

## Farklı Beslenme Uygulanmış İvesi Irkı Kuzu Derilerinde Mast

### Hücrelerinin Histokimyasal ve Kantitatif İncelenmesi

Berna Güney Saruhan \*, M. Erdem Akbalık \*, Hakan Sağsöz \*, M. Aydın Ketani \*

\*Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

#### Özet

Bu çalışmada, kuzu derilerinde mast hücrelerinin histolojik ve histokimyasal özellikleri ve dağılımları incelendi. Hayvanlar 3 gruba ayrıldı. I. grup sadece anne sütü, II. grup anne sağıldıktan sonra memede kalan süt ve buna ek olarak ilave yem, III. grup ise anne sütü ile beraber kaba yem ile beslendi. Uygulamaların bitiminden sonra alınan doku örnekleri tamponlu formaldehitte tespit edildi. Elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve Alcian blue/safranin O ile boyandı. Mast hücrelerinin sayısal yoğunluğu birim alanda (1mm<sup>2</sup>) belirlendi. Işık mikroskopik incelemede mast hücrelerinin her 3 grupta da epitelin altında kan damarlarının, kıl foliküllerinin ve yağ bezlerinin çevrelerinde yerleştikleri; heparin içeren mast hücrelerinin daha fazla sayıda olduğu ve anne sütü ile beslenen gruplarda daha çok yuvarlak şekilli, kalıntı süt ile beslenen gruplarda ise daha çok oval ve mekik şekilli görüldükleri belirlendi. Mast hücrelerinin yoğunluğu için de her üç grup arasında istatistiksel açıdan önemli (p<0,05) bir farklılık saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Mast hücresi, deri, beslenme, histokimya

### The Investigation of Histochemical and Quantitative Analysis of Mast Cells in Awassi Race Lamb Skin Which were Fed According to Different Feeding Programmes

#### Summary

In this study, histological and histochemical features and distribution of mast cells were investigated in the lamb skin. Animals were divided into three groups. 1<sup>st</sup> group was fed with only mother milk; 2<sup>nd</sup> group was fed with milk remaining in the mammary gland after milking and additional feed; 3<sup>rd</sup> group was fed with mother milk and roughage. The samples taken after the end of applications were fixed in neutral buffered formaline. Cross sections were cut a thickness of 5 µm that were obtained from paraffin blocks and tissues were stained with Alcian blue/safranin O. The numeric intensity of mast cells in an unit area was determined (1mm<sup>2</sup>). The mast cells were observed in both three groups around the blood vessels, hair follicles, sebaceous glands and under epithelium in dermis and a great number of mast cells were found as containing heparin with the light microscope. Round shaped cells were rather observed with milk fed while more oval shaped and shuttle shaped cells were determined with residue milk feeding. For the intensity of mast cells among the three groups a significant difference statistically (p<0,05) was found.

**Key Words:** Mast cells, skin, nutrition, histochemistry

## Giriş

Mast hücreleri ilk kez Ehrlich tarafından (1878) Almandaca yiyen hücre "Mastzellen" anlamında, bağ dokuda büyük granüllere sahip bağ doku hücreleri olarak tanımlanmıştır (1). Mast hücreleri toluidin blue, thionin, Azur A gibi thiazin grubu bazik boyalarla boyandığı zaman metakromazi gösteren spesifik intra-sitoplazmik granüllere sahip bağ doku hücreleridir (2). Mast hücreleri insanda yaklaşık 30 µm, kemirgenlerde 3,5-22 µm büyüklüğünde olup sitoplazmalarında yaklaşık 50-500 salgı granülü içerirler. Genellikle gastrointestinal sistem mukozasında, solunum yollarında, deride, mesanede, merkezi sinir sisteminde kan ve lenf damarlarına ve periferik sinir sistemine komşu bölgelerde yerleşirler (3). Mast hücreleri doku içindeki lokalizasyonlarına bağlı olarak polihedral, fusiform, oval ve dikdörtgen şekillerinde bulunabilir. Nukleusları da genellikle yuvarlak veya oval olup periferik yayılmış heterokromatini vardır (1). Mast hücreleri, gevşek bağ dokuda yuvarlak ya da oval, kollagen ipliklerin yoğun bulunduğu kompakt bağ dokuda ise genellikle mekik şeklindedir. Hücrenin şekline uygun olarak merkezi ya da eksantrik olarak yerleşen çekirdek, yuvarlak veya oval görünümüne ve çoğunlukla segmentsizdir (2).

