

Tavuk böbreğinde mast hücrelerinin dağılımı ve heterojenitesi

Tuğrul ERTUĞRUL*

Öz: Bu çalışma tavukların (*Gallus domesticus*) böbreklerindeki mast hücrelerinin ışık mikroskopik düzeyde morfolojisi ve farklı tespit sıvıları kullanılarak mast hücre heterojenitesini araştırmak amacıyla yapıldı. Araştırmada, aynı koşullarda yetiştirilen 21 ve 42 günlük, her yaş grubunda 6 adet olmak üzere toplam 12 adet brolier tavuğun böbreğinden alınan örnekler materyal olarak kullanıldı. Doku örnekleri % 10'luk formol ve izotonik formaldehit asetik asit (IFAA) solüsyonlarında tespit edildi. Mast hücreleri için toluidin blue ve alcian blue/safranin O (AB/SO) kombine boya metodları uygulandı. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemeler sonucunda mast hücrelerinin, yerleşim yerlerine göre yuvarlak, oval ve mekik şeklinde ve farklı büyüklüklerde olduğu görüldü. IFAA tespit sıvısı kullanıldığında böbrekte, %10'luk formolde tespit edilenlere göre daha fazla sayıda mast hücrelerinin bulunduğu gözlemlendi. Işık mikroskopik düzeyde yapılan incelemeler sonucunda hem IFAA hemde formol ile tespit edilen dokularda mast hücreleri belirgin şekilde metakromazi göstermeleri ile ayırt edildi. AB/SO kombine boya metodu uygulanan kesitlerde AB(+), SO(+) ve AB/SO(+) (mikst) mast hücrelerine rastlandı. Formol tespiti yapılmış olan kesitlere farklı bir boya yöntemi olan alcian blue tetrakis (methylpyridium chloride) boyası yapıldı. Alcian blue tetrakis'in mast hücre granüllerini AB/SO boyamasına oranla daha koyu olarak boyamış olduğu görüldü.

Anahtar sözcükler: Böbrek, mast hücresi, tavuk.

Age related distribution and heterogeneity of mast cells in the kidney of *Gallus domesticus*

Abstract: This study aimed to determine the morphology of mast cells of the kidney of *Gallus domesticus* at light microscopic level and determine the heterogeneity of mast cells based on different fixation solutions. In this study, grown under the same conditions total of 12 *Gallus domesticus* were divided into two group (21, 42) according to their ages and kidneys were removed following decapitation. Tissue samples were fixed in both 10% formaldehyde and isotonic formaldehyde acetic acid (IFAA) solutions. Toluidine blue and alcian blue /safranin O (AB/SO) combined staining methods were applied for the mast cells. As a result of the examination on the light microscopic level, it was observed that mast cells have spherical, ovoid and elongated, depending on their location, shapes and different sizes. It was founded that IFAA fixed tissues were contained more mast cells than those tissues fixed in the 10% formaldehyde. As a result of light microscopical examinations, tissues which were fixed with both formaldehyde and IFAA fixation solutions mast cells were distinguished by significantly demonstrate metachromasia. With Alcian blue and safranin

* Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 06110 Dışkapı-Ankara

O staining, in the section from *gallus domesticus* kidney regardless of their location mast cells exhibited Alcian blue positive, safranin O positive and mixed reaction. Formaldehyde fixated sections were stained with a different staining method called alcian blue tetrakis (methylpyridium chloride). It was seen that alcian blue tetrakis dye stained granules of mast cell denser than the AB/SO dye.

Key words: *Gallus domesticus*, kidney, mast cell.

