

KÖPEKLERDE BARSAK MUKOZASINDA MAST HÜCRELERİ¹

Ülker EREN² Necdet GÜZEL³ Serap TÜRKÜTANIT⁴
Ayhan DURUKAN⁵ Şadiye ERGÜLDÜRENLER² M. Erkut KARA⁶

The mast cells in the dog intestinal mucosa

Summary: *The aim of this study was to determine histologic, histochemical and functional properties of the mast cells of dog intestinal mucosa. For this purpose, 11 mongrel dogs were used. The dogs were divided into two groups; the first group was determined as naturally infected with intestinal parasites (n=7) and the second group in which no intestinal parasitic infection could be determined (n=4). The tissue specimens of the jejunum were obtained by abdominal surgery from both groups; the first specimen collection carried out following a feces examination, than all animals were treated with antiparasitic agents, and 60 days later the second specimen collection was made. Each specimen was divided into two pieces which were placed in both neutral buffered formalin (NBF) and isotonic formalin asetic acid (IFAA) fixatives. To demonstrate the mast cells, tissue sections were stained with toluidin blue (TB) and alcian blue / safranin O (AB/SO) methods. The mast cells could not be demonstrated in NBF fixed tissues sufficiently. In contrast to this, the cells were extremely well preserved in IFAA fixed tissues. The mast cells were observed as TB(+), AB(+) / SO(-). There were more mast cells in L. propria compared with submucosa and T. muscularis. The number of mast cells were found to be higher in naturally infected dogs and were decreased after antiparasitic treatment, especially in villus intestinales. It was suggested that the mast cells in the dogs intestinal mucosa, which are sensitive to formalin, stained AB (+) and SO (-) and increased in respons to parasites, could be concluded as mucosal mast cells.*

Key words: *Dog, histochemistry, jejunum, mast cells.*

Özet: *Bu araştırma, köpeklerin barsak mukozasında bulunan mast hücrelerinin histolojik, histokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin ortaya konması amacıyla gerçekleştirildi. Araştırmada, belirgin bir ırk özelliği göstermeyen 11 adet köpek kullanıldı. Köpekler, barsak parazitleri ile doğal enfekte olduğu belirlenenler (7 adet) ve gaitasında parazit görülmeyenler (4 adet) olmak üzere iki*

1. Bu araştırma TÜBİTAK (VHAG-1347) ve ADÜAF (VTF-9704) tarafından desteklenmiştir.
2. ADÜ Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın-TÜRKİYE
3. ADÜ Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Aydın-TÜRKİYE
4. ADÜ Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Aydın-TÜRKİYE
5. ADÜ Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın-TÜRKİYE
6. ADÜ Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Aydın-TÜRKİYE

gruba ayrıldılar. Doku örnekleri, gruplar belirlendikten sonra ve bütün köpeklere antiparaziter tedavi uygulandıktan 60 gün sonra olmak üzere iki kez, jejunum'dan operatif olarak alındı. Alınan her bir örneğin bir parçası tamponlu nötr formalin (NBF), diğer parçası izotonik formalin asetik asit (IFAA) ile tespit edildi. Mast hücrelerinin demonstrasyonu için toluidin blue (TB) ve alcian blue / safranin O (AB/SO) boya metotları uygulandı. Mast hücreleri NBF ile tespit edilen dokularda yeterince gösterilemediler. IFAA ile tespit edilen dokularda mast hücreleri daha yoğun olarak gözlemlendiler. Mast hücrelerinin TB(+), AB(+) ve SO (-) reaksiyon verdikleri görüldü. Mast hücrelerinin, submukoza ve tunika muskularis ile karşılaştırıldığında, en yoğun olarak lamina propria'da buldukları tespit edildi. Barsak parazitleri ile doğal enfekte hayvanlarda mast hücre sayısının daha fazla olduğu, antiparaziter tedaviden sonra özellikle villuslarda sayılarının azaldığı belirlendi. Formaline duyarlı olan, AB(+) ve SO (-) reaksiyon veren ve barsak parazitleri ile enfekte hayvanlarda sayılarının arttığı belirlenen mast hücrelerinin mukozal mast hücresi olarak değerlendirilebileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Histokimya, jejunum, köpek, mast hücresi.

Giriş

IgE ve IgG alt sınıflarını bağlayan membran reseptörlerine sahip olan mast hücreleri, aşırı duyarlılık reaksiyonlarında, parazitler hastalıklarda, neoplazmlara karşı savunmada, yara iyileşmesi ve doku yenilenmesinde rol almaktadırlar (1, 17, 25). Heparinin endotelde lipoprotein lipaz ile etkileşerek trigliseritlerin serbest yağ asitlerine dönüşümünü kolaylaştırdığı da (12) bildirilmektedir.

Mast hücrelerinin fenotiplerinin ve yerleştikleri bölgelerin farklı olması, mast hücre heterojenitesi kavramının oluşmasına neden olmuştur (5, 10, 11, 20). Rodentlerde (10, 11, 16, 24, 48), mukozaların derin kısımlarında, serozada, deride özellikle kapilar damar çevrelerinde bulunan bağ dokusu mast hücresi (CTMC) ile mukozaların daha yüzeysel kısımlarında bulunan mukozal mast hücresi (MMC) olmak üzere farklı iki tip mast hücresi tanımlanmıştır. Kemikliği kökenli olan bu hücreler farklılaşmalarını perifer dokularda, yerleştikleri mikroçevrenin de etkisiyle tamamlamaktadırlar (14, 29, 36, 43).

