ± 1.436	2.93 ± 0.827
Yanak	3.80 ± 1.066	4.12 ± 1.014	3.04 ± 0.614	2.68 ± 0.391
Damak	4.88 ± 2.107	4.96 ± 1.714	3.64 ± 0.953	3.12 ± 0.682
Dişeti	4.96 ± 1.119	5.34 ± 0.737	4.60 ± 0.856	3.88 ± 0.790
Jejunum	82.48 ± 4.184	85.92 ± 3.467	80.56 ± 3.180	74.96 ± 2.126

**K:** Karnoy fiksatif  
**TB:** Toluidine blue boyaması  
**ort:** Ortalama mast hücresi sayısı/mm<sup>2</sup>

**IFAA:** İzotonik formol asetik asit fiksatif  
**ABS:** Astra blue/safranin boyaması  
**sd:** standart sapma

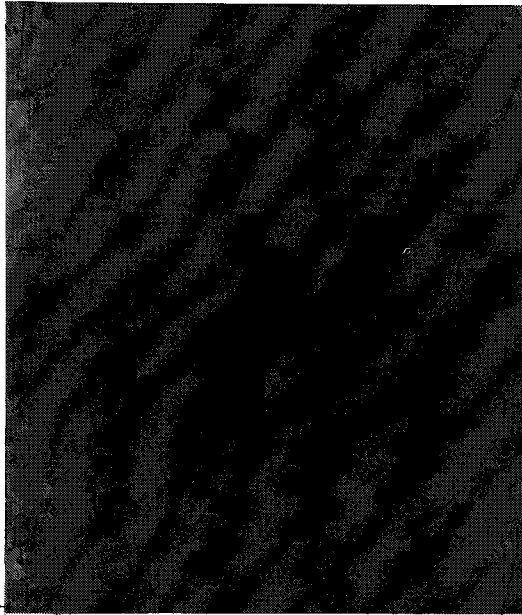
**Karnoy tesbitli kesitler:**

**Toluidine blue:** Jejunum mukozasındaki ortalama mast hücre sayısı 82.48/mm<sup>2</sup> olarak bulundu. Dil, yanak, damak ve dişeti mukozalarındaki mast hücre sayısı 4.96-3.80/mm<sup>2</sup> arasındaydı (Tablo I). Bu bölgelerdeki mast hücre sayıları birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık bulunmadığı görüldü.

**Astra blue/safranin:** Jejunum mukozasındaki

**Resim II.** Yanak mukozasında iğ şeklinde mast hücreleri.

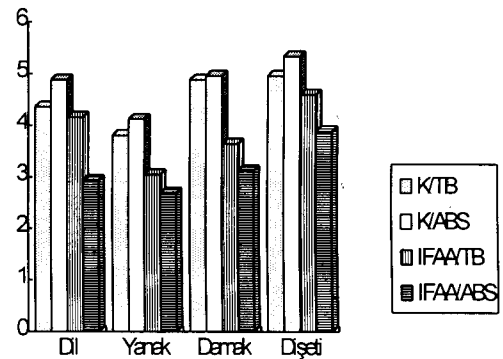
Oklar: Mast hücreleri. Tesbit: Karnoy solusyonu,  
 Boya: Toluidine blue (7 gün), Büyütme: 330X



ortalama mast hücre sayısı 85.92/mm<sup>2</sup>, ağız mukozalarındaki mast hücre sayıları ise 5.34 - 4.12/mm<sup>2</sup> arasında saptandı (Tablo I). Ağız mukozalarının farklı bölgelerindeki mast hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.

**IFAA tesbitli kesitler:**

**Toluidine blue:** Jejunum mukozasındaki ortalama mast hücre sayısı 80.56/mm<sup>2</sup> olarak bulundu. Ağız mukozalarındaki ortalama mast hücre sayıları ise 4.60-3.04/mm<sup>2</sup> arasındaydı (Tablo I). Bu bölgelerdeki mast hücre sayılarının en küçük önemli fark yöntemine (LSD) göre, ikili karşılaştırmaları sonucunda dil ve dişeti mukozasının yanak mukozasından, ayrıca dişeti mukozasının da damak mukozasından daha çok mast hücresi içerdiği saptandı (p<0.0001).