Giriş

Mast hücreleri bağ dokusunun yağ hücrelerinden sonra en iri hücreleridir (26). Büyük-lüklerinin türlere ve buldukları dokulara göre değiştiği görülen mast hücreleri genellikle yuvarlak, oval veya mekik şeklindedir (5, 6). Sitoplazmalarında çok sayıda, yuvarlak ve irili ufaklı salgı granülleri bulunur (12, 26). Büyük, polimorfik, yuvarlak veya oval şekilli, hücre merkezine yerleşmiş belirgin bir çekirdeğe sahiptir (12). Çekirdek çoğunlukla sitoplazmada bulunan granüller tarafından örtülür (25). Mast hücreleri, deri, solunum ve sindirim sistemi gibi vücudun dış ortamla ilişkide bulunduğu yerlerde çok sayıda bulunurlar (18). Bu durum mast hücrelerinin yabancı madde girişine karşı savunma mekanizmasında bulunan ilk hücre grupları arasında olmasından kaynaklanır (7). Ayrıca genital sistem ve üriner sistemde bağdokusunda bulunan kan damarlarının çevrelerinde yerleşirler (13). Mast hücre granüllerinde bulunan başlıca etkin maddeler; önceden sentezlenip granüllerde depolanan maddeler (primer mediyatörler) ve uyarımdan sonra sentezlenen maddeler (sekonder mediyatörler) olmak üzere iki ana grup içinde toplanırlar (2, 14).

Mast hücreleri orijinleri, morfolojik özellikleri, histokimyasal farklılıkları, içerdikleri mediyatörler, salgılatıcı ajanlara verdikleri yanıtlar, içerdikleri proteoglikanların yapı ve içeriği gibi unsurlar göz önüne alındığında alt gruplara ayrılmaktadır (22). Buna göre mast hücreleri, mukozal mast hücresi (MMC) ve

bağdoku mast hücresi (CTMC) olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır (10, 22). Mast hücresi granülleri asit karakterde olduklarından bazik boyalarla kolaylıkla boyanırlar (26). Hücrelerin granülleri toluidin blue, azure A, Bismark Brown ve thionin boya ile bu boyaların rengi olan mavi değil de mor-kırmızı renkte boyanırlar (4). Bu şekilde hücrelerin boyandıkları boyanın renginden farklı renkte görülmesine metakromazi adı verilir (26). Farklı fiksatifler kullanılarak ve farklı boyama metodları uygulanarak mast hücrelerindeki histokimyasal heterojenitenin belirlenebileceği bildirilmiştir (5, 6, 10). Mast hücreleri Alcian blue (AB) gibi granül spesifik boyalarla da boyanabilir. Alcian blue metodu, tek başına kullanılabildiği gibi Safranin O (SO) ile kombine olarak da kullanılır. Bu boyamada, proteoglikan çeşidi ve proteaz içeriğine göre CTMC granülleri kırmızı, MMC granülleri ise mavi olmak üzere farklı şekilde boyanırlar (3). Bu araştırma, tavukların böbreklerindeki mast hücrelerinin ışık mikroskopik düzeyde morfolojisi ve heterojenitesini belirleyebilmek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada, 6 adet 21 günlük ve 42 günlük sağlıklı broyler tipi tavuğun böbreği materyal olarak kullanıldı. Alınan doku parçalarının bir kısmı %10 formol'de tespit edilip yıkandıktan, diğer kısmı ise izotonik formaldehit asetik asit (IFAA, pH 2,9) te 12 saat tespit edilip %70 alkolde 12 saat bekletildikten sonra dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek paraplastta bloklandılar (10).

%10 formol ve IFAA'da tespit edilmiş dokulardan hazırlanan bloklardan 30µ arayla 5µ kalınlığında 10'ar adet iki tane seri kesit alındı. Her iki tespit solüsyonundan alınan kesitler aynı lam üzerinde olacak şekilde, biri Mc Ilvaine'nin sitrik asit disodyum fosfat tampounda hazırlanan %0,5'lik toluidin blue, diğeri mast hücrelerinin alt tiplerini ve dokulardaki dağılımlarını belirlemek amacıyla alcian blue/safranin O (AB/SO) kombine boya metodu

(11) ile boyandı. Bu boya yönteminin kontrolü amacıyla MMC için ratların barsaklarından, CTMC için ratların derisinden alınan doku örnekleri kullanıldı. Formol tespiti yapılmış olan parafin kesitlerine alcian blue tetrakis (methylpyridium chloride) boyası yapıldı (17). Tavuk böbreğinin genel yapısını incelemek amacıyla dokular Mallory'nin trichrom boya yöntemi ile boyandı (8).