Deri, organizmada travmalar, mikroorganizmalar, UV ışınları gibi dış etkenlere karşı önemli bir bariyer görevi üstlenmiştir. Mast hücreleri yabancı uyarılara karşı direnç veya

koruma görevi yaparak derinin bu bariyer fonksiyonunda önemli rol oynar (4).

Deride bulunan mast hücrelerinin sayısal ve bölgesel dağılımı türler arasında değişiklik gösterir (5). İnsan derisinde bulunan mast hücreleri dermisin yüzlek katmanında daha fazla, derine inildikçe giderek azalan yoğunlukta ve çoğunlukla da kan damarları, sinir telleri ve kıl foliküllerinin çevresinde yerleşirler (5, 6, 7, 8, 9). At derisinde tüm dermiste yoğun olarak bulunan bu hücreler özellikle yüzlek katmanda kan damarlarının yakınında yer alırlar (10). Tavuk (2,11) ve ördek (12) derisindeki mast hücrelerinin az sayıda ve dermisin epidermise yakın kısımlarında kan damarlarının çevresinde bulunduğu bildirilmektedir. Mast hücrelerinin köpek derisinde ve koyun derisinde kan damarları, sinirler, yağ bezleri, ter bezleri ve kıl foliküllerinin çevresinde yerleştikleri gösterilmiştir (13, 14, 15).

Koyun derisinde mast hücrelerinin yerleşim bölgeleri ve sayısal dağılımları üzerinde yapılmış araştırmalar bulunmaktadır, ancak kuzularda farklı beslenmeye bağlı mast hücrelerindeki durumu gösteren detaylı çalışmalar daha az sayıdadır. Bu çalışmanın amacı beslenmeye bağlı olarak kuzu derisindeki mast hücrelerinin şekilleri, yerleşim bölgeleri ve sayısal dağılımlarının ne oranda değişebildiğini saptamaktır.

## Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak Güneydoğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen 24 adet 2.5 aylık tekiz erkek İvesi kuzular kullanıldı. Hayvanlar her grupta 8 adet olacak şekilde üç gruba ayrıldı ve 75 gün süre ile bakım ve beslenmenin uygulandı. I. grup sadece anne sütü, II. Grup anne sağıldıktan sonra memede kalan süt ve buna ek olarak 2. haftadan itibaren serbest kuru yonca ve 100 gr'dan başlanarak, süttan kesimde 600 gr kesif yem (%16.6 ham protein ve 2561 kilokalori enerji içeren kuzu büyütme yemi) tüketim seviyesine ulaştırılacak şekilde yemlemeye tabii tutulmuştur. III. Grup ise anne sütü ile beraber kaba yem (creep yemleme: Kuzulara 2 haftalık yaştan itibaren 100 gr'dan başlanarak tedrici olarak arttırılarak kuru yonca ve kesif yem) ile beslenip süttan kesimde 600 gr kesif yem tüketmeleri sağlanmıştır. Uygulamaların bitiminden sonra kesilen hayvanların son kaburgalarının arka hizasından, omurlardan aşağı

doğru el ayası genişliğindeki alandan alınan deri örnekleri %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edildi. Deri örneklerinden rutin histolojik preparat hazırlama yöntemi ile deri yüzeyine dik kesit alabilecek şekilde parafin bloklar hazırlandı. Her bloktan 5 µm kalınlığında alınan kesitler alcian blue (AB, pH 0.3) / safranin O (SO, pH 1.0) kombine boya metodu ile boyandı. Her hayvana ait deri örneğinde 1 mm<sup>2</sup> birim alanda 4 farklı bölgede mast hücrelerinin sayımı yapıldı. Çalışmada istatistiksel açıdan hücre sayımı, histamin içeren mavi boyalı mast hücrelerinin sayıca az olması nedeniyle heparin içeren kırmızı boyalı mast hücreleriyle yapılmıştır. Preparatlar dijital fotoğraf makinası (Nikon Coolpix-4500) ataçmanlı araştırma mikroskopunda (Nikon Eclipse E-400) incelenip fotoğraflandı.