Mast hücre heterojenitesi farklı türlerde ve farklı dokularda örneğin: insanda barsakta (42,

46) ve solunum sisteminde (38, 40, 49), koyunda barsakta (22), kanatlıda akciğerde (41), inekte solunum sistemi (8) ve uterusunda (13) çalşılmıştır.

Mast hücrelerinin yerleştikleri bölgelerin, morfolojik ve histokimyasal özelliklerinin farklı olması fonksiyonel farklılığı da düşündürmektedir. Becker ve ark. (3) köpek derisinde atipik mast hücrelerinin antijene karşı erken yanıtta, tipik mast hücrelerinin ise geç faz yanıtta sorumlu olabileceğini ileri sürmektedirler. Ratlarda (5, 52) ve farelerde (18) sindirim sisteminde nematod enfeksiyonlarının, mukozal mast hücre sayısını arttırdığı tespit edilmiştir. Miller (33) ruminantlar ve laboratuvar hayvanlarında helmint enfeksiyonlarının mastositozis oluşturduğunu ve MMC'nin antiparaziter yanıtta görev aldığını bildirmektedir.

Yapılan literatür taramasında, köpeklerde mast hücresi ile ilgili çalışmaların, mast hücre tümörlerinin köpeklerde deride en sık gözlenen malign tümör (19) olması dolayısıyla, bu yönde yoğunlaştığı (6, 7, 15, 39, 47) dikkati çekmiştir. Mast hücre heterojenitesi ise oldukça sınırlı sayıda deride (2, 3, 50) ve solunum sisteminde (37, 44) araştırılmıştır.

Sunulan araştırmada, köpeklerin barsak mukozasında bulunan mast hücrelerinin histolojik, histokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Amaç doğrultusunda araştırma, barsak parazitleri ile doğal enfekte oldukları belirlenen ve gaitalarında barsak paraziti belirlenmeyen köpeklerin barsak mukozasındaki mast hücrelerinin histolojik-histokimyasal özelliklerinin ve birim alandaki sayılarının belirlenebilmesi yönünde planlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada, 12-24 kg ağırlığında ve 1-2,5 yaşlarında, belirgin bir ırk özelliği göstermeyen 11 (6 dişi - 5 erkek) adet sokak köpeği kullanıldı. Hayvanların genel klinik muayenelerinden sonra, düzenli olarak barsak paraziti açısından gaita muayeneleri yapıldı. Toplanan gaitalar, Fülleborn'un doymuş tuzlu su ve sedimentasyon yöntemi ile incelendi, görülen yumurtaların McMaster yöntemi ile gram dışkıdaki sayıları belirlendi. Gaita muayeneleri sonucunda, barsaklarında parazit tespit edilenler (7 adet)(I. grup) ve gaitasında parazit görülmeyenler (4 adet)(II. grup) olmak üzere iki grup oluşturuldu. Gruplar belirlendikten ve bütün köpeklere antiparaziter tedavi uygulandıktan 60 gün sonra olmak üzere iki kez, jejunum'larından, operatif olarak doku örnekleri alındı.

Operasyonlar

Köpekler, her iki operasyonda da doku örneği alınana kadar, xylazin'in mast hücresinde degranülasyon yapabileceği düşünülerek (26) 10 mg/kg ketamin hidroklorür (ketancs, Alke) ile uyutuldu. Doku örnekleri jejunum'dan alındıktan sonra xylazin hidroklorür (2 mg/kg, rompun, Bayer) ile anesteziye devam edildi. Postoperatif dönemlerde, olası enfeksiyonlara karşı, ampisilin trihidrat (5-10 mg/kg, alfasilin /Abfar) üç gün kas içi uygulandı.

Antiparaziter tedavi

İlk operasyondan sonra tamamen iyileşmeyi takiben, hayvanların gaitalarında belirlenen helmintler için 1 tablet (50 mg paraziquantel, 144 mg pyrantelmonate, 150 mg febantel) (Drontal Plus /Bayer)/ 10 kg dozda, on gün ara ile iki kez oral uygulandı. Protozoonlar için sulphamezathin (%16'lık Sulphamezathin solüsyon /DİF) ilk uygulamada 100 mg/kg, takiben iki uygulamada 50 mg/kg dozunda sularına verildi. Buna ek olarak re-enfeksiyonu önlemek amacı ile hayvanlarda ve barınaklarında ektoparazit mücadelesi yapıldı. Bu amaçla, fenvalerat (Fenetrin, Eczacıbaşı) 104 mg/1000 ml şeklinde hazırlanarak kullanıldı. Antiparaziter tedavi sırasında da gaita muayenesine devam edildi.

Doku kesitlerinin hazırlanması ve boyanması

Jejunum'dan alınan doku örneklerinin bir parçası %10'luk tamponlu nötr formalin (NBF) (24 saat), diğer parçası ise izotonik formalin asetik asit (IFAA, pH 2,9)(97,85 ml distile su, 1,65 ml formalin, 0,5 ml asetik asit, 12 saat IFAA ve 12 saat %70 alkol) solüsyonlarında tesbit edildi (10, 11, 51).

