

**BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN
MAST HÜCRELERİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İN VİVO ARAŞTIRILMASI**

Senem TEKELİ

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
Nisan, 2008

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Senem Tekeli' nin “ **Bazı Bitki Ekstrelerinin Mast Hücreleri Üzerine Etkilerinin İn Vivo Araştırılması** “ başlıklı **Biyoloji** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 03.04.2008 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) :	Yard. Doç. Dr. MELİH ZEYTİNOĞLU
Üye	: Yard. Doç. Dr. MEDİHA CANBEK
Üye	: Yard. Doç. Dr. A. TANSU KOPARAL

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun
..... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI BİTKİ EKSTRELERİNİN MAST HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİVO* ARAŞTIRILMASI

Senem TEKELİ

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yard. Doç. Dr. Melih ZEYTİNOĞLU
2008, 91 sayfa

Bu çalışmada, dişi-erkek Wistar albino sıçanları (*Rattus Rattus norvegicus*) deney hayvanı olarak kullanıldı. Yedi deney, yedi pozitif kontrol ve altı negatif kontrol olmak üzere üç gruba ayrıldı. Deney gruplarındaki hayvanlara intraperitonel olarak kekik uçucu yağı, pozitif kontrol grubundaki hayvanlara zeytinyağı ve negatif kontrol grubundakilere ise serum fizyolojik enjekte edildi. Kekik (*Origanum onites* L.)' in, bağ dokusu mast hücrelerini (CTMC) içeren deri ve mukozal mast hücrelerini içeren (MMC) mide fungus bölgesindeki mast hücrelerinin lokalizasyonları, morfolojileri, degranülasyonu ve mast hücre mediatörlerinin boyanması üzerine etkisi ayrıntılı olarak araştırıldı. Klasik histolojik yöntemler kullanılarak, mast hücrelerine spesifik farklı boyalarla boyanan preparatlarda, mast hücre mediatörlerinden heparin, histamin ve serotonin tespit edilmeye ve elde edilen özellikleri karşılaştırılmaya çalışılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre kekik uçucu yağı ve zeytinyağı verilen gruplardaki mast hücreleri negatif kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, sayıca arttıkları, morfolojik ve kimyasal yapılarında farklılıklar olduğu, deney gruplarının degranülize ve granülize, zeytinyağı gruplarının ise sadece granülize oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca midedeki mast hücrelerin histamin, deridekilerin ise heparin mediatörlerini salgılayarak işlevlerini yerine getirdikleri görülmektedir. Sonuç olarak, mast hücrelerinden salınan bu mediatörlerin sindirim ve bağışıklık sistemi üzerindeki olumlu etkileri göz önünde bulundurulup, daha ileri tekniklerle araştırılarak, kekiğin ilaç sanayinde hammadde olarak kullanılmasının araştırmaya açık bir konu olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Origanum onites* L., Mast Hücresi, Deri, Mide, Mast Hücre Mediatörleri

ABSTRACT

Master of Science Thesis

***IN VIVO* INVESTIGATIONS OF SOME PLANT EXTRACT EFFECTS ON MAST CELLS**

Senem TEKELİ

Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Melih ZEYTİNOĞLU
2008, 91 pages

In this study, 20 female and male Wistar rats (*Rattus rattus norvegicus*) were used. Animals were divided into three groups: seven of them is experiment, seven of them is positive control and six of them is negative control animal. Experiment groups of rats have been injected the oregano (*Origanum onites* L.) volatile oils, positive groups of rats have been injected the olive oil and negative groups of rats have been injected the serum physiological intraperitoneally. In this study we particularly investigated the effect of oregano on locations, morphology, degranulation of mast cells in skin containing connective tissue-type mast cells (CTMC) and mucosal-type mast cells (MMC) on stomach fungal section, and at the same time on staining of mast cell mediators. From mast cell mediators have been studied to determine heparine, histamin and seratonin on mast cells staining via specific stains using conventional histological methods, and obtaining findings have been compared with each other.

In respect of obtaining findings, mast cells in groups injected oregano volatile oil and only olive oil have been determined to increase as numerically and to be localize in connective tissue in comparison with negative control groups. Also, mast cells have shown morphological and chemical differences; experiment groups have degranulised and granulised, positive control groups have only granulised . Furthermore, we determine that mast cells in stomach fungus perform their function secreting histamine and mast cells in skin secreting heparin. Finally, we think that oregano could use in medicine industry as raw material using advanced techniques in further studies taking into consideration that mediators secrete from mast cells effect positively on digestive and immune systems.

Keywords: *Origanum onites* L., Mast Cell, Skin, Stomach, Mast Cell Mediators

TEŞEKKÜRLER

Çalışmalarım boyunca ihtiyaç duyduğum her anda manevi desteğini ve bilimsel tecrübesini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Melih ZEYTİNOĞLU' na,

Çalışmalarımda beni destekleyen değerli hocalarım Sayın Yard. Doç. Dr. Mediha CANBEK' e, Arş. Gör. Hakan ŞENTÜRK' e, Arş. Gör. Dr. Gökhan BAYRAMOĞLU'na Arş. Gör. Dr. Mustafa UYANOĞLU' na, Arş. Gör. Muharrem KARAKAYA' ya,

Deneysel çalışmalarımda bana her konuda destek olan değerli arkadaşlarım Ayşe Üye' ye, Evren AYGÜN' e, Özgül ÖZALP' e ve Okan Can ARSLAN' a,

Hayatımın en zor dönemlerinde olduğu gibi tezimin oluşması sırasında da maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen babam Mesut TEKELİ' ye, annem Vicdan TEKELİ' ye, amcam Dr. Ali TEKELİ' ye, ablam Şebnem ÖZDEMİR ve eniştem Uğur ÖZDEMİR' e en içten sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Senem TEKELİ

Nisan, 2008

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜRLER	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. <i>Origanum onites</i>	6
2.2. Karvakrol.....	7
2.3. Mast Hücreleri.....	10
2.3.1. Mast hücrelerinin tarihçesi.....	10
2.3.2. Mast hücrelerinin orijini ve farklılaşması.....	11
2.3.3. Mast hücrelerinin morfolojisi.....	13
2.3.4. Mast hücrelerinin heterojenitesi ve boyanma özellikleri.....	16
2.3.5. Mast hücrelerinin mediatörleri.....	20
2.3.5.1. Önceden şekillenmiş mast hücre mediatörleri.....	20
2.3.5.2. Yeni şekillenen mast hücre mediatörleri.....	23
2.3.5.3. Mast hücre sitokinleri.....	24
2.3.6. Mast hücrelerinin aktivasyonu ve degranülasyonu.....	25
2.3.7. Mast hücrelerinin fonksiyonları.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Deney hayvanları.....	29
3.1.2. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler.....	29
3.1.2.1. Fiksatorler.....	29
3.1.2.2. Boyalar.....	30
3.1.3. Karvakrolun hazırlanması.....	32
3.2. Yöntem.....	33

3.2.1. Deney süreci.....	33
3.2.2. Diseksiyon.....	33
3.2.3. Fiksasyon.....	33
3.2.4. Dehidratasyon (Dokudaki suyun alınması).....	34
3.2.5. Saydamlaştırma.....	34
3.2.6. Parafinizasyon (parafine gömme) ve bloklama.....	34
3.2.7. Kesit alma.....	35
3.2.8. Boyama prosedürleri.....	35
3.2.8.1. Hemotoksin-Eosin boyama.....	35
3.2.8.2. Methilen mavisi ile boyama.....	36
3.2.8.3. Toluidine mavisi ile boyama.....	36
3.2.8.4. Alcian mavisi ile boyama.....	37
3.2.8.5. MayGrunwald-Giemsas ile boyama.....	37
3.2.8.6. Modifiye giemsa ile boyama.....	38
3.2.9. Mikroskopi.....	38
3.2.10. Fotoğrafi.....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Mide fundus ve deri kesitlerine ait hematoksin-eosin boyama bulguları.....	40
4.2. Mide fundus ve deri kesitlerine ait maygrunwald-giemsas boyama bulguları.....	43
4.3. Mide fundus ve deri kesitlerine ait toluidine mavisi boyama bulguları.....	47
4.4. Mide fundus ve deri kesitlerine ait metilen mavisi boyama bulguları.....	51
4.5. Mide fundus ve deri kesitlerine ait alcian mavisi boyama bulguları.....	55
4.6. Mide fundus ve deri kesitlerine ait modifiye edilmiş giemsa boyama bulguları.....	59
4.7. Deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait mide fundus ve deri kesitlerinde mast hücre sayısının karşılaştırılmasına ait bulgular.....	63

4.8. Deney gruplarına ait mide fundus ve deri kesitlerinde mast hücre heparin ve histamin mediatörlerinin karşılaştırılmasına ait bulgular.....	65
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	70
KAYNAKLAR.....	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1. Mast hücresi ve granülleri (EM görüntüsü).....	14
2.2. Mast hücresi ve granülleri (EM görüntüsü).....	14
4.1.a. Deney grubu mide fundus ve deride hematoksilin-eosin ile boyanmış kesitler.....	40
4.1.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride hematoksilin-eosin ile boyanmış kesitler.....	41
4.1.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride hematoksilin-eosin ile boyanmış kesitler.....	42
4.2.a. Deney grubu mide fundus ve deride maygrunwald-giemsas ile boyanmış kesitler.....	44
4.2.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride maygrunwald-giemsas ile boyanmış kesitler.....	45
4.2.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride maygrunwald-giemsas ile boyanmış kesitler.....	46
4.3.a. Deney grubu mide fundus ve deride toluidine mavisi ile boyanmış kesitler.....	48
4.3.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride toluidine mavisi ile boyanmış kesitler.....	49
4.3.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride toluidine mavisi ile boyanmış kesitler.....	50
4.4.a. Deney grubu mide fundus ve deride methilen mavisi ile boyanmış kesitler.....	52
4.4.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride methilen mavisi ile boyanmış kesitler.....	53
4.4.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride methilen mavisi ile boyanmış kesitler.....	54
4.5.a. Deney grubu mide fundus ve deride alcian mavisi ile boyanmış kesitler.....	56

4.5.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride alcian mavisi ile boyanmış kesitler.....	57
4.5.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride alcian mavisi ile boyanmış kesitler.....	58
4.6.a. Deney grubu mide fundus ve deride modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış kesitler.....	60
4.6.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış kesitler.....	61
4.6.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış kesitler.....	62
4.7. Deri ve mide fundus kesitlerinde deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarında mast hücre sayılarının karşılaştırılması.....	64
4.8. Deri ve mide fundus kesitlerine ait deney gruplarında heparin ve histamin mediatörlerinin karşılaştırılması.....	66
4.9. Deri ve mide fundus kesitlerinde farklı boyalara ait deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarında mast hücre aktivitesi karşılaştırılması.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. (a) Karvakrol, Timol, Orto, (b) Meta-Krezol moleküllerinin şekli.....	4
2.1. Kullanım ve yerel isimler.....	7
2.2. Mukozal ve Bağ Doku Mast hücreleri.....	19
4.1. MMC ve CTMC mediatörlerinin boyanma bulguları.....	69

1.GİRİŞ

İlk olarak 1876 yılında Paul Ehrlich tarafından keşfedilen mast hücreleri; tüm organların bağ dokusu içinde, başta deri, solunum ve sindirim sistemi mukozası ve submukozası olmak üzere, miyokardın intersitisyumu, vücut boşluklarını saran seröz membranlar, timus ve kemik iliği gibi lenfoid dokular ve birçok organın kapsülünde bulunurlar (Bancroft ve Stevens 1990a; Beil ve ark. 2000).

Mast hücreleri yerleşimlerine göre yuvarlak, oval veya mekik şeklinde, ortalama 15-30 µm büyüklüğünde olan, sitoplazması metakromatik granüllerle dolu, küçük çekirdekli iri hücrelerdir (Bancroft ve Stevens 1990a; Penissi ve ark. 2003; Junquera ve ark. 1993).

Mast hücreleri, hematoksilin-eosin ile boyanmış kesitlerde spesifik olarak tanımlanamazlar. Sitoplazmik granüller Romanowsky boyası için yüksek afiniteye sahiptir ve geleneksel Romanowsky (Wright, Giemsa veya Leishman gibi) boya mast hücrelerinin görünmesini için en ideal boyalardır (Dahm ve Latimer 2001; Tharp 2003; Junquera ve ark. 1993). Ancak Toluidine blue, Azur A, Bismarck Brown ve Thionin gibi metakromatik boya ve Alcian blue gibi granül spesifik boya da boyanırlar (Bancroft ve Stevens 1990a; Tharp 2003; Penissi ve ark. 2003; Bancroft ve Stevens 1990b; Morgan ve ark. 1991).

Mast hücrelerinin kökeni hakkında çok çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Kemik iliğindeki CD34(+) multipotent progenitor hücrelerden köken aldığı ve kanda prekürsör hücreler olarak dolaştıkları bildirilmektedir (Harem Koçak 2005).

Günümüz bilgilerine göre, mast hücreleri buldukları yere ve boyanma özelliklerine göre iki gruba ayrılırlar. Bunlar Mukozal tip; Mukozal mast hücreleri (MMC) ve Konnektif doku tipi; Bağ dokusu mast hücreleridir (CTMC). MMC, sindirim ve solunum sistemi mukozalarında; CTMC de tüm bağ dokusu içinde, gevşek bağ dokusu ve deride bulunur (Melman 1987; Marshall ve Bienenstock 1990; Padilla ve ark. 1990; Gleich 1989).

Mast hücreleri salgıladıkları biyolojik mediatörlerin sistemik etkilerini kullanmaktadırlar. Bu mediatörlerden birçoğu sitoplazmik granüllerin içinde

(önceden şekillenmiş mediatörler) depo edilmekte, diğerleri (yeni şekillenmiş mediatörler) ise mast hücreleri uyarıldığında üretilmektedir. Bu aktivasyondan sonra mast hücreleri hızlı bir şekilde granül ilişkili mediatörlerini salarlar (Tharp 2003; Penissi ve ark. 2003; Slomin ve Boone 2004; Church ve ark. 2003; Epstein ve Yanni 2005; McGill 2000).

Çevreden gelen immünolojik uyarılara karşı vücudun ilk savunma hattını oluşturan her bir mast hücrenin dış yüzeyinde IgE kuyruk kısmına özgü, 100.000-500.000 adet yoğun glikoprotein reseptörü bulunmaktadır. Bir allerjen madde ile karşılaştıklarında, gerek IgE molekülleri gerekse onların reseptörleri agregasyona uğrar ve histamin granüllerinin salınmasını başlatan biyokimyasal olay zincirini tetiklerler. Antijenin mast hücre yüzeyindeki IgE' lere bağlanması ile mast hücresinde çok sayıda reaksiyon başlar ve mast hücresinde degranülasyon gerçekleşir. Mast hücreleri immünolojik ve immünolojik olmayan bir etkenle uyarıldıklarında histamin, heparin, serotonin, proteazlar, lipid türevleri ve çok sayıda sitokin ve kimokinler gibi biyolojik olarak aktif moleküller sentezleyebilirler (Zeytinoğlu ve ark. 2003).

Mast hücreleri sayısı pek çok fibrotik durumlarda arttığı için, fibroziste önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (Stevens ve Austen 1989). Günümüzde mast hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar ile, iltihabi barsak hastalıklarının yanı sıra, normal bağırsak fonksiyonlarının sürdürülmesinde ve immünite üzerinde potansiyel rolleri gittikçe daha iyi anlaşılmaktadır (Marshall ve Bienenstock 1990).

Yapılan araştırmalar sonucunda mast hücrelerinin rol aldıkları bildirilen patolojik ve fizyolojik prosesler şöyle sıralanabilir: Alerjik hastalıklar, iltihabi prosesler, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, kallus gelişimi, osteoporoz, romatizmal hastalıklar, periferik nöropati, nöromlar, hipertansiyon, hipoksi, intersitisiyal akciğer hastalıkları, deride ürtikerta pigmentoza, skleroderma, immünite, koroner spazmlar, pek çok tümörler, gebelik ve doğum (Marshall ve Bienenstock 1990; Padilla ve ark. 1990; Stevens ve Austen 1989; Vural ve Ark. 1991).

Ülkemizde kekik adıyla bilinen bitkilerin genellikle *Thymus* türlerine ait bitkiler olduğu kayda geçmiş olmakla birlikte, halk arasında kekik olarak

kullanılan bitkilerin daha çok *Origanum* türlerine ait oldukları bilinmektedir. Bu türlerin yanı sıra *Thymbra*, *Satureja*, *Coridothymus* cinslerine ait türlerde halk arasında kekik olarak kullanılmaktadır. Bu bitkilerin ortak özellikleri timol ve karvakrol gibi karakteristik tat ve koku veren uçucu bileşenlere sahip olmalarıdır (Baytop 1999; Aydın ve ark. 1996).

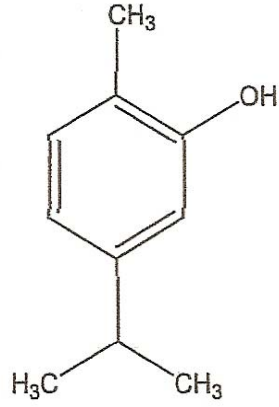
Oregano veya *thyme* yiyeceklerde tatlandırıcı, aroma veya koruma amacıyla eskilerden beri Yunan, Mısır ve Roma' da halk hekimliğinde kullanılmaktadır. *Lamiacea* familyasına ait *thyme* bitkisinin yapraklı kısımları yıllardır yiyecek ürünlerine katılarak tüketilmektedir. Türkiye, *Lamiacea* familyasının merkezi konumunda bulunmaktadır ve 19' u endemik olan toplam 39 türü Türkiye' de yetişmektedir (Aydın ve ark. 2005; Baser 1994; Baser 1993).

Kekik olarak bilinen bitkilerin kurutulmuş toprak üst kısımlarının su buharı ile damıtılması sonucu elde edilen uçucu yağ, kekiğin kendine has kokusunu taşır ve yakıcı tattadır. Elde edilen bu uçucu yağ, karvakrol ve timol gibi monoterpenlerce zengindir ve ana bileşen genellikle karvakroldür (Aydın ve Beis 2005).

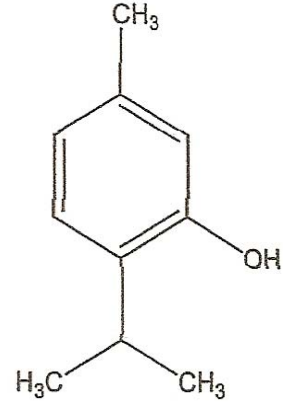
Terpenler, büyük ve çok önemli bir bileşik lipid grubudur. İzopren denilen ve çok sayıda tekrarlanan birimlerden oluşurlar. İzopren monomerleri beş karbonlu halkalardır. Monoterpenler en basit terpen yapısı olup, iki izopren (=2 metil buta-1,3 dien) molekülünün kafa-kuyruk şeklinde birleşmesinden meydana gelirler (Karol ve ark. 2000).

Çeşitli bitki özlerindeki yağlardan elde edilen esansiyel yağlar ve monoterpenler önemli uçucu yağların komponentleri olup lipofilik bileşiklerdir. Monoterpenler ve hoş bir koku ve tada sahiptir. Kolaylıkla hücre membranından geçerler ve bu nedenle düşük konsantrasyonda çeşitli ilaçların içinde de kullanılmaktadırlar (Mühlbauer ve ark. 2003; Vadi ve ark. 2002; Kunta ve ark. 1997; Godvin ve Michniak 1999).

Thyme bitkisinin başlıca komponentleri olan timol ve karvakrol doğada çok nadir olarak bulunurlar (Merck 1996). Timol yapısal olarak karvakrole çok benzer ancak, fenolik halkada hidroksil grubu farklı bir yerde bulunur (Burt 2004).

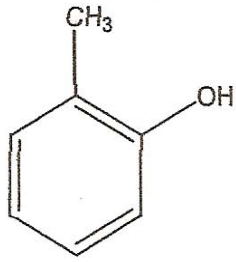


Karvakrol
C₁₀H₁₄O

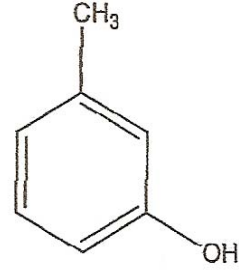


Timol
C₁₀H₁₄O

(a)



orto-krezol
C₇H₈O



meta-krezol
C₇H₈O

(b)

Şekil 1.1. (a) Karvakrol, Timol, Orto, (b) Meta-Krezol moleküllerinin şekli (Arı 2005).

Yapılan bilimsel çalışmalarda içeriğinde timol ve karvakrol bulunduran kekiğin, şap hastalığına karşı etkili olduğu, uyarıcı, analjezik (Demirhan 1974), antiparazitik, antihelmintik (Başer ve ark. 1986), diüretik (Sotti ve ark. 1989), antiviral (Teuscher 1990), antibakteriyal (Kıvanç ve Akgül 1986; Dortunç ve Çevikbaş 1992; Dortunç 1990), antifungal (Caccioni 1992) etkiye ve antidot (Garland 1979) olma özelliğine sahip olduğu kanıtlanmıştır.

Bizim yaptığımız bu çalışmadaki amacımız ise, kekik uçucu yağının, deri ve mide mast hücrelerinin degranülasyon- granülasyon aktivitesine, mast hücrelerinin lokalizasyonuna, niceliksel özelliklerine, morfolojik- kimyasal yapı değişimlerine ve mast hücre mediatörlerinin boyanmasına etkisini ayrıntılı olarak araştırmaktır. Mediatörlere spesifik farklı boyalar kullanarak, mast hücre mediatörlerinden heparin, histamin ve serotonin tespit edilmeye yönelik, Toluidine Blue ve MayGrunwald-Giemsa boyaları histamini; Methilen Blue boyası heparini; Modifiye edilmiş Giemsa boyası serotoninini; Alcian Blue boyası ise hem heparin hem de histamini gösterebilmek için kullanılmışlardır. Ayrıca deney hayvanlarından alınan mide ve deri numunelerindeki, mukozal ve bağ doku mast hücreleri, morfolojik, boyanma ve lokalizasyon özellikleri yönünden, karşılaştırılmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Origanum onites*

Halk arasında “kekik” olarak bilinen *Origanum onites* L., etnomedikal kullanımı olan *Labiatae* üyesi bir bitkidir (Aydın ve ark., 1993). *Origanum onites* doğal floramızın bir ürünü olmasının yanı sıra kültür bitkisi olarak yetiştirilen ve Türkiye’ de ticareti yapılan beş tür arasında en çok ihracatı gerçekleştirilen çok önemli bir bitki türüdür (Özhatay ve ark. 1997).

Türkiye’ de 23 tür, 32 taksonu bulunan *Origanum* cinsi; dünyada 41 tür, 52 taksonla temsil edilir. Ticari öneme sahip olan *Origanum* türleri, büyük miktarlarda ihraç edilen bitkiler olup, (2000 yılı dış ticaret istatistiklerine göre) doğadan toplanarak ihraç edilen kekik miktarı yaklaşık 7000 tondur (Davis 1982, Başer 2000). Avrupa’ da bilinen adı “Turkish Oregano” olan *origanum onites* ile yapılan çalışmalarda uçucu yağ içindeki belli başlı bileşenler; karvakrol (%65,91), linalool (%14,84), timol (%3,64), p-simen (%3,24) ve α -terpinen (%2,08) oranlarında bulunmuştur. Bitki uçucu yağı içindeki kimyasal maddeler gruplarına göre; oksijenli monoterenler (%25,23), monoterenler (%23,53), seskiterpenler (%17,65), alifatik alkoller (%8,82) ve oksijenli seskiterpenler (%1,47) bulunmaktadır. Ayrıca eser miktarda alkan, eter, ester ve ketonlar bulunmuştur (Erdemgil 1992; Baytop 1991; Ögütveren ve ark. 1992; Oflaz ve ark. 2004).

Tablo 2.1- Kullanım ve yerel isimler (Oflaz ve ark. 2004).

Bitki adı	Yerel isimleri	Kullanılan kısımları, kullanım şekli	Kullanım
<i>O. Onites</i>	İzmir kekiği Bilyalı kekik Taş kekiği Güve kekiği Peynir kekiği	Herba-İnfüzyon	Soğuk algınlıkları Karın ağrısı
		Uçucu Yağ	Analjezik Antioksidan Antifungal
		Yaprak-İnfüzyon, gargara	Diş nevraljisi Baş ağrısı
		Aromatik Su-dahilen, gargara	Mide ağrıları Diş ağrıları

2.2. Karvakrol

Karvakrol ($C_{10}H_{14}O_2$, molekül ağırlığı 150,21), 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol, 5-izopropil-(2-metilfenol), 2-metil-5-izopropilfenol, 2-hidroksi-4-izopropil-1-metilbenzen, p-menta-1, 3,5-trien-2-ol, 2-hidroksi-p-simen, simofenol, p-simen-2-ol, 5-izopropil-o-krezol ve izotimol gibi çeşitli şekillerde formüle edilip isimlendirilmiştir (Buckingham ve ark. 1994; Vincenzi ve ark. 2004). Karvakrol, doğada özellikle *Labiatae* familyasına ait *Thymus*, *Thymbra*, *Coridothymus*, *Origanum* ve *Satureja* gibi çeşitli bitkilerin uçucu yağlarında bulunan fenolik bir oksijenli monoterpendir (Baytop 1999; Vincenzi ve ark. 2004).

Analjezik etkili bileşiklerin içinde karvakrolun ana bileşen olarak bulunduğu *Labiatae* familyasına ait *origanum onites* bitkisinde analjezik aktivite olduğu, bitkisel materyal içindeki karvakrol yüzdesi yükseldikçe analjezik etkide artış görüldüğü dolayısıyla karvakrolun *origanum onites* uçucu yağının analjezik etkisinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Aydm ve ark. 1993).

Karvakrolun birçok patojen mikroorganizmaların büyümesini engellediği bakteri ve funguslar üzerinde toksik (Sokovic ve ark. 2002; Fan ve Chen 2001; Chami ve ark. 2004) ve insektisidal etkili olduğu bilinmektedir (Chami ve ark. 2004; Isman ve ark. 2001; Ultee ve ark. 2002; Conner 1993; Juven 1994; Kıvanç ve Akgül 1988; Lagouri ve ark. 1993). Bu etkiler arasından özellikle karvakrolun antifungal etkilerinin çok güçlü olduğuna ilişkin veriler dikkati çekmekte ve gerek fungal hastalıklarda terapötik olarak, gerekse besin maddelerinin küflenmeden korunmasında karvakrolun kullanım alanı bulabileceği düşünülmelidir (Tampieri ve ark. 2005). Günümüzde bitkilerden elde edilen ve yiyeceklerin bozulmasını önleyen antimikrobiyal bileşiklerin kullanılmasında, doğal bir antimikrobiyal bileşik olan karvakrol örnek verilebilir (Ultee ve ark. 2002; Arrebola ve ark. 1994; Lagouri 1993).