Mast hücrelerinin sayısal dağılımını belirlemek amacıyla hazırlanan seri kesitlerde hücre sayımları 100 kare oküler mikrometre ile yapıldı. Objektifin 40'lık büyütmesi ile oküler mikrometrenin 100 kare birim alanındaki mast hücreleri sayıldı.

Bulgular

Her iki yaş grubuna ait tavuklarda, böbrek dokusunda %10 formol ve IFAA solüsyonlarında tespit edilip toluidin blue ile boyanan kesitlerde mast hücreleri belirgin şekilde metakromazi göstermeleri ile ayırt edildiler. Mast hücreleri buldukları yere göre farklı büyüklüklerde yuvarlak, oval ya da mekik şeklinde gözlemlendi. Merkezi veya ekzantrik konumda yerleşmiş olan çekirdek, çoğu hücrelerde granüller tarafından örtülmüş olduğu görüldü.

Tablo1. 21 ve 42 günlük tavuk böbreğinde mast hücre sayıları.

Table 1. Mast cell count on 21. ve 42. days old chicken.

	n	Formol	IFAA	p
21 günlük	6	11.36±0.5	13.12±0.85	p>0.05
42 günlük	6	12.8±0.53	14.4±0.92	p>0.05
		p>0.05	p>0.05	

Tartışma ve Sonuç

Ehara ve Shigematsu (9) insanda böbrek tubulleri, glomerulus ve kan damarları arasındaki intersitisyumda mast hücrelerine rastladıklarından söz etmektedir. Noivana ve ark. (23) nın kedi ve Noivana ve ark. (24) nın köpek böbrek dokusunda yaptıkları çalışmalarda çok az sayıda mast hücrelerinin gözlemlendiğinden bahsedilmektedir. Vodenicharov ve Chouchkov (29), domuzda böbrek tubuluslarının çevresin-

Medullada, böbrek tubulleri çevresindeki intersitisyumda, kortekste, glomerulusların, böbrek tubullerinin (Şekil 1) ve kan damarlarının çevresindeki intersitisyumda mast hücreleri görüldü. Üreterde mast hücreleri, subepitelyal yerleşimli (Şekil 2), bağ dokusunda dağınık ve özellikle kan damarlarının çevresinde gözlemlendi.

Hem 21 günlük hem de 42 günlük tavuklardan alınan, AB/SO kombine boyası ile boyanan dokularda, çoğunlukla mavi renkte AB(+) (Şekil 3) ve daha az olarak da kırmızı renkte SO(+) (Şekil 4) ve kırmızı-mavi renkte AB/SO (+) (mikst) (Şekil 5) mast hücreleri gözlemlendi.

Formol ile tespit edilmiş böbrek dokusundan alınan kesitlere farklı bir boyama yöntemi olan alcian blue tetrakis (methylpyridium chloride) boyası uygulandığında mast hücre granüllerinin AB boyamasına göre daha koyu boyandığı görüldü (Şekil 6).

IFAA ve formol tespit sıvıları ile tespit edilip, toluidin blue ile boyanan seri kesitlerde sayılan 21 günlük ve 42 günlük tavuk böbreğindeki mast hücre sayıları tablo 1'de verilmiştir. Her iki tespit solüsyonu ve yaş grubu arasındaki istatistiksel fark anlamsız bulunmuştur (p>0.05).

de mast hücrelerinin gözlemlendiğini bildirilmektedir. Valsala ve ark. (28) ördekte, böbrek intersitisyumunda dağınık veya kan damarlarının çevresinde çok az miktarda mast hücreleri gözlemlendiğinden söz etmektedir. Çalışmada mast hücrelerinin yerleşim yerleri ile ilgili bulgular araştırmacıları ile uyum göstermektedir.

Vodenicharov ve ark. (30) domuzların üreterinde mast hücrelerinin bağ dokuda dağınık ve kan damarlarının çevresinde yerleştiği bil-

dirilmektedir. Yapılan çalışmada da tavukların üreterlerinde mast hücrelerine rastlanmıştır.