İstatistiksel analiz SPSS 13.0 programı ile yapıldı. Gruplar arası farkın önem kontrolü tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, farklılığın önem derecesini belirlemek için de Mann-Whitney U testi uygulandı.

## Bulgular

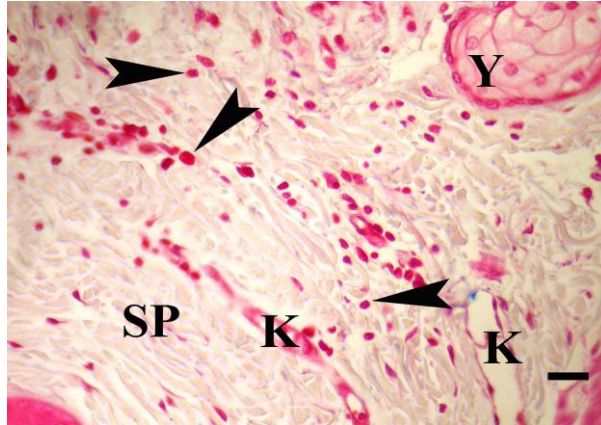
Her 3 grupta mast hücrelerinin epitelin altında ve kan damarlarının, kıl foliküllerinin, yağ bezlerinin çevrelerinde yerleştikleri belirlendi (Şekil 1, 3, 4). Alcian blue/safranin O boyamanın özelliği olan histamin içeren mast hücreleri mavi, heparin içeren mast hücreleri ise pembe-kırmızı renkte boyalı olarak görüldü (Şekil 2). Mast hücrelerinin anne sütü ile beslenen gruplarda daha çok yuvarlak şekilli (Şekil 1), anne sütü ile birlikte yem ilavesi verilen gruplarda iri ve yuvarlak şekilli (Şekil 3), meme sağıldıktan sonra kalıntı süt ile beslenen gruplarda ise daha çok oval ve mekik şekilli (Şekil 4) görüldükleri izlendi. Yuvarlak, oval veya mekik şekilli hücrelerin sitoplazmalarında da metakromatik granüller taşıdığı gözlemlendi. Mast hücrelerinin her 3 grupta gevşek bağ dokusunda daha çok yuvarlak-oval şekilli (Şekil 5), kollagen ipliklerin çevrelerinde ise daha çok mekik şekilli oldukları (Şekil 6), özellikle heparin içeren mast hücrelerinin daha fazla sayıda olduğu izlenmiştir. Hayvanların derilerinde mast hücrelerinin gruplara göre sayısal değeri Tablo 1’de gösterildi. Stratum papillare için; 1. grupta mast hücre sayısı her milimetrekarede 5 ile 6,75 arasında; 2. grupta mast hücre sayısı her milimetrekarede 3 ile 4 arasında; 3. grupta mast hücre sayısı her milimetrekarede 6,25 ile 7,75 arasında bulundu. Mast hücre sayısı için her üç grup arasında istatistiksel açıdan önemli ( $p<0,05$ ) bir farklılık saptandı.

**Tablo 1:** Gruplar Arasında Histometrik Ölçümlerin İstatistiksel Karşılaştırması

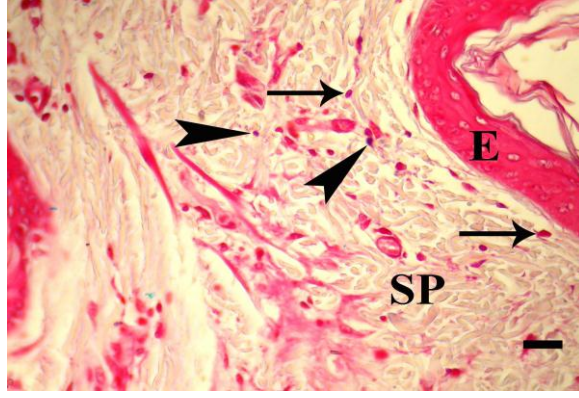
Gruplar	Stratum papillare X±Se	Stratum retikülare X±Se
1. Grup (Süt)	5,93±0,22 <sup>a</sup>	10,18±0,10 <sup>a</sup>
2. Grup (Kalıntı)	3,40±0,12 <sup>b</sup>	5,65±0,27 <sup>b</sup>
3. Grup (Süt+Yem)	6,96±0,20 <sup>c</sup>	16,93±0,37 <sup>c</sup>