**Tablo II.** Kullanılan metodlara göre ortalama mast hücre sayıları

**Astra blue / safranin:** Ortalama mast hücre sayısı jejunum mukozasında  $74.96 /\text{mm}^2$ , ağız mukozalarında ise  $3.88-2.68/\text{mm}^2$  arasında bulundu (Tablo I). Ağız mukozalarındaki ortalama mast hücre sayıları birbirleriyle karşılaştırıldığında dişeti mukozasının dil, yanak ve damak mukozalarından daha çok mast hücrelerine sahip olduğu görüldü ( $p<0.0001$ ). Ayrıca damak mukozasında yanak mukozasından anlamlı olarak daha çok mast hücresi bulunduğu saptandı ( $p<0.0001$ ).

Uygulanan her bir fiksatif ve boya yöntemi kombinasyonu ile elde edilen ortalama mast hücre sayıları birbirleriyle karşılaştırıldığında, jejunum mukozasında ABS ile boyanan Karnoy tesbitli kesitlerdeki mast hücre sayısının aynı yöntemle boyanan IFAA tesbitli kesitlerdekinden fazla olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Jejunumda ayrıca Karnoy tesbitli kesitlerdeki mast hücre sayısı ABS yöntemi ile boyananlarda TB ile boyananlardan daha fazla bulunurken; IFAA tesbitli kesitlerde ise TB ile boyananlarda ABS'den daha fazla bulundu ( $p<0.05$ ).

Dilde ABS ile boyanan Karnoy tesbitli kesitlerdeki hücre sayısı, aynı yöntemle boyanan IFAA tesbitli kesitlerdekinden fazla idi ( $p<0.05$ ). Dilde ayrıca IFAA tesbitli kesitlerdeki mast hücre sayısının TB ile boyananlarda ABS ile boyananlardan daha fazla olduğu saptandı ( $p<0.05$ ).

Yanak mukozasında ABS ile boyanmış Karnoy tesbitli kesitlerdeki mast hücre sayısı, aynı yöntemle boyanmış olan IFAA tesbitli kesitlerden fazla bulundu ( $p<0.05$ ). Aynı fark TB ile boyananlarda da mevcuttu ( $p<0.05$ ).

Damak mukozasında da yanak mukozasında olduğu gibi ABS ve TB uygulanan kesitlerdeki mast hücre sayısı Karnoy'da tesbit edilenlerde daha fazla idi ( $p<0.05$ ).

Dişeti mukozasında da diğer bölgelerde olduğu gibi ABS ile boyanan Karnoy tesbitli

kesitlerdeki mast hücre sayısı aynı yöntemle boyanan IFAA tesbitli kesitlerdekinden daha fazla bulundu ( $p<0.05$ ). Ayrıca IFAA tesbitli kesitlerdeki mast hücre sayısı TB ile boyananlarda ABS ile boyananlardan daha fazla olduğu görüldü ( $p<0.05$ ).

## TARTIŞMA

Mukozalardaki mast hücrelerinin görülebilmesi için özel tesbit yöntemlerine gereksinim olduğu bilinmektedir. En uygun tesbit yöntemini belirlemek amacıyla insanlarda ve deney hayvanlarında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu konudaki ilk kapsamlı çalışma Enerback (9) tarafından ratların sindirim sistemi mukozalarında gerçekleştirilmiştir. Enerback formalin fiksasyonu ile boyanmayan MMH'lerin Karnoy, IFAA ve kurşun tuzları içeren fiksatiflerle tesbitten sonra TB ile boyanabildiklerini ve yöntemin ratlardaki her iki tip mast hücrelerini göstermede kullanılabileceğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da tavşanların ağız ve barsak mukozalarındaki mast hücreleri Karnoy ve IFAA ile tesbitten sonra ABS ve TB ile boyanırken, formalinle tesbitten sonra boyanmadılar.