Kurtdede ve Yörük (21) ün tavuk ve bildircin derisi ve Uslu ve Yörük (27) ün hindilerin sindirim sisteminde yaptıkları çalışmalarda, mast hücrelerinin, toluidin blue ile boyanan kesitlerde belirgin şekilde metakromazik boyandığı, buldukları yere göre farklı büyüklüklerde yuvarlak, oval ya da mekik şeklinde gözleendiği ve çekirdeklerin merkezi veya ekzantrik konumda yerleştiği bildirilmiştir. Çalışmaya ait bulgular literatür bilgileriyle uyum göstermektedir.

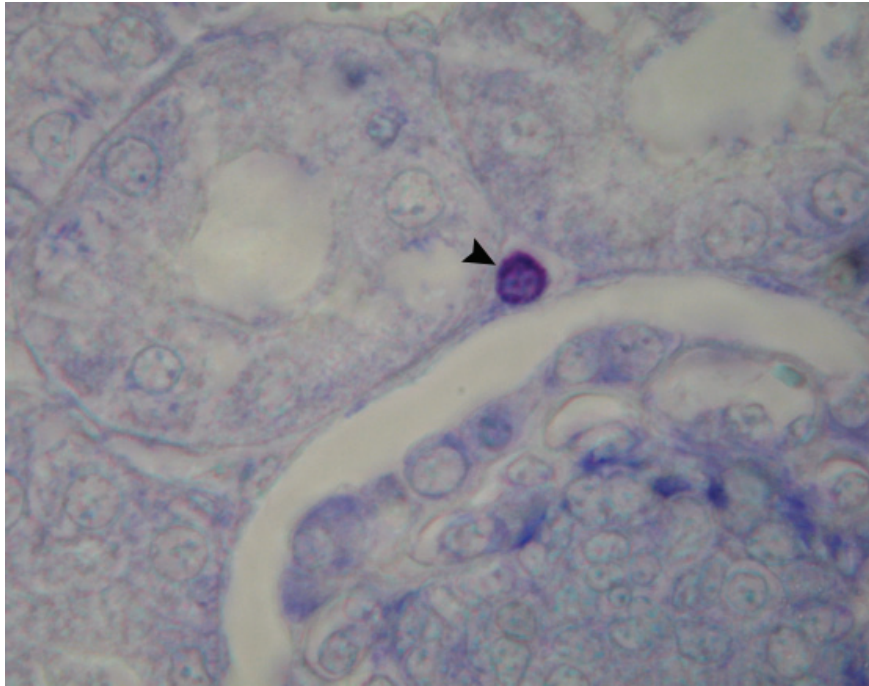
Uslu ve Yörük (27) ün hindi sindirim sistemi, Harem ve ark. (16) nın bildircin akciğeri ve Aksoy ve Çınar (1) nın tavuk bezsel midesinde yaptıkları çalışmalarda AB/SO kombine boyamasında mast hücrelerin AB(+) ve SO(+) boyandıkları bildirilmiştir. Yapılan araştırmada AB(+) ve SO(+) mast hücreleri gözlenmiştir.

Harem ve Kurtdede (15) nin tavukların alt solunum yollarında, Karaca ve Yörük (19) ün

tavuk ve bildircin sindirim sisteminde, Aksoy ve Çınar (1) in tavuk bezsel midesinde ve Harem ve ark. (16) nın bildircin akciğerlerinde yaptıkları çalışmalarda AB/SO kombine boyamasında AB(+)/SO(+) (mikst) mast hücrelerine çok az miktarda rastlandığından söz edilmektedir. Araştırmada çok az sayıda AB(+)/SO(+) mast hücrelerine rastlanması yukarıdaki bulgularla paralellik göstermektedir.