Karvakrolun timol ile birlikte eşit dozlarda olmak üzere antihelmintik özellik gösterdiği bulunmuştur (Livingston 1921). Kobaylarda *in vitro* olarak trakea ve ileum üzerinde timol ve karvakrolun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada timol ve karvakrolun trakeanın gevşeme özellikleri gösterdiği de tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada ileum kasılmalarının da asetilkolin cevaplarına benzer yanıt verdiği ileri sürülmüştür (Van den Broucke ve Lemli 1981).

Karvakrol de dahil olmak üzere çeşitli monoterpenler ile yapılan *in vitro* deneylerde özellikle 10^{-4} ve 10^{-2} M aralığında uygulanan dozlarda asetilkolin esteraz inhibisyonu yaparak spazmodik etki gösterdikleri saptanmıştır (Gracza 1985). Sıçanlarda yapılan izole sıçan bağırsak deneylerinde karvakrol ve timolün antispazmodik etkileri olduğu gözlenmiştir (Izumi ve Yoshiko 1962). Öte yandan karvakrolun düz kaslar üzerinde gevşetici etkileri olduğu (Van den Broucke ve Lemli 1980), kobay trakeasında güçlü gevşeme yaptığı ve bu gevşetici etkinin mekanizması arasında beta-adrenerjik, histaminerjik (H1) muskarinik reseptörlerin rolü bulunmadığı bildirilmiştir (Boskabady ve Jandaghi 2003).

Karvakrol lipofilik bir bileşiktir ve bu özelliği nedeniyle karvakrolun stratum korneum tabakasındaki lipitlere etki ederek derinin geçirgenlik katsayısını yükselttiği gösterilmiştir (Vaddi ve ark. 2002). Üst solunum yolları hastalıklarının tedavisinde kullanılan nasal sprelerde karvakrolun %4, timolün ise %6 oranında yer aldıkları bildirilmiştir (Tibori 1979).

Karvakrol üzerinde bulunan bir adet hidroksil molekülünün karvakrolun gözlenen etkilerinden sorumlu olduğu (Ultee ve ark. 2002), izotimol adıyla da bilinen karvakrolun timol ile antagonistik etkilerinin gözlemlendiği bildirilmiştir (Karpouhtsis ve ark. 1998).

Karvakrolun timolden daha toksik olduğu ileri sürülmüştür. İnsan ve köpek ventriküler kardiyomiyositlerinde Ca^{+2} akımı üzerinde karvakrolun insan ve köpek kalbinde L-tip Ca^{+2} kanallarını inaktive ettiği bildirilmiştir (Magyar ve ark. 2002). Öte yandan karvakrol ve eugenolün doza bağlı olarak Jurkat T hücreleri ve THP-1 hücrelerinde, intrasellüler Ca^{+2} mobilizasyonunu ve mitojenle aktive edilen protein kinazları stimüle ettiği belirtilmiştir (Chan ve ark. 2005).

Karvakrolun bu farmakolojik etkilerinin yanı sıra, sitotoksik ve genotoksik etkili olduğu, bu toksik etkisinin apoptosisin özelliklerinden birisi olan nükleer fragmantasyon şeklinde olduğu bildirilmiştir (Stammattia ve ark. 1999).

Karvakrolun *in vivo* olarak akciğer tümörlerinde etkili olduğu (Zeytinoğlu ve ark. 1998), *in vitro* koşullarda N-Ras onkogen mutasyonuna bağlı olarak kanserleştirilen hücrelerde inhibitör etkili ve miyoblast hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiş, dolayısıyla kanser tedavisinde kullanılabileceği öne sürülmüştür. Karvakrolun genotoksik etkisi bulunduğu, DNA sentezini *in vitro* koşullarda engellediğine ilişkin bilgiler bulunmaktadır (Zeytinoğlu ve ark. 2003).

Karvakrolun akut, subakut ve kronik toksik etkileri ile tetrajonik etkilerine ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır. Karvakrol mutajenik çalışmalarda zayıf bir aktivite göstermiştir. Metabolizmik çalışmalarda ise karvakrol 24 saat sonra büyük miktarda, ürün ile dışarı atılmış, tekrar dönüşmüş veya glukoronik ve sülfat bileşikleri olarak görülmüştür (Vincenzi ve ark. 2004).

Karvakrolun protoglandin sentez inhibisyonu yaptığı (Wagner ve ark. 1986), inhibitör etkili olduğu (Lorante ve ark. 1989) ve mast hücrelerinin histamin salıvermesi üzerinde inhibitör etkili olduğu bildirilmiştir (Aydın ve ark. 1997).

2.3. Mast Hücreleri

2.3.1. Mast hücrelerinin tarihçesi

Mast hücreleri, genellikle metakromazi gösteren intrasitoplazmik granüllere sahip bağ doku hücreleridir. Mast hücreleri bağ dokusu içinde özellikle kan damarları ile ilişkili olarak küçük gruplar halinde bulunurlar (Dvorak ve ark. 1992; Lee ve ark. 1985). Farklı yerleşim gösteren mast hücreleri farklı histokimyasal, sitokimyasal, ultrastruktural ve fonksiyonel özelliklere de sahiptirler (Befus ve ark. 1986; Leeson ve ark. 1988).

Mast hücreleri hakkında ilk yapılan çalışmalar 1863 yılında Von Recklinghausen tarafından başlatılmıştır. Araştırmacı granüler olan bu hücelere kurbağa peritonunda rastlamıştır ve bu çalışma mast hücrelerinin hemen hemen ilk gözlemidir (Melman 1987). Mast hücrelerinin sahip olduğu büyük granüller nedeniyle Paul Ehrlich bu hücrelerinin yakınında bulunduğu doku hücrelerini besleyip, desteklediği kanısına varmıştır. Bu yanlış kanısından yola çıkarak 1878’ de Paul Ehrlich bu granüler hücelere mastzellen “iyi beslenmiş hücre” adını vermiştir. Bugün mast hücrelerinin bağışıklık sisteminin bir parçası olduğu bilinmektedir (Prussin ve Metcalfe 2003).

Jorpes ve arkadaşları 1936’ da, Holmgren ve Wilander 1937’ de mast hücrelerinin heparin içerdiklerini bildirmişlerdir Mast hücrelerinin histamin kaynağı olduğunu ilk defa 1942’ de Cazel ileri sürmüştür. Benditt ve arkadaşları 1955 yılında ilk defa rat mast hücrelerinin serotonin içerdiklerini tespit etmişlerdir (Takeuchi ve ark. 1990).

Mast hücreleri ile doku histamini arasında kuvvetli bir ilişkinin olduğu 1953 yılında ortaya konulmuştur. Buna göre mast hücre sayısı ve histamin seviyesinin fetal dönemde ve çok genç hayvanlarda yüksek olduğu bildirilmiştir (Şeftalioğlu 1996).

Mast hücreleri *in vitro* ortamda periferik kan, kemik iliği, karaciğer ve göbek kordonundan elde edilen mononükleer hücelerden üretilebilmiştir (Kambe ve ark. 2001).

2.3.2. Mast hücrelerinin orijini ve farklılaşması

Mast hücreleri yüksek afiniteli IgE reseptörleri taşıyan bazofiller ile içerik ve aktivasyon mekanizmalarının yakınlığı nedeniyle birlikte düşünülmüş ve birbirlerine benzetilmişlerdir. Önceleri sadece bir bazofil türü veya eşdeğeri olarak düşünülmüş olan mast hücreleri, son yıllarda ayrı bir hücre olarak ele alınmakta ve her geçen gün yeni fonksiyonları belirlenmektedir (Özdemir ve Savaşan 2005). Memeli mast hücreleri ve bazofillerin birçok sitokimyasal ve fonksiyonel özellikleri benzer olmasına karşın kesinlikle birbirlerinin aynı değildir (Karaca ve Yörük 2005).

Mast hücreleri kemik iliğindeki multipotent CD34+ öncül hücrelerden köken alırlar ve periferal dokularda differensiyasyonunu tamamlarlar. Güçlü inflamatuvar mediatörleri içeren mast hücreleri doku mononükleer hücreleridir. Normal durumda olgun mast hücreleri periferal dolaşımda bulunmaz. Olgunlaşmamış mast hücreleri dokulara göçten sonra tipik granüllerle dolanırlar (Karaca ve Yörük 2005; Tharp 2003; Slomin ve Boone 2004).

Nötrofil ve eozinofillere benzer olarak bazofillerde differensiyasyonunu kemik iliğinde yapmakta (Galli 1990) ve olgunlaşmasını kan dokusunda tamamlamaktadırlar. Fakat bazofillerin aksine mast hücreleri normal bağ dokularda yaygın olarak bulunmaktadırlar (Befus ve ark. 1986; Befus ve ark. 1985; Galli 1990; Ribatti ve ark. 1992).

Mast hücreleri diğer lökositler gibi pluripotent hematopoietik kök hücrelerinden kaynaklanır ve hedef dokuya ulaşmadan olgunlaşmazlar. Diğer bir deyişle dolaşımda adanmış öncül hücreler olarak bulunurlar. İnsanda periferik kan dolaşımında bulunan mast hücre öncülleri CD34+, c-kit⁺, FcεRI⁺ fenotipik özelliklerine sahiptir. Bu öncül hücreler yerleştikleri doku tipi ve ortam şartlarından etkilenerek özgün bir fenotipe ulaşır, olgunlaşmasını tamamlarlar (Gurish ve Austen 2001).

Mast hücrelerinin orijini hakkında çok çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Bir çok çalışmada mast hücre öncüllerinin kaynağı olarak lenfoid dokunun önemli olduğunu düşünülürken (Kitamura ve ark. 1978; Miller ve Jarret 1971), Fujita 1977' de sinir hücrelerinin çevresindeki mast hücrelerinin ektodermal kökenli olduğunu ileri sürmüştür. Elde edilen sonuçlar bağ dokusu mast hücrelerinin

orijin olarak nöral kristadan daha ziyade mezodermal kökenli olduğunu göstermiştir (Andrew ve Rawdon 1987).

Mast hücrelerinin özellikleri fonksiyonel, morfolojik ve biyokimyasal açıdan buldukları çevreye göre değişmektedir. Örneğin; fare periton kavitesindeki prekürsörlerden elde edilen mast hücre grupları, eğer farenin derisi içine enjekte edilirse bağ dokusu mast hücrelerinin özelliklerini, karın içine enjekte edilirse mukozal mast hücre özelliklerini gösterirler (Tharp ve ark. 1987).

Bu verilerden mast hücrelerinin ortak öncüllerden geliştiği, gelişiminin farklı safhalarının olduğu ve hücrenin içinde bulunduğu çevrenin de farklılaşmayı etkilediği belirtilmektedir (Tharp ve ark. 1987).

Kemik iliğinden farklılaşan ve matür mast hücresinin bir çok özelliğini taşıyan prekürsör hücreler ait oldukları doku içine göç ederler. Mikro çevre ve uygun koşulların altında bu prekürsör hücreler mutasyona uğrarlar ve heparin gibi sülfatlı proteoglikanlar kapsayan salgı granüllerine sahip olurlar. Bu mutasyonla ilgili faktörler genelde hemopoetik büyüme faktörü olup, interlökin-3' ü kapsarlar (Tekelioğlu 2002; Theoharides 1990; Wasserman 1990).

Mast hücrelerinin gelişim ve farklılaşmalarında sitokinler ve başka faktörler karmaşık bir ağ içinde etki yaparlar. Büyüme faktörlerinin en önemlisi kök hücre faktörüdür. Bu faktör mast hücre büyüme faktörü veya KİT ligandı olarak da adlandırılır. Kök hücre faktörü, mast hücrelerinin CD34 pozitif öncüllerinden gelişmesini sağlar (Mitsui ve ark. 1990).

Kök hücre faktörünün mast hücre ve mast hücre progenitörleri üzerindeki etkileri c-kit protoontogeni tarafından kodlanan SCF (Stem cell factor) için tirozin kinaz yapısında bir reseptör olan kit aracılığı ile oluşur. Farklılaşmamış mast hücre progenitörleri CD34, CD13 ve c-kit eksprese ederler. Olgunlaşma esnasında CD4+ ile birlikte başka bazı reseptörleri kaybederler, ancak c-kit eksprese etmeye devam ederler (Galli ve ark. 1993).

Ratlar ve sıçanlar üzerindeki bir çalışmada mast hücre prekürsörlerinin değişik lenfoid dokularda bulunduğu belirtilmiştir. En fazla kemik iliğinde, daha az olarak dalakta ve seyrek olarak da lenf foliküllerinde bulunmuştur (Guy-Grand ve ark. 1986).

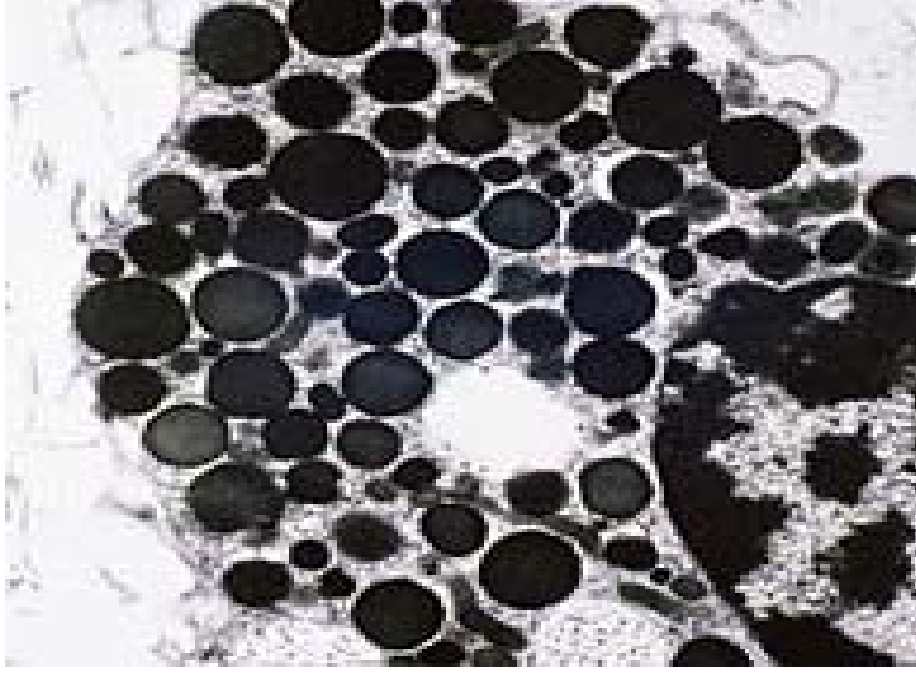
2.3.3. Mast hücrelerinin morfolojisi

Mast hücreleri bütün insan dokularında çok fazla bulunmasına rağmen deri, üst ve alt solunum yolları mukozası, gastrointestinal sistemde olduğu gibi vücudun dışarı açılan boşluklarını kaplayan mukozalarda çok sayıda bulunurlar (Wasserman 1990).

Doğumdan itibaren sayıları artan mast hücrelerinin büyüklükleri, şekilleri ve granül dağılımları türe ve dokuya göre değişir (Soylu ve ark. 1990).

Mast hücreleri 15-30 µm büyüklüğünde olan, sitoplazması bazofilik granüllerle dolu, küçük çekirdekli hücrelerdir (Cook ve ark. 2001). Genellikle oval yada yuvarlak şekildedirler. Tek oval nükleusları, çok sayıda sekretuar granül içeren sitoplazmaları vardır. Sahip oldukları salgı granülleri 0.1-0.4 µm çapındadır. Bu granüller gangliyon, file yada kristal şeklindedir. Bunların varlığı mast hücrelerinin statik varlığının göstergesi sayılır (Nienartowicz ve ark. 2006).

Nükleus genellikle tek loblu ve merkezdedir. Bazen birden fazla nükleus izlenilebilmektedir. Matür mast hücrelerinin nükleusları mevcut değildir (Junquera ve ark. 1998; Krüger 1984; Dvorak ve ark. 1987).



Şekil 2.1. Mast hücresi ve granülleri (EM görüntüsü)



Şekil 2.2. Mast hücresi ve granülleri (LM görüntüsü)

Mast hücrelerinin sitoplazmasında ayrıca araşidonik asitten meydana gelen lipit cisimcikler ile golgi aygıtı, endoplazmik retikulum ve mitokondriler de vardır (Melman 1987; Dvorak ve ark. 1987; Ross ve Reith 1985).

Işık mikroskopik incelemelerde çoğu zaman granüler yoğun boyandığından tek tek seçilemezken bazı hücrelerin çekirdeğininde granüller tarafından tamamen örtüldüğü görülür (Bancroft ve Stevens 1990).

Mast hücrelerinin elektron mikroskopik incelemelerinde, hücre yüzeyinden perifere doğru uzanan çok sayıda, uzun ve kalın villuslar görülmüştür. Granüller ise yuvarlak, oval veya köşeli şekilde, membrana bağlı yapılar halinde izlenirler. Bu granüller, lamelli yapılarla elektron yoğun ince granüler materyal şeklinde iki komponentten oluşmuşlardır. Lameller yapılar; kalın, eğik helezon yapıları ile parmak izini andıran yumaklar tarzında, paralel filamantler halinde görülürler (Dvorak ve ark. 1987; Lever ve Schaumburg-Lever 1990; Sandvei ve ark. 1993; Bardadin ve Scheuer 1986).

Bazı hücrelerde sitoplazma içinde yağ damlacıklarına da rastlanır. Merkezi veya eksentrik konumda olan çekirdek bazı hücrelerde derin invaginasyonlar ve çentiklenme göstermesine karşılık genelde segmentsiz olarak gözlenir. Çekirdekteki heterokromatin daha çok çekirdek membranı boyunca kümeler halindedir. Sitoplazmada çok sayıda bulunan granüller ya hücrede homojen olarak dağılmış yada olgunlaşmalarına bağlı olarak hücre membranına yakın olarak yerleşmiştir. Ayırt edilmesi güç perigranüler bir membranla çevrili olan bu granüller, hayvan türlerine göre değişen sayı, şekil, büyüklük ve iç yapı gösterirler (Penissi ve ark. 2003; Junquera ve ark.1993; Gray 2004).

Ratlarda bu granüller diğer türlere göre daha fazla sayıdadırlar (ortalama 500 adet/hücre) ve ince taneciklerden oluşan granül matriksi homojen, elektron yoğun bir iç yapı gösterirler (Huntley ve ark. 1985). Kobaylarda bu granüller, kesitleri bal peteği görünümünü andıran 14 nm.' lik boşluklardan oluşan kristal benzeri kafesleri içerir (Beil ve ark. 2000). İnsanda ise mast hücreleri farklı büyüklükte olup iki tip granül içerirler. Bunlardan küçük olan granüllerin matriksinde kısa, silindirik, yığın benzeri inklüzyonlarla karakterizedirler. İkinci tip granüller, birbirine paralel kordonların oluşturduğu kafes görünümünde iç yapı gösterirler. Bu granüllerde, merkezde soluk renkli bölgeyi yoğun bir matriks çevreler (Bancroft ve Stevens 1990; Craig ve ark. 1989).

Çeşitli araştırmalarda kemirici mast hücrelerinin morfolojik ve fonksiyonel farklılıklara sahip oldukları belirtilmiştir. Bu farklılıklar hücrenin

büyüklüğü ve içerdikleri granüllerin yoğunluğu, T-hücre bağımlılığı, içerdiği granül proteazları, salgılatıcı ajanlara verdikleri yanıtlar ile içerdikleri proteoglikanların yapı ve içeriği olarak sıralanabilir (Koçak Harem 2001; Metcalfe ve ark. 1997).

Mast hücresi membranında IgE reseptörleri bulunmaktadır. Bir çok etken mediatör salıverilmesini uyarır. Mast hücrelerinin uyarıya fizyolojik cevabı daha çok IgE reseptörleri vasıtasıyla olur. IgE reseptörü ile bağlanması hücreyi aktive edip, degranülasyona neden olmaz. Ancak “multivalent” antijenlerin, mast hücre yüzeyindeki reseptörlerine tutunan spesifik IgE’ ler ile çapraz bağlar oluşturması mast hücre aktivasyonunu başlatır. IgE aracılı mast hücre cevabı, aşırı duyarlılık reaksiyonlarının yanı sıra, parazitlere karşı savunma mekanizmasında da önemli rol oynamaktadır. Son yıllardaki çalışmalar mast hücrelerinin Ig’ lerin aracılığı olmadan da aktive olabileceğini göstermiştir (Erpek 2004; Metcalfe ve ark. 1997; Metzger 1991; McCurdy ve ark. 2001).

İnsanda, normal karaciğer içinde mast hücre yoğunluğu milimetre kare başına $\sim 1.2-3.9/\text{mm}^2$ olmasına rağmen sıçan karaciğerinde ($1.8-12/\text{mm}^2$) daha boldur. Mast hücre proteazlarına karşı kullanılan antikolar veya metakromatik boyalar; karaciğer mast hücrelerinin genellikle insan ve sıçan karaciğerinde portal alanların safra kanalları, venler ve hepatik artelerle bitişik bağ dokusunda yerleştiğini göstermiştir. Fakat karaciğer mast hücrelerinin %10’ u insan karaciğerinde perisinüzoidal yerleşime sahiptir (Rioux ve ark. 1996; Farrel ve ark. 1995).

2.3.4. Mast hücrelerinin heterojenitesi ve boyanma özellikleri

Enerback 1996’ da sıçanlarla yaptığı çalışmalarda mast hücrelerini fiksasyon özellikleri ve histokimyasal boyanmalarına göre incelemiş ve bağ dokularında yada intestinal mukozalarda bulunan bu hücrelerin biyokimyasal özelliklerini yansıtan iki farklı fenotipini tanımlamıştır (Enerback 1966b; Erpek ve Otlu 1995). Bağ dokusu mast hücreleri terminolojisi çıktıktan sonra, son yıllarda yapılan çalışmalar mast hücrelerinin biyokimyasal ve işlevsel olarak da glikozaminoglikanlarının türü, intragranüler serin proteazın türü, histokimyasal

farklılıklar gösterdiklerini kanıtlamıştır (Metcalf ve ark. 1997; Gurish ve Austen 2001).

Mast hücreleri orijinleri, yerleşim yerleri, kullanılan tespit solüsyonuna verilen cevap, taşıdığı farklılıklar, fonksiyonel kriterler ve hücrelerin morfolojik özellikleri gibi unsurlar göz önüne alındığında iki temel mast hücresi tipi tanımlanmıştır (Karaca ve Yörük 2005).

1) T-hücrelerine bağımlı mukozal mast hücreleri (Mucosal Mast Cells: MMC); esas olarak gastrointestinal sistem mukozasında ve solunum yolunun lamina propriasında bulunurlar. Mukozalarda, özellikle sindirim ve solunum sistemi mukozalarında bulunan mast hücreleri, diğer bölgelerde bulunan mast hücrelerinden daha küçük (5-10 µm) ve daha az granül içermektedirler.

2) T-hücrelerine bağımlı olmayan bağ dokusu mast hücreleri (Connective Tissue Mast Cells: CTMC); gastrointestinal sistem submukozasında, deride, peritonda, damar yakınlarında ve organ serozalarında bulunurlar ve daha iri (10-20 µm) hücrelerdir (Erpek 2004; Atkins ve ark. 1985; Chen ve ark. 1990; Huntley 1992).

MMC ve CTMC granüllerinde bulunan glikozaminoglikan ve proteinlerin uzaysal dizilimleri açısından da farklılıklar bulunmaktadır. MMC'lerde heparin yoktur (Pearce 1986; Ribatti ve Ark. 1992). CTMC'lerde proteoglikanlardan temel olarak heparin bulunmakta, MMC'lerde ise kondroitin di sülfat-B bulunmaktadır (Marshall ve Bienenstock 1990; Kirpatrick ve ark. 1988).

CTMC'ler sadece yüzeysel IgE'ye sahiptir. MMC'ler ise hem yüzeysel hem de sitoplazmik IgE içerirler (Gomez ve ark. 1987).

Mast hücrelerinin boyanma özellikleri kullanılan tespit solüsyonunun türüne bağlı olarak değişmektedir (Karaca ve Yörük 2005). Mast hücrelerinin sitoplazmalarında bazik boyalarla mor menekşe boyanan granüller mevcuttur. Mast hücreleri granülleri glikozaminoglikanlar içerdiği için bazik boyalarla boyandıklarında mavi değil, mor-kırmızı-menekşe renkte boyanırlar ve bu olguya "metakromazi" denir. Metakromazi, mast hücrelerinin heparin ve kondroitin sülfat gibi granül içeriklerinden kaynaklanmaktadır. Granüller suda kolay erirler. Bu granüllerin çapları 0.8 milimikron kadardır ve en iyi Methilen Blue, Toluidine

Blue, Alcian Blue ile boyanırlar. Degranülasyon sırasında değişen granüller Toluidine Blue ile pembeye boyanır. İstirahat halindeki granüller ise koyu mavi yada mor renge boyanır (Krüger 1984; Lever ve Schaumburg-Lever 1990; Schmauder-Choc ve Chock 1987; Tavlı ve ark. 1990; Özdemir ve Savaşan 2005).

Mukozal mast hücreleri (MMC), Alcian Blue gibi boyalarla boyanabilmesi için Cornoy, Mota Solüsyonu, İzotonik Formol Asetik Asit Solüsyonları vb. tespitlere ihtiyaç vardır. Nötral Buffer Formalin gibi tipik aldehit tespitleri MMC' lerin bu boyalarla boyanmasını bloke etmektedir (Enerback 1981; Enerback 1966a). MMC' ler formaldehitin %4' lük tespitinden sonra hiçbir boyama yöntemi ile boyanamazlar (Karaca ve Yörük 2005; Özdemir ve Savaşan 2005). Bununla birlikte bazı çalışmalarda da formalinle tespitinden sonra uzun süreli Toluidine Blue boyama tekniği ile MMC' lerin boyandıkları da gösterilmiştir (Wingren ve Enerback 1983). Bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) ise tespit solüsyonuna bağlı olmaksızın boyanabilmektedirler (Karaca ve Yörük 2005; Özdemir ve Savaşan 2005).