NBF'de tespit edilmiş dokulardan hazırlanan parafin bloklardan alınan 5µm'lik kesitler, hematoksilin-eosin (H.E.) ile boyanarak incelendiler. Daha sonra NBF ve IFAA'da tespit edilen dokulardan hazırlanan parafin blokların her birinden 30µm ara ile 5 µm kalınlığında onar adet seri kesit alındı. NBF ve IFAA ile tespit edilen dokulardan alınan kesitlere aynı lamda olmak üzere, mast hücrelerinin demonstrasyonu için, toluidin blue (TB)(pH 0.5) ve alcian blue (AB)(pH 0.2)/ saf-ranin O (SO)(pH 1) kombine boya metotları uygulandı (11, 30).

Mast hücre sayımı

Mast hücrelerinin sayımı için birim alan olarak villus-kript (VC) ünite -bir villus ve takiben iki kript arası bölge- belirlendi (34). IFAA ile tespit edilmiş dokulardan hazırlanan,

TB ve AB/SO boyama metotları uygulanmış kesitlerde sayım yapıldı. Her kesitte üç adet VC ünite, 10X40 büyütmede mast hücre sayısı belirlenerek ortalaması alındı ve o kesitin mast hücre sayısı olarak kaydedildi. Bu şekilde her bloktan on adet kesitte mast hücresi sayıldı.

İstatistik

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, birinci ve ikinci operasyonlar sırasında alınan dokularda belirlenen veriler arasında bağımlı gruplar için, iki grup arasında ise bağımsız gruplar için t testi uy-

gulandı. Bu amaçla SPSS istatistik paket programı kullanıldı (45).

Bulgular

Toplanan köpeklerde operasyon öncesi ve antiparaziter tedavi sürecinde yapılan gaita muayeneleri ile tespit edilen barsak parazitleri, Tablo 1'de gösterildi. İlk operasyondan sonra, I. gruba ait bir hayvana ait doku kesitlerinde, çekmenleri ile barsak mukozasına tutunmuş şekilde cestod belirlendi fakat tür tayini yapılamadı (Şekil 1).

Tablo 1. Doğal enfekte hayvanlarda gaitada belirlenen barsak parazitleri.
Table 1. Parasites determined in feces of naturally infected dogs.

Hayvan No	Helmint (adet/ yumurta sayısı)			Protozoon (ookist sayısı)
	Nematod		Cestod	
1	<i>Uncinaria stenocephala</i> <i>Toxocara canis</i>	3/1100 2/	<i>Dipylidium caninum</i> 5/1150	<i>Isospora spp.</i> 500
2	<i>Toxocara canis</i>	8/200000	-	-
3	-		<i>Dipylidium caninum</i> 1/500	<i>Isospora spp.</i> 350
4	-		<i>Cestod</i> Kesitte	-
5	<i>Toxocara canis</i>	1/	<i>Dipylidium caninum</i> 23/250	<i>Isospora spp.</i> 200
6	-		<i>Taenia spp.</i> 1/400	-
7	<i>Toxocara canis</i>	2/500	-	<i>Isospora spp.</i> 100



Şekil 1. Barsak mukozasına tutunan bir cestod. Çekmen (x) ve çengeller (oklar). x 490.
Figure 1. A cestode is holding to intestinal mucosa. Sucker (x) and hooks (arrows). x 490.

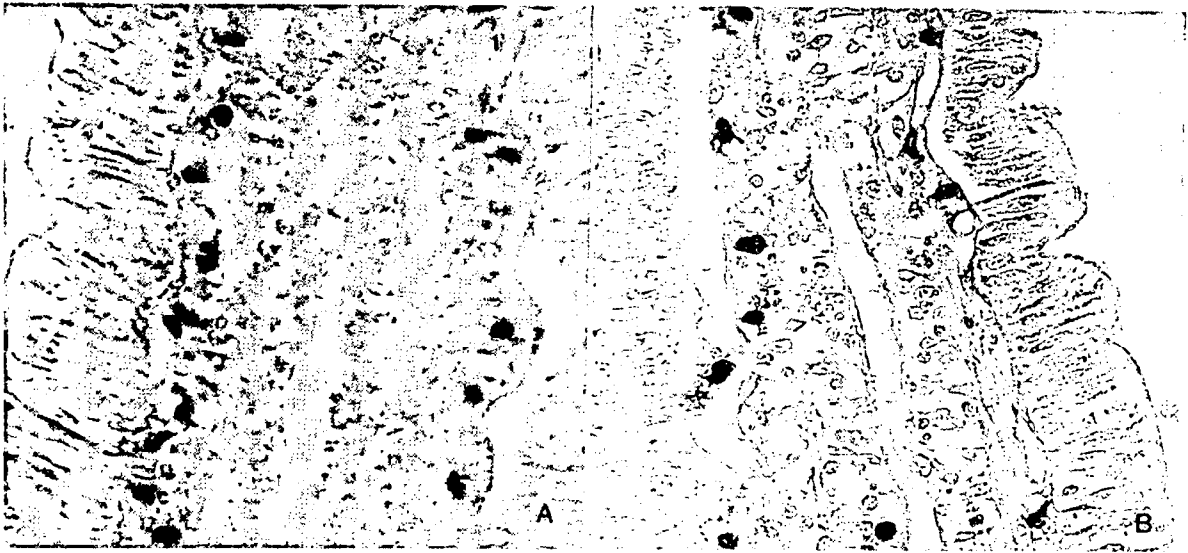
Antiparaziter tedavi öncesi ve sonrasında, H.E. boyama metodu ile boyanan kesitlerde, paraziter enfeksiyon dışında herhangi bir patolojik lezyon görülmedi. I. grup hayvanlarda genel olarak belirlenen Goblet hücre hiperplazisinin antiparaziter tedaviden sonra azaldığı dikkati çekti. Villusların lamina propriya'sında ve bezler arasında dört olguda az sayıda, iki olguda ise yoğun olarak lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu belirlendi. *Isospora* spp. belirlenen iki olguda villuslarda atrofi gözlemlendi.