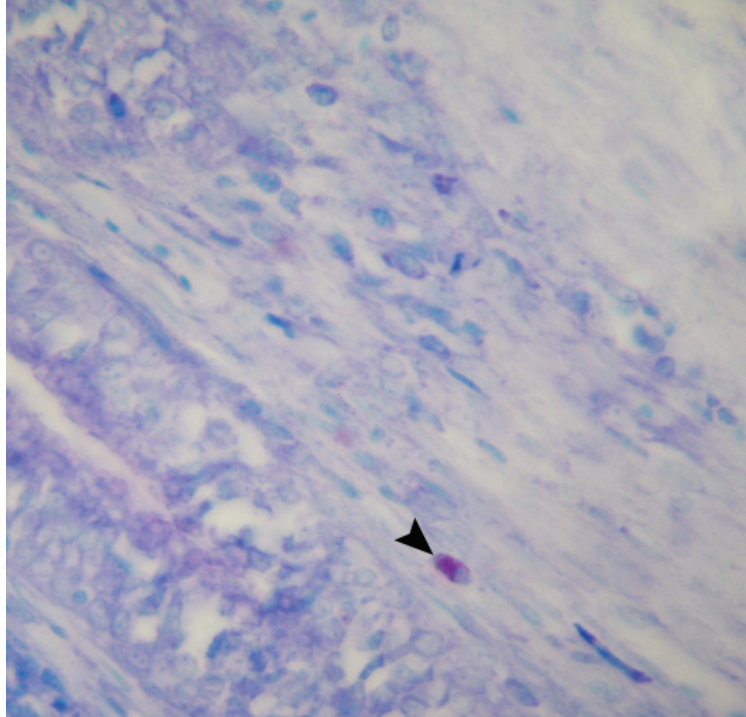
Yapılan bu çalışmada elde edilen ortalama mast hücre sayıları, tavukların trakeya (20) ve tavukların derisi (21) üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen ortalama mast hücre sayıları ile yakınlık göstermektedir.

Sonuç olarak; tavuk böbreğinde bulunan mast hücrelerinin tavukların diğer organları ve farklı kanatlı hayvanlarla yapılan çalışmalarda paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Bu araştırmada elde edilen tavuk böbreğindeki mast hücrelerinin, yerleşim yerleri ve heterojenitelerine ait bulguların ileride yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.



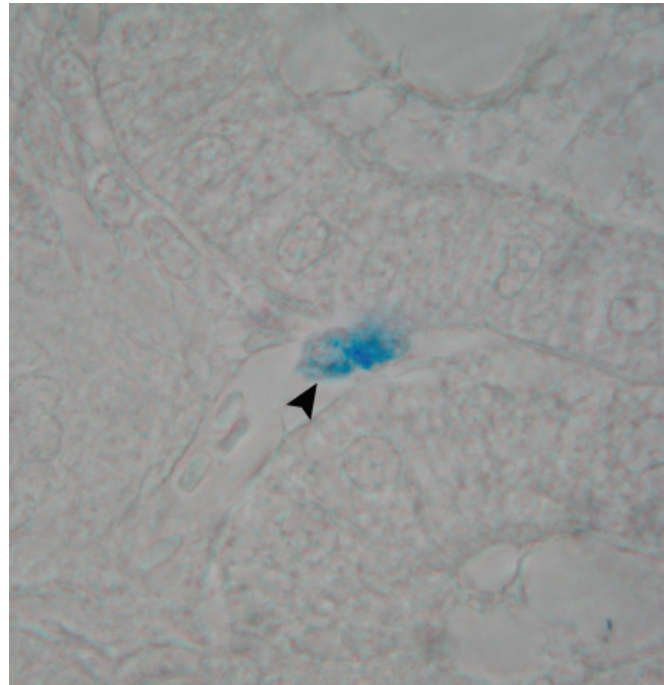
Şekil 1. Glomerulus ve böbrek tubulleri arasındaki intersitisyumda mast hücresi (ok başı), IFAA toluidin blue, X2700.

Figure 1. Mast cell (arrow head) between the glomerulus and renal tubules, IFAA, toluidin blue, x2700.