Kemiricilerde mast hücreleri, Alcian Blue-Safranin O (AB-SO) kombine boyama metodunda da; formole duyarlı, AB (+) granüller içeren MMC ile formole dirençli SO (+) granüller içeren CTMC iki tiptir (Wang ve ark. 2005; Rozga ve ark. 1991; He ve ark. 2006; Lin ve Lin 2006). Alcian Blue hem kondroitin sülfatlı proteoglikanları içeren MMC tiplerini, hem de kondroitin sülfat ve heparin proteoglikanlarını içeren CTMC tiplerini identifiye ederken (her ikisi de mavi boyanır), Safranin sadece yüksek miktardaki sülfatlı heparin proteoglikanlarını boyar ve seçici olarak CTMC tiplerini ayırmaktadır (kırmızı boyanır). Ancak bu mast hücrelerinin sadece bir bölümü Safranin pozitifdir. Çünkü olgun olmayan CTMC' ler Alcian Blue ile kuvvetli boyanmasına karşılık, Safranin O ile zayıf boyanır(Karaca ve Yörük 2005; Sugihara ve ark 1999). Benzer şekilde bazik fluorescent bir boya olan Berberine Sülfat boyamada tespite bağlı olmaksızın CTMC' ler parlak yeşil boyanırken MMC' ler boyanmamaktadır (Enerback 1981; Ribatti ve ark. 1992).

Tablo 2.2- Mukozal ve Bağ Doku Mast Hücreleri (Karaca ve Yörük 2005).

Özellikler	Mukozal Mast Hücresi	Bağ Doku Mast Hücresi
Doku yerleşimi	İnce bağırsak mukozası, vb	İnce bağırsak submukozası, deri, iskelet kası ve serozal yüzeyler
Cornoy, Mota, İzotonik Formol Asetik Asit	+	+
Nötral tamponlu formalin	-	+
Alcian mavisi boyası, Safranin O boyası	Mavi	Kırmızı
Berberine Sülfat	-	+
Sitoplazmik granüllerin büyüklüğü	<0.2	0.2-0.4 µm
T lenfositine bağlı farklılaşma	+	-

CTMC' ler heparin ve Sıçan Mast Hücre Proteazı I (Rat Mast Cell Proteaz I: RMCP I) içerirken, MMC' ler kondroitin sülfat ve Sıçan Mast Hücre Proteazı II (Rat Mast Cell Proteaz II: RMCP II) içermektedirler (Schwartz 1994; Erpek 2004; Marshall ve Bienenstock 1990). Sıçanlarda MMC' lerin, CTMC' lardan daha az histamin ve serotonin içerdikleri bilinmektedir (Metcalf ve ark. 1997).

Farede mast hücre heterojenitesi, granül glikozaminoglikanlarının fiksasyon özellikleri, histokimyasal boyanmalarındaki farklılıklar, granül içeriğinin biyokimyasal sınıflandırılması ve granül proteoglikanlarının karşılaştırılması sonucunda belirlenmektedir (Kitamura ve ark. 1987).

In vivo ve *in vitro* çalışmalar CTMC' lerin MMC benzeri hücelere dönüşebileceğini göstermiştir. Bununla beraber bu değişikliğin geriye dönebilir olup olmadığı açık değildir (Befus ve ark. 1985; Gali 1990).

İnsan mast hücresi heterojenitesinde, son zamanlarda granüllerin taşıdığı nötral proteazların farklılığına göre, T (Tryptase- pozitif, Chymase- negatif) ve TC (Tryptase-pozitif, Chymase-pozitif) mast hücreleri adlandırılması kullanılmaktadır. Adlandırma rodentleri MMC ve CTMC' lerin analogudur (Enerback 1981; Irani ve ark. 1986). MC_{TC} hücresi, sıçan bağ dokusu mast hücresine karşılık gelirken, MC_T hücresi sıçan mukozal mast hücrelerinin karşılığı olabilir. MC_T daha çok akut yangısal olaylarda rol alırken, MC_{TC} kronik olaylarda ve bağ dokunun yenilenme sürecinde rol oynar (Schwartz 1991).

2.3.5. Mast hücrelerinin mediatörleri

Mast hücre salgı ürünleri histamin ve serotonin gibi biyolojik aminleri, heparin gibi proteoglikanları, çok sayıda enzimleri, prostaglandinler ve lökotrienler gibi araşidonik asit ürünlerini ve bir çok interlökin içerikli sitokinleri içerirler. Mast hücre mediatörleri genellikle iki tiptir. Bir kısmı önceden sentezlenerek depolanmış olarak bulunurlar, bazıları da uyarıya cevap olarak sentez edilirler (Özdemir ve Savaşan 2005; Dahm ve Latimer 2001).

2.3.5.1. Önceden şekillenmiş mast hücre mediatörleri

Mast hücrelerinin önceden şekillenmiş granül içerikleri çeşitlilik göstermektedir. Bunlardan bilinenleri; histamin, heparin, serotonin, ECF-A ve proteazlardır. Üzerinde en çok çalışılanları, histamin, heparin ve serotonin olmakla birlikte net ve kesin sonuçlar gösterilememektedir.

Histamin: İnsanlarda akut alerjik yangının bir mediatörü olarak tanımlanmış olan histamin mast hücreleriyle ilişkili olan ilk kimyasal maddelerden biridir. Histamin, B-imidazoletilen aminden ilk olarak 1907' de sentezlenmiş ve hayvan dokularında da bulunmasından dolayı daha sonra histamin olarak adlandırılmıştır. Histamin mast hücrelerinde golgi aygıtında sentezlenmektedir (Church ve ark. 2003). Organizmadaki ana kaynağı mast

hücreleridir. Mast hücre granüllerinde depolanır ve sinir uçlarından nöromediatörlere benzer şekilde salgılanır. Kapiller damarlarda genişleme ve geçirgenliğin artmasını sağlayan bir biyolojik amin yapısındadır. Hedef hücredeki reseptöre bağlanarak etkisini gösterir (Tharp 2003). Damar geçirgenliğinin artışında bir mekanizma, mast hücrelerinin direk aktivasyonu sonucu deri ve akciğer mast hücrelerinden histamin salgılanmasıdır. Ancak burada triptaz histamin salınımında bir uyarıya neden olmaktadır (Rossi ve Olivieri 1997). Çünkü triptaz ve histamin mast hücre granüllerinde bir arada bulunur ve degranülasyon sonrasında beraber salgılanır (Wolters ve ark. 2000; Weidinger ve ark. 2000).

Histamin dört farklı reseptörünün (H_1 , H_2 , H_3 , H_4) etkisi altında değişik biyolojik etkiler oluşturmaktadır. Alerjik reaksiyonlarda histamin üzerinde H_1 reseptörünün etkisi vardır. H_2 reseptörünün mide asit sekresyonunu arttırdığı düşünülmektedir. H_3 reseptörü sinir telleri üzerindeki histamin için presinaptik bir reseptör olarak görev yapar. H_4 reseptörünün, immun sistemin düzenlenmesinde bir rolü olduğu gibi, kemik iliği hücreleri, periferik kandaki mononükleer hücreler ve eozinofillerle de bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Church ve ark. 2003; Norrby 2002).

Histamin barsak ve bronş düz kaslarında kasılmaya yol açar. Histaminin mitogenesis veya fibroblast proliferasyonuna da yardım ettiği gösterilmiştir (Gülmezoğlu ve Ergüven 1994; Norrby 1983; Levi-Schaffer ve Weg 1997).

Reseptöre bağlanan histamin, hücre içi olayları başlatır. Endotel hücrelerinde büzüşmeye yol açar ve hücreler arasından civar dokulara plazma geçişi olur. Histaminin bir başka etkisi endotel hücrelerden prostosiktin ve nitrik oksit (NO) sentezine yol açmasıdır. Bunlar damar düz kaslarını gevşetici etki yaparak, vazodilasyona yol açarlar (McCauley ve ark. 2005; Jackson 1998).

İnsanda mast hücreleri yalnız histamin içerken, kemiriciler gibi bazı türlerin mast hücrelerinde serotonin de vardır. Histamin dakikalar içinde metabolize olduğu için etkisi salgıladığı yerde veya yakınında olmaktadır (Bancroft ve Stevens 1990a).

Heparin: Heparin ilk kez, 1916 yılında karaciğerden izole edilmiştir. Antikoagulan özellikteki bu madde karaciğerde lokalize olması nedeniyle heparin adını almıştır (Majerus ve ark. 1990).

Mast hücrelerinin metakromatik boyanmasına neden olan temel maddedir. Molekül ağırlığı yaklaşık 650.000' dir ve glikozaminoglikan zincirleriyle bağlanmış protein çekirdeğinden meydana gelir. Başlıca fizyolojik etkileri; antikoagulan, antitrombin, antikompleman olmasıdır (Melman 1987).

İnsanda mast hücrelerinin tümü heparin içermektedir. Bununla birlikte kemiricilerdeki heparin bağ doku ve serozadaki mast hücrelerinde bulunurken, mukozadaki mast hücrelerinde bulunmamaktadır. Heparinin mast hücrelerindeki biyosentezi granüllü endoplazmik retikulumun polipeptit korlarının formasyonu ile başlar. Heparin sülfatlı proteoglikandır (Church ve ark. 2003).

Heparin, antitrombin III ve platelet faktör IV' e bağlıdır, komplementlerin aktivasyonunu azaltır, fibroblast büyüme faktörlerine bağlanır, plazminojen aktivatörüdür, fosfolipaz A ve trigliseritlerin salınımını artırır, kollajen bağlı fibronektini yükseltir, triptazın, kimazın ve nötrofil elastazın aktivitelerini düzenler (Tharp 2003).

Serotonin: Triptofanın 5-hidroksitriptofana hidroksilasyonu, karaciğer tirozin hidroksilazı tarafından katalizlenir. Daha sonraki dekarboksilasyonla güçlü bir vazokonstriktör ve düz kas kasılmasını uyaran bir madde olan serotonin (5-hidroksitripamin) oluşur (Murray ve ark.1998).

Rat ve sıçanlarda her mast hücresi başına ortalama 0.8-1.3 pg olarak bulunmuştur. Başlıca etkileri düz kasların kasılmasına ve vazokonstriksiyona neden olmasıdır (Melman 1987). Mast hücreleri, trombosit ve bazofillerden salınan serotonin, kan damarlarının büzülmesine yol açar. Hasarlı bölgedeki damarın iç yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinden salınan entolin, damar duvarlarındaki düz kasların kasılmasını ve onarımını hızlandırmaları için endotel hücrelerinin, düz kas hücrelerinin ve fibroblastların bölünmesini uyarır (Akay 2001). Serotonin özellikle beyin dokusunda, mide ve barsak mukozasının enterokromofin hücrelerinde, epifizde ve mast hücrelerinde bulunur (Baban 1980).

Diğer önceden şekillenmiş mast hücre mediatörlerinden ECF-A (anafilaksinin eozinofil kemotaktik faktörü); eozinofillere kemotaktik etki yaparlar ve aktive ederler. Bronşlarda kas kasılması, trombosit toplanması ve vazodilasyon yaparlar (Gülmezoğlu ve Ergüven 1994). Proteazlar ise, triptaz, kimaz, karboksipeptidaz, katapsin C ve G gibi alt gruplara ayrılırlar. Bu nötral proteazlar özellikle insan ve rat mast hücrelerindeki salgı granüllerinin dominant protein unsurlarıdır ve seçici olarak bu hücrelerde lökolize olurlar (Harem 2005). Triptaz, insan mast hücrelerinin toplam hücre proteinlerinin %20' sini oluşturur (Glennner ve ark. 1964). β Triptaz, mast hücre granüllerinde en çok depo edilen mediatördür. Kronik yangılarda doku yenilenmesinde ve çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rol oynar (Stendon ve Befus 1998; Brown ve ark. 2001). Mast hücrelerindeki triptaz ve kimazın biyolojik aktiviteleri karşılaştırıldığında bazı aktiviteleri paylaştıkları görülür. Triptazın bir özelliği yangı öncesi mast hücre fonksiyonunda rol almasıdır. Oysa ki kimazın yangı reaksiyonlarında daha fazla rol aldığı görülür (Welle 1997). Karboksipeptidazlar ise kimaz ve triptaz kadar yoğun çalışılmamış olup ilk olarak insan ve kemirici mast hücrelerinden saflaştırılmışlardır. Fare ve sıçanların mukozal ve bağ dokusu tipi mast hücrelerinde yerleşmişlerdir (Church ve ark. 2003).

2.3.5.2. Yeni şekillenen mast hücre mediatörleri

Bunların yapımı önceden şekillenmiş mast hücreleri grubundaki mediatörlerin ilişkide oldukları doku yada hücrelerle etkileşimi sonucu uyarılır. Bu gruptaki mast hücre mediatörleri araşidonik asit ve türevleridir (Melman 1987). Mast hücresi ve bazofil granülositlerdeki lipit mediatörler yeni sentezlenen maddelerdir. Ana maddeleri ünit zarda ve lipit cisimciklerinde bulunan fosfolipitlerdir (Gülmezoğlu ve Ergüven 1994). Prostaglandinler, lökotrienler ve platelet aktive edici faktör (PAF) bu gruba girer.

Prostaglandinler ve lökotrienler, ortak bir prekürsör olan araşidonik asitten köken alan lipit mediatörleridir. Prostaglandinler siklooksijenaz enzimi, lökotrienlerde lipoksijenaz ve diğer enzimlerin etkisiyle sentezlenirler. Düz kas hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak, vazodilatatör ve bronş spazmı yapıcı etki gösterirler (Tharp 2003; Gülmezoğlu ve Ergüven 1994). PAF ise, bazofil

granüositlerde daha fazla bulunur, vazokonstriksiyonu sağlar, damar geçirgenliğini artırır, bronş spazmı yapar (Tharp 2003; Wei ve Frenkel 1993; Gülmezoğlu ve Ergüven 1994).

2.3.5.3. Mast hücre sitokinleri

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanırlar ve hedef hücrenin davranışını etkilerler (Güneş 1999). Mast hücrelerindeki aktivasyon sitokinlerin ve kemokinlerin sentezi yoluyla da izlenebilir. Son yıllarda insan mast hücrelerinin aynı zamanda çeşitli sitokinlerin de kaynağı olduğu belirtilmiştir. Bu sitokinlerin hastalıklarda önemi kesin değilken, onlar hem fizyolojik hem patolojik durumda önemli bir rol oynayabilirler (Tharp 2003; Metcalfe ve ark. 1997). Hem önceden oluşmuş hem de yeni sentezlenmiş sitokinler kalsiyum iyonu ve antijenlerle aktiflenmiş mast hücreleri tarafından salgılanırlar (Schwartz 1994).

Mast hücre sitokinlerinden TNF- α (tümör nekroze edici faktör), alerjik yangı olgularında önemli bir sitokindir. Makrofaj ve lenfositlerde fazla miktarda üretilmesine rağmen depolama kapasitesi mast hücrelerinden daha azdır yada yoktur. IL-4 (interlökin 4); insan fibroblastlarıyla kollajen üretimini uyarır, B-hücre proliferasyonunu, IL-6 üretimini, T-hücre proliferasyonunu arttırmayı, makrofaj ölümü ve sitokin üretimini azaltmayı, atopi gelişimini ve IgE üretimini uyarır. IL-5 (interlökin 5); eozinofil kemotaksisini, gelişimini ve canlılığını artırır. İmmunohistokimyasal ve in situ hibridizasyon yoluyla yaklaşık olarak mast hücrelerinin %10' nunu oluşturdukları görülür. IL-6 (interlökin 6); IgE dahil, Ig yapımını B-hücreleriyle artırır ve T lenfositlerini de uyarır. IL-8 (interlökin 8); İnsan mast hücreleriyle ilişkili olan IL-8, özellikle IgE bağımlı deri mast hücrelerinin stimülasyonunda sitoplazmik membran boyunca ve intrasellüler granüllerde ortaya konulmuştur (Church ve ark. 2003; Gülmezoğlu ve Ergüven 1994; Macleod ve ark. 1997; Schwartz 1994).

2.3.6. Mast hücrelerinin aktivasyonu ve degranülasyonu

Mast hücreleri, sentez aktivitelerinin miktar ve tipindeki değişimlerle ani çevresel değişikliklere uyum sağlayabilen heterojen bir populasyondur. Bu uyum çeşitli mast hücre aktivatörlerine karşı gelişen bir durumdur. Bu aktivatörler immünolojik ve nonimmünolojik olarak iki gruptur. Mast hücre aktivasyonunda en iyi anlaşılan uyarı IgE/antijen birleşmesidir. Mast hücrelerinin membranlarında, plazma hücreleri tarafından salgılanan IgE için spesifik reseptörler bulunur ve vücuda bir allerjen (antijen) girdiğinde, plazma hücrelerinde bu antijene karşı spesifik olan IgE sentezlenir. Bunlar mast hücrelerinin yüzey reseptörüne bağlanır. Aynı antijen vücuda ikinci defa girdiğinde yine bu reseptörlere bağlanır (antijen-antikor reaksiyonu) ve birkaç dakika içinde mast hücre granüllerinin degranülasyonunu başlatır. Sonuçta histamin boşalımı ile yerel cevap (ürtiker) yada yaygın cevap (anafilaktik şok) ortaya çıkabilir (Craig ve ark. 1989; Sağlam ve ark. 2001).

Mast hücrelerinde aktivasyon üç önemli biyokimyasal reaksiyonu başlatır. İlk olarak mediatör-sitokin sentezi için hücre çekirdeği uyarılır, gen düzeyinde reorganizasyon gerçekleşir ve yeni mediatörler için mRNA transkripsiyonunda artma olur. İkinci olarak, en önemlisi araşidonik asit metabolizması olan lipit metabolizması ve lipit metabolitlerinin sentezinde artma meydana gelir. Mast hücreleri hangi tip proteoglikanı içeriyorsa ona uygun olan araşidonik asit ve metabolitini salgılar. Son reaksiyon ise mast hücrelerinin degranülasyonudur. Mast hücreleri aktive olduklarında granüller hücre yüzeyine doğru hareket ederler ve lokal ekzositoz ile içeriklerini dışarıya boşaltırlar. Burada kullanılan enerji, hücre içi aerobik ve anaerobik glikolizden elde edilir. Salgılanma sırasında granüller bir diğeri ile kaynaşır ve bu şekilde hücre yüzeyine doğru kanallar oluşur. Ekzositozda, hücre ve granül membranının kaynaşması sonucunda fazlaşan hücre membranı, karakteristik mast hücre yüzey kıvrımlarını şekillendir (Craig ve ark. 1989; Metcalfe ve ark. 1997).

Mast hücre degranülasyonu kısaca şu şekilde özetlenebilir. Vücuda giren herhangi bir antijenle, daha önce bu antijen için oluşturulan IgE antikorlarının iki molekülü, mast hücrelerinin yüksek afiniteli reseptörlerinin Fc kısmında bir araya gelirler. Böylece degranülasyonla başlayan bir süreç başlar. İlk önce Ca hücre

içine girer (Melman 1987). Granüller aktive olur ve granüler membran genişler. Granül içinde ikinci bir membran oluşur. Bundan sonra hücre ve granül membranı birleşir ve mediatörler dışarı salınır (Schmauder-Choc ve Chock 1987).

2.3.7. Mast hücrelerinin fonksiyonları

Mast hücreleri doğal ve uyarlanmış bağışıklıkta vücudun ihtiyacına göre rol alabilmekte, çevre şartlarına bağlı olarak kendini göreve hazırlayabilmektedir. Mast hücresi bağışıklık sisteminin düzenlenmesi ve konak savunmasında önemli rol oynayan bir çok kuvvetli sitokinin kaynağıdır (Özdemir ve Savaşan 2005).

En önemli fonksiyonlarından biri bağışıklık sistemi hücrelerini enflamasyon ve enfeksiyon alanına toplamasıdır. Mast hücreleri alerjide geç ve kronik evrelerde önemli işlevlere sahiptir. Bu evrelerde mast hücreleri; eozinofil, lenfositler gibi infiltre olmuş hücreler vasıtasıyla aktive olabilirler ve bu hücrelerle etkileşebilirler. Aktive olmuş mast hücreleri eozinofillerin kemotaksisi, yaşaması ve aktivasyonuna yardım eden mediatörler salgırlar. Makrofajlar ve epitel hücrelerini de lenfosit ve eozinofiller için kemotaktik maddeler oluşturmaları konusunda uyarırlar (Erpek 2004; Enerback ve ark. 1989).

Doğal bağışıklıkta; Mast hücrelerinin özellikle immünolojik cevabın başlatılmasındaki temel fonksiyonları anlaşılmıştır. Vücudun bağışıklık sisteminde kritik rol oynayacak şekilde yapısal olarak donatılmış ve yerleştirilmiştir.

Birincisi; Mast hücrelerinin engel dokular olan deri, mukozal yüzeyler, lenf ve kan damarları çevresindeki yerleşimleri, patojen ile çok erken temaslarını sağlar. İkincisi; Enflamatuar mediatörleri önceden sentez, depo ve salgılayabilme özellikleri patojene hızlı cevabı olanaklı kılar. Üçüncüsü; Mast hücreleri dolaşımda adanmış fakat tam olarak differansiye olmamış durumda olduklarından, enflamasyon ortamına kolaylıkla gider, orada prolifer ve differansiye olup, o ortam için gerekli özelliklerle donanıp görevlerini yerine getirirler. Dördüncüsü; Bağ dokusu hücrelerini modüle etme kapasitesine sahip olmalarıdır.

Mast hücreleri enfeksiyöz ajanı tanır ve direk olarak mikroorganizmalara bağlanır, degranüle olan mast hücresi patojenin türüne göre

depo edilen yada uyarı sonrası sentezlenen mediatörlerini salar (Abraham ve Malaviya 1997).

Uyarlanmış bağışıklıkta ise en klasik örneği parazitlere karşı IgE aracılığıyla verdiği cevaptır. Mast hücrelerinin bağışıklığı düzenlemede görev alan sitokinleri salgılayarak lenfosit cevabını etkilemelerinin, patojenleri direkt olarak işleyip bağışıklık sistem hücrelerine sunmalarının gösterilmesi bu hücrelerin adaptif bağışıklıktaki önemini belirtmektedir (Özdemir ve Savaşan 2005).

Mast hücre sayısı bir çok fibrotik durumda arttığı için fibroziste önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir (Stevens ve Austen 1989). Mast hücreleri fibrozisin esas sorumluları olan fibroblastları direk etkileme potansiyeline sahiptirler. Histamin ve heparin fibroblastların çoğalmasını ve kollajen sentezini arttırmaktadır. Proteazlar veya histamin gibi mast hücre mediatörlerinin, mitogenesis veya fibroblast proliferasyonuna yardım ettiği gösterilmiştir (Erpek 2004; Metcalfe ve ark. 1997; Norrby 1983; Vicher 1974; Steen ve ark. 1982; Puxeddu ve Levi-Schaffer 2002).

Mast hücre sitotoksitesinde TNF- α ve kimaz içeriklerinin önemli bir yer tuttuğu düşünülmektedir. Stimüle edilmemiş deri mast hücreleri ile sitotoksitesite saptanmazken, stimüle olmuşlarda saptanması ve on sekiz saatlik veya daha uzun inkübasyonlarla mast hücre sitotoksitesininin gelişmesi, tümör ile mast hücresi arasında kontakın önemli olduğunu ve bunda membranöz TNF- α 'nın rolü olabileceğini düşündürmüştür (Clarke ve ark. 1997; Benyon ve ark. 1991). Hayvanlarda bağ dokusu mast hücresinin TNF- α 'ya bağımlı veya bağımsız mekanizmalarla sitotoksitesiteye yol açarak tümör karşıtı bir etki gösterdiği de bildirilmiştir (Tharp ve ark. 1989).

Mast hücrelerinin tümör büyümesi yanı sıra romatoid artrit, ovulasyon, yara iyileşmesi ve doku tamiri gibi durumlarda artmış olarak saptanması, anjiogenez süreci ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Mast hücresinin anjiogenezde rol alan TNF- α , IL-8, fibroblast ve damar endoteli büyüme faktörlerini sentezlediği bilinmektedir. Triptazın yeni damar gelişimi için gerekli olan alanı açmak üzere bağ dokusunu yıktığı ve güçlü bir anjiogenik uyarıcı olduğu da ileri sürülmüştür (Hiromatsu ve Toda 2003).

Mast hücrelerinin dokunun homeostasis, onarım ve yeniden yapılandırılmalarında önemli olduğu ortaya konulmuştur (Crivellato ve ark. 2003). Mast hücresi tarafından salınan bazı mediatörler (anjiojenik faktörler gibi) kanser büyümesini arttırabildiği gibi, özellikle kimaz, TNF- α , IL-4 gibi bazıları da tümör büyümesini baskılar (Özdemir ve Savaşan 2005).

Gastrointestinal sistemde, mukoza epitelinin içerisinde mast hücreleri olmadığı, ancak mukozal alerji ve parazit istilaları sonucunda mast hücrelerinin veya prekürsörlerinin epitel içerisine göç edebildikleri belirtilmiştir (Enerback 1987).

Günümüzde, mast hücrelerinin, iltihabi barsak hastalıkları yanı sıra normal barsak fonksiyonlarının sürdürülmesi ve immünite üzerindeki potansiyel rolleri gittikçe daha iyi anlaşılmaktadır (Marshall ve Bienenstock 1990).

Mast hücrelerinin rol aldıkları bildirilen patolojik ve fizyolojik olaylar şunlardır: Alerjik hastalıklar, iltihabi prosesler, inflamatuvar barsak hastalıkları, kallus gelişimi, osteoporoz, romatizmal hastalıklar, periferik nöropati, nöromlar, hipertansiyon, hipoksi, interstisyel akciğer hastalıkları, deride ürtikerya pigmentoza, skleroderma, immünite, koroner spazmlar, bir çok tümörler, gebelik ve doğum (Marshall ve Bienenstock 1990; Padilla ve ark. 1990; Stevens ve Austen 1989; Vural ve ark. 1991).

Tüm bu bilgiler ışığında, yaptığımız çalışmalarla, kekik uçucu yağının, deri ve mide mast hücrelerinin lokalizasyonları, morfolojileri, degranülasyonu ve mast hücre mediatörlerinin boyanmasına etkisinin ayrıntılı olarak araştırması amaçlanmış ve spesifik farklı boyalar kullanarak, mast hücre mediatörlerinden heparin, histamin ve serotonin tespit edilmeye ve elde edilen özelliklerin karşılaştırılmasına çalışılmıştır. Deneyde, mukozal ve bağ dokusu mast hücrelerinin karşılaştırması mümkün olan mide ve deri dokularının seçilme sebebi, daha önce bu dokular üzerine çalışmalar yapılması fakat net bir sonuç elde edilememiş olmasıdır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Deneylelerde, 200-300 gr. ağırlığında sağlıklı, dişi-erkek Wistar albino sıçanlar (*Rattus norvegicus*) kullanılmıştır. Deney hayvanları, normal gece gündüz siklusunda, yaşadığı ortama adaptasyonu için en az enerji harcayarak uyum sağladığı optimal sıcaklıkta (20-27 °C), hayvanların fizyolojik faaliyetlerinin bozulmamaları için gürültüden uzak (Başaran 1998), temiz bir ortamda kafeslerde gözetim altında tutulmuştur. Deney hayvanları deney sürecinde, gelişimleri için ihtiyaç duydukları iyonları alabilmesi için çeşme suyu ve standart (ticari) yapay fare yemi (Eysem A.Ş., Eskişehir) ile beslenmiştir.

