

KRONİK ALKOL TÜKETİMİNİN SIÇANLARIN İLEUM MAST HÜCRE POPULASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Nigar VARDI*
Nureddin CENGİZ*
Ali OTLU*

* İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji- Embriyoloji AD

Yazışma adresi:
Dr. Nigar VARDI
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji- Embriyoloji AD
44069 / MALATYA

TEL: 0 422 3410048
FAX: 0 422 3410036
E- mail: nvardi@inonu.edu.tr

Bu çalışma İnönü Üniversitesi
Araştırma Fon Saymanlığı tarafından
(Proje No: 96/27) desteklenmiştir.

Kabul tarihi / Accepted date:
08.08.2000

Amaç: Bu çalışma alkolün, ince bağırsak mast hücre popülasyonu üzerine etkisinin ışık mikroskobu düzeyinde araştırılması için planlandı.

Yöntem: Deney grubu %7.2 alkol içeren modifiye sıvı diyet (MSD), kontrol grubu ise alkolsüz MSD ile yaklaşık altı ay beslendiler. Deney sonunda alınan ileumlar %10 formol ile tespit edilip, %0.5'lik Toluidin blue ve Hematoksilen Eozin ile boyandı. Kesitlerdeki mast hücreleri X40 kullanılarak sayıldı.

Bulgular: Alkolik sıçanlarda mast hücre degranülasyonu ve kriptlerdeki mitoz sayısında artış tespit edildi.

Sonuç: Alkolik sıçanlardaki mast hücre popülasyonunun, sıvı- diyet kontrollerle karşılaştırıldığında önemli derecede azalmış olduğu bulundu.

Anahtar kelimeler: Alkol, mast hücresi, ileum, sıçan.

The Effect Of Chronic Alcohol Consumption On The İleum Mast Cell Population of Rats

Aim: The present study was planned to investigate the effect of alcohol on the ileum mast cell population of rats at the light microscopic level.

Methods: The experimental group was fed with a modified liquid diet (MLD) With containing 7.2 %of ethanol during six months. Control rats were fed by isocaloric MLD without ethanol.

At the end of experimental feeding period samples were fixed in %10 formaldehyde and stained with %0.5 Toluidin blue and Haematoxylin Eosin. Mast cells in all section were counted using a magnifying of X40.

Results: In alcoholic rats mast cells degranulation and the number of the mitoses in the crypts were to be found increased.

Conclusion: This study revealed that ileum mast cell population was significantly reduced in alcohol feeding group when compared with liquid diet group.

Key words: Alcohol, mast cell, ileum, rat.

Mast hücreleri, bazik metakromatik boyalarla metakromatik boyanan sitoplazmik granülleri ile tanınır. Labrosit de denilen bu hücreler, yağ hücrelerinden sonra bağ dokusunun en iri hücreleridir.

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 sıkça maruz kalınan epitelyal yüzeylerin altında daha yoğun olarak bulunurlar¹⁻³.

Mast hücrelerinin büyüklük ve şekilleri dokudan dokuya değişir. Gevşek bağ dokuda yuvarlak, damarların çevresinde ise oval,uzunca şekilli

görülürler^{1,2}. Ortalama büyüklükleri 7-15 mikrometredir³.

Başlıca anafilaktik ve inflamatuvar reaksiyonlarda rol aldığı bilinen mast hücrelerinin son yıllarda orijini, degranülasyon mekanizması ve içerdiği enzimler hakkında yeni bilgiler edinilmiş⁴ ve değişik görüşler ortaya atılmıştır. Mast hücrelerinin fizyolojik ve patolojik durumlarda henüz tam olarak bilinmeyen pek çok fonksiyonlara da sahip olabileceği düşünülmektedir⁴.

Oral yoldan yada paranteral olarak etanol verilen deney hayvanlarında midedeki mast hücre popülasyonunun ve bağlantılı olarak histamin konsantrasyonunun önemli derecede azaldığı ortaya konulmuştur^{5,6}. Etanol, membran lipitlerini çözmek yolu ile membranların yapısını

bozarak ve reseptör değişiklikleri oluşturarak degranülasyona yol açar^{7,8}.

Bu çalışma; Wistar albino sıçanlarda etanolün ince bağırsak mast hücre popülasyonuna olan olası etkilerini araştırmak için planlandı.