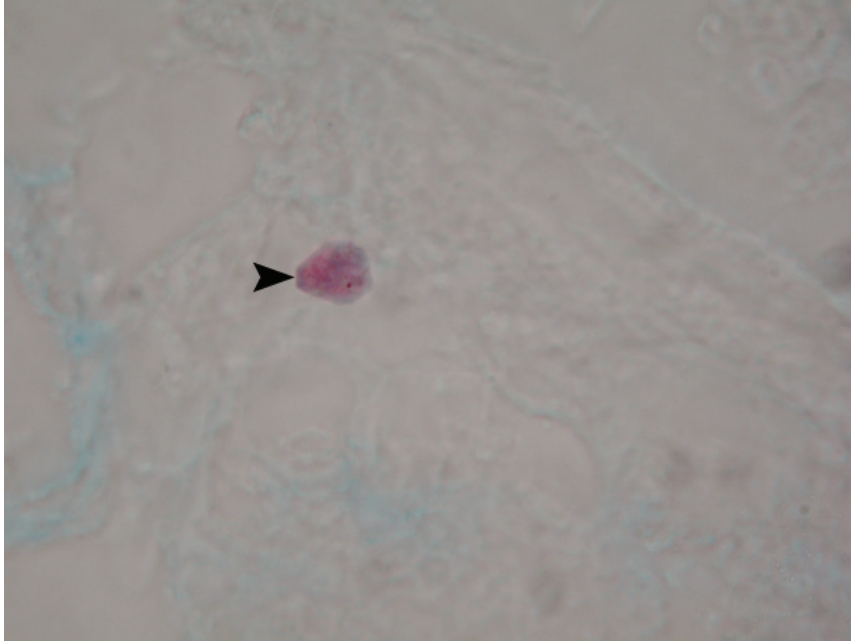
Şekil 2. Üreter subepitelyal yerleşimli mast hücresi (ok başı), IFAA toluidin blue, X1100.

Figure 2. Mast cell (arrow head) located in subepithelial of ureter, IFAA, toluidin blue, X1100.



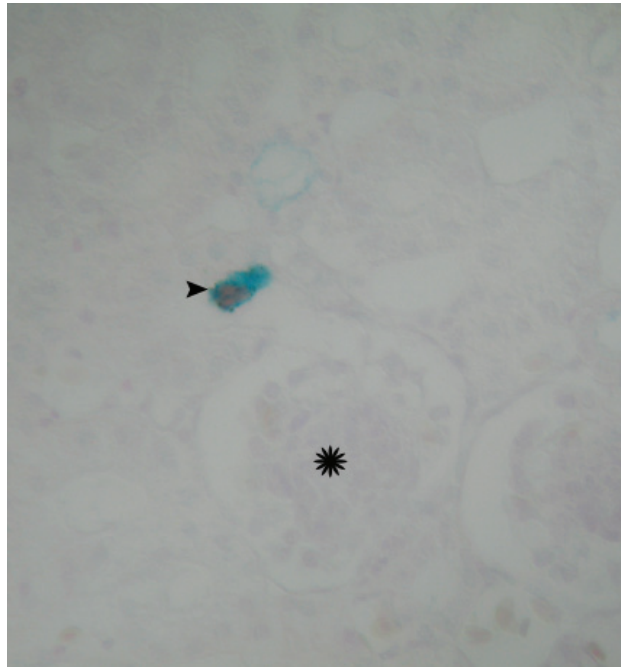
Şekil 3. Böbrek intersitiumunda AB(+) mast hücresi (ok başı), Alcian blue/safranin O, X2700.

Figure 3. AB positive mast cell (arrow head) in the intersitium of ren, Alcian blue/safranin O, X2700.