3.1.2. Deneyde kullanılan kimyasal maddeler ve hazırlanmaları

3.1.2.1. Fiksatorler

Mast hücrelerinin boyanma özellikleri kullanılan tespit solüsyonunun türüne bağlı olarak değişmektedir (Karaca ve Yörük 2005). Genel bilgiler bölümünde, mast hücre heterojenitesi ve boyanma özellikleri (Bkz. 2.3.4) kısmında da belirtilen nedenlerden dolayı deneyde dört farklı fiksatif kullanılmıştır. Cornoy fiksatorü, metilen, toluidine ve alcian mavileri boyamaları için; Kromat fiksatorü, modifiye edilmiş giemsa boyaması için; Buin fiksatorü, maygrunwald-giemsa boyaması için; Nötral formalin fiksatorü ise hematoksilin-eosin boyaması için kullanılmıştır (Ross ve Reith 1985; Bancroft ve Stevens 1990a, 1990b).

Nötral Formalin;

Formalin (%40), (Riedel-de-Haen)	100 ml
Distile su	900 ml
Sodyum di hidrojen fosfat	4 gr
Di sodyum hidrojen fosfat	6,5 gr

Cornoy Fiksatorü;

Absolü alkol (Riedel-de-Haen)	60 ml
Glasiyal asetik asit (Riedel-de-Haen)	10 ml
Kloroform	30 ml

Buin Fiksatorü;

Suda doymuş pikrik asit (aqueus)	75 ml
%40' lık Formaldehit	25 ml
Glasiyal asetik asit (Riedel-de-Haen)	5 ml

Kromat Fiksatorü;

%5' lik (su ile) Potasyum dikromat (Fluka)	60 ml
1 M Sodyum asetat (Sigma)	10 ml
Formaldehit (%40), (Riedel-de-Haen)	12 ml
Distile su	18 ml

3.1.2.2. Boyalar

Deneyde altı farklı boya kullanılmıştır. Mast hücre mediatörlerinden heparini göstermek için methilen mavisi. histamin için toluidine mavisi ve maygrunwald-giemsas, serotonin için modifiye edilmiş giemsa, hem heparin hem de histamin için alcian mavisi, genel görünüm için de hematoksilin-eosin boyaları denenmiştir.

Hematoksilin-Eosin;

Hematoksilin (Sigma)	0,25 gr
Distile su	250 ml
Sodyum iyodür	0,05 gr
Allum	12,5 gr
Kloral hidrat	0,25 gr
Sitrik asit	0,25 gr
Eosin Y (Sigma)	1 gr
Etil alkol (%70) (Teknik)	100 ml
Asetik asit (Riedel-de-Haen)	0,2 gr

Sonuç: Çekirdek mavi, sitoplazma pembe boyanması beklenilmektedir.

Methilen Mavisi;

Methilen violet (Merck)	2 gr
Etil alkol (%95), (Teknik)	20 ml
Amonyum oksalat (%1' lik su ile)	80 ml

Sonuç: Amyloid granüller açık mor menekşe, zemin mavi boyanması beklenilmektedir.

Toluidine Mavisi;

A solüsyonu:

Toluidine blue O (Fluka)	1 gr
Etil alkol (%70), (Teknik)	100 ml

B solüsyonu:

Sodyum klorit (Riedel-de-Haen)	0,5 gr
Distile su	50 ml

C solüsyonu;

A solüsyonundan	5 ml
B solüsyonundan	45 ml

Sonuç: Histamin içeren mast hücreleri açık mor, zeminin mavi boyanması beklenilmektedir.

Alcian Mavisi;

Alcian blue (Sigma)	0,36 gr
Safranin O (Sigma)	0,18 gr
Ferik amonyum sülfat (Sigma)	0,48 gr

Sonuç: Histamin içeren mast hücreleri mavi, heparin içeren mast hücreleri kırmızı boyanması beklenilmektedir.

MayGrunwald;

MayGrunwald solüsyonu: (Aldrich)

Jenner stain	20 ml
--------------	-------

Distile su	20 ml
Giems solüsyonu: (Aldrich)	
Giems stain	1 ml
Distile su	50 ml
Asetik asit solüsyonu:	
Asetik asit (Riedel-de-Haen)	5 ml
Distile su	495 ml

Sonuç: Çekirdekler mavi, sitoplazma pembe-kırmızı, histamin içeren mast hücreleri ise açık mor-mavi boyanması beklenilmektedir.

Modifiye Giemsa;

Standart giemsa (Aldrich)	2 ml
Distile su (pH ,8)	48 ml
Asetik asit solüsyonu;	
Glasiyal asetik asit (Riedel-de-Haen)	5 ml
Distile su	995 ml

Sonuç: Kromofin granüller cam yeşili-yeşilimsi sarı, çekirdek mavi boyanması beklenilmektedir (Bancroft ve Stevens 1990a ve 1990b; Ross ve Reith 1985).

3.1.3. Karvakrolun hazırlanması

Çalışmamızda kullandığımız kekik uçucu yağı olan karvakrol, Anadolu Üniversitesi, Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi' nden sağlanmıştır. Zeytinyağı-karvakrol (1:9) olarak hazırlanan karışım, yedi deney hayvanına, yedi gün süreyle, 1.gün, 3.gün, 5. gün ve 7. günler aynı saatlerde ve her seferinde 0,250 µl doz biçiminde intraperitonel olarak enjekte edilmiştir (Zeytinoğlu ve ark. 2003).

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney süreci

Deney hayvanları altısı negatif kontrol, yedisi pozitif kontrol ve yedisi deney grubu olmak üzere toplam üç gruba ayrılmıştır. Tüm gruplar, deney sürecinde aynı besin ve yöntemle beslenmiş ve aynı kontrollü ortamda tutulmuşlardır:

1. Grup (Negatif Kontrol grubu): Bu gruptaki altı hayvana, yedi günlük deney sürecinde, 1.gün, 3. gün, 5.gün, 7. gün, aynı saatlerde, intraperitonel yolla, 250 µl serum fizyolojik (NaCl) enjekte edilmiştir.

2. Grup (Pozitif Kontrol Grubu): Bu gruptaki yedi hayvana, yedi günlük deney sürecinde, 1.gün, 3. gün, 5.gün, 7. gün, aynı saatlerde, intraperitonel yolla, zeytinyağı enjekte edilmiştir.

3. Grup (Deney Grubu): Bu gruplardaki yedi hayvana, 3.1.3 de sunulan yöntemle maddeler enjekte edilmiştir.

3.2.2. Diseksiyon

Son enjeksiyondan 2 gün sonra, (9. gün) hayvanlar disekte edilmiştir. Diseksiyon öncesinde hayvanlar bayılma kabının içinde eterle bayılmış, daha sonra ex etmek amacıyla servikal dislokasyon (boyun çıkarma) uygulanmıştır. Her bir deney hayvanının karın bölgesi jiletle tüylerden olabildiğince arındırılarak göbek derisinden parça (yaklaşık 1 cm²) alınmıştır. Daha sonra kesilerek ulaşılan karın bölgesindeki midenin fundus bölümünü alınarak (yaklaşık 1 cm' lik parça), içi yabancı maddelerden arındırılmak amacıyla boşaltılarak temizlenmiştir. Alınan tüm deri ve mide parçaları dört ayrı fiksatif konulmak üzere dört ayrı eşit parçalara ayrılmıştır.

3.2.3. Fiksasyon

Deneyde, cornoy, kromat, buin ve nötral formalin olmak üzere, çalışmalarımızda kullanılacak her boya çeşidine uygun dört farklı özellikte fiksatif kullanılmıştır. Doku materyalleri, nötral formalin içinde 24 saat, cornoy

fiksatoründe 6 saat, buin fiksatorü içinde 18 saat ve kromat içinde ise 6 saat sürelerinde, oda sıcaklığında tespit edilmişlerdir.

Fiksasyon süresi bitiminde, nötral formalin ile fikse edilen dokular 3 saat, cornoy ve kromat fiksatiflerinde fikse edilen dokular 18 saat süre ile akar su altına yıkanmıştır. Buin fiksatoründe fikse edilen dokular ise %50- %70' lik etil alkol ile, sarı renk kaybolana kadar iyice yıkanmıştır.

3.2.4. Dehidratasyon (Dokudaki suyun alınması)

Su ile yıkanarak tespit solüsyonu uzaklaştırılmış olan materyaller bol miktarda su içermektedir. Tespit işleminin ardından uygulanan yıkama işlemi nedeniyle bol su içeren doku materyalleri sudan arındırmak için, kademeli olarak artan alkol serilerinden geçirilmiştir.

Artan alkol serileri olarak; %50, %70, %80, %90, %96 ve %96' lık etil alkol kullanılmış ve materyaller her birinde (%96' lık alkolde iki kez), 1' er saat bekletilmiştir.

3.2.5. Saydamlaştırma

Tüm doku materyalleri 2 ayrı ksilolde, 60' ar dakika bekletilmiştir. Ksilolde bulanık bir renk görüldüğünde, dokular tekrar %96' lık alkole alınarak eser miktarda kalan suyun dokudan atılması sağlanmıştır.

3.2.6. Parafinizasyon (parafine gömme) ve bloklama

Dokulardan rahat kesitler alınması ve düzgün kesit yüzeyi sağlanabilmesi için doku ile aynı sertliğe sahip olan parafin çeşidi kullanılmasına çalışılmıştır. Üç ayrı beherde bulunan erimiş parafinin içine dokular konularak her birinde 30' ar dakika olacak biçimde, etüvde (60 °C) bekletilmiştir.

Parafin dokunun içine tam olarak nüfuz ettikten ve parçalar kesit almak için yeterince sertleştikten sonra, metal bloklara kesit yüzeyleri düzgün gelecek şekilde yerleştirilip etiketlenerek, soğumaya bırakılmıştır. Parafin soğuduktan sonra metal bloklardan çıkarılarak, etiketlenmiş ve kesit almaya hazır biçimde buzdolabında bekletilmiştir.

3.2.7. Kesit alma

Parafine gömülü dokular, buzdolabında yeterince soğutulduktan sonra, uygun bir biçimde mikrotoma yerleştirilerek, 5-6 µ kalınlığında kesitler alınmış ve alınan kesitler 40 °C’ deki su banyosunda açılmaları için birkaç dakika bekletilmiştir. Yeterince açılan kesitler lam üzerine alınıp kuruduktan sonra, eğik konumda 2,5 saat etüvde (57 °C) bekletilerek, kesit içindeki parafinin eritilmesi ve kesitlerin lam üzerine tamamen oturup yayılmaları sağlanmıştır.

Kesitler, daha sonra tam olarak parafinden arındırma, mikroskopik incelemede saydam görünme ve alkol-parafin arası geçişin sağlanabilmesi için, ksilolde bekletilmişlerdir.

3.2.8. Boyama prosedürleri

Ksilolde bir gece bekletilerek parafinden arındırılmış doku kesitleri, genel görünümünü, mast hücreleri, mediatörleri ve degranülasyonu gösterebilmek için spesifik yedi çeşit boya ile boyanmıştır.

Boyama işlemine geçilmeden önce yedi boyama prosedüründe de, dokuların sulu ortamda boyanma prensibine uygun olarak kesitler azalan alkol serilerinden geçirilmiştir:

Sırasıyla, %96, %96, %90, %70, %50, %30’ luk alkollerde 3’ er dakika bekletilmiş ve böylece boyama işlemi için dokuların su almaları sağlanmıştır.

3.2.8.1. Hematoksilin-Eosin boyama

Nötral formalin ile fikse edilmiş doku kesitleri, genel görünüm için bu boya karışımı ile boyanmıştır. Hematoksilin-Eosin boyaları mast hücrelerine özel olmamakla birlikte genel doku görüntüsü elde edebilmek amacıyla kullanılmıştır.

1. Sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika su ile, kesitler düşmeyecek ve zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır.

2. Nükleus boyanması için, hematoksilin boyasında 2,5 dakika süreyle boyanmıştır.

3. İnce akan çeşme suyunda, renk kaybolana kadar yıkanmıştır.

4. Sitoplazma boyanması için, eosin boyasında 1-1,5 dakika süreyle boyanmıştır.

5. İnce akan çeşme suyunda, renk kaybolana kadar yıkanmıştır.

6. Sırasıyla, %70, %80, %90, %96'lık, artan alkol serilerinden 2'şer dakika geçirilmiştir.

7. İçinde alkol bulunan kesitlerin, kapatma materyali olarak kullanılmış olan entellan ile değiş tokuşunu sağlamak için, ilk önce alkol-ksilol arası değişim yapılmış ve iki ayrı ksilolde 50'şer dakika bekletilmiştir.

8. Ksilolden alınan kesitler etrafı düzgünce silinerek entellanla kapatılmış ve daimi preparat haline getirilmiştir.

3.2.8.2. Methilen mavisi ile boyama

Cornoy fiksatif ile fikse edilmiş dokulardan alınan kesitler, mast hücre mediatörlerinden heparini göstermek amacıyla metilen mavisi ile boyanmıştır.

1. Sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika su ile, kesitler düşmeyecek ve zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır.

2. Metilen mavisi boya solüsyonu ile 5 dakika süreyle boyanmıştır.

3. %2'lik asetik asit solüsyonu ile zemin fark edilinceye kadar dikkatlice yıkanmıştır.

4. Çeşme suyu ile iyice yıkanmıştır.

5. Artan alkol serilerinden geçirilerek, iki ayrı ksilolde 50'şer dakika bekletildikten sonra, entellanla kapatılmıştır.

3.2.8.3. Toluidine mavisi ile boyama

Cornoy fiksatif ile fikse edilmiş dokulardan alınan kesitler, mast hücre mediatörlerinden histamini göstermek amacıyla toluidine mavisi ile boyanmıştır.

1. Sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika su ile, kesitler düşmeyecek ve zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır.

2. C solüsyonu ile 4-5 dakika süreyle boyanmıştır.

3. Distile su ile 6 kez yıkanmıştır.

4. %95'lik ve absolü alkol ile hızlıca yıkanarak dehidre edilmiştir.

5. İki ayrı ksilolde 50' şer dakika bekletilip, yeterince saydamlaştıktan sonra, entellan ile kapatılmıştır.

3.2.8.4. Alcian mavisi ile boyama

Cornoy fiksatif ile fikse edilmiş dokulardan alınan kesitler, mast hücre mediatörlerinden histamini göstermek amacıyla alcian mavisi ile boyanmıştır.

1. Sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika su ile, kesitler düşmeyecek ve zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır.
2. Alcian mavisi solüsyonunda 15 dakika süreyle boyanmıştır.
3. Çeşme suyunda iyice durulanmıştır.
4. Tersiyer bütül alkolde dehidre edilmiştir.
5. Artan alkol serilerinden geçirilerek, iki ayrı ksilolde 50' şer dakika bekletildikten sonra, entellanla kapatılmıştır.

3.2.8.5. MayGrunwald-Giemsma ile boyama

Buin fiksatif ile fikse edilmiş dokulardan alınan kesitler, mast hücre mediatörlerinden histamini göstermek amacıyla maygrunwald-giemsma ile boyanmıştır.

1. Sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika su ile, kesitler düşmeyecek ve zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır.
2. A solüsyonunda 6 dakika,
3. B solüsyonunda 45 dakika süreyle boyanmıştır.
4. Distile su ile iyice durulanmıştır.
5. %1' lik asetik asit ile 4 kez yıkanmıştır.
6. Distile su ile iyice durulanmış, artan alkol serilerinden geçirilerek, iki ayrı ksilolde 50' şer dakika bekletildikten sonra, entellanla kapatılmıştır.

3.2.8.6. Modifiye giemsa ile boyama

Kromat fiksatorü ile fikse edilmiş dokulardan alınan kesitler, kromofin granülleri göstermek amacıyla modifiye edilmiş giemsa boyası ile boyanmıştır.

1. Sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika su ile, kesitler düşmeyecek ve zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır.

2. Distile su ile çalkalanmıştır.

3. Giemsa solüsyonunda 1 gece süreyle boyanmış, ardından distile su ile durulanmıştır.

4. Asetik asit solüsyonu ile kesitler pembeleşinceye kadar (yaklaşık 2 dakika) yıkanmış, ardından çeşme suyunda durulanmıştır.

5. Sırasıyla, %70, %80, %90, %96'lık, artan etil alkol serilerinde hızlıca dehidre edilmiştir.

6. İki ayrı ksilolde 50'şer dakika bekletilip saydamlaştırma işleminden sonra entellan ile kapatılmıştır.

3.2.9. Mikroskopi

Deri ve mide bloklarından alınan ve 6 ayrı çeşit boyalarla boyanan kesitler, Olympus CH40 ışık mikroskobu altında, X10' luk, X60' luk ve imversiyon kullanılarak X100' lük büyültmelerde incelenmiştir.

3.2.10. Fotoğrafi

Işık mikroskobu ile incelen kesitlerin mikrografları, Olympus U-PMTVC otomatik fotomikrografi aracı ile X60' luk ve X100' lük büyültmelerde çekilmiştir.

4. BULGULAR

Karvakrol enjekte edilmiş deney gruplarında, deri ve mide fundus kesitleri incelendiğinde genel olarak mast hücrelerinde sayıca artış görülmüştür. Deri ve mide fundustaki mast hücrelerindeki aktivasyona bakıldığında; deride degranülasyon, midede ise özellikle granülasyon yönünden yoğun bir aktivite olduğu görülmektedir.

Deney gruplarındaki deri ve mide fundusta bulunan mast hücreleri genel olarak incelendiğinde, derideki mast hücrelerinin mide fundustakilere göre daha büyük olduğu görülmüştür.

Intraperitoneal yolla zeytinyağı verilen her iki dokudaki pozitif kontrol grupları incelendiğinde, mast hücre sayısının hemen hemen deney gruplarına yakın olduğu, aktivasyonun ise genellikle granülasyon şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Serum fizyolojinin intraperitoneal olarak enjekte edildiği negatif kontrol gruplarında ise mast hücrelerinin normal sayıda ve inaktif durumda oldukları görülmüştür.

Gruplardaki mast hücre lokalizasyonuna bakıldığında, deridekilerin düzensiz sıkı bağ doku içinde kas dokuya yakın olarak, mide fundustaki mast hücrelerinin de gevşek bağ dokuda yaygın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca her iki dokuda da genellikle kan damarları etrafında sıralandıkları göze çarpmaktadır.

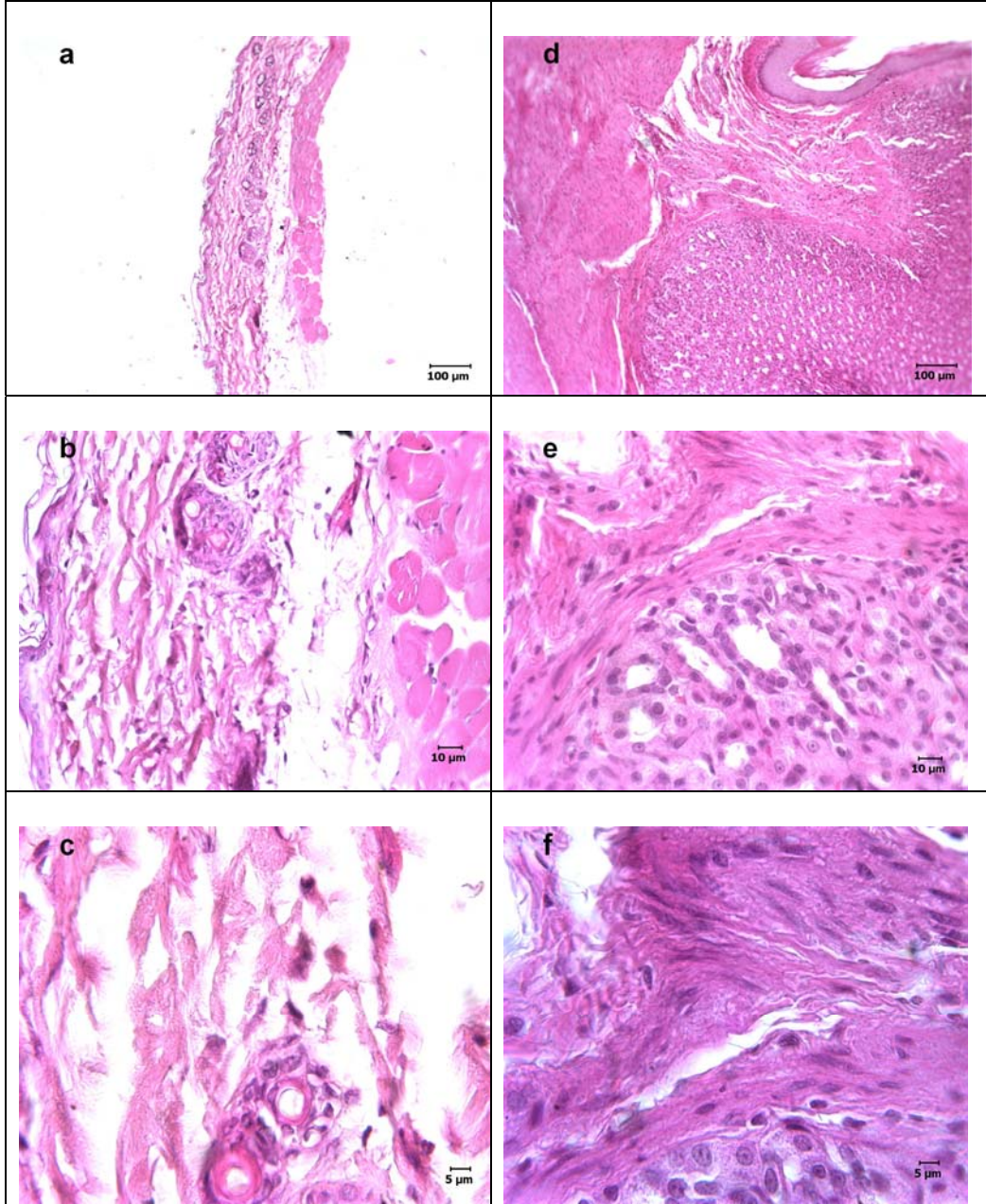
Deri ve mide fundusta bulunan mast hücrelerinin morfolojik olarak birbirlerinden farklı olduğu; deride mekik şeklindeki midede daha oval yapıda bulunduğu görülmektedir.

Üç gruptaki mast hücrelerinin genel büyüklükleri karşılaştırıldığında; deney ve pozitif kontrol gruplarındaki mast hücre boyutlarının birbirine çok yakın olduğu, negatif kontrol gruplarındakilerin ise çok daha ufak olduğu izlenmiştir.

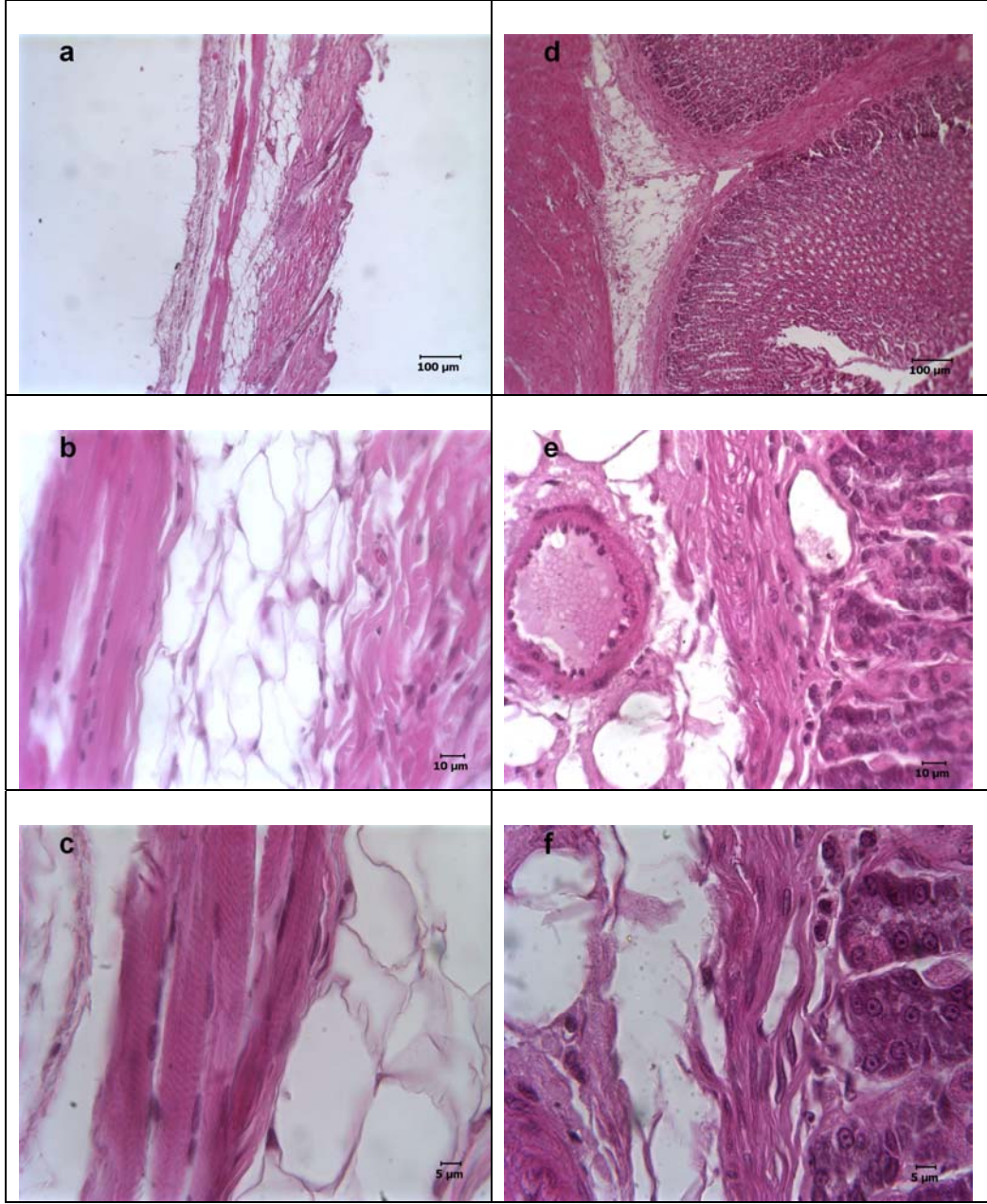
Kullanılan beş boyada da gözlenen bu genel bulguların yanında, mast hücrelerinin kimyasının, enjekte edilen maddeye göre her bir boyaya farklı tepki verdikleri gözlenmiş ve bunlar ayrı başlıklar altında verilmiştir.