Mast hücrelerinin histolojik ve histokimyasal özelliklerinin belirlenebilmesi için uygulanan, TB ve AB/SO boyama metodları ile boyanan kesitler incelendiğinde, NBF ile tespit edilen kesitlerde, villuslarda, intraepitelial olarak ve bağ dokuda mast hücrelerine rastlanmadı. Kriptlerin bulunduğu lamina propriya, submukoza ve kas tabakasında nadir olarak TB (+) ve AB (+) / SO (-) mast hücreleri demonstre edildi. Bu hücrelerde, az sayıda gözlenen granüllerin belirgin ve çekirdeklerinin görülebilir olduğu dikkati çekti. Kas tabakasında mast hücrelerinin genelde kapilar damar çevrelerinde yer aldıkları ve zayıf olarak boyandıkları görüldü.

IFAA ile tespit edilen dokularda da TB ve AB/SO boyama sonunda lamina epitelialis'de mast hücrelerine rastlanmadı. TB boyama metodu uygulandığında, mast hücreleri mukoza ile kas tabakasında TB (+) olarak belirlendiler. AB/SO boyama metodu uygulandığında ise yine mukoza ile kas tabakasında AB (+) / SO (-) olarak demonstre edildiler. IFAA'de tespit edilen kesitlerde, mast hücrelerinin oldukça yoğun olarak buldukları ve koyu boyandıkları dikkati çekti. En yoğun olarak mast hücrelerine villuslarda (Şekil 2, A,B) ve kriptlerin bulunduğu bölgede yer alan (Şekil 3, A, B) lamina propriya'da rastlandı.

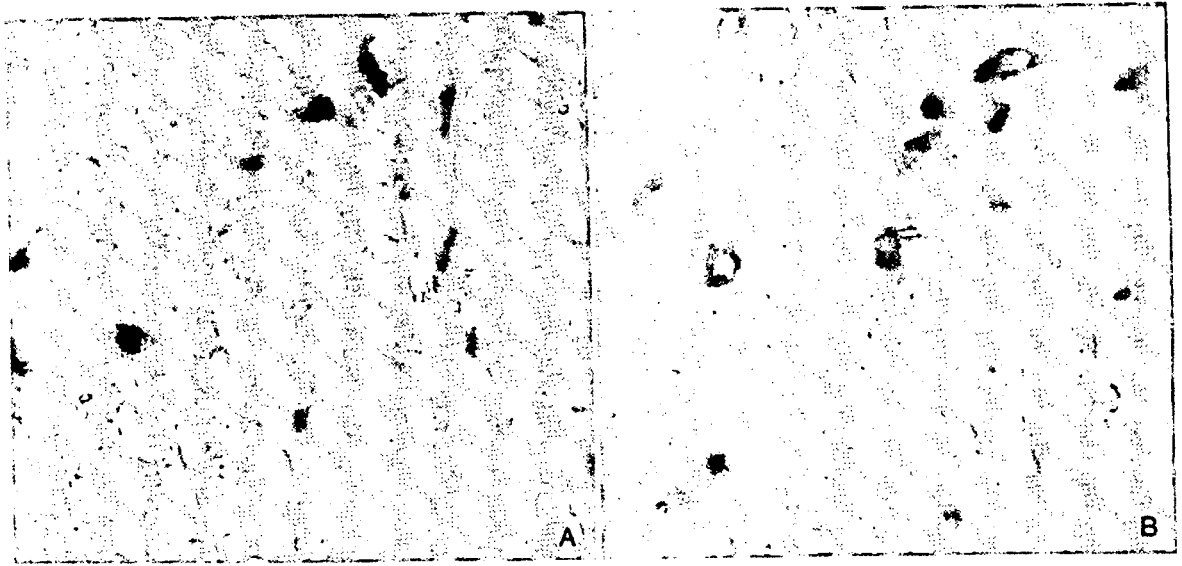
Villuslarda, epitelin altında bulunan mast hücrelerinin kriptlerin bulunduğu bölgedeki mast hücrelerine göre nispeten küçük oldukları ve sitoplazmalarında daha az salgı granülü bulunduğu gözlemlendi. Antiparaziter tedaviden sonra alınan doku örneklerinde, villuslarda bulunan mast hücrelerinin azaldığı dikkati çekti.

IFAA ile tespit edilen, TB ve AB/SO ile boyanmış doku kesitlerinde mast hücreleri villus-kript ünitede sayıldı (Tablo 2).



Şekil 2. A. IFAA ile tespit edilmiş kesitlerde villuslarda TB (+) mast hücreleri. TB. x 490. B. Villuslarda AB (+) mast hücreleri. AB/SO. x 495.

Figure 2. A. In IFAA fixed tissue, TB (+) mast cells in villus. TB. x490. B. AB (+) mast cells in villus. AB/SO. x 495.