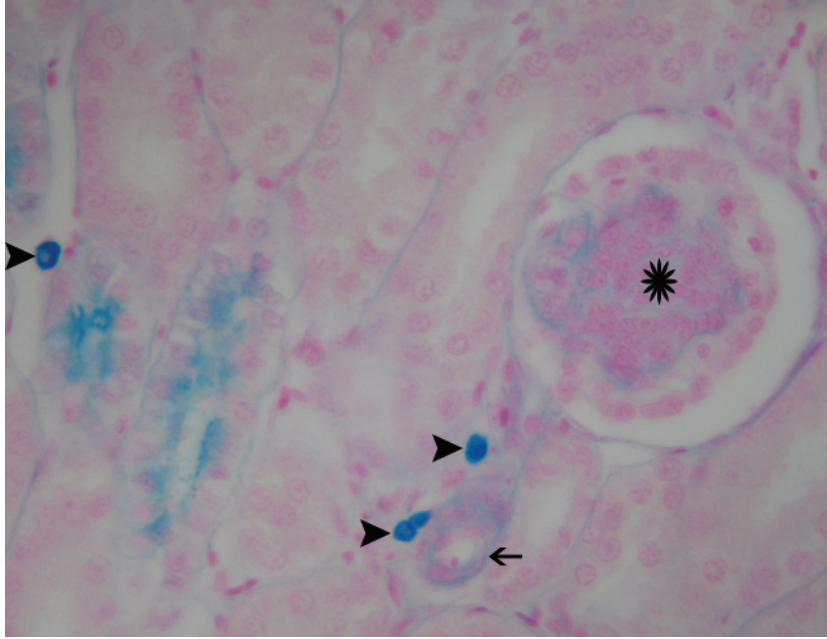
Şekil 4. Böbrek intersitisyumunda SO(+) mast hücresi (ok başı), Alcian blue/safranin O, X2700.

Figure 4. SO positive mast cell (arrow head) in the intersititium of ren, Alcian blue/safranin O, X2700.



Şekil 5. Böbrek intersitisyumunda AB/SO(+) (mikst) mast hücresi (ok başı), glomerulus (asteriks), Alcian blue/safranin O, X1100.

Figure 5. AB/SO positive mast cell (arrow head) (mix) in the intersititium of ren, Glomerulus (asteriks), Alcian blue/safranin O, X1100.



Şekil 6. Glomerulus (asteriks), böbrek tubulleri ve kan damarları (ok) arasındaki intersitisyumda mast hücreleri (ok başı), alcian blue tetrakis, X1100.

Figure 6. Mast cells (arrow head), between the glomerulus (asteriks), renal tubules and blood vessels (arrow), alcian blue tetrakis, X1100.

Kaynaklar

1. Aksoy A, Çınar K (2008): *Prenatal ve Postnatal Dönemlerde Gallus gallus domestica'nın Bezsel Midesinde Mast Hücrelerinin Ontogonitesi, Dağılımı ve Histokimyasal Karakterleri*. Y.Y.Y. Veteriner Fakültesi Dergisi, **2**, 25-29

2. Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker KS (1998): *İmmunoloji*. Medisan Yayın Serisi, Ankara

3. Bancroft JD, Cook HC (1984): *Manuel of Histological Techniques*. Churchill Livingstone Inc, New York

4. Bancroft JD, Gamble M (2002): *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone Inc, China

5. Chen W, Alley MR, Manktelow BW, Davey P (1990): *Mast Cells in the Bovine Lower Respiratory Tract: Heterogeneity, Morphology and Density*. Br Vet J, **146**: 425-435

6. Chen W, Alley MR, Manktelow BW,

Davey P (1990): *Mast Cells in the Ovine Lower Respiratory Tract: Morphology, Density and Distribution*. Br Vet J., **146**, 425-436

7. Crivellato E, Beltramis CA, Mallardi F, Ribatis D (2004): *The Mast Cell: An Active Participant or an Innocent Bystander?* Histol Histopathol, **19**, 259-270

8. Crossmon O (1937): *A Modification of Mallory's Connective Tissue Stain with a Discussion of the Principles Involved*. Anat Rec, **69**: 31-38

9. Ehara T, Shigematsu H (1998): *Contribution of Mast Cells to the Tubulointerstitial Lesions in IgA Nephritis*. Kidney International, **54**, 1675-1683

10. Enerback L (1966): *Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: 1. Effects of Fixation*. Acta Pathol Microbiol Scan, **66**: 289-302

11. Enerback L (1966): *Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: 2. Dye-binding and Metachromatic Properties*. Acta Pathol Microbiol Scan., **66**, 303-312