4.1. Mide fundus ve deri kesitlerine ait hematoksin-eosin boyama bulguları

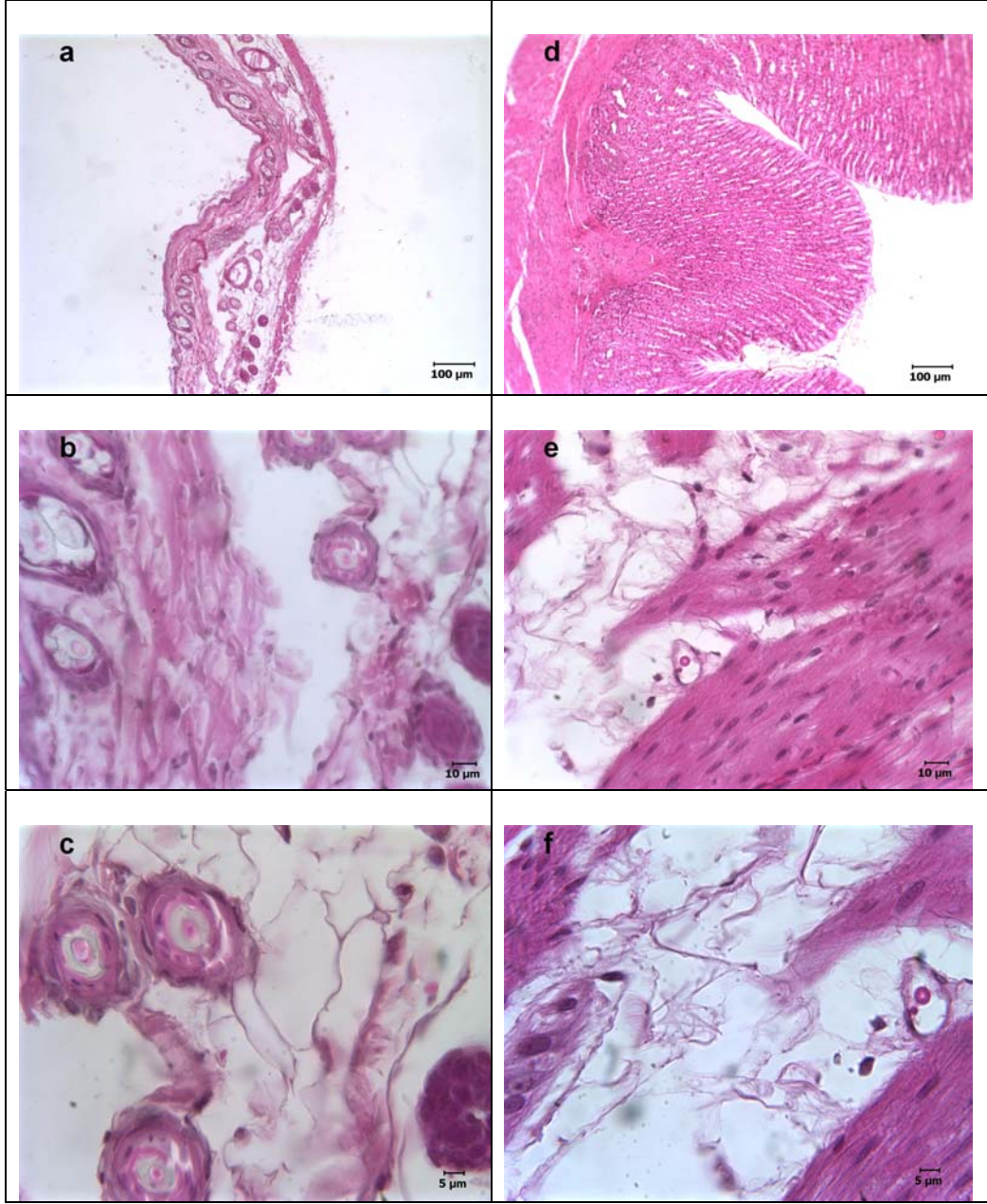
Hematoksin-eosin boyası ile boyanan her üç gruptaki deri ve mide fundus dokularına ait kesitlerde mast hücreleri tespit edilememiştir (Şekil 4.1.a; Şekil 4.1.b; Şekil 4.1.c).



Şekil 4.1.a. Deney grubu mide fundus ve deride hematoksin-eosin ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deri (X60), c) Deri (X100), d) Mide (X10), e) Mide (X60), f) Mide (X100).



Şekil 4.1.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride hematoksin-eosin ile boyanmış kesitler.
a) Deri (X10), b) Deri (X60), c) Deri (X100), d) Mide (X10), e) Mide (X60), f) Mide (X100).



Şekil 4.1.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride hematoksilin-eosin ile boyanmış kesitler.
a) Deri (X10), b) Deri (X60), c) Deri (X100), d) Mide (X10), e) Mide (X60), f) Mide (X100).

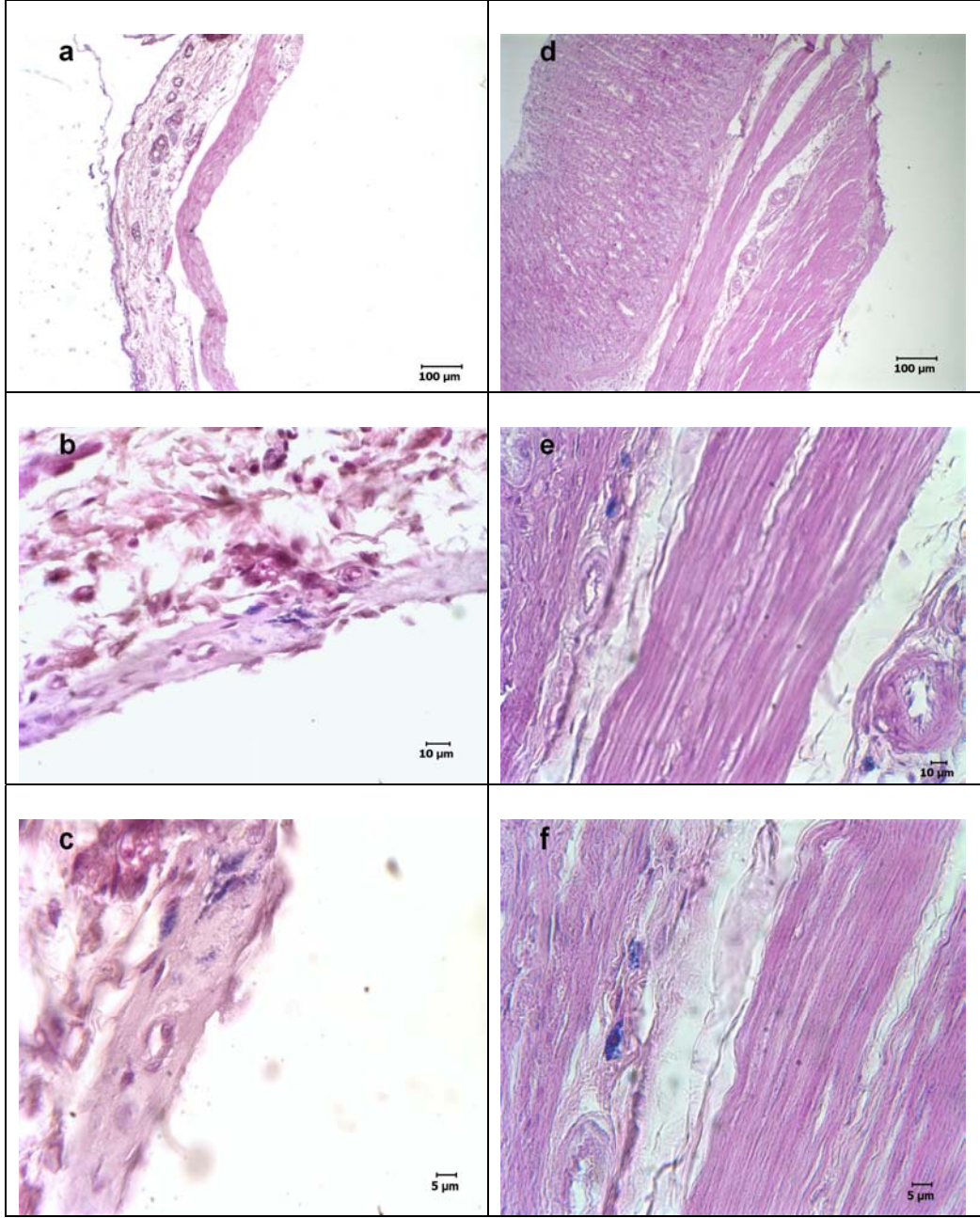
4.2. Mide fundus ve deri kesitlerine ait maygrunwald-giemsas boyama bulguları

Maygrunwald-giemsas boyası ile boyamaktaki amaç, mast hücrelerinde histamin mediatörü varlığını araştırmaktır.

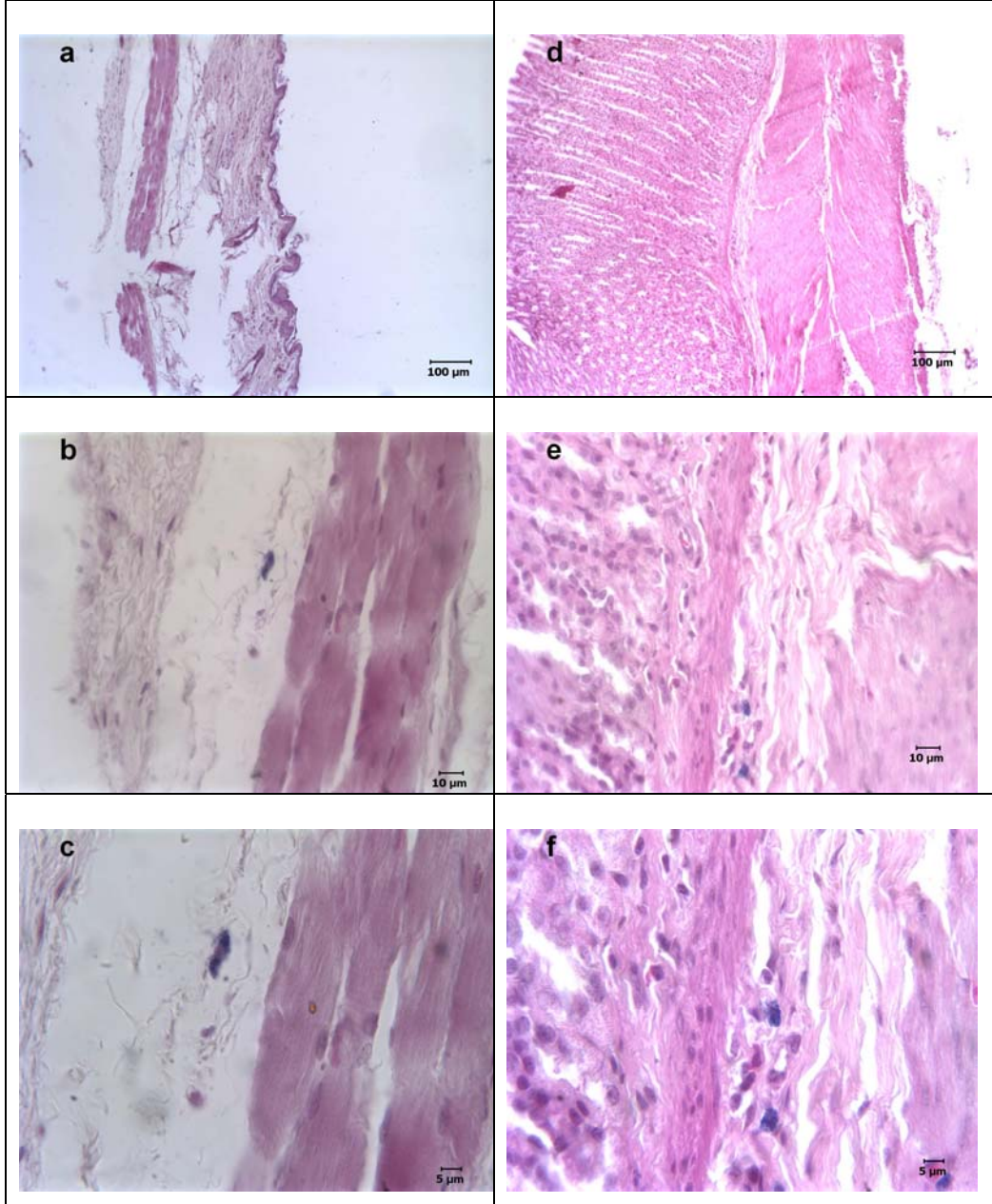
Mide fundus deney gruplarındaki mast hücrelerinin açık mavi-mor renkte, çekirdekleri mavi boyandığı ve degranülasyona yakın granülasyon aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Deri deney gruplarında ise mast hücrelerinin sadece mor boyandığı ve degranülize oldukları izlenmiştir (Şekil 4.2.a).

Pozitif kontrol grubu mide dokusundaki mast hücreleri mavi renkte boyanıp granülasyon gösterirken, derideki mast hücreleri koyu mor boyanmış ve genellikle inaktif durumda izlenmiştir (Şekil 4.2.b).

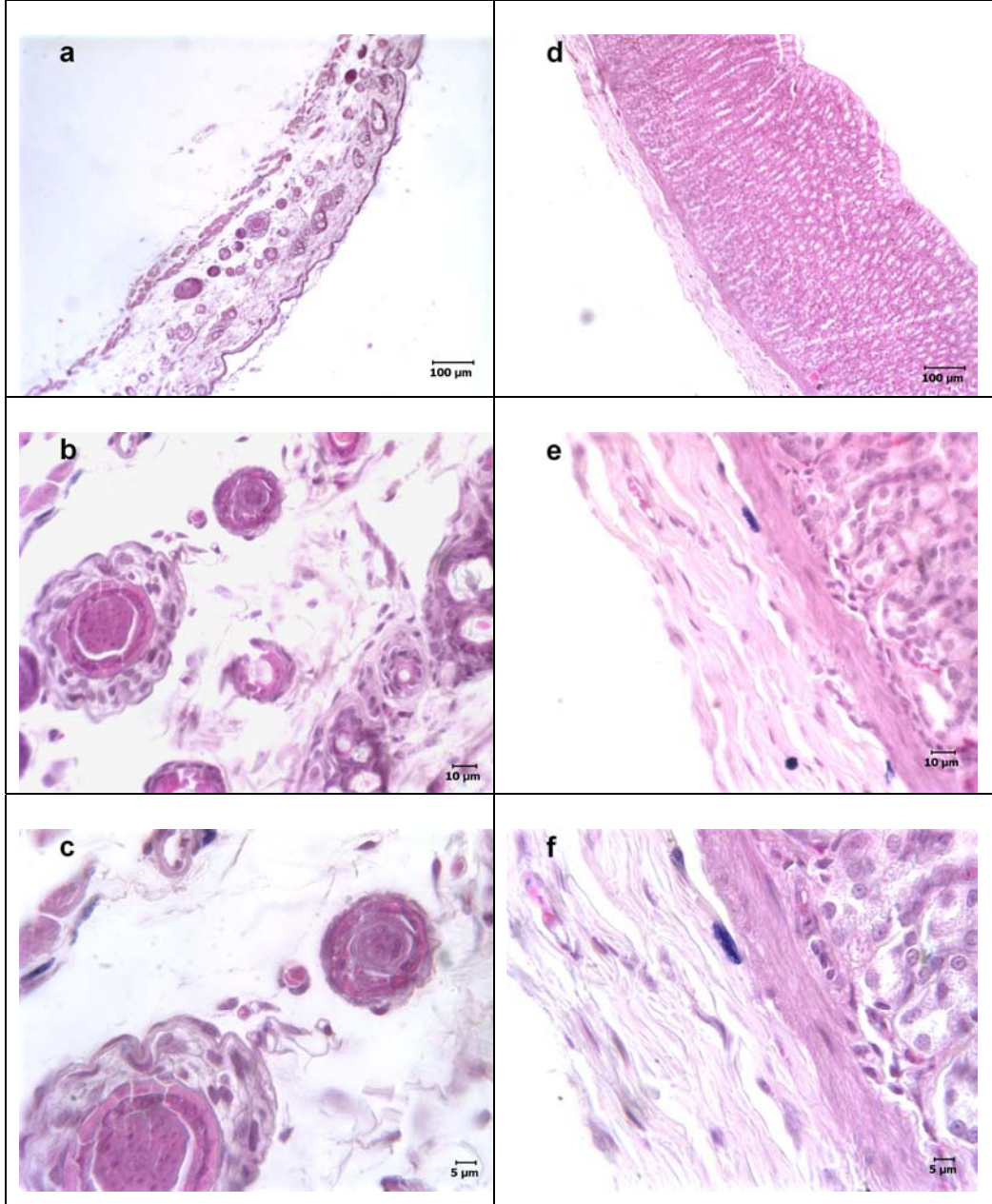
Negatif kontrol gruplarında her iki doku tipinde de koyu mor boyanmış ve pasif mast hücreleri görülmüştür (Şekil 4.2.c).



Şekil 4.2.a. Deney grubu mide fundus ve deride maygrunwald-giemsas ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride açık mor boyanmış ve degranülize olmuş mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede açık mavi-mor, çekirdek mavi boyanmış, degranülize ve granülize olmuş mast hücreleri (X100).



Şekil 4.2.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride maygrunwald-giemsma ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücresi (X60), c) Deride koyu mor boyanmış inaktif mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede mavi boyanmış ve granülize olmuş mast hücreleri (X100).



Şekil 4.2.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride maygrunwald-giemsma ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride koyu mor boyanmış inaktif mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede koyu mavi boyanmış pasif mast hücresi (X100).

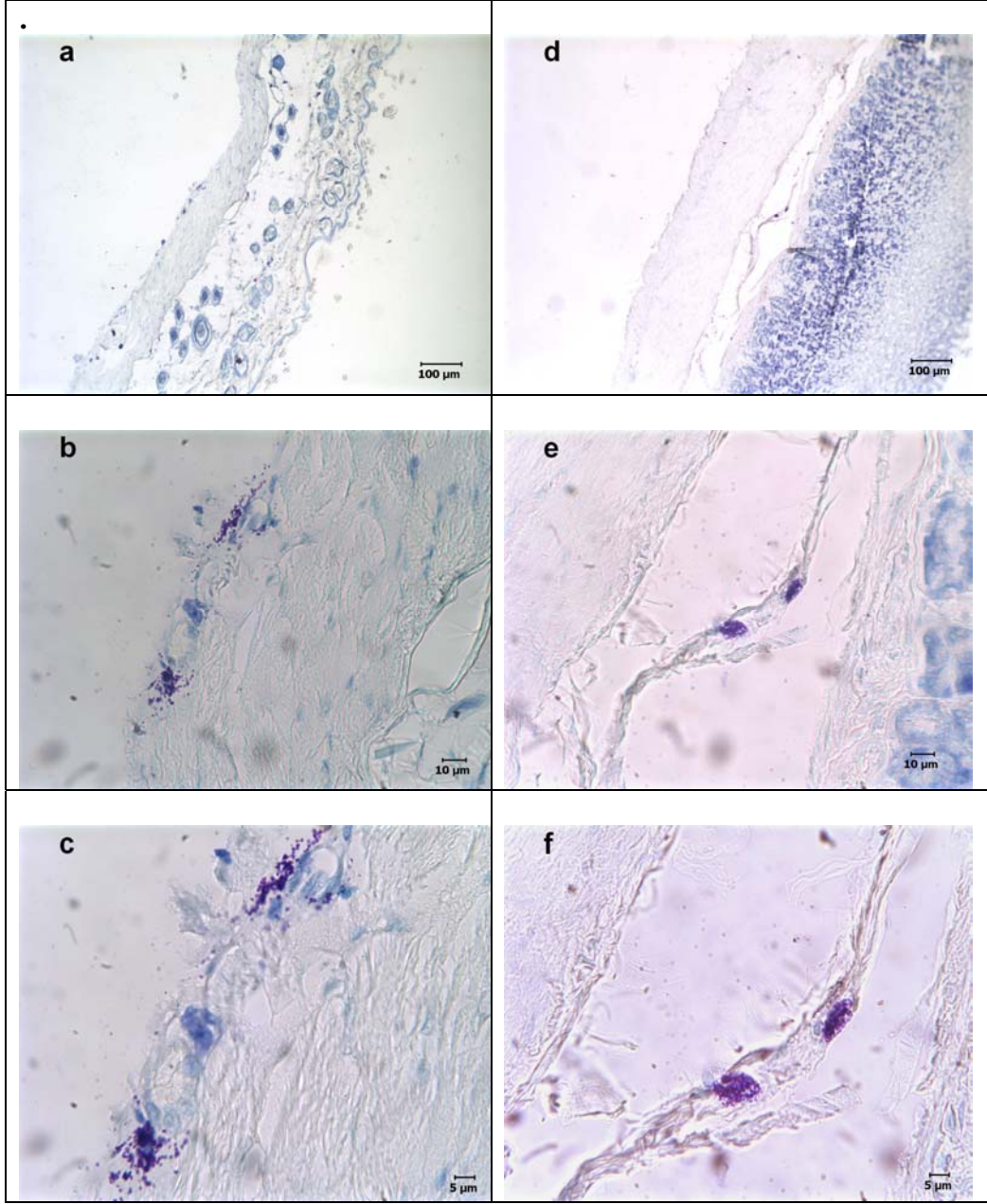
4.3. Mide fundus ve deri kesitlerine ait toluidine mavisi boyama bulguları

Toluidine mavisi boyası ile boyamadaki amaç, mast hücrelerinde histamin mediatörü varlığını araştırmaktır.

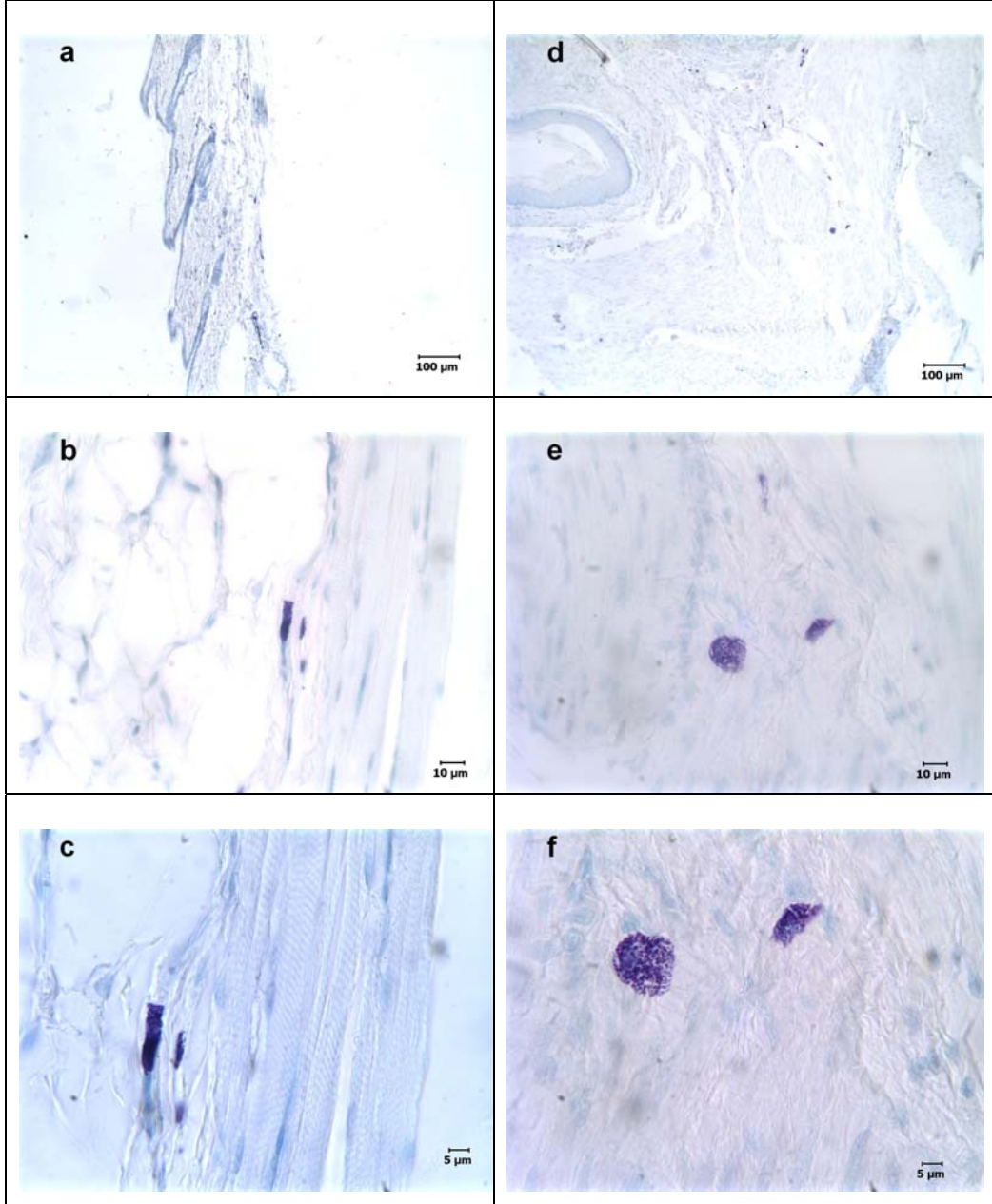
Mide fundus deney gruplarındaki mast hücrelerinin açık mor renkte boyandığı ve degranülasyona yakın granülasyon aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Deri deney gruplarında ise mast hücrelerinin koyu mor-mavi boyandığı ve degranülize oldukları izlenmiştir (Şekil 4.3.a).

Pozitif kontrol grubu mide dokusundaki mast hücreleri açık mor renkte boyanıp granülize olmuşlardır. Derideki mast hücreleri koyu mor-mavi boyanmış ve granülize durumda izlenmiştir (Şekil 4.3.b).