<sup>a, b, c</sup>: Aynı sütunlarda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

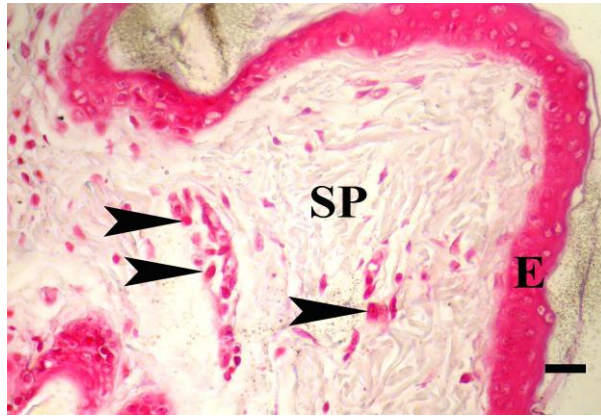
Stratum retikülare için; 1. grupta mast hücre sayısı her milimetrekarede 10 ile 10,75 arasında; 2. grupta mast hücre sayısı her milimetrekarede 5 ile 7 arasında; 3. grupta mast hücre sayısı her milimetrekarede 16 ile 18,50 arasında bulundu. Mast hücre sayısı için her üç grup arasında istatistiksel açıdan önemli ( $p<0,05$ ) bir farklılık belirlendi.



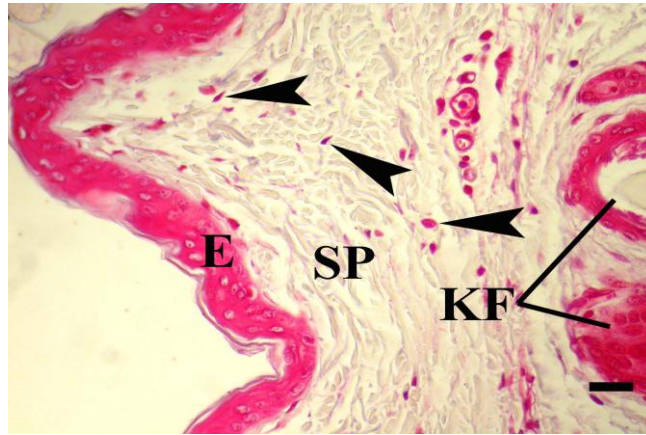
**Şekil 1:** Süt grubunda stratum papillaredeki (SP) mast hücrelerinin (Ok uçları) kan damarları (K), kıl folikülleri, yağ bezleri (Y) etrafına yerleşimleri ve yuvarlak şekilli görünüşleri. Alcian blue/safranin O. Bar=25µm



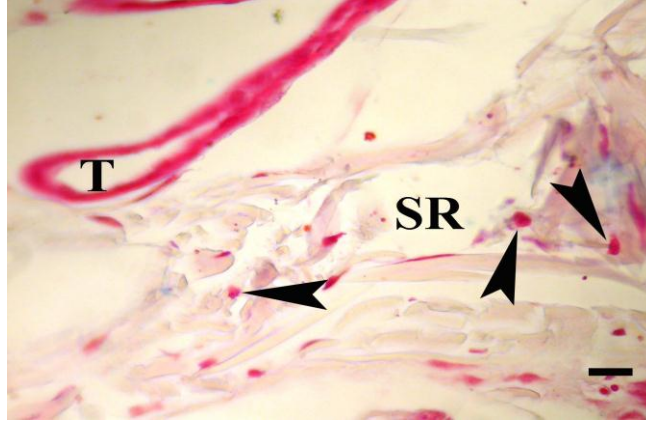
**Şekil 2:** Kalıntı grubunda epitel (E) altındaki stratum papillarede (SP) heparin (Okklar) ve histamin (Ok uçları) içeren mast hücrelerinin görünümü. Alcian blue/safranin O. Bar=25 µm