MATERYAL ve METOT

Deney düzeneği ve araştırma materyali için her biri 180-250 gr ağırlığında, 24 Wistar cinsi Albino sıçan kullanıldı. Bunlar içinden seçilen rastgele 12 sıçan deney grubunu oluştururken, 12 sıçanta kontrol grubu olarak belirlendi. Denekler 22°C oda sıcaklığında ve 60±%5 nem ayarlanmış odada birbirlerini görece şekilde ayrı kafeslere yerleştirildi. Hayvanlar bir hafta süreyle standart sıçan yemiyle, deney süresince de özel hazırlanmış MSD ile beslendiler⁹. Bu diyetin içeriği; 925ml az yağlı inek sütü, 17 gr sükröz ve 5000 İÜ A vitamininden oluşmaktaydı. Alkol grubundaki deneklerin diyetine, MLD'ye ek olarak alkol (%95,6 Tekel™) eklendi. Deney ve kontrol grubundaki 12'şer sıçanta kendi aralarında üçerli olarak 2, 4, 6 aylık alkollü ve alkolsüz MLD ile besleme periyotlarına alındı.

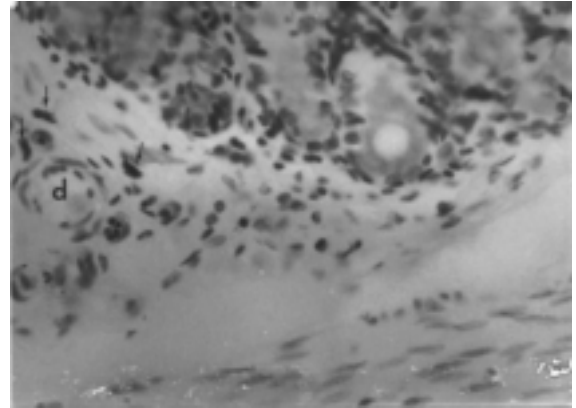
Alkol grubundaki deneklerin diyetine ilk 3 gün %2,4, sonraki 3 gün %4,8 alkol ilave edildi. Daha sonra alkol oranı %7,2'de sabitlenerek deney sonuna kadar bu konsantrasyonda beslenmeye devam edildi. Kalori miktarını sabit tutmak için alkol konsantrasyonu artırıldığı zaman, sukroz oranı düşürüldü. Hayvanlara diyet özel hazırlanmış kapaklı bilyeli bir ağızlık içeren cam şişelerde verildi. Böylece hayvanların günlük tüketimleri kontrol edildi.

Deney süresi sonunda hayvanlar servikal dislokasyonla öldürülüp, ileumlarından 0.5X1 cm² lik örnekler alındı. Bu örnekler %10'luk formol solusyonunda tespit edildi. Yıkama, dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden sonra parafin bloklara gömüldü. 5-6µ'luk kesitler alındı. Bu kesitler genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla Hematoksilen Eozin boyama yöntemi ve mast hücrelerini gözlemek amacıyla %0.5'lik Toluidin blue yöntemi ile boyandı (10). Olympus BH-II ışık mikroskopunda, X40 büyütme kullanılarak Toluidin blue ile boyanan kesitlerin tümünde mast hücreleri sayıldı ve nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testine göre değerlendirildi¹¹.

BULGULAR

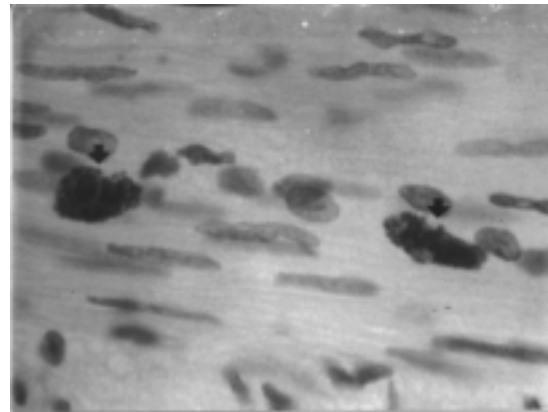
Kontrol ve alkol grubundaki sıçanların ileum kesitlerinde mast hücreleri açık mavi zeminde metakromatik özelliğinden dolayı koyu mavimor renkli boyanan granülleri ile diğer hücrelerden kolaylıkla ayırt edildi.

Hücreler her iki grupta da genellikle yuvarlak ve hafifçe oval şekilde olup, damarlara yakın yerlerde 2-4'lü gruplar tarzında yerleşim gösterdi (Resim 1).