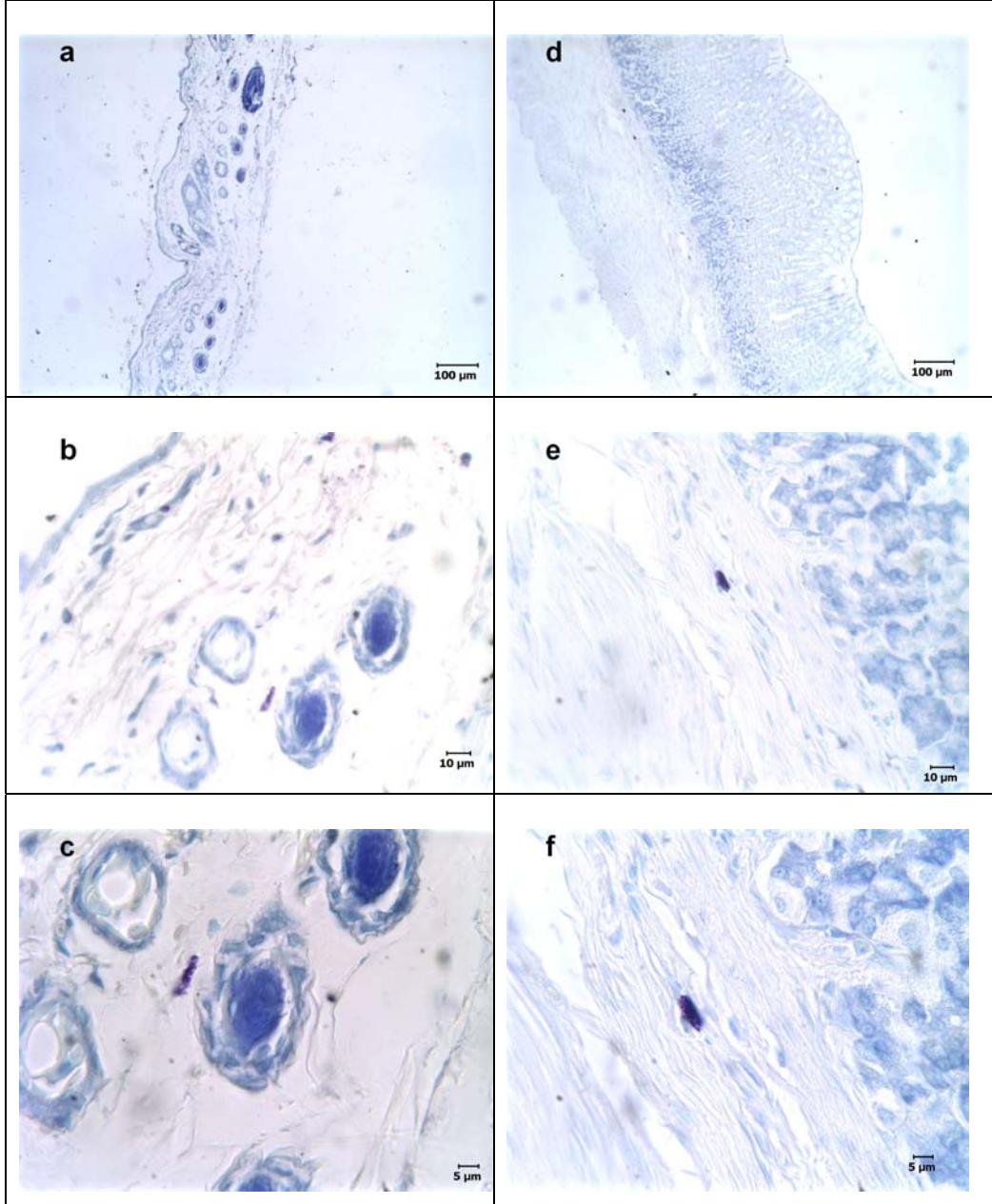
Negatif kontrol gruplarında her iki doku tipinde de koyu mor-mavi boyanmış ve pasif mast hücreleri görülmüştür (Şekil 4.3.c).



Şekil 4.3.a. Deney grubu mide fundus ve deride toluidine mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride koyu mor-mavi boyanmış degranülize mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede açık mor boyanmış granülize-degranülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.3.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride toluidine mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride koyu mor-mavi boyanmış granülize mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede açık mor boyanmış granülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.3.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride toluidine mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücresi (X60), c) Deride koyu mor-mavi boyanmış pasif mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücresi (X60), f) Midede koyu mor-mavi boyanmış pasif mast hücresi (X100).

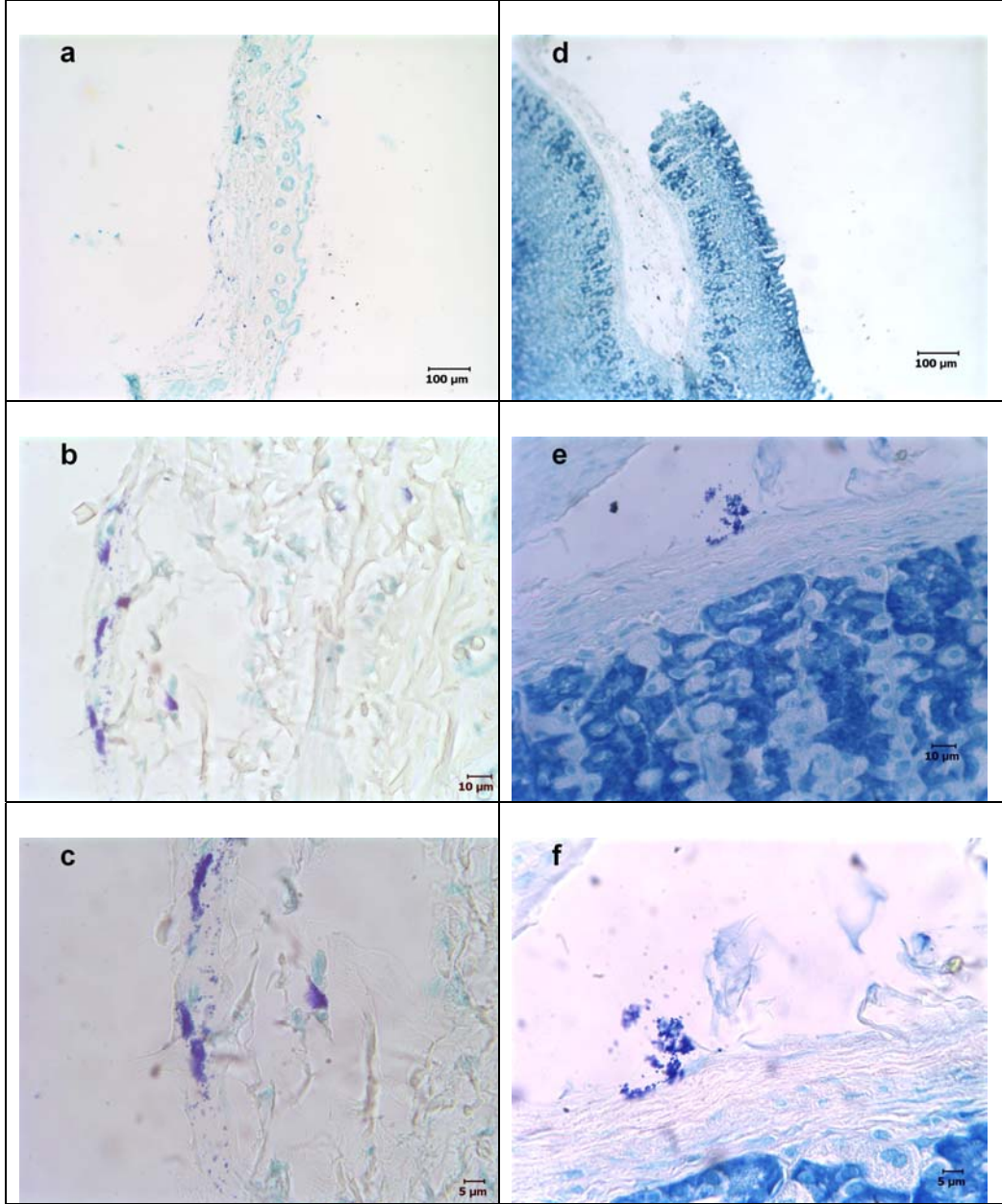
4.4. Mide fundus ve deri kesitlerine ait metilen mavisi boyama bulguları

Metilen mavisi boyası ile boyamadaki amaç, mast hücrelerinde heparin mediatörü varlığını araştırmaktır.

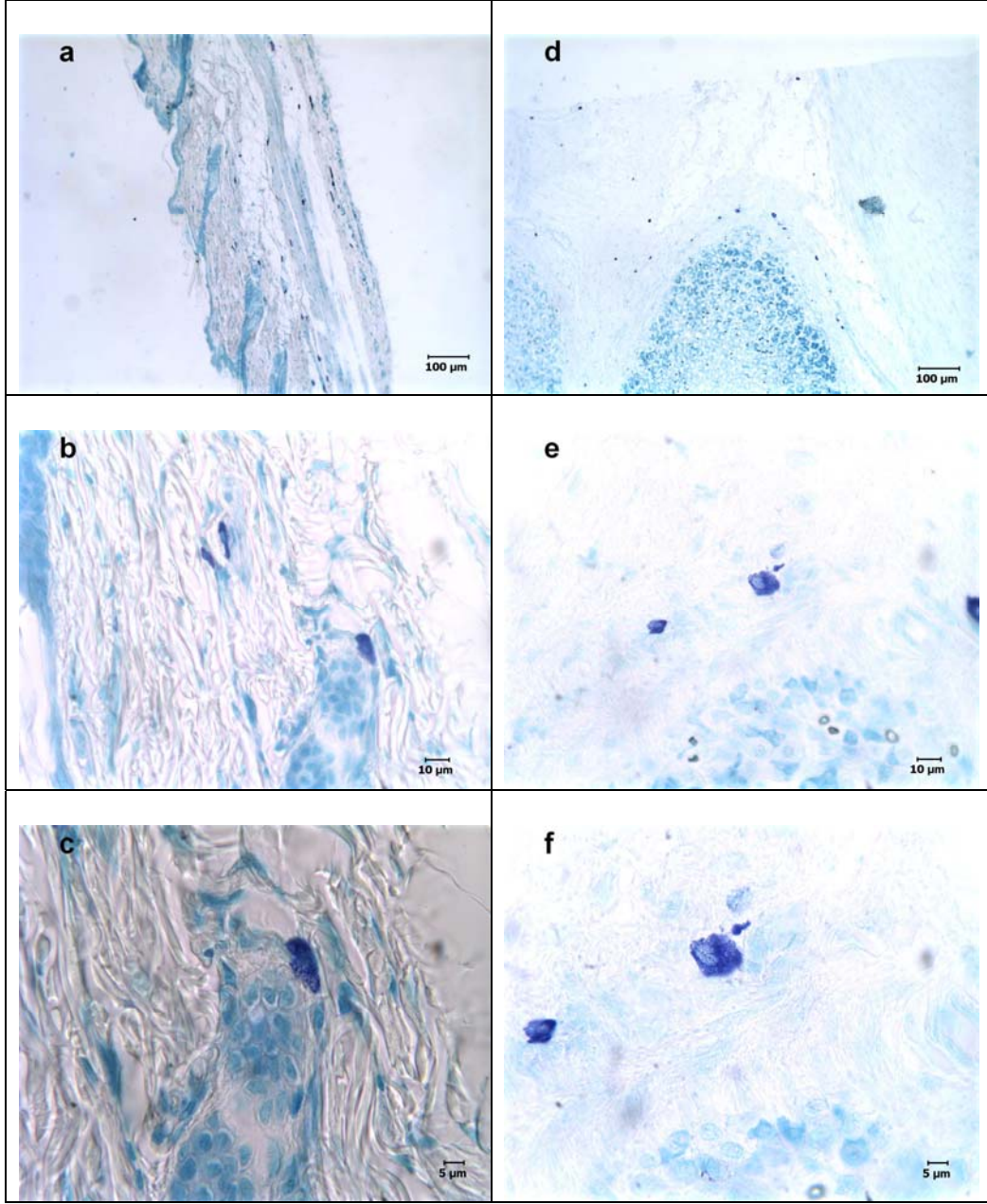
Karvakrol enjekte edilen deri deney gruplarında mast hücrelerinin açık mor-menekşe boyanarak degranülasyon gösterdikleri izlenmiştir. Mide fundus deney gruplarında ise açık mor boyanmaya rastlanmamış, mavi boyanan ve degranülize olan mast hücreleri gözlenmiştir (Şekil 4.4.a).

Deri ve mide fundusa ait pozitif kontrol gruplarındaki mast hücreleri mavi renge boyanarak granülize olmuşlardır (Şekil 4.4.b).

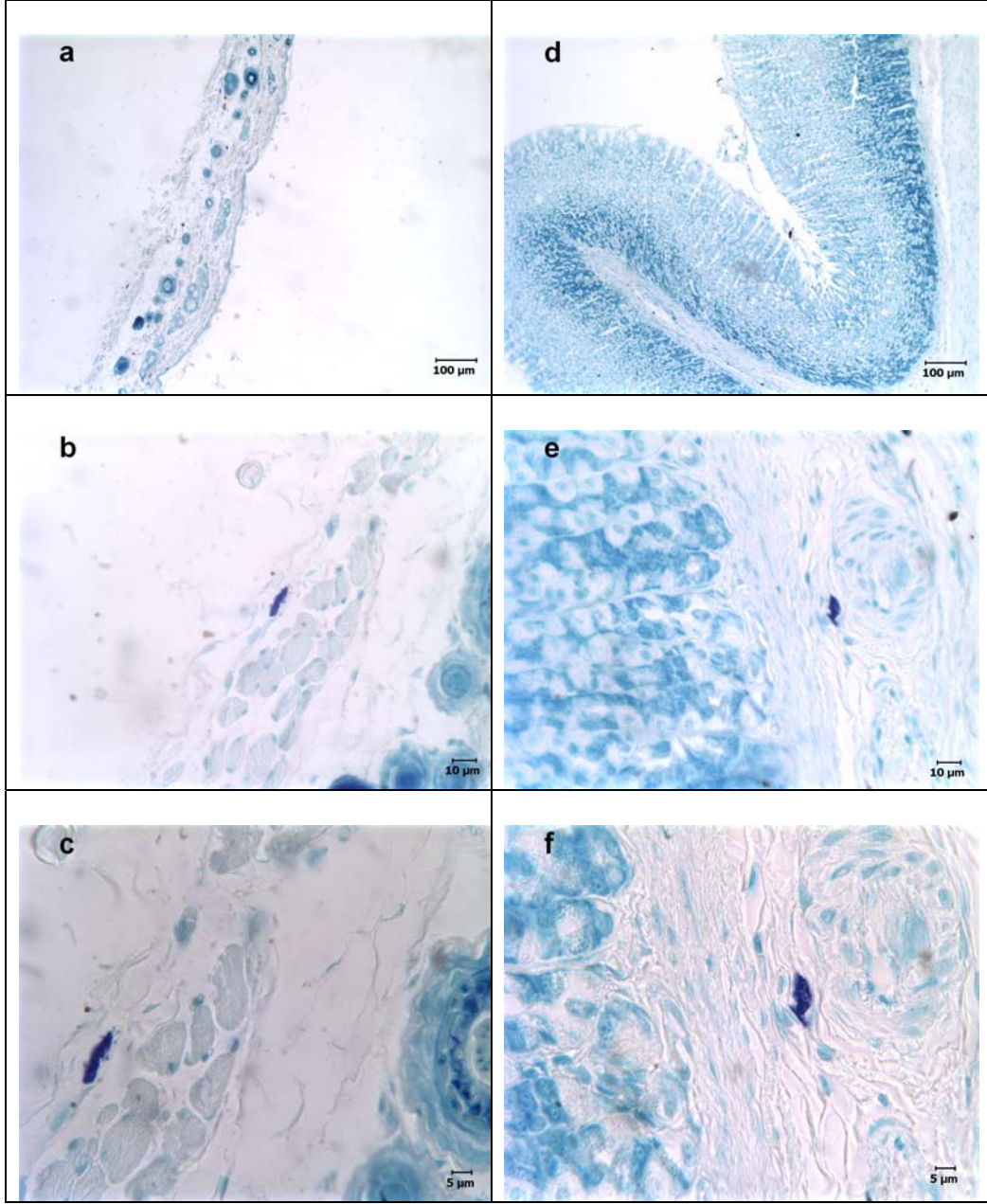
Negatif kontrol grubundaki her iki dokuya ait kesitlerde koyu mavi boyanmış ve hiçbir aktivite gözlenmemiştir (Şekil 4.4.c).



Şekil 4.4.a. Deney grubu mide fundus ve deride methilen mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride açık mor-menkşe boyanmış degranülize mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede mavi boyanmış degranülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.4.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride methilen mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride mavi boyanmış granülize mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede mavi boyanmış granülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.4.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride methilen mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücresi (X60), c) Deride koyu mavi boyanmış pasif mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücresi (X60), f) Midede koyu mavi boyanmış pasif mast hücresi (X100).

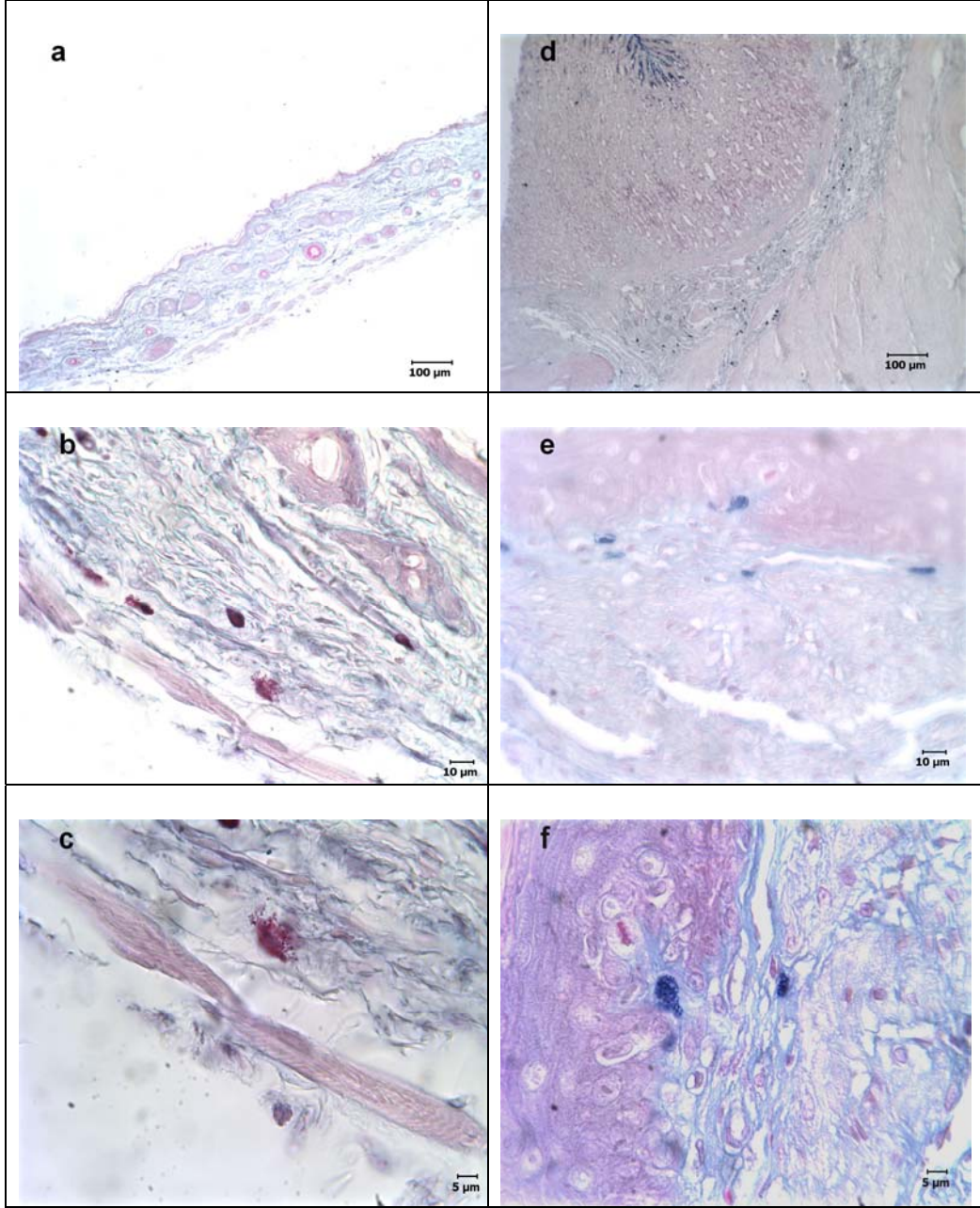
4.5. Mide fundus ve deri kesitlerine ait alcian mavisi boyama bulguları

Alcian mavisi boyası hem heparin hem de histamin mediatörlerini göstermek için kullanılmıştır.

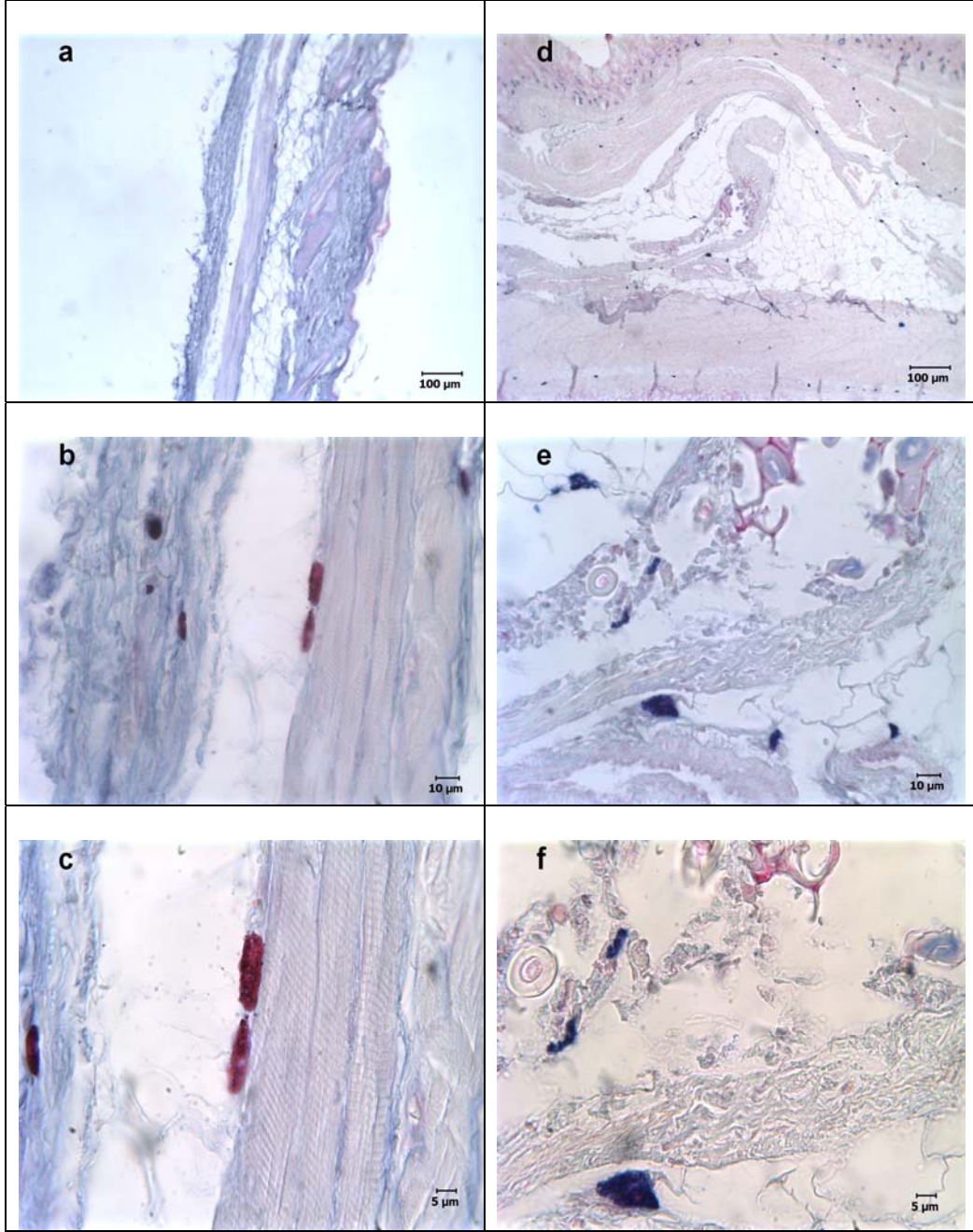
Deri deney gruplarına bakıldığında mast hücrelerinin kırmızı boyandığı ve degranülize oldukları gözlenmiştir. Mide fundus bölgesine ait kesitlerde ise mast hücreleri mavi boyanmış ve granülize olmuşlardır (Şekil 4.5.a).

Zeytinyağı verilen deri dokusunun kontrol gruplarındaki mast hücreleri, koyu kırmızı boyanmış ve granülasyon göstermişleridir. Mide de ise koyu mavi boyanan ve granülize olmuş mast hücreleri saptanmıştır (Şekil 4.5.b).

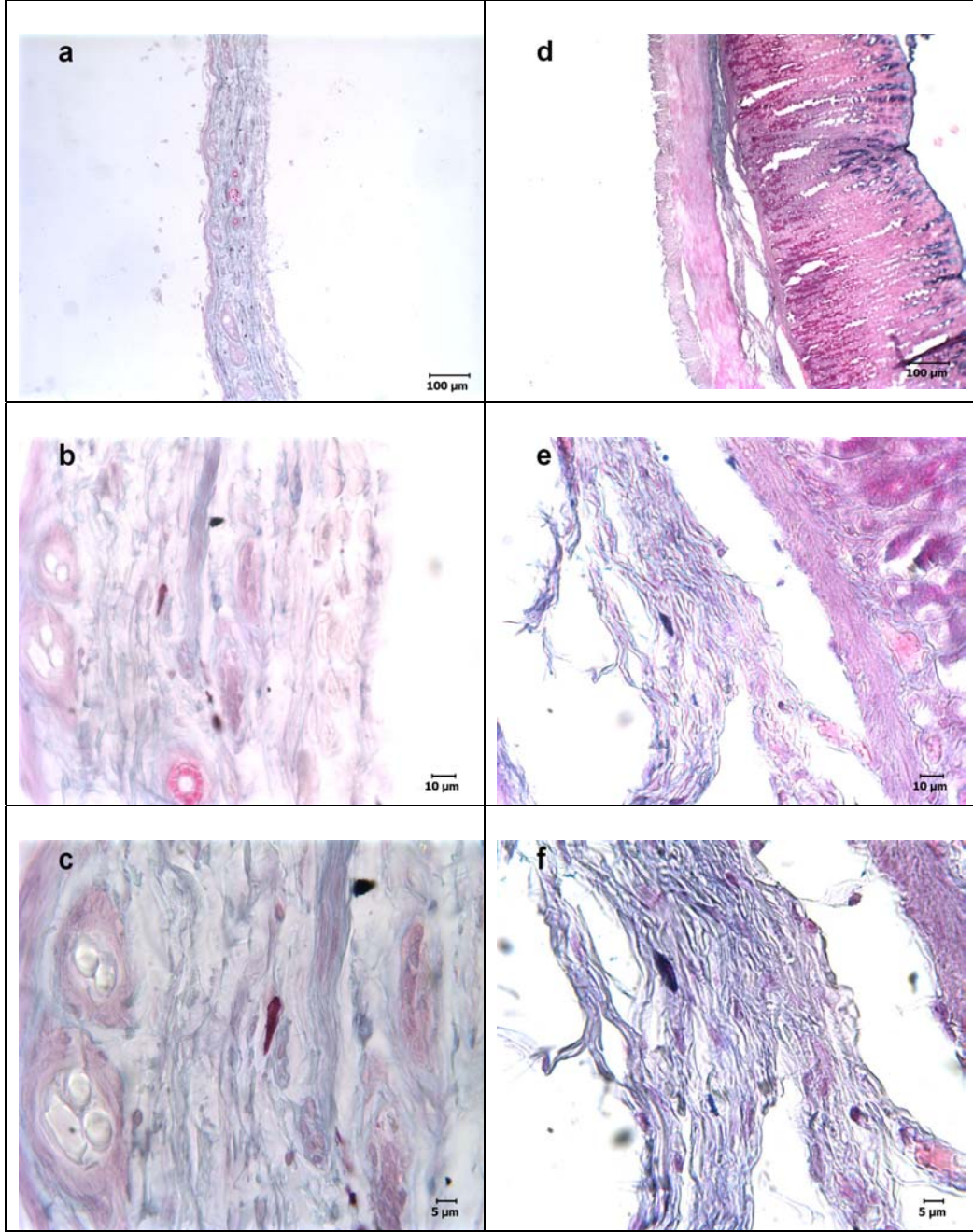
Serum fizyolojik enjekte edilen negatif kontrol deri gruplarında koyu kırmızı boyanan pasif mast hücreleri görülmüştür. Mide fundusa ait negatif kontrol grubundaki mast hücreleri koyu mavi boyanmış pasif hücreler olarak izlenmiştir (Şekil 4.5.c).