Şekil 3. A. IFAA ile tespit edilmiş kesitlerde kriptlerde TB (+) mast hücreleri. TB. x 500. B. Kriptlerde AB (+) mast hücreleri. AB/SO. x 500.

Figure 3. A. In IFAA fixed tissue, TB (+) mast cells in crypts. TB. x 500. B. AB (+) mast cells in crypts. AB/SO. x 500

Tablo 2. IFAA ile tespit edilmiş dokularda, birinci ve ikinci operasyonlarda villus-kript ünite de belirlenen TB (+) ve AB (+) mast hücre sayısı.

Table 2. After the first and second operations, the TB (+) and AB (+) mast cell counts in VC unit within the jejunal mucosa (means with SEM).

Grup	X(mast hücre sayısı/VC Ünite) ±SEM					
	TB-1	TB-2	t	AB/SO-1	AB/SO-2	t
I (n=7)	34,19 ± 1,39	28,26 ± 1,18	**	38,66 ± 1,47	35,57 ± 1,56	-
II (n=4)	25,43 ± 1,12	22,94 ± 0,91	-	26,22 ± 1,82	24,65 ± 1,24	-
t	***	***		***	***	

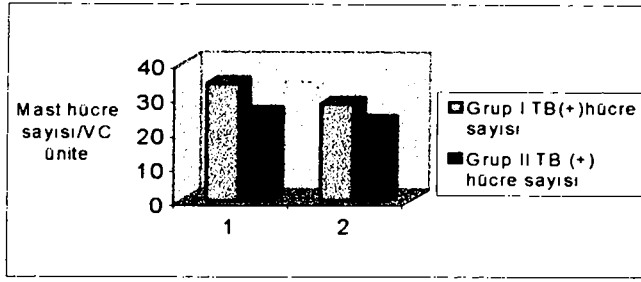
- : önemsiz, ** : p<0.01, *** :p<0.001

Barsak parazitleri ile doğal enfekte hayvanların (grup I) barsak duvarında TB boyama ile belirlenen mast hücre sayısının (Tablo 2, TB-1), antiparaziter tedavi gördükten sonra belirlenen mast hücre sayısından (Tablo 2, TB-2) daha fazla olduğu ve farklılığın anlamlı olduğu tespit edildi (p<0.01) (Tablo 2) (Şekil 4).

AB/SO boyama sonucunda da antiparaziter tedaviden önce AB(+) mast hücre sayısının (Tablo 2, AB/SO-1), tedavi sonrasında göre (Tablo 2, AB/SO-2) fazla olduğu ve değerler

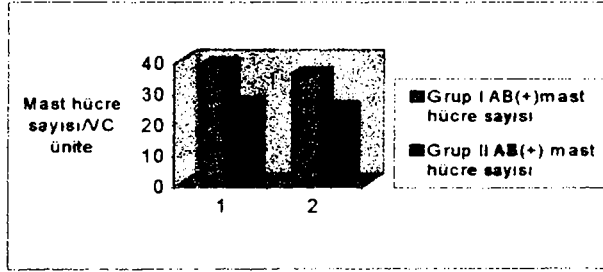
arasındaki farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği dikkati çekti (P=0.055, DF=66)(Şekil 5).

Barsaklarında parazit belirlenemeyen grupta (grup II) ise parazit tedavi öncesi ve sonrası belirlenen değerler arasındaki farklılığın anlamlı olmadığı tespit edildi (p>0.05)(Tablo 2) (Şekil 4, 5). Gruplar arasında villus-kript ünite de belirlenen mast hücre sayısı açısından karşılaştırma yapıldığında (Tablo 2), barsaklarında parazit belirlenemeyen grupta mast hücre sayısının tedavi öncesi ve sonrasında diğer gruptan az olduğu (p<0.001) görüldü.



Şekil 4. IFAA ile tespit edilmiş doku kesitlerinde, birinci ve ikinci operasyonlarda, villus-kript ünite de belirlenen ortalama TB (+) mast hücre sayısı.

Figure 4. After the first and second operations, the TB (+) mast cell counts in VC unit within the IFAA fixed tissues.



Şekil 5. IFAA ile tespit edilmiş doku kesitlerinde, birinci ve ikinci operasyonlarda, villus-kript ünite de belirlenen ortalama AB (+) mast hücre sayısı.

Figure 5. After the first and second operations, the AB (+) mast cell counts in VC unit within the IFAA fixed tissues.

Tartışma ve Sonuç

İnsanlarda formalin içeren tespitler kullanıldığında, barsakta belirlenen mast hücre sayısının az olduğu bildirilmektedir (46). Ratlarda duodenum, dil ve deri mast hücrelerinde çalışan Wingren ve Enerback (51), formalinin barsakta mast hücre granüllerinin katyonik boya tutmasını geçici olarak engellediğinden, mast hücrelerinin demonstrasyonu için özel fiksatiflere gereksinim olduğuna işaret etmektedirler. Köpek derisinde atipik mast hücrelerinin (2), domuzlarda da intestinal MMC'nin (54) NBF ile tespit edildiğinde boyanmalarının engellendiği tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada tespit sıvısı olarak IFAA ve NBF kullanılmış ve köpeklerde de barsakta NBF kullanılan doku kesitlerinde, mast hücrelerinin demonstrasyonunda başarılı olunamadığı görülmüştür.