Enerback bir başka çalışmasında (16) yukarıda belirtilen özel yöntemlerden biriyle tesbitten sonra ABS boya yönteminin uygulanmasıyla rat dermal mast hücrelerinin çoğunun safraninle kırmızıya (BDMH), çok az bir bölümünün de astra blue ile maviye boyandığını; buna karşılık intestinal mast hücrelerinin (MMH) yalnızca astra blue ile maviye boyandığını bildirmektedir. Bizim çalışmamızda ise tavşanlarda hem ağız mukozalarındaki hem de jejunumdaki mast hücrelerinin hiçbir safraninle boyanmazken astra blue ile mavi renkte boyandılar.

Mast hücre tiplerini ayırtmayı kolaylaştırmak amacıyla ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada (24) IFAA tesbitli kesitlerde TB ile 30 saniye içinde

dilin merkezi bölgelerindeki mast hücrelerinin belirgin olarak boyandığı, barsak mukozasında hiç mast hücresi gözlenmediği; boyama süresinin uzamasıyla barsak mast hücrelerinin de bariz şekilde görülmeye başladığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada TB için süreye bağlı boyanma özelliği ile birlikte astra blue ve safranine afinitedeki farkın çeşitli ağız bölgelerindeki mast hücre tiplerini tanımlamada kullanılabileceği de bildirilmektedir. Buna göre; IFAA ile tesbit edilen kesitlerde TB ile 30 saniyede boyananlar BDMH, 5 günde boyananlar MMH; ABS ile mavi renkte boyananlar MMH, kırmızı renkte boyananlar BDMH, kırmızı-mavi renkte boyananlar ise ara tip mast hücresi olarak değerlendirilmiştir. Bu yöntemle ratların ağız mukozalarında bir kısım hücre ABS ile kırmızı-mavi boyandığı için tüm hücreler MMH ve BDMH olarak sınıflandırılmamakla birlikte en azından iki tip mast hücresi bulunduğu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda ise uzun süreli TB yöntemiyle bile dilin merkezi bölgelerinde mast hücrelerine rastlanmadığı gibi, TB ile bir dakika boyanan hiçbir kesitte mast hücresi gözlenmedi. Ancak IFAA ve Karnoy tesbitli kesitlerde uzun süreli TB yöntemiyle saptanan mast hücreleri ABS ile boyanmada yalnızca astra blue'ya afinite gösterdiler.

Rağbetli ve ark. (26) tavşan ve ratların dil ve barsak mukozasına ait dokuları Susa ve alkol-formalin solusyonunda tesbit edip TB, ABS, Giemsa ve "Dominici resorcin fuchin" boya metodlarını uygulamışlar ve uyguladıkları tüm yöntemlerle ratlarda mast hücrelerini gözlediklerini fakat tavşanlarda hiç mast hücresine rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tavşanların ağız mukozası ve jejunumuna ait Karnoy ve IFAA tesbitli kesitlerde ABS ve uzun süreli TB yöntemleriyle mast hücreleri gözlemlendi.

Crow ve ark. (29) insan uterusundaki mast hücrelerini inceleyen çalışmalarında TB ile uzun süreli boyama metodunun mast hücrelerini

zeminden ayırdetmede en iyi sonucu verdiğini saptamışlardır. Bu araştırmacılar ABS yöntemi ile mast hücrelerinin iyi boyanmalarına rağmen zeminin soluk olduğunu ve bu yüzden doku oryantasyonunun zor olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bir hafta süreyle TB ile boyanan kesitlerde zemin gayet belirgin bir şekilde gözlemlendi ve mast hücreleri zeminden kolaylıkla ayırdedildi. ABS yöntemiyle boyanan kesitlerde ise zemin çok soluk boyandığı için doku oryantasyonu oldukça güç oldu.

Ratlarda yapılan çalışmalarda dilin lamina propriasında ve kas tabakasında mast hücrelerinin varlığı gösterilmiştir (24, 30). Rat (24) ve yarasa (25) dilinde yapılan çalışmalarda kas tabakasında lamina propriadan daha çok mast hücresine rastlandığı bildirilmiştir. Ruokonen ve ark. (19) insan yanak mukozasındaki mast hücre sayısının epitelin hemen altındaki yüzeyel lamina propriada en yüksek olduğunu, derinlere gidildikçe bu sayının kademeli olarak azaldığını saptamışlardır. Bizim çalışmamızda tavşan dili ve yanak mukozasındaki mast hücreleri daha çok epitele yakın lamina propria bölgesinde gözlemlendi. Dilde lamina proprianın kas dokuya bitişik bölgelerinde arasına mast hücrelerine rastlanmakla birlikte, daha derin tabakalarda mast hücresi görülmedi.