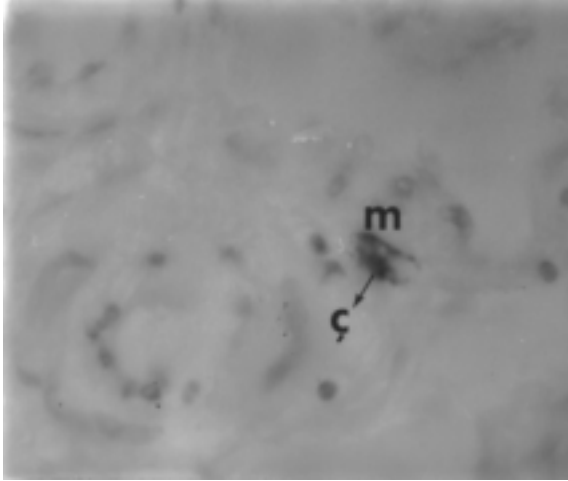


Resim 1. Kontrol grubundaki ratların ileumlarında damar etrafında mast hücreleri (oklar), d: damar. Toluidin Blue X20.

Kontrol grubunda nükleusun sınırları, çoğunlukla granüller tarafından örtüldüğü için seçilemedi (Resim 2). Ancak alkolik grupta degranüle olan mast hücrelerinde nükleusun genellikle merkezi, bazen eksentrik olarak yerleştiği gözlemlendi (Resim 3).



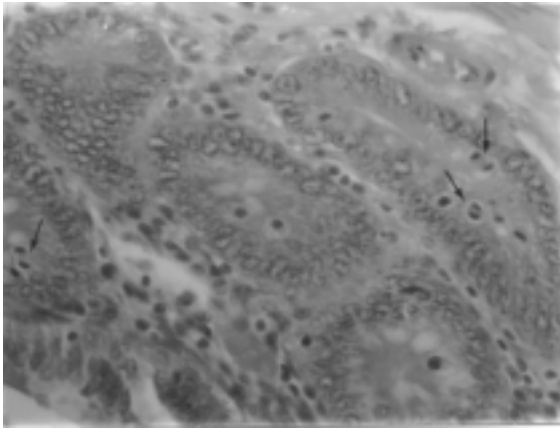
Resim 2. Kontrol grubunda sitoplazması granüllerle dolu mast hücreleri (oklar). Toluidin blue X100.



Resim 3. Alkolik ratların ileumlarında degranüle, çekirdeği ekzantrik görünen mast hücresi (m), g: çekirdek. Toluidin blue X100.

Alkolik guruptaki sıçanlarda; mast hücreleri mukozada seyrek, rağmen submukozada daha yoğun olarak izlenmekteydi. Kontrol grubunda ise mast hücreleri hem mukozada hemde submukozada alkolik guruba göre daha sık olarak izlendi.

2 ve 4 aylık alkolik sıçanlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında mitoz aktivitesinde önemli bir değişiklik gözlenmezken, 6 aylık alkolik sıçanların bez epitel hücrelerinde mitoz figürlerine daha çok rastlandı (Resim 4).



Resim 4. Alkolik ratların ileumlarında sık izlenen mitoz figürleri (oklar). Hematoksilen Eozin X20.

Alkolik sıçanların ileumlarındaki mast hücre popülasyonunun, sıvı diyet kontrollerle karşılaştırıldığında Mann-Whitney U testine göre alkolle maruz kalma süresi uzadıkça azaldığı tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. İnce barsakta deney ve kontrol gruplarındaki mast hücre dağılımı.

Gruplar	Mast hücre sayısı
2 aylık	
Deney	29.5 ± 7.8
Kontrol	52.5 ± 4.7
4 aylık	
Deney	7.0 ± 4.7
Kontrol	34.8 ± 4.4
6 aylık	
Deney	7.7 ± 3.2
Kontrol	75 ± 5.1

Mann-Whitney U testi, p < 0.05

TARTIŞMA

Mast hücrelerinin rutin histolojik kesitlerde gösterilmesi; granüllerin suda kolay erimesi nedeni zordur. Bu nedenle özel fiksasyon, gömme ve boyama yöntemleri uygulanmalıdır. Uygun yöntemlerle hazırlanmış bloklardan elde edilen kesitler, Toluidin mavisi gibi bazik boyalarla boyandığında; boya granüller tarafından tutularak rengi kırmızı-mor menekşeye dönüştürülür. Dokunun boyanın renginden farklı bir renge boyanmasına metekromazi denir¹². Biz de mast hücrelerini Toluidin mavisi metodu ile 10 dakika süreyle boyayarak gözlemledik.