Bağ dokusu mast hücrelerinin (CTMC) özellikleri: formalin tespitine dirençli granüllere sahip olması, granüllerinde heparin bulunması,

ratlarda RMCP I (rat mast cell protease I) içermesi, AB/SO boyama metodunda SO (+) boyanmasıdır. Mukozal mast hücrelerinin özellikleri ise: formalin tespitine duyarlı olması, kondroitin sülfat içermesi ve ratlarda RMCP II (rat mast cell protease II) bulundurmasıdır (10, 11, 16, 20, 24). İnsanlarda histokimyasal metotlar kullanılarak yapılan araştırmalarda intestinal mukozada MMC'nin L. propriya'da, CTMC'nin submukozada bulunduğu (4, 42) bildirilmektedir.

Sunulan çalışmada, NBF ile tespit edilen kesitlerde villusların dışında, mukozanın daha aşağı kısımlarında ve kas tabakasında nadir olarak TB (+) ve AB (+)/SO (-) mast hücreleri demonstrate edildi. IFAA ile tespit edilen dokularda ise mast hücreleri en yoğun olarak villuslar ve kriptlerin bulunduğu bölgede yer alan lamina propriya'da gözlenmiş ve mukozaya ile kas tabakasında TB (+) ve AB (+)/SO (-) olarak reaksiyon verdikleri tespit edilmiştir.

Bazı araştırmacılar, histokimyasal (34, 35) ve ultrastruktural (32) olarak yaptıkları çalışmalarda, normal (34) ve parazitli ratlarda (32, 34, 35) mast hücrelerinin epitele doğru göç ettiklerini, degranüle olarak globul lökosit'e (GL) dönüştüklerini ileri sürmektedirler. Histokimyasal metotların kullanıldığı bu çalışmada, köpeklerde NBF ve IFAA ile tespit edilen dokularda intraepitelyal mast hücresine rastlanmamıştır.

Ratlarda (28, 52, 53) ve koyunlarda (9, 21, 33) barsak helmintlerinin ve protozoon enfeksiyonlarının (23) barsaklarda mukozal mast hücre sayısını ve proteaz miktarını artırdığı ileri sürülmektedir.

Yapılan araştırmada da doğal enfekte oldukları belirlenen birinci gruba ait hayvanlarda, IFAA ile tespit edilen dokularda, TB ve AB/SO boyamalarıyla belirlenen mast hücre sayısının, barsaklarında parazit belirlenemeyen diğer gruptan fazla olduğu ($p < 0.001$) tespit edilmiştir. Ayrıca, birinci grup kendi içinde değerlendirildiğinde, TB boyamada antiparaziter tedaviden önce alınan dokularda mast hücre sayısının daha fazla olduğu ($p < 0.01$) belirlenmiştir. AB/SO boyamada da mast hücre sayısının antiparaziter tedaviden önce fazla olduğu görülmüş ve değerler arasındaki farklılığın anlamlılık eğilimi gösterdiği ($p = 0.055$) (DF=66) tespit edilmiştir. Miller ve Walshaw (35) barsakta mast hücrelerinden bırakılan biyojenik ürünlerin mukozal permeabilityi artırdığını ve bu durumun parazitlere karşı üretilen antikörlerin yer değiştirmesini kolaylaştırdığını ileri sürmektedirler. Ratlarda RMCP II'nin hedefinin, bazal membranın laminin ve kollagen tip 4 komponentleri olduğu bildirilmiştir (27).

Sunulan araştırmanın bulgularından farklı olarak T. canis ile enfekte Beagle köpeklerin ince barsağında yapılan histopatolojik bir çalışmada (31), enfeksiyonun lamina propria'da mast hücreleri ve pyroninofilik hücrelerin sayılarını değiştirmedığı ileri sürülmektedir. Araştırmacılar (31), bu çalışmada NBF kullanmışlardır. Bu nedenle oluşan aldehyt blokajı

(51) sunulan araştırmada da olduğu gibi mast hücrelerinin boyanmasını engellemiş olabilir.

Sonuç olarak, yapılan araştırma ile köpeklerde barsak duvarında bulunan mast hücrelerinin lamina propria'da yoğunlaştığı, TB (+), AB (+) ve SO (-) granüllere sahip olduğu belirlendi. Köpeklerin barsak mukozasında mast hücrelerinin gösterilmesinde, formalin tespitinin kullanılmasının yeterli olamayacağı anlaşıldı. Barsak parazitleri ile enfekte köpeklerde L. propriyada mast hücre sayısının arttığı belirlendi. Köpeklerde formalin tespitinden etkilenen, AB (+)/ SO(-) boyanan ve barsak parazitleri ile doğal enfekte hayvanlarda sayılarının arttığı tespit edilen mast hücrelerinin, mukozal mast hücresi olarak değerlendirilebileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Arda M (1994) *Immunolojik Reaksiyonlarda Fonksiyonları Olan Diğer Hücreler*. Immunoloji. 170-172. Medisan Yayınevi, Ankara.
2. Becker AB, Chung KF, McDonald DM, Lazarus SC, Frick OL, Gold WM (1985) *Mast cell heterogeneity in dog skin*. Anat Record, **213**, 477- 480.
3. Becker AB, Chung KF, McDonald DM, Lazarus SC, Frick OL, Gold WM (1986) *Cutaneous mast cell heterogeneity. response to antigen in atopic dogs*. J Allergy Clin Immunol, **78**, 937-942.
4. Befus AD, Goodacre R, Dyck N (1985) *Mast cell heterogeneity in man. I. Histologic studies of the intestine*. Int Arc Allergy App Immunol. **76**, 232-236.
5. Befus AD, Pearce FL, Gaudie J, Horwood P, Bienenstock J (1982) *Mucosal mast cells. I. Isolation and functional characteristics of rat intestinal mast cells*. J Immunol. **128**, 2475-2480
6. Bostock DE (1980) *The biological behaviour of mastocytomas and melanomas in the dog*. Vet Annu, **20**, 124-128.
7. Caughey GH, Viro NF, Calónico LD, McDonald DM, Lazarus SC, Gold WM (1988) *Chymase and tryptase in dog mastocytoma cells, asynchronous expression as revealed by enzyme cytochemical staining*. J Histochem Cytochem. **36**, 1053-1060.
8. Chen W, Alley MR, Manktelow BW, Slack P (1990) *Mast cells in the bovine lower respiratory tract. morphology, density and distribution*. Br Vet J. **146**, 425-436.
9. Douch PG, Morum PE, Rabel B (1996) *Secretion of anti-parasite substances and leukotrienes from ovine gastrointestinal tissues and isolated mucosal mast cells*. Int J Parasitol, **26**, 205-211.