- 12. Eurell JA, Frappier BL** (2006): *Dellman's Textbook of Veterinary Histology*. Blackwell Publishers, Oxford
- 13. Galli SJ** (1993): *New Concept about the Mast Cell*. N Engl J Med, **328**, 257-265
- 14. Gartner LP, Hiatt JL** (2007): *Color Textbook of Histology*. W. B. Saunders Elsevier, China
- 15. Harem MK, Kurtdede N** (2004): *Tavuk (Gallus domesticus) Alt Solumun Yollarındaki Mast Hücreleri Üzerinde Histolojik Araştırmalar*. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, **1(1)**: 21-26
- 16. Harem MK, Liman N, Alan E** (2011): *Distribution, Density and Histochemical Profiles of the Lung Mast Cells During the Post-Hatching Period of Japanese Quails (Coturnix coturnix japonica)*. Research in Veterinary Science, **90**, 1-8
- 17. Henwood A** (2002): *Improved demonstration of mast cells using alcian blue tetrakis (methylpyridium) chloride*. Biotechnic&Histochemistry, **77(2)**, 93-94
- 18. Hofmann AM, Abraham SN** (2009): *New Roles for Mast Cells in Modulating Allergic Reactions and Immunity Against Pathogens*. Curr Opin Immunol., **21**, 679-686
- 19. Karaca T, Yörük M** (2004): *A Morphological and Histometrical Study on Distribution and Heterogeneity of Mast Cells of Chicken's and Qail's Digestive Tract*. YYU Vet Fak Derg, **15(1-2)**, 115-121
- 20. Karaca T, Yörük M, Şimşek N** (2006): *Age Related Distribution of Mast Cells in the Trachea and Lung of Chicken*. Indian Vet. J., **83**, 649-651
- 21. Kurtdede N, Yörük M** (1995): *Tavuk ve Bildircin Derisinde Mast Hücrelerinin Morfolojik ve Histometrik İncelenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **42**, 77-83
- 22. Lin T, Befus AD** (2002): *Mast Cells in Mucosal Defensis and Pathogenesis*. In: *Mucosal Immunity Volume 1, Ed.: J. Mestecky, M. E. Lamm, W. Strober, J. Bienestock, J. R. McGhee, L. Mayer*. Elsevier Academic Press, United States of America
- 23. Noviana D, Kono F, Nagaku Y, Shimizu H, Mamba K, Makimura S, Horii Y** (2002): *Distribution and Enzyme Histochemical Characterisation of Mast Cells in Cats*. Histochem J, **33**, 597-603
- 24. Noviana D, Mamba K, Makimura S, Horii Y** (2004): *Distribution, Histochemical and Enzyme Histochemical Characterisation of Mast Cells in Dogs*. J Mol Histol, **35**, 123-132
- 25. Ross MH, Pawlina W** (2006): *Histology a Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia
- 26. Sağlam M, Aştı RN, Özer A** (2008): *Genel Histoloji*. Yorum Matbaacılık, Ankara
- 27. Uslu S, Yörük M** (2008): *Hindilerde Sindirim Sisteminde Mast Hücrelerinin Dağılımı ve Heterojenitesi Üzerinde Morfolojik ve Histometrik Araştırmalar*. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, **2**, 47-51
- 28. Valsala KV, Jarplid B, Hansen H-J** (1985): *Distribution and ultrastructure of mast cells in duck*. Avian Diseases, **30**: 4
- 29. Vodenicharov A, Chouchkov C** (1999): *Morphological Study of Mast Cell Localization in the Wall of the Proximal Tubule in the Domestic Swine Kidney*. Anat Histol Embryol., **28**, 85-88
- 30. Vodenicharov A, Leiser R, Gulubova M, Vlaykova T** (2005): *Morphological and Immunocytochemical Investigations on Mast Cells in Porcine Ureter*. Anat Histol Embryol., **34**, 343-349

Geliş Tarihi: 16.10.2012 / Kabul Tarihi: 22.02.2013

Yazışma Adresi:

Dr. Tuğrul ERTUĞRUL
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
06110, Dışkapı/Ankara
e-posta: tugrulertugrul06@hotmail.com