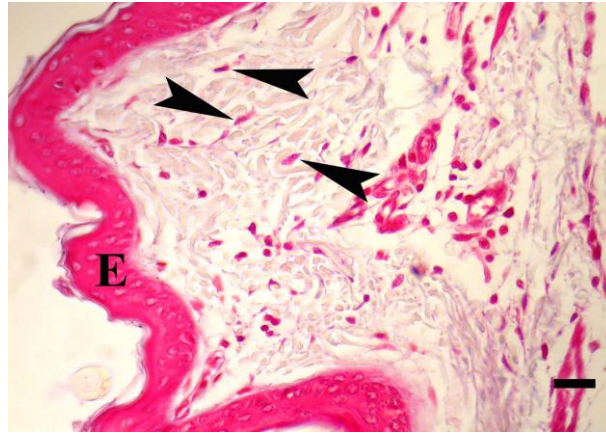
**Şekil 3:** Süt+yem grubunda epitel (E) altındaki stratum papillarede (SP) iri ve yuvarlak şekilli mast hücrelerinin (Ok uçları) görünümü. Alcian blue/safranin O. Bar=25 µm



**Şekil 4:** Kalıntı grubunda epitel (E) altındaki stratum papillare (SP) ve kıl folikülleri (KF) çevresinde oval ve mekik şekilli mast hücrelerinin (Ok uçları) görünümü. Alcian blue/safranin O. Bar=25 µm



**Şekil 5: Süt grubuna ait izlenimde** stratum retikularede (SR) ve ter bezi akıtıcı kanalı (T) çevresinde mast hücrelerinin (Ok uçları) yuvarlak-oval görünümü. Alcian blue/safranin O. Bar=25 µm



**Şekil 6: Süt+yem grubunda** epitel (E) altındaki stratum papillarede mast hücrelerinin (Ok uçları) kollagen iplikler arasındaki mekik şekilli görünümleri. Alcian blue/safranin O. Bar=25 µm

## Tartışma ve Sonuç

Mast hücreleri, yukarı sınıf omurgalıların tüm organlarında özellikle de deri ve müköz membranlarının bağ dokularında çok miktarda bulunurlar. Deri, organizmanın dış etkenlere açık bir organıdır. Derinin bariyer görevinde mast hücrelerinin, yabancı uyarılara karşı savunma görevi ile birlikte birçok fonksiyonunda da rol aldığı bildirilmiştir (16, 17). Bu çalışmada beslenmeye bağlı olarak mast hücrelerinin hem şekil hem de sayısal olarak değişimi gösterilmiştir. Deride mast hücrelerinin yerleşimi türler arasında genel olarak benzerlik göstermektedir (3). Aşti ve ark. (13) ile Eren (14) köpek derisinde, Roosje ve ark. (18) kedi derisinde, Yörük ve Özcan (15) koyun derisinde, mast hücrelerinin dermisen yüzeysel katmanında kan damarı, kıl folikülü, yağ ve ter bezlerinin çevresinde yerleştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da mast hücrelerinin dermiste kan damarlarının ve kıl foliküllerinin yakınında yerleştikleri belirlenmiştir. Mast hücreleri aşırı duyarlılık ve yangısal reaksiyonlar dışında fizyolojik olaylarda da rol