Hamsterlerin dişetindeki mast hücrelerini inceleyen bir çalışmada mast hücrelerinin aktif olarak dişeti epitelini penetre ettikleri bildirilmiştir (21). Bizim çalışmamızda tavşanın dişetinde intraepitelyal mast hücresi görülmemekle birlikte birkaç yerde epitele bitişik mast hücreleri gözlemlendi. Mast hücreleri daha çok epitelin hemen altındaki yüzeyel lamina propria bölgesinde yer almakta idi.

Mast hücrelerinin bağ dokularında çoğunlukla damar duvarlarına yakın olarak yerleştikleri bilinmektedir (3, 6, 7). Bu çalışmada da mast hücreleri daha çok damarların çevrelerinde gözlemlendi.

Mast hücrelerinin içinde buldukları dokunun yapısına bağlı olarak yuvarlak, oval ya da fuziform bir şekilde olabilecekleri; nukleuslarının genellikle merkezi konumlu olup, sıklıkla intrasitoplazmik granüller tarafından maskelendiği insanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (7, 18, 21). Bu çalışmada tavşan ağız mukozaları ve jejunumdaki mast hücrelerinin genellikle yuvarlak ya da oval şekilde oldukları; nukleuslarının daha çok hücrenin ortasında yer aldığı ve bazen granüllerle örtülü oldukları gözlemlendi.

Ratların ağız mukozalarının yüzeyel bölgelerinde bulunan total mast hücre sayısının IFAA ile tesbit edilip ABS ile boyanan kesitlerde  $23.8-27.7/mm^2$ , TB ile boyananlarda ise  $30.1-35.9/mm^2$  arasında değiştiği, ağız mukozasının değişik bölgelerindeki total mast hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (24). Bizim çalışmamızda ise Karnoy tesbitli kesitlerdeki mast hücre sayıları ABS ile boyananlarda  $5.34-4.12/mm^2$ , TB ile boyananlarda  $3.80-4.96 /mm^2$  arasında bulundu. IFAA tesbitli kesitlerde ise ABS ile boyananlarda  $2.68-3.88/mm^2$ , TB ile boyananlarda  $3.04-4.60/mm^2$  arasında bulunduğu saptandı. Karnoy tesbitli kesitlerde her iki boya yöntemiyle ağız mukozasının değişik bölgelerindeki mast hücre sayıları arasında istatistiksel yönden anlamlı bir farklılık bulunmazken IFAA tesbitli kesitlerde TB boyama yöntemiyle boyananlarda dil mukozasında yanak mukozasından ve dişeti mukozasında da yanak ve damak mukozasından daha çok mast hücresi bulunduğu saptandı ( $p<0.0001$ ). ABS ile boyanan kesitlerde de damak mukozasının yanak mukozasından ve dişeti mukozasının da dil, yanak ve damak mukozasından daha çok mast hücresi içerdiği görüldü ( $p<0.0001$ ).

Matsson (24) ratların ağız mukozalarının değişik bölgelerindeki total mast hücre sayıları arasında istatistiksel bir fark bulunmadığını bildirmekle birlikte IFAA ile tesbit edilip TB

solusyonunda 5 gün boyanan kesitlerdeki MMH sayılarını karşılaştırdığında dişeti mukozasının yüzeyel tabakasında dilin yüzeyel tabakasından önemli derecede daha çok MMH bulunduğunu saptamıştır. Bizim çalışmamızda da tavşan ağız mukozalarında aynı tesbit ve boya yöntemiyle elde edilen ortalama mast hücre sayıları birbirleriyle karşılaştırıldığında dişeti mukozasının dil, yanak ve damak mukozalarından daha çok mast hücresine sahip olduğu görüldü ( $p<0.0001$ ).