10. **Enerback L** (1966a) *Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. I. Effect of fixation.* Acta Pathol Microbiol Scand. **66**, 289-302.
11. **Enerback L** (1966b) *Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. II. Dy-binding and metachromatic properties.* Acta Pathol Microbiol Scand. **66**, 303-312.
12. **Engelberg H** (1977) *Probable physiologic functions of heparin.* Federation Proc, **36**, 70-72.
13. **Eren Ü, Aşti RN, Kurtkede N, Sandıkçı M, Sur E** (1999) *Inek uterusunda mast hücrelerinin histolojik ve histokimyasal özellikleri ve mast hücre heterojenitesi.* T J Vet Anim Sci, **23**, Supplement 1, 193-201.
14. **Galli SJ** (1990) *New insights into "The riddle of the mast cells": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity.* Lab Invest, **62**, 5-33.
15. **García G, Brazis P, Majo N, Ferrer L, Mora F, Puigdemont A, De Mora F** (1998) *Comparative morphofunctional study of dispersed mature canine cutaneous mast cells and BR cells, a poorly differentiated mast cell line from a dog subcutaneous mastocytoma.* Vet Immunol Immunopathol, **62**, 323-337.
16. **Gibson S, Miller HRP** (1986) *Mast cell subsets in the rat distinguished immunohistochemically by their content of serine proteinases.* Immunology, **58**, 101-104.
17. **Gordon JR, Burd PR, Galli SJ** (1990) *Mast cells as a source of multifunctional cytokines.* Immunol Today, **11**, 458-464.
18. **Guy-Grand D, Dy M, Lufau G, Vassalli P** (1984) *Gut mucosal mast cells. Origin, traffic, and differentiation.* J Exp Med, **160**, 12-28.
19. **Haziroğlu R, Milli ÜH** (1998) *Veteriner Patoloji.* 733-735. Cilt II, Tamer Matbaacılık, Ankara.
20. **Huntley JF** (1992) *Mast cells and basophils, a review of their heterogeneity and function.* J Comp Path, **107**, 349-372.
21. **Huntley JF, Gibson S, Knox D, Miller HRP** (1986) *The isolation and purification of a proteinase with chymotrypsin-like properties from ovine mucosal mast cells.* Inter J Biochem, **18**, 673-682.
22. **Huntley JF, Newlands GFJ, Miller HRP** (1984) *The isolation and characterization of globule leucocytes, their derivation from mucosal mast cells in parasitized sheep.* Parasite Immunol, **6**, 371-390.
23. **Huntley JF, Newlands GFJ, Miller HRP, Mc Lauchlan M, Rose ME, Hesketh P** (1985) *Systemic release of mucosal mast cell protease during infection with the intestinal protozoal parasite, Eimeria nieschulzi. Studies in normal and nude rats.* Parasite Immunol, **7**, 489-501.
24. **Irani AMA, Schwartz LB** (1989) *Mast cell heterogeneity.* Clin Exp Allergy, **19**, 143-155.
25. **Katz HR, Stewens RI, Austen KF** (1985) *Heterogeneity of mammalian mast cells differentiated in vivo and in vitro.* J Allergy Clin Immunol, **76**, 250-259.
26. **Kim TH, Lee CS** (1985) *Distribution of mast cells in the parenchymal organs of cattle, horses, pigs and dogs and xylazine-induced mast cell degranulation in the dog.* Korcan J Vet R, **25**, 113-124.
27. **King SJ, Miller HRP** (1984) *Anaphylactic release of mucosal mast cell protease and its relationship to gut permeability in Nippostrongylus-primed rats.* Immunology, **51**, 653-660.
28. **King SJ, Miller HRP, Woodbury RG, Newlands GFJ** (1986) *Gut mucosal mast cells in Nippostrongylus-primed rats are the major source of secreted rat mast cell protease II following systemic anaphylaxis.* Euro J Immunol, **16**, 151-155.
29. **Kitamura Y, Kanakura Y, Sonoda S, Asai H, Nakano T** (1987) *Mutual phenotypic changes between connective tissue type and mucosal mast cells.* Int Archs Allergy Appl Immun, **82**, 244-248.
30. **Koretou O** (1988) *Relationship between the staining property of mast cell granule with alcian blue-safranin o toluidine blue o, and the content of mast cell protease I in the granule of rat peritoneal mast cell.* Acta Histochem Cytochem, **21**, 25-32.
31. **Lloyd MK, Wijensundera S, Soulsby E.JL** (1991) *Intestinal changes in puppies infected with Toxocara canis.* J Comp Pathol, **105**, 93-104.
32. **Miller HRP** (1971) *Immune reactions in mucous membranes. III. The discharge of intestinal mast cells during helminth expulsion in the rat.* Lab Invest, **24**, 348-354.
33. **Miller HRP** (1984) *The protective mucosal response against gastrointestinal nematodes in ruminants and laboratory animals.* Vet Immunol Immunopathol, **6**, 167-259.
34. **Miller HRP, Jarrett WFH** (1971) *Immune reactions in mucous membranes. I. Intestinal mast cell response during helminth expulsion in the rat.* Immunology, **20**, 277-288.
35. **Miller HRP, Walshaw R** (1972) *Immune reactions in mucous membranes. IV. Histochemistry of intestinal mast cells during helminth expulsion in the rat.* Am J Pathol, **69**, 195-208.
36. **Nakano T, Sonoda T, Hayashi C, Yamatodani A, Kanayama Y, Yamamura T, Asai H, Yonezawa T, Kitamura Y, Galli SJ** (1985) *Fate of bone marrow-derived cultured mast cells after intravenous transfer into genetically mast cell-deficient W/WV mice.* J Exp Med, **162**, 1025-1043.
37. **Osborne ML, Sommerhoff CP, Nadel JA, McDonald DM** (1989) *Histochemical comparison of mast cells obtained from the airways of mongrel dogs and Basenji-greyhound dogs by bronchoalveolar lavage.* Am Rev Respir Dis, **140**, 749-755.
38. **Pesci A, Foresi A, Bertorelli G, Chetta A, Oliveri D** (1993) *Histochemical characteristics and degranulation of mast cells in epithelium and lamina propria of bronchial biopsies from asthmatic and normal subjects.* Am Rev Respir Dis, **147**, 684-689.
39. **Phillips MJ, Calonico L, Gold WM** (1982) *Morphological and pharmacological characterization of dog mastocytoma cells.* Am Rev Respir Dis, **125**, 11-63.