Şekil 4.5.a. Deney grubu mide fundus ve deride alcian mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride kırmızı boyanmış degranülize mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede mavi boyanmış granülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.5.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride alcian mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride koyu kırmızı boyanmış granülize mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede koyu mavi boyanmış granülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.5.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride alcian mavisi ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücresi (X60), c) Deride koyu kırmızı boyanmış inaktif mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücresi (X60), f) Midede koyu mavi boyanmış inaktif mast hücresi (X100).

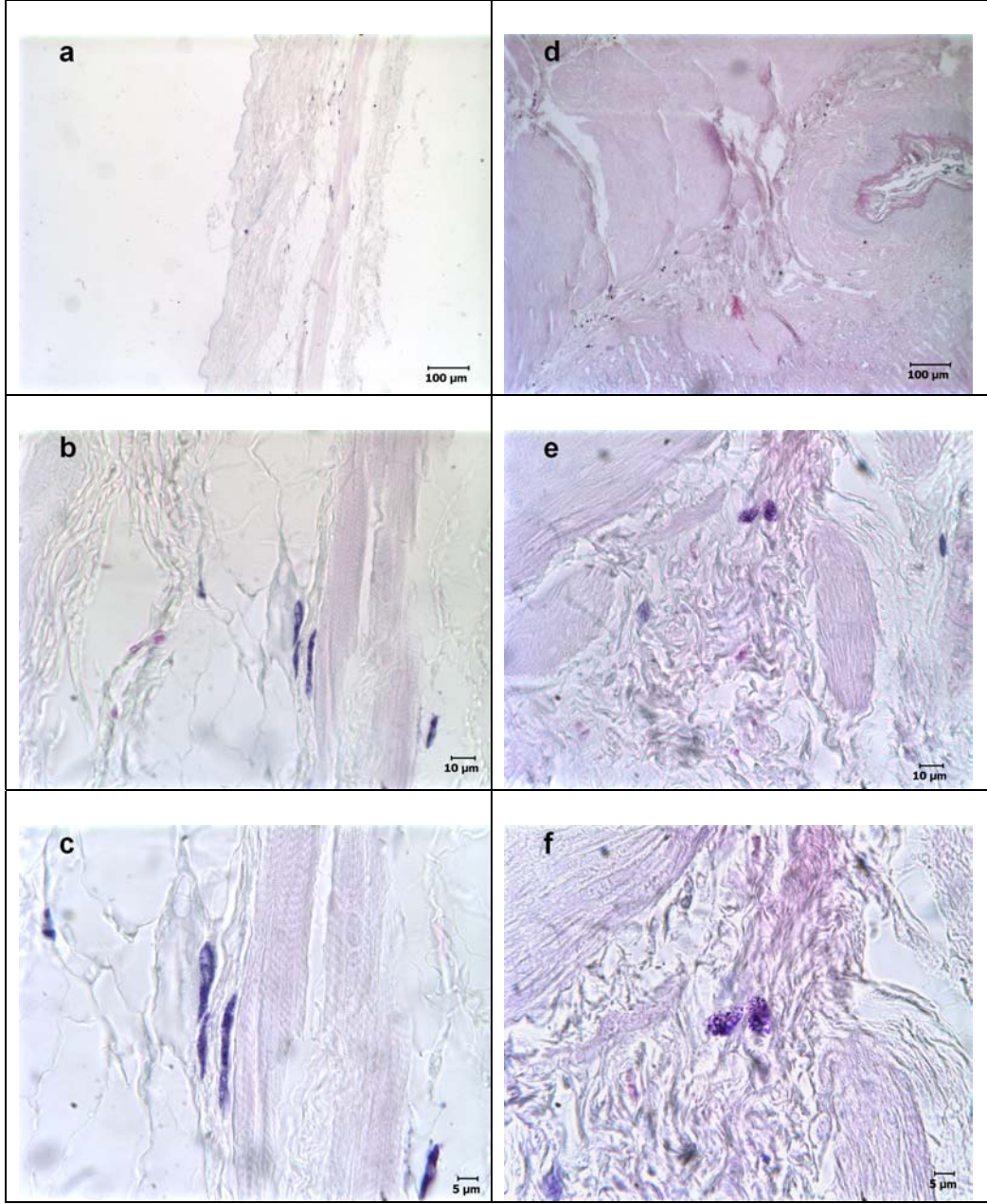
4.6. Mide fundus ve deri kesitlerine ait modifiye edilmiş giemsa boyama bulguları

Modifiye edilmiş giemsa boyası serotonin mediatörünü göstermek için kullanılmıştır.

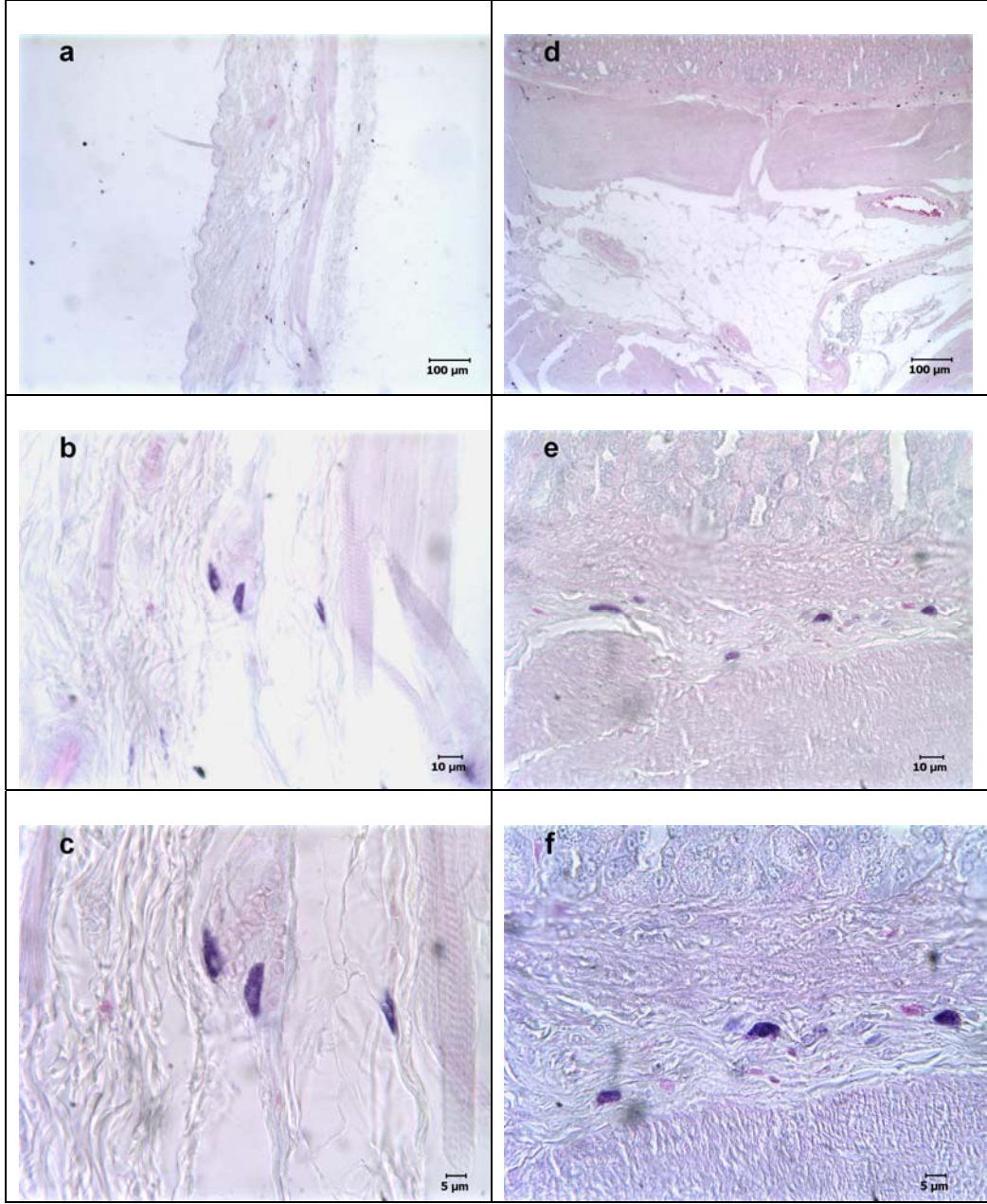
Deney deri gruplarındaki mast hücreleri degranülasyona yakın bir granülasyon göstermiş ve açık mavi boyanmıştır. Midede de aynı şekilde bir aktivite olup, açık mor rengine boyanmış mast hücreleri izlenmiştir (Şekil 4.6.a). Deride ve mide fundusta cam yeşili boyanan bir mast hücrelerine rastlanmamıştır.

Pozitif kontrol grubu deri kesitlerindeki mast hücreleri mora boyanıp granülize olmuşlardır. Midedeki hücrelerde mora boyanmış fakat pasif olarak izlenmiştir (Şekil 4.6.b).

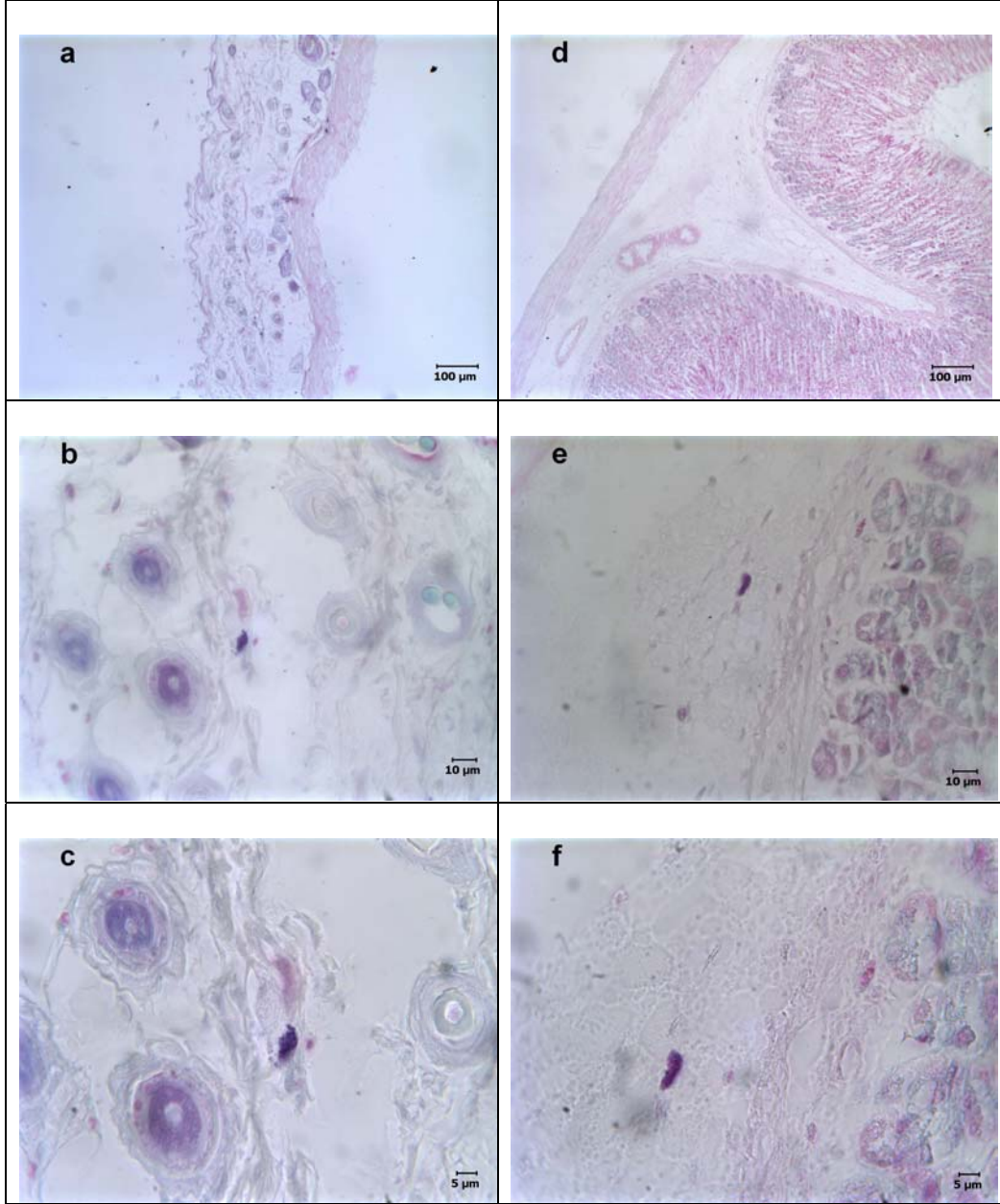
Her iki dokunun da negatif kontrol grubu kesitleri mor rengine boyanmış ve inaktif durumda olarak gözlenmiştir (Şekil 4.6.b).



Şekil 4.6.a. Deney grubu mide fundus ve deride modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride açık mavi boyanmış granülize mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede açık mor boyanmış granülize mast hücreleri (X100).



Şekil 4.6.b. Pozitif kontrol grubu mide fundus ve deride modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücreleri (X60), c) Deride mor boyanmış granülize mast hücreleri (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücreleri (X60), f) Midede mor boyanmış inaktif mast hücreleri (X100).

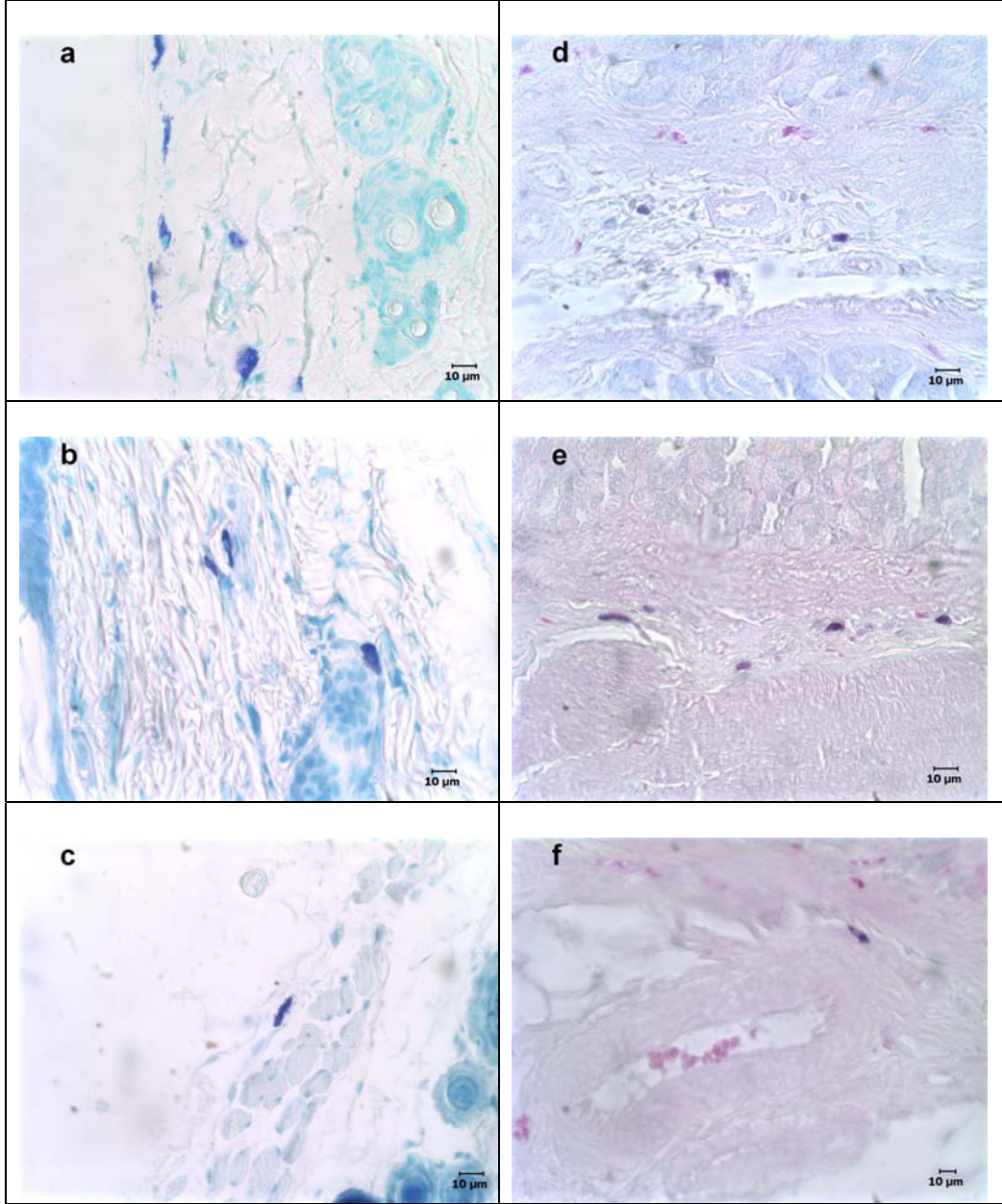


Şekil 4.6.c. Negatif kontrol grubu mide fundus ve deride Modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış kesitler. a) Deri (X10), b) Deride mast hücresi (X60), c) Deride mor boyanmış pasif mast hücresi (X100), d) Mide (X10), e) Midede mast hücresi (X60), f) Midede mor boyanmış pasif mast hücresi (X100).

4.7. Deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait mide fundus ve deri kesitlerinde mast hücre sayısının karşılaştırılmasına ait bulgular

Bu çalışmada kullanılan her beş boyaya ve her iki dokuya ait kesitlerde mast hücreleri sayısal değerleri incelenmiştir. Kekik uçucu yağı enjekte edilen deney gruplarında mast hücrelerinin sayısının ,serum fizyolojik verilen negatif kontrol gruplarına oranla yaklaşık %90 arttığı tespit edilmiştir. Zeytinyağı enjekte edilen pozitif kontrol gruplarına bakıldığında hemen hemen deney gruplarındaki artışla benzer olduğu ve negatif kontrol gruplarındaki mast hücre yoğunluğuna göre %70 oranında artış olduğu görülmektedir.

Elde edilen bu niceliksel veriler, deneyde mast hücrelerine özel olarak kullanılan beş boya arasından ikisi örnek olarak seçilmiş ve gösterilmiştir (Şekil 4.7).

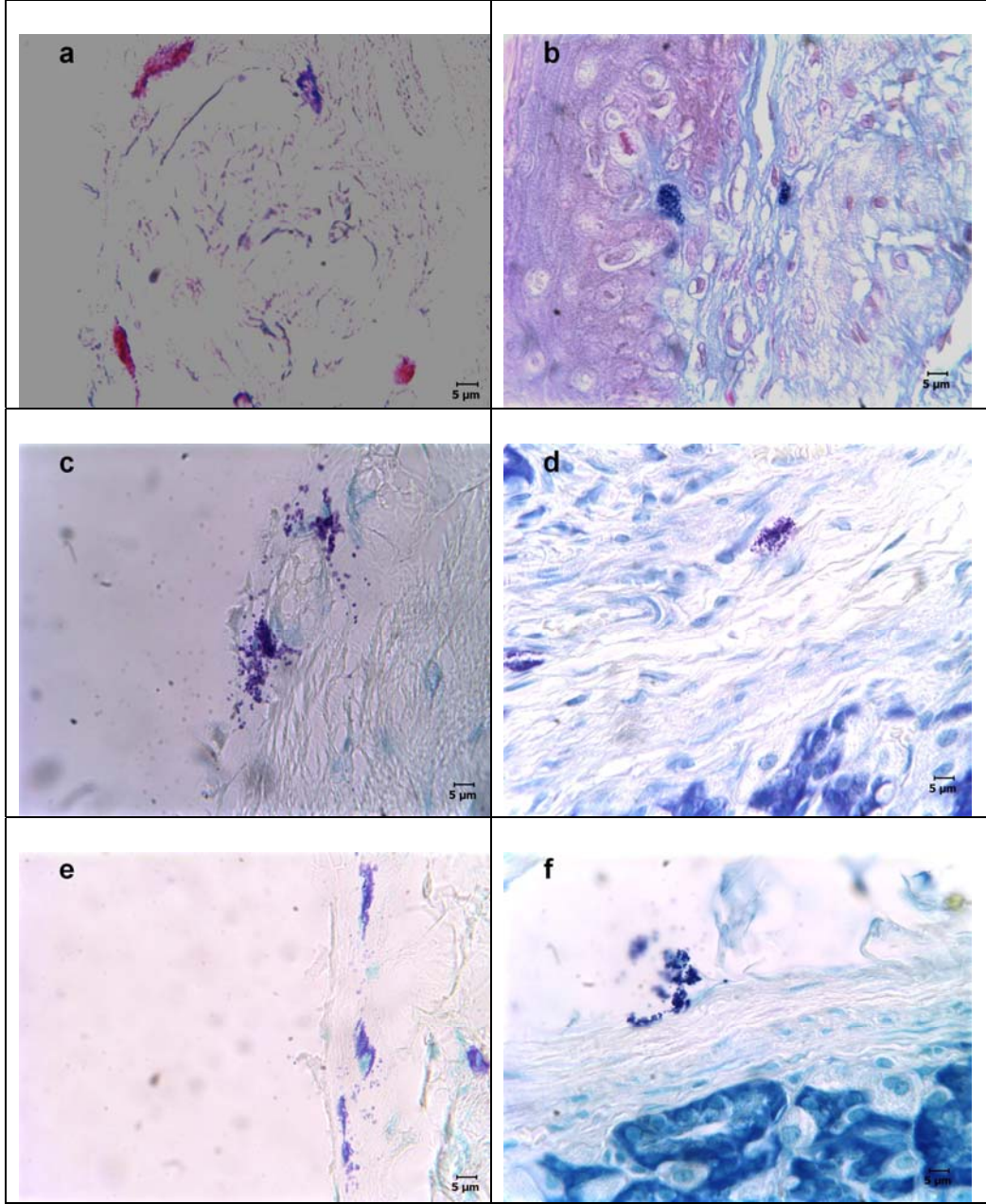


Şekil 4.7 Deri ve mide fundus kesitlerinde deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarında mast hücre sayılarının karşılaştırılması. a) Metilen mavisi ile boyanmış deney grubu deri kesitinde mast hücreleri (X60), b) Metilen mavisi ile boyanmış pozitif kontrol grubu deri kesitinde mast hücreleri (X60), c) Metilen mavisi ile boyanmış negatif kontrol grubu deri kesitinde mast hücresi (X60), d) Modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış deney grubu mide fundus kesitinde mast hücreleri (X60), e) Modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış pozitif kontrol grubu mide fundus kesitinde mast hücreleri (X60), f) Modifiye edilmiş giemsa ile boyanmış negatif kontrol grubu mide fundus kesitinde mast hücresi (X60).

4.8. Deney gruplarına ait mide fundus ve deri kesitlerinde mast hücre heparin ve histamin mediatörlerinin karşılaştırılmasına ait bulgular

Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre deri mast hücrelerinin heparin yoğunluklu, mide fundus mast hücrelerinin ise histamin yoğunluklu olduğu net bir şekilde gösterilmektedir.

Şekil 4.8, a ve b ye bakıldığında, deride kırmızı, mide de mavi boyanan mast hücreleri belirlenmiştir. Toluidine boyası ile boyanan deri mast hücrelerinin koyu mavi-mor, midedekilerin ise beklenen şekilde açık mor olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.8, c ve d). Şekil 4.8, e ve f de gösterildiği gibi methilen mavisi boyamasının deri kesitlerinin açık mor-menekşe boyandığı, mide fundus mast hücrelerinin ise sadece mavi olduğu görülmüştür.