Akut ve kronik alkol tüketiminin midedeki etkileri değişik deney hayvanlarında incelenmiştir^{6,8,13}. 60 gün süreyle %30 3mlt intragastrik olarak verilen etanolün, sıçanların gastrik mukozasındaki mast hücresi popülasyonunda önemli derecede azalmaya neden olduğu gösterilmiştir⁶. Biz de çalışmamızda; kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında alkolik sıçanlarda mast hücre sayısının önemli derecede azaldığını gözlemledik. Etanolün mast hücre degranülasyonunu direkt olarak hücre membran özelliklerini ve membran reseptörlerini etkileyerek yaptığı rapor edilmiştir⁸. Mukozal mast hücrelerinin 1/3'nün intraluminal etanolden 15 sn sonra, 1/2'sininde, 30 sn sonunda degranüle olduğu gösterilmiştir¹³. Kalai ve ark. mast hücrelerinden salınan vazoaaktif maddelerin alkolün neden olduğu gastrik mukozal hasardan da sorumlu olduğunu rapor etmiştir¹⁴.

Çalışmamızda, alkolik sıçanlarda bez epitel hücrelerinde mitoz figürlerinin arttığını, gözlemledik. Enrique¹⁵; 4 hafta %5 alkol verdiği sıçan-

ların ileumlarındaki mitoz aktivitesini değerlendirmiş ve her kriptadaki mitoz sayısının alkoliklerde, kontrollere göre önemli derecede arttığını göstermiştir. Kronik alkol alımının kriptlerdeki mitoz sayısını ve hücre popülasyonu arttırdığı rapor edilmiştir.

Sonuç olarak; alkolün mast hücrelerinde degranülasyona sebep olduğu, ortaya çıkan vazodilatör peptidlerin mukozada hasara yol açtığı düşünüldü. Bez epitelinde mitoz aktivitesinin artması hasara karşı gelişen bir savunma mekanizması olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Erpek S. ve Ötu A. Tavşan ağız mukozasında mast hücrelerinin dağılımı. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi. 1995; 2: 258-67.
2. Rağbetli MÇ, Özyazıcı A, Bilgiç S, Kaplan S, Çiftçi N. Mast hücrelerinin ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1990; 7: 159-70.
3. Soylu R, Kalkan SS, Duman S, Arslan A. Mast hücreleri. Optimal Tıp Dergisi. 1990; 3: 35-43.
4. Boros M, Ordogh B, Koszaki J. The role of mast cell degranulation in ischaemia-reperfusion induced mucosal injury in the small intestine. Ann Acad Med Singapore. 1999; 28: 79-84.
5. Diel F, Borck H, Hosenfeld S. Effect of somatostatin on ethanol-induced gastric erosion in the rat: role of mast cell. Agent and Actions 1986; 18: 273-5.
6. Sathiamoorthy SS, Sathiamoorthy A. Effect of alcohol-feeding on gastric mucosal mast cell population and gastric tissue histamine concentration in albino rats. Ind J Physiol Pharmac 1985; 29: 115-8.
7. Dawidowicz EA. The effect of ethanol on membranes. Hepatology 1985; 5: 697-9.
8. Gonzales RA, Crews FT. Correlation of ethanol's membrane action and inhibition of receptor-stimulated histamine release from rat mast cells. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1986; 239: 111-6.
9. Uzbay TI, Kayaalp OS. A modified liquid diet of chronic ethanol administration: Validation by ethanol withdrawal syndrome in rats. Pharmacological Research 1995; 31: 37-42.
10. Kiernan J A. Histological&Histochemical Methods: Theory& Practice. First Edition, Pergamon. 1981: 162.
11. Sümbüllüoğlu K, Sümbüllüoğlu V. Biyoistatistik. Ankara 1993; 59-67.
12. Wheather PR, Burkitt Hg, Daniels VG. Wheather Functional Histology. 4th ed. Churchill- Livingstone Edinburg, 2000; 77.
13. DindaPK, Holitzner CA, Morris PG, Beck TI. Ethanol-induced jejunal microvascular and morphological injury in relation to histamine release in rabbits. Gastroenterology 1993; 104: 361-8.
14. Kalai N, Bardhan KD. Mast cell stabilization prevents ethanol-induced rat gastric mucosal injury: mechanism of protection. J Gastroenterol Hepatol 2000; 15: 133-41.
15. Baraono E, Pirola RC, Lieber CS. Small intestinal damage and changes in cells populations produced by ethanol ingestions in the rat. Gastroenterology 1974; 66: 226-34.