Sağlıklı insan yanak mukozasındaki mast hücreleri ile ilgili bir çalışmada (19) epitelden 0.5, 1 ve 1.5 mm uzaklıktaki sahalarda mast hücreleri sayılmış ve ortalama mast hücre sayısının en üst tabakada  $110/mm^2$  en alttaki tabakada ise  $46/mm^2$  olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise insan yanak mukozasının derin tabakasındaki mast hücre sayısının  $13.7/mm^2$  olduğu saptanmıştır (17). Ratlarda ise yanak mukozasının yüzeyel tabakasında  $27.3-35.9/mm^2$ , derin tabakasında  $30.0-33.9/mm^2$  arasında mast hücresi bulunmuştur (24). Bu üç çalışmada da farklı fiksasyon ve boya yöntemleri kullanılması sonuçların farklı olmasının bir nedeni olabilir. Bizim çalışmamızda ise tavşanların yanak mukozasındaki ortalama mast hücre sayısı Karnoy tesbitli kesitlerde  $3.80-4.12/mm^2$ , IFAA tesbitli kesitlerde ise  $2.68-3.04/mm^2$  olarak bulundu. Bu değerler insan ve ratla karşılaştırıldığında oldukça düşüktür.

Ratların ağız mukozasının yüzeyel tabakalarındaki total mast hücre sayılarının IFAA tesbitli kesitlerde  $23.8-35.9/mm^2$  arasında değiştiği saptanmıştır (24). Bu çalışmada ise tavşanların ağız mukozalarındaki ortalama mast hücre sayısını IFAA tesbitli kesitlerde  $2.68-4.60/mm^2$ , Karnoy tesbitli kesitlerde  $3.80 - 5.34 /mm^2$  olarak bulundu. Bu değerlerin de ratlardakilerden çok düşük olduğu görülmektedir.

Ratlarda dil, yanak ve dişeti mukozasındaki ortalama mast hücre sayısının IFAA tesbitli kesitlerin TB ile boyananlarında ABS ile