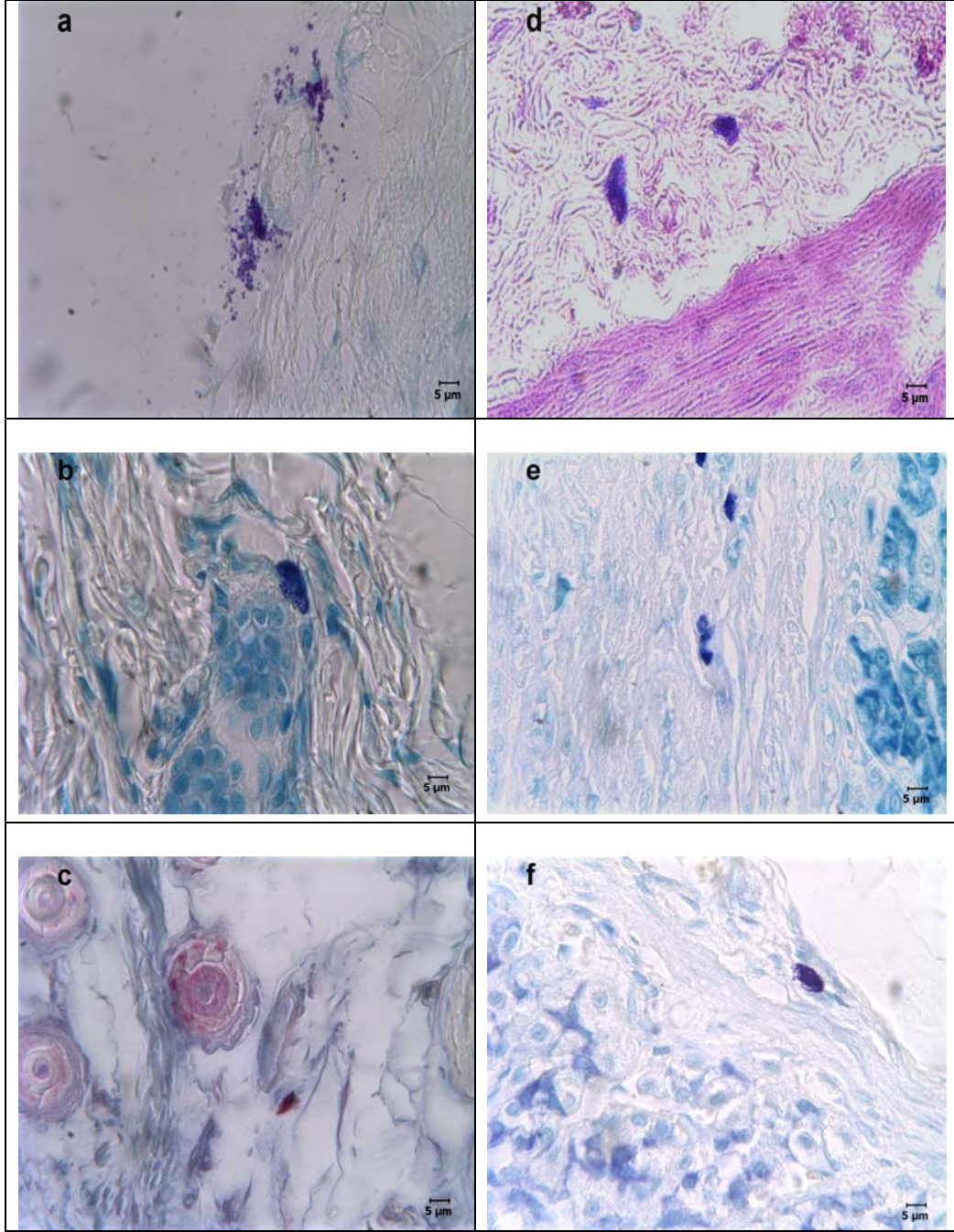
Şekil 4.8 Deri ve mide fundus kesitlerine ait deney gruplarında heparin ve histamin mediatörlerinin karşılaştırılması. a) Alcian mavisi ile boyanmış deney grubu deri kesitinde kırmızı heparin pozitif mast hücreleri (X100), b) Alcian mavisi ile boyanmış deney grubu mide fundus kesitinde mavi histamin pozitif mast hücreleri (X100), c) Toluidine mavisi ile boyanmış deney grubu deri kesitinde koyu mor-mavi histamin negatif mast hücreleri (X100), d) Toluidine mavisi ile boyanmış deney grubu mide fundus kesitinde açık mor histamin pozitif mast hücresi (X100), e) Metilen mavisi ile boyanmış deney grubu deri kesitinde açık mor-menekşe heparin pozitif mast hücreleri (X100), f) Metilen mavisi ile boyanmış deney grubu mide fundus kesitinde mavi heparin negatif mast hücreleri (X100).

4.9. Deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarına ait mide fundus ve deri kesitlerinde mast hücre aktivitesinin karşılaştırılmasına ait bulgular

Mast hücrelerine özel farklı boyalarla boyanan tüm görüntüler incelendiğinde, deri ve mide kesitlerinin X100' lük görüntüleri, morfolojileri ve aktiviteleri hakkında net bir bilgi vermektedir.

Şekil 4.9'da görüldüğü gibi derideki deney gruplarında mast hücreleri degranülasyon göstermektedir. Pozitif kontrollerde granülasyon göze çarpmakta iken, negatif kontrollerde mast hücreleri inaktif durumdadırlar (Şekil 4.9, b ve c).

Mide fundus bölgesi masta özel boyamalara ait kesitler aktivasyon yönünden incelendiğinde, karvakrol verilen deney gruplarında granülasyon yoğunlukta olmakta birlikte degranülize-granülize arası bir görünüm izlenmiştir (Şekil 4.9, d). Zeytinyağı enjekte edilmiş olan pozitif kontrol gruplarında, derideki gibi granülasyon tespit edilmiştir (Şekil 4.9, e). Deridekine benzer şekilde, negatif kontrollere ait tüm mide fundus boyamalarında pasif mast hücreleri görülmektedir (Şekil 4.9, f).



Şekil 4.9 Deri ve mide fundus kesitlerinde farklı boyalara ait deney, pozitif ve negatif kontrol gruplarında mast hücre aktivitesi karşılaştırılması. a) Toluidine mavisi ile boyanmış, degranülize olmuş deri mast hücreleri (X100), b) Methilen mavisi ile boyanmış, granülize olmuş deri mast hücresi (X100), c) Alcian mavisi ile boyanmış, inaktif deri mast hücresi (X100), d) Maygrunwald giemsa boyası ile boyanmış, mide fundusa ait degranülize-granülize arası mast hücreleri (X100), e) Methilen mavisi ile boyanmış, granülize olmuş mide fundus mast hücreleri (X100), f) Toluidine mavisi ile boyanmış mide fundusa ait inaktif mast hücresi (X100).

Tablo 4.1- MMC ve CTMC mediatörlerinin boyanma bulguları

Doku Çeşitleri	Boyalara Göre Heparin- Histamin- Serotonin İçerikleri					
	Methilen Mavisi (Heparin)	Toluidine Mavisi (Histamin)	MayGrunwald-Giemsa (Histamin)	Modifiye-Giemsa (Serotonin)	Alcian Mavisi	
					Heparin	Histamin
Mukozal Mast Hücreleri (Mide)	-	+	+	-	-	+
Bağ Dokusu Mast Hücreleri (Deri)	+	-	-	-	+	-

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde kekik adıyla bilinen bitkilerin genellikle *Thymus* türlerine ait bitkiler olduğu kayda geçmiş olmakla birlikte, halk arasında kekik olarak kullanılan bitkilerin daha çok *Origanum* türlerine ait oldukları bilinmektedir (Baytop 1999; Aydın ve ark. 1996). Yapılan bilimsel çalışmalarda, içeriğinde karvakrol bulunduran kekiğin, şap hastalığına karşı etkili olduğu, uyarıcı, analjezik (Demirhan 1974), antiparazitik, antihelmintik (Başer ve ark. 1986), diüretik (Sotti ve ark. 1989), antiviral (Teuscher 1990), antibakteriyal (Kıvanç ve Akgül 1986; Dortunç ve Çevikbaş 1992; Dortunç 1990), antifungal (Caccioni 1992) etkiye ve antidot (Garland 1979) olma özelliğine sahip olduğu kanıtlanmıştır.

O. Onites L. uçucu yağının bileşimi üzerine yapılan bir araştırmada uçucu yağ içindeki belli başlı bileşenlerden, karvakrol' ün %65,91 (Erdemgil 1992) oranında bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda kullanılan test materyali, bu verilerden yola çıkılarak, içindeki karvakrol oranı bilinen kekik uçucu yağıdır. Bileşiminde yüksek oranda karvakrol içeren kekik uçucu yağı, tezin yöntem kısmında (Bkz. 3.2.1) belirtildiği gibi uygulanarak, mide ve deride bulunan mast hücrelerine etkisi ayrıntılı olarak araştırılmıştır.

Mast hücreleri kemik iliğinden ayrılan ilkel hemopoietik hücrelerden köken alırlar. Daha sonra periferel kana göç ederek dokulara yayılmak suretiyle çoğalıp farklılaşırlar. Bu nedenle mast hücreleri, vücutta geniş yayılım özelliğine sahip hücrelerdir (Rodeward ve ark. 1996; Kitamura 1989; Kubes ve Granger 1996). Mast hücreleri dolaşımda adanmış öncül hücreler olarak bulunurlar ve hedef dokuya ulaşmadan olgunlaşmazlar. Bu öncül hücreler yerleştikleri doku tipi ve ortam şartlarından etkilenecek özgün bir fenotipe ulaşır, olgunlaşmasını tamamlarlar (Gurish ve Austen 2001).

Mast hücrelerinin orijinleri, yerleşim yerleri, kullanılan tespit solüsyonuna verilen cevap, taşıdığı farklılıklar, fonksiyonel kriterler ve hücrelerin morfolojik özellikleri gibi unsurlar göz önüne alındığında mukozal (MMC) ve bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) olarak iki temel mast hücresi tipi olduğu bilinmektedir (Karaca ve Yörük 2005). MMC' lerinin heparin içermediği ve boyutlarının daha küçük olduğu; CTMC' lerin ise temel olarak heparin içerdikleri

ve daha büyük oldukları bilinmektedir (Pearce 1986; Ribatti ve Ark. 1992; Marshall ve Bienenstock 1990; Kircpatrick ve ark. 1988). Çalışmamızda heparin ve histamini ayrı olarak tespit edebilen Alcian mavisi-Safranin O boyaları kullanılarak, deride heparin, mide fundusta ise histamin mediatörleri yoğun bulunmuştur. Deneyimizde, CTMC' e örnek olarak derinin, MMC' e örnek olarak da midenin kullanılması, bu iki farklı tip mast hücrelerinin karşılaştırılmasını olanaklı kılmıştır. Çalışmamızdaki sonuçlara bakıldığında da, deride bulunan CTMC' lerin, midedeki MMC' lere nazaran daha iri buldukları görülmüştür. Bu durum karvakrolun mast hücre boyutu üzerinde etki yapmadığını düşündürmektedir.

Sunulan çalışmada kullanılmış olduğumuz dokular mide ve deri olarak seçilmiştir. Yapılan bir çalışmada karvakrol-zeytinyağı enjekte edilmiş deney hayvanının mide fundus bölgesi mast hücresi yönünden araştırılmıştır. Sonuçlara göre, mide mukozasına yakın bir bölgede lokalize olan mast hücrelerinin sayılarının arttığı ve degranüle oldukları gösterilmiştir (Zeytinoğlu ve ark. 2003). Deneyimizde bu çalışmadan yola çıkarak, karvakrol enjeksiyonuna karşı mide fundusta degranüle olan mast hücrelerinin hangi mediatörler aracılığı ile işlevlerini yerine getirdikleri araştırılmaya çalışılmıştır. Sonuçlara göre genel olarak mide fundusta bulunan mast hücrelerinin sayıca arttığı tespit edilmiş ve bu bölgede histamin mediatörü salgıladıkları özel boyalarla gösterilmiştir.

Bazı araştırmacılar, kekik yağı uygulayarak deri mast hücrelerinde meydana gelen değişiklikleri incelediklerinde, bizim bulgularımızın aksine, kekik yağının mast hücrelerinin sayıca artmasını ve degranülasyonunu inhibe ettiğini açıklamışlardır (Yong 1997). Bizim çalışmamızda, incelenilen derideki mast hücrelerinin sayıca arttığı ve granüllerinin heparin mediatörünü içerdiği gözlenmiştir. Bu durum CTMC' lerin histolojik tespiti sırasında oldukça önemli bir yer tutan fiksatiflerin farklı olduğunu düşündürmektedir. Yapılan bir deneyde (Akgöz 2006), Cornoy ve Buin fiksatörlerinin mast hücrelerinin histokimyasal reaksiyonlarını ve lokalizasyonlarını etkilemediği ve Cornoy ile tespit edilen dokulardaki mast hücrelerinin Nötral formaline göre daha koyu boyandığı ve net görüldüğü sunulmuştur (Irani ve ark. 1986; Kube ve ark. 1998). Buna ek olarak

Nötral Buffer Formalin gibi tipik aldehit tespitlerinin, MMC'lerin bu boyalarla boyanmasını bloke ettikleri bilinmektedir (Enerback 1981; Enerback 1966a). Bizim çalışmamızda da seçilen fiksatiflerin, mast hücrelerinin koyu boyanmasını ve net seçilmesini sağladığı gösterilmiştir.

Mast hücrelerinin en önemli fonksiyonlarından biri bağışıklık sistemi hücrelerini enflamasyon ve enfeksiyon alanına toplaması olduğu bilinmektedir (Erpek 2004; Enerback ve ark. 1989). Mast hücreleri enfeksiyöz ajanı tanır ve direk olarak mikroorganizmalara bağlanır, degranüle olan mast hücresi patojenin türüne göre depo edilen yada uyarı sonrası sentezlenen mediatörlerini salar (Abraham ve Malaviya 1997).

Spesifik immun reseptörlü mast hücreleri, güçlü toksik yada zararlı ajanın giriş kapılarına yerleşmişlerdir. Zararlı eksojen materyalin giriş yerinde mast hücrelerinin bulunuşu, bu hücreyi mobilizasyon ve lokalizasyon gereksiniminden kurtarır (Wasserman 1980). Bir anlamda mast hücreleri, dokuda oturan tek faal hücre olmaları nedeniyle hücrel immun savunmanın ilk hattıdır. Diğer hücrelerin tümü, dokuya kan yoluyla gelirler (Ackerman 1978).

Tüm bulgulardan yola çıkarak, kullanılan boyalarla tespit edilen mast hücrelerinin morfolojik yapılarını karşılaştırdığımızda; derideki mast hücrelerinin mekik şeklinde, midedekilerin ise daha oval yapıda olduğu görülmektedir. Derideki mast hücrelerinin genellikle kas dokuya yakın, sıkı bağ dokuda lokalize olmaları bu morfolojik farklılığı açıklamaktadır.

Yapılan çalışmadan elde edilen bulgular, deney, pozitif ve negatif kontrol grupları arası mast hücre yoğunluğunu karşılaştırmamızı olanaklı kılmıştır. Deney grubundaki mast hücrelerinin, negatif kontrol grubuna nazaran yaklaşık %90 oranında ve buna benzer şekilde, pozitif kontrol grubunun da %70 oranında bir artış gösterdiği görülmektedir (Bkz. Şekil 4.7). Deney gruplarına intraperitonel yolla enjekte edilen karvakrolun, zeytinyağı içerisinde 1:9 oranında çözdürülmesi ve sadece zeytinyağı verilen pozitif kontrol gruplarında da sayıca hemen hemen deney gruplarındakine benzer bir artış olduğu göz önünde bulundurulduğunda, mast hücrelerinin bu niceliksel artışının, kesin olarak karvakrolden kaynaklandığı söylenilemez.

Şekil 4.9' a bakıldığında, bu çalışmanın bize mast hücre aktivitesi hakkında net bir bilgi verdiği görülmektedir. Sunulan çalışmamızda, deney gruplarında kullandığımız karvakrol, deride degranülasyona, midede degranülasyon ve yoğunluklu olarak granülasyona neden olarak hücre içindeki mediatörlerinin dışarı salınmasını inhibe ettiği için kekik yağının vücut için antijen olarak algılandığını söyleyebiliriz. Her iki doku tipinin pozitif kontrol grubu mast hücrelerindeki granülasyon varlığı, karvakrol kadar olmamakla birlikte zeytinyağının da bir çeşit antijen olarak algılandığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda mast hücre aktivitesini tespit etmekle birlikte, özel boyalar kullanarak salgıladıkları mediatörlerinin kimyasını da saptanmış bulunmaktayız. Buna ek olarak deri ve midedeki mast hücrelerinin farklı içerikler salgıladıklarını da tespit ettiğimizi düşünmekteyiz. Bunun nedeni olarak iki dokudaki mast hücrelerinin farklı işlevsel özelliklerine sahip olduklarını söyleyebiliriz (Bkz. Şekil 4.9).

Bu çalışmada kullanılan hematoksilin-eosin boyasının mast hücrelerini tespit edemediği bilinmektedir (Dahm ve Latimer 2001; Tharp 2003; Junquera ve ark. 1993). Bu boyayı kullanmaktaki amacımız, deri ve mide fundus bölgesinin genel görünümünü göstermektir. Her üç gruba ait kesitler incelendiğinde mast hücresine rastlanmamış olması bu bilgiyi desteklemektedir (Bkz. Şekil 4.1.a,b,c).

Çalışmamızın histamin içeriğini göstermeyi amaçladığımız bölümünde, Toluidine mavisi, MayGrunwald-Giemsa ve heparin-histamin içeriklerinden ikisini de tespit edebilen Alcian mavisi-Safranin O kullandık.

Midedeki Toluidine mavisi boyama sonuçları incelendiğinde, kontrol grubundaki mast hücrelerinin daha koyu boyanması ve degranüle olmamasının, bununla birlikte deney grubunda açık mor menekşe boyanmış mast hücrelerinin görülmesinin, histamin varlığını kanıtladığını söyleyebiliriz (Bancroft ve Stevens 1990a ve 1990b; Ross ve Reith 1985). Ayrıca degranülasyona yakın granülize olmuş mast hücre yoğunluğuna bakarak karvakrolü antijen olarak algılandığını ve aktivite göstererek, histamin mediatörü yardımıyla immünolojik bir reaksiyon başlattığını düşünmekteyiz. Pozitif kontrol gruplarında da granülasyon görülmesi ve açık mor menekşe renkte boyanması, zeytinyağının da histamin aracılığı ile bir aktivasyona neden olduğunu düşündürmektedir. Derideki toluidine

mavisi sonuçları ile karşılaştırdığımızda deney grubundaki hücrelerin karvakrol etkisiyle degranüle olduklarını net bir şekilde görmekle birlikte, koyu mor-mavi boyandıklarını ve histamini mideye göre daha az içerdiklerini söyleyebiliriz. Pozitif kontrol gruplarında, mideye benzer granülasyon görülmüştür (Bkz. Şekil 4.3.a,b,c). Derideki mast hücre degranülasyonunun yoğunluklu olarak başka bir mediatör aracılı ile gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

Deneyimizde mide mast hücrelerinin histamin içeriklerini kanıtlamak amacıyla uyguladığımız ikinci boya MayGrunwald-Giemsa sonuçlarına baktığımızda, mide deney grubu mast hücrelerinin degranülasyona yakın granülasyon göstermeleri, açık mavi-mor boyanmaları ve çekirdeklerinin de mavi renkte boyanması histamin içerdiklerini kanıtlamaktadır (Bancroft ve Stevens 1990a ve 1990b; Ross ve Reith 1985). Her iki dokuya ait pozitif ve negatif gruplar karşılaştırıldığında; zeytinyağının bu boyada da granülasyon aktivitesine sebep olduğu açıktır. Bununla birlikte derideki karvakrol enjekte edilen gruplardaki mast hücrelerinin mavi-mor boyanmamış olması , Toluidin mavisi sonuçlarıyla örtüşmüştür (Bkz. Şekil 4.2.a,b,c). Sonuçlar doğrultusunda, midedeki işlevin histamin aracılığıyla gerçekleştiğinin kanıtlandığını düşünmekteyiz.

Mast hücrelerinin alerjik reaksiyonlar sonrasında histamin salgıladığı bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalar, histaminin vücutta alerjik ve inflamatuvar reaksiyonlarda gastrik asit salgılaması ve beyinde nörotransmisyon gibi bir çok cevabın oluşmasından sorumlu bir kimyasal aracı olduğunu ortaya koymuştur (Aydın 1996). Sindirim sisteminde mide fungus bölgesindeki mast hücrelerinin granüllerini dışarı vermesi ile histamin açığa çıktığı ve parietel hücrelerden hidroklorik asit salgılanmasını arttırdığı bildirilmiştir (Yaman 1996). Hidroklorik asitin midedeki pepsinojeni aktif hale geçirerek pepsine çevirdiği bilinmektedir.

Histamin damar genişletici ve damarların geçirgenliğini artırma özelliği nedeniyle sindirim işlevini kolaylaştırmaktadır (Zeytinoğlu 2003). Düz kaslar üzerine hem doğrudan, hem de refleks etkiyle, kasılmalarını hızlandırır ve venüllerin endotelial hücreleri arasındaki aralıklar genişler. Mide için, deney sonuçlarından elde ettiğimiz verilerle, mast hücrelerinin histamin salgıladığı ve kekiğin sindirimi kolaylaştırarak olumlu yönde etkilediğini söyleyebiliriz.

Heparin, granüllere metakromazi özelliğini veren madde olup, mast hücrelerinde sentez edilir ve proteine bağlıdır. Mast hücrelerinde heparin bulunan dokuların ekstreleri antikoagülan etki gösterebilmektedir. Bununla birlikte mast hücrelerinin deride biriktiği patolojik tablolarda kanın lokal koagülasyonu önlenememektedir. Bunun nedeni bilinmemekle birlikte, olay, molekül ağırlığı ile açıklanmaktadır. Düşük molekül ağırlıklı heparin kuvvetli bir antikoagülan iken, mast hücrelerinden salınan yüksek molekül ağırlıklı heparinin antikoagülan aktivitesi çok azdır. Ayrıca, yüksek molekül ağırlıklı heparin, hücrelerden kan damarlarına kolaylıkla geçememektedir (Ackerman 1978; Wasserman 1980; Parish ve Ryan 1979).

Deneyimizde heparin mediatörünü göstermek için kullandığımız Methilen mavisi deri deney grubu bulgularına göre, mast hücrelerinin açık mor-menekşe renkte boyandığını, degranüle olduklarını ve kontrol grubundaki inaktif mastların koyu mavi boyandıklarını gördük (Bkz. Şekil 4.4.a,c). Bu verilerle derideki mast hücrelerinin kekik uçucu yağıyla degranüle oldukları ve saldıkları mediatörlerin heparin olduğu sonucuna varabiliriz (Bancroft ve Stevens 1990a ve 1990b; Ross ve Reith 1985). Midedeki boya bulgularına baktığımızda, menekşe renkli mast hücrelerine rastlanmayıp, degranülasyon net bir şekilde görülmüştür (Bkz. Şekil 4.4.a). Buradaki mast hücrelerinin aktivitesini heparin aracılığı ile göstermediği açıktır. Her iki doku tipine ait pozitif kontrol grubunda da granülasyon olması bir kez daha zeytinyağının etkisini kanıtlar niteliktedir (Bkz. Şekil 4.4.b).

Yapılan bir çalışmada karvakrolun stratum korneum tabakasındaki lipitlere etki ederek derinin geçirgenlik katsayısını yükselttiği gösterilmiştir (Vaddi ve ark. 2002) ve üst solunum yolları hastalıklarının tedavisinde kullanılan nasal sprelerde karvakrolun %4, timolün ise %6 oranında yer aldıkları bildirilmiştir (Tibori 1979). Yapılan bu çalışmalardaki verilerle, deride heparin mediatörünün baskın olduğunu işaret eden bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular birleştirildiğinde, karvakrolun derideki bu etkisinde heparin mediatörün de bir işlevi olabileceği düşünülebilir.

Serotoninin damarları kuvvetle büzücü bir etkisi vardır. Bu nedenle trombositlerde bulunan serotonin, kanama sırasında açığa çıkarak lokal bir etki

sağlar ve kanayan damarların büzülmesine neden olur. Böylece mekanik yoldan kanamanın durmasına yardımcı olur. Ayrıca serotoninin allerjideki mekanizması da iyi bilinmektedir. Çalışmamızda mide ve derideki mast hücrelerinin serotonin mediatörlerini incelemek için Modifiye edilmiş giemsa boyasını denedik (Bkz. Şekil 4.6.a,b,c). Elde edilen bulgulara göre deride ve midede cam yeşili boyanmış mast hücrelerine rastlanmaması serotonin mediatörü hakkında net bir bilgi elde edilememesine neden olmuştur.

Sunulan çalışmada uyguladığımız, mide ve deride Alcian mavisi-Safranin O ikili boyama sonuçlarına baktığımızda (Bkz. Şekil 4.5.a,b,c), deney gruplarında, midedeki mast hücrelerinin sadece mavi, deridekilerin ise sadece kırmızı boyandığını gördük. Bu bulgular sonucunda ve heparin-histamin mediatörleri için kullanılan diğer boya sonuçlarını karşılaştırdığımızda derideki mast hücrelerinin heparin, mide fungustakilerin ise histamin içerdiklerini ve bu salgıları aracılığıyla kekiğe karşı immünolojik bir cevap oluşturduklarını kanıtlamış olduğumuzu düşünmekteyiz. Midedeki (MMC' lerde) mast hücrelerinin heparin içermediği bilinmekle birlikte (Pearce 1986; Ribatti ve Ark. 1992), deney sonuçlarına bakıldığında derideki mast hücrelerinde de histamin yoğun olmadığı gözükmektedir. Deride (CTMC' lerde) proteoglikanlardan temel olarak heparin bulunmaktadır (Marshall ve Bienenstock 1990; Kirpatrick ve ark. 1988). Bu verilerle ışığı altında deney sonuçlarına bakıldığında deride histamin salgınını, midede ise heparin salgısını gerektirecek bir durum olmadığı söylenilebilir.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarda kekiğin mast hücre sayısını arttırması ve aktivasyona neden olması olumsuz bir sonuç gibi görünmekle birlikte, halk tarafından da kullanılan kekiğin sindirim sistemi rahatsızlıklarından kaynaklanan hazımsızlık sorununa histamin mediatörleri yardımıyla damar geçirgenliğini arttırarak iyi gelmesi, derideki alerjik etkenlere karşı serotonin mediatörünü salgılayarak immun sistemi hareke geçirmesi ve kanama durumlarında heparin içeriğiyle işlevini yerine getirmesinin olumlu bir sonuç olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, biz çalışmamızda kekiğin mast hücre lokalizasyonuna, bağ dokusu ve mukozal mast hücrelerinin morfolojik farklılıklarına, mast hücre

aktivitesine, niceliksel özelliklerine ve heparin, histamin, serotonin mediatörlerine etkisini göstermeye çalıştık. Çalıştığımız konu, genel bilgiler kısmında verilen (Bkz. 2.3.5), mast hücre proteazlarına yönelik enzim biyokimyasal ve immünohistokimyasal çalışmalarla desteklenerek, kekiğin farmakolojide ilaç ham madde olarak kullanılabileceğini düşündüren, araştırmalara açık bir konudur.

KAYNAKLAR

- Abraham, S.N. ve Malaviya, R. (1997), "Mast Cells in Infection and Immunity," *Infect. Immun.*, **65**, 3501-3508.
- Ackerman, A.B. (1978), "Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases," Philadelphia, *Lea and Pebigger*, 104-109.
- Akay, M.T. (2001), "Bağ Doku," *Genel Histoloji*, Palme Yayıncılık, Ankara, 78-115.
- Akgöz, D. (2006), *Köpeklerin Konjunktivasında Bulunan Mast Hücrelerinin