40. Pipkorn U, Karlsson G, Enerback L (1988) Phenotypic expression of proteoglycan in mast cells of the human nasal mucosa. *Histochem J*, **20**, 519-525.
41. Ribatti D, Contino R, Quondametteo F, Formica V, Tursi A (1992) Mast cell populations in the chick embryo lung and their response to compound 48/80 and dexamethasone. *Anat Embryol*, **186**, 241-244.
42. Ruitenberg EJ, Gustowska L, Elgersma A, Ruitenberg HM (1982) Effect of fixation on the light microscopical visualization of mast cells in the mucosa and connective tissue of the human duodenum. *Int Archs Allergy Appl Immunol*, **67**, 233-238.
43. Smith TJ, Weis JH (1996) Mucosal T cells and mast cells share common adhesion receptors. *Immunol Today*, **17**, 60-63.
44. Sommerhoff CP, Osborne ML, Gold WM, Lazarus SCJ (1989) Functional and morphologic characterization of mast cells recovered by bronchoalveolar lavage from Basenji greyhound and mongrel dogs. *Allergy Clin Immunol*, **83**, 441-449.
45. SPSS Advanced Statistics™. 7.5. (1977) SPSS Inc. Chicago.
46. Strobel S, Miller HRP, Ferguson A (1981) Human intestinal mucosal mast cell, evaluation of fixation and staining techniques. *J Clin Pathol*, **34**, 851-853.
47. Targowski S (1982) Determination of immune complexes in sera from dogs with various diseases by mastocytoma cell assay. *J Clin Microbiol*, **15**, 64-68.
48. Tas J, Brendsen RG (1977) Does heparin occur in mucosal mast cells of the rat small intestine? *J Histochem Cytochem*, **25**, 1058-1062.
49. Walls AF, Roberts JA, Godfrey RC, Church MK, Holgate ST (1990) Histochemical heterogeneity of human mast cell, disease-related differences in mast cell subsets recovered by bronchoalveolar lavage. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, **92**, 233-241.
50. Welle MM, Olivry T, Grimm S, Suter M (1999) Mast cell density and subtypes in the skin of dogs with atopic dermatitis. *J Com Pathol*, **120**, 187-197.
51. Wingren U, Enerback L (1983) 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*, **15**, 571-582.
52. Woodbury RG, Miller HRP (1982) Quantitative analysis of mucosal mast cell protease in the intestines of *Nippostrongylus*-infected rats. *Immunology*, **46**, 487-495.
53. Woodbury RG, Miller HRP, Huntley JF, Newlands GFJ, Palliser AC, Wakelin D (1984) Mucosal mast cells are functionally active during spontaneous expulsion of intestinal nematode infections in rat. *Nature*, **312**, 450-452.
54. Xu LR, Jiang P (1998) Histochemical techniques identifying mast cells in pig, cattle and sheep. *Zoological Res*, **19**, 1-10.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Ülker EREN
Adnan Menderes Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Batı Kampüsü Işıklı / AYDIN