almaktadır (19, 20). Histamin ve heparinin yara iyileşmesi ve doku yenilenmesinde rol oynadığı (21, 22), yine mast hücrelerinin sinirler ve kan damarlarına yakın yerleşiminden dolayı, uyarıldıklarında nöropeptitler vasıtasıyla derinin kan akımında düzenleyici rol oynadığı bildirilmiştir (20). Her 3 grupta heparin içeren mast hücrelerinin sayıca fazla, ayrıca kan ve lenf damarları etrafında toplanmış olması; bu hücrelerin dolaşıma heparin salgılayarak hem kan sirkülasyonunda pıhtılaşmayı engellediği hem de bağ dokudaki şekilsiz temel maddenin sol halde kalmasını sağladığı söylenebilmektedir. Milena ve ark. (23) ise stres altındaki farelerde nöropeptik substans salgılayan sinir uçları ile degranulasyon gösteren mast hücrelerinin yakın ilişkide olduğunu göstermişlerdir. Mast hücrelerinin foliküllerin çevresinde bulunması ise bağ dokunun şekillenmesine ve folikül hücrelerinin beslenmesine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir (3). Beslenmeye bağlı olarak mast hücre şekillerinde ve sayısında değişiklikler görülmesi iyi beslenen canlılarda mast hücrelerinin semiz hücre tanımına uygun yuvarlak şekilde ve

sayıca fazla olması tanımını ifade eder. Ergin hayvanlarda dermal mast hücrelerinin ışık mikroskobu incelemelerinde granüllerin alcian blue ve safranin O ile boyandığı Aşti ve ark. (13) ve Eren (14) tarafından köpek derisinde, Yörük ve Özcan (15) tarafından da koyun derisinde gösterildiği gibi çalışmamızda da yavru kuzulardaki boyanma gösterilmiştir. İncelenen derilerdeki mast hücre sayısı, Yörük ve Özcan'ın yaptığı çalışmayla kıyaslandığında kuzulardaki mast hücre sayısının ergin koyunlardakine göre düşük bulunmasının derinin gelişimine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Aktaş ve Dağlıoğlu'nun (3) çalışmasında fetal dönemin son aylarında mast hücre sayısının göstergesi yapılan çalışmaya paralel yöndedir. Mast hücre sayısının beslenmeye bağlı olarak da artışı anne sütü ve yemle beslenen grupta kendini göstermiştir. Vardı ve ark.'nın (24) alkol ve düşük diyet uyguladıkları sıçanlarda mast hücre sayısının düşük olması da bu çalışmayı destekler durumdadır. Kurtdede ve ark. (2), tavuk ve bıldırcın derisinde mast hücrelerini dermisin yüzeysel bölümünde daha bol, derine inildikçe azalan yoğunlukta gözlemişler ve bu hücrelerin özellikle kan damarları, sinir telleri ve kıl foliküllerinin çevresinde bol olmalarına karşın, kollagen ipliklerin arasında tek tük, derinde ise yağ hücrelerine yakın bulunduğunu belirtmişlerdir. Emerson ve Cross (25) köpek derisinde mast hücre sayısının stratum papillare'ye göre stratum retikulare'de daha fazla olduğunu, yerleşim olarak ise başta damarların çevresinde olmak üzere kıl foliküllerinin, yağ ve ter bezlerinin etrafında bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada da mast hücre sayısı stratum papillare'ye oranla stratum retikularede daha fazla gözlenmiştir. Yapılan araştırmalarda ergin hayvanlarda mast hücre miktarını, köpek derisinde Weller ve ark (17)  $23.3/\text{mm}^2$ , Eren (14)  $27.80 \pm 1.68/\text{mm}^2$ , Aşti ve ark. (13)  $34.24 \pm 2.56/\text{mm}^2$  olarak bildirmiştir. Yörük ve Özcan (15) ise ergin koyun derisinde mast hücre miktarını ort.  $74.7 \pm 2.76/\text{mm}^2$  bildirmiştir. Çalışmamızda da kuzu derisinde mast hücre miktarı ort.  $49.05 \pm 1.28/\text{mm}^2$  bulunmuştur. Elde edilen veriler doğrultusunda, mast hücrelerindeki gelişmenin embriyonal dönemde başlayıp postnatal yaşamdan erginliğe doğru arttığının göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; yapılan çalışmada kuzu derisinde mast hücrelerinin beslenmeye bağlı olarak yerleşimleri ile ilgili bir değişikliğin olmadığı ancak şekil ve sayılarında beslenmenin etkili olduğu gözlenmiştir.