boyananlardan daha fazla olduğu saptanmıştır (24). Tavşanlarda da dil ve dişetine ait IFAA tesbitli kesitlerin ortalama mast hücre sayısı TB ile boyananlarda ABS ile boyananlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla idi ( $p<0.05$ ). Tavşan ağız mukozalarına ait Karnoy tesbitli kesitlerde ise TB ve ABS ile boyananlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Yaptığımız kaynak taramasında Rağbeli ve ark.'ın (26) çalışması dışında tavşanlardaki mast hücrelerini inceleyen bir araştırmaya rastlayamadık. Bu araştırmacılar ise tavşanların lenf düğümleri, dil ve barsak mukozalarında mast hücrelerine rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Biz özel tesbit ve boya yöntemleri ile tavşanlarda da mast hücrelerinin gösterilebileceğini düşündük. Bu çalışmada özel tesbit ve boya yöntemlerinin kullanılmasıyla tavşanların ağız mukozaları ve jejunumlarında mast hücreleri saptandı. Bununla birlikte bulunan ortalama mast hücre sayıları ratlardaki çalışmalarda bildirilenlerle karşılaştırıldığında oldukça düşüktü. Bazı çalışmalarda çeşitli memeli türlerinde mast hücreleri ile bazofiller arasında ters bir sayısal ilişki bulunduğu bahsedilmektedir. Buna göre bazı hayvanlar (örneğin ratlar) mast hücrelerinden zengin olmalarına rağmen çok az bazofile sahipken, diğerleri için bunun tersi geçerlidir (1, 13). Tavşanlarda az sayıda mast hücresi görmemizin nedeni bu olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Siraganian RP. Mast cells and basophils. In: Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R, editor(s). *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. New York: Raven Press, 1988: 513-542.
2. Paker Ş. *Histoloji*; 2. baskı. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi. 1993: 114-116.
3. Fawcett DW. *A Textbook of Histology*. 11th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1986: 160-164.
4. Dvorak AM. Human Mast Cells. *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.* 1989; 114: 1-107.
5. Pearce FL. On the heterogeneity of mast cells. *Pharmacology* 1986; 32: 61-71.
6. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text/atlas of histology*. Philadelphia: WB Saunders Co. 1988: 394-418.
7. Parwaresch MR, Horny HP, Lennert K. Tissue mast cells in health and disease. *Pathol Res Pract* 1985; 179: 439-461.
8. Strobel S, Miller HRP, Ferguson A. Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. *J Clin Pathol* 1981; 34: 851-858.
9. Enerback L. Mast cells in the rat gastrointestinal mucosa 1. Effects of fixation. *Acta Path et Microbiol Scand* 1966a; 66: 289-302.
10. Miller HRP, Walshaw R. Immune reactions in mucous membranes IV. Histochemistry of intestinal mast cells during helminth expulsion in the rat. *Am J Pathol* 1972; 69(1): 195-205.
11. Wingren U, Enerback L. Mucosal mast cells of the rat intestine: a re-evaluation of fixation and staining properties, with special reference to protein blocking and solubility of the granular glycosaminoglycan. *Histochem J* 1983; 15: 571-587.
12. Katz HR, Kaye RE, Austen KF. Mast cell biochemical and functional heterogeneity. *Transplant Proc* 1991; 23(6): 2900-4.
13. Drake-Lee AB, Price J. A review of the morphology of human nasal mast cells as studied by light and electron microscopy. *Rhinology* 1992; 30: 229-239.
14. Stevens RL, Lee TDG, Seldin DC, Austen KF, Befus AD, Bienenstock J. Intestinal mucosal mast cells from rats infected with *Nippostrongylus brasiliensis* contain protease-resistant chondroitin sulfate di-B proteoglycans. *J Immunol* 1986; 137(1): 291-5.
15. Marshall JS, Bienenstock J. Mast cells. *Springer Semin Immunopathol* 1990; 12: 191-202.
16. Enerback L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. 2. Dye-binding and metachromatic properties. *Acta Path et Microbiol Scand* 1966b; 66: 303-12.
17. Jontell M, Hansson HA, Nygren H. Mast cells in oral lichen planus. *J Oral Pathol* 1986; 15: 273-275.
18. Angelopoulos AP. Studies of mast cells in the human gingiva. I. Morphology. *J Periodont Res* 1973; 8: 28-36.
19. Ruokonen H, Hietanen J, Malmström M, Sane J, Hayrinen-Immonen R, Hukkanen M et al. Peripheral nerves and mast cells in normal buccal mucosa. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 30-34.
20. Cobb CM, Heneghan JB, LeBlanc DM, Davis MJ. Mast cell distribution in oral tissues of germ-free vs. conventional beagle dogs. *J Periodontol* 1976; 47: 230-235.
21. Coleman EJ. Mast cell population density in hamster gingiva. *J Periodontal Res* 1974; 9: 188-192.
22. Stoncius LV, Ashrafi SH, Meyer J. Ultrastructure of mast cells in the hyperplastic buccal mucosa of the zinc-deficient rat. *J Oral Pathol* 1985; 14: 375-382.
23. Thomas CJ. Mast cells, elastic fibres and the lamina propria in the hard palate of the rat. *J Biol Buccale* 1988; 16(2): 101-107.
24. Matsson L. Mast cell heterogeneity in various oral mucosal sites in the rat. *Arch Oral Biol* 1992; 37(6): 445-450.

25. Oliani SM, Vugman I, Jamur MC. Ultrastructural similarity between bat and human mast cell secretory granules. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 100: 230-233.
26. Rağbetli MÇ, Özyazıcı A, Bilgiç S, Kaplan S, Çiftçi N. Mast hücrelerinin ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi. *Ondokuz Mayıs Üni Tıp Fak Derg* 1990; 7(2): 159-170.
27. Crossman G. A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat Rec* 1937; 69: 33-8.
28. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Ankara: Özdemir Yayıncılık. 1994; 76-95.
29. Crow J, More L, Howe S. The mast cells of the human uterus. *APMIS* 1988; 96: 921-6.
30. Majeed SK. Mast cell distribution in rats. *Arzneim - Forsch/Drug Res* 1994; 44(1),3: 370-4.

**Yazışma adresi:**

Uz. Dr. Semra Erpek  
İnönü Üniversitesi Tıp Fak.  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı  
44100 Malatya