## Kaynaklar

1. Ehrlich P. (1878). Beitrage zur Theorie und Praxis der Histologischen Färbung. Thesis, Leipzig University.
2. Kurtdede N, Yörük M. (1995). Tavuk ve bıldırcın derisinde mast hücrelerinin morfolojik ve histometrik incelenmesi. Ankara Univ Vet Fak. 42: 77-83.
3. Ercan F, Çetinel Ş. (2008). Mast hücrelerinin enflamasyondaki rolü: İnsan ve deneysel hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmaların değerlendirilmesi. Marmara Medical Journal. 21 (2): 179-186.
4. Aktaş A, Dağlıoğlu S. (2009). Koyun fetus derisinde mast hücrelerinin gelişimi ve sayısal yoğunluğu. Kafkas Univ Vet Fak. 15 (6): 829-833.
5. Cowen T, Trigg P, Eady RAJ. (1979). Distribution of mast cell in human dermis: Development of amapping technique. Brit J Dermatol. 100: 623-633.
6. Benyon RC. (1989). The human skin mast cell. Clin Exp Allergy. 19: 375-387.
7. Eady RAJ, Cowen T, Marshall TF, Plummer W, Greaves MW. (1979). Mast cell population density, blood vessel density and histamine content in normal human skin. Brit J Dermatol. 100: 635-640.
8. Mikhail GR, Miller-Milinska A. (1964). Mast cell population in human skin. J Invest Dermatol. 43: 249-254.
9. Olafsson JH, Roupe G, Enerbaek L. (1986). Dermal mast cells in mastocytosis. Fixation, distribution and quantitation. Acta Derm Venereol (Stockh). 66: 16-22.
10. Talukdar AH, Calhoun ML, Stinson AW. (1972). Microscopic anatomy of the skin of the horse. Am J Vet Res. 33: 2365-2390.
11. Wight PAL. (1970). The mast cells of Gallus domesticus. Acta Anat. 75: 100-113.
12. Valsala KV, Jarplid B, Hansen HJ. (1985). Distribution and ultrastructure of mast cell in the duck. Avian Dis. 30: 653-657.
13. Aşti RN, Kurtdede A, Kurtdede N, Ergün E, Güzel M. (2005). Mast cells in the dog skin: Distribution, density, heterogeneity and influence of fixation techniques. Ankara Univ Vet Fak. 52: 1-12.
14. Eren Ü. (2000). Köpek derisinde mast hücreleri. Ankara Univ Vet Fak. 47: 167-175.
15. Yörük M, Özcan Z. (1996). Koyun ve keçi derisinde mast hücreleri üzerinde morfolojik ve

histometrik araştırmalar. YYU Sađ Bil Derg. 2 (1-2): 47-55.

16. Metz M, Siebenhaar F, Maurer M. (2008). Mast cell function in innate skin immune system. *Immunobiology*. 213 (3-4): 251-260.

17. Weller K, Foitzik K, Paus R, Syska W, Maurer M. (2006). Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. *FASEB J*. 20: 2366-2368.

18. Roosje PJ, Koeman JP, Thepen T, Willemse T. (2004). Mast cells and eosinophils in feline allergic dermatitis: A qualitative and quantitative analysis. *J Comp Pathol*. 131 (1): 61-69.

19. Fawcett OW. (1994). *A Textbook of Histology*. Chapman and Hall. New York.

20. Huntley JF. (1992). Mast cells and basophils: A review of their heterogeneity and function. *J Comp Pathol*. 107: 349-372.

21. Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. (1990). Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol Today*. 11: 458-464.

22. Katz HR, Stewens RL, Austen KF. (1985). Heterogeneity of mammalian mast cells differentiation in vivo and in vitro. *J Allergy Clin Immunol*. 76: 250-259.

23. Milena EJP, Kuhlmei A, Tobin DJ, Röver MS, Klapp BF, Arck PC. (2005). Stress exposure modulates peptidergic innervation and degranulates mast cells in murine skin. *Brain Behav Immun*. 19 (3): 252-262.

24. Vardı N, Otlı A, Öztürk F. (2002). Kronik alkol tüketiminin sıçan pankreas mast hücrelerine etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*. 24 (3): 126-132.

25. Emerson JL, Cross RF. (1965). The distribution of mast cells in normal canine skin. *Am J Vet Res*. 26: 1379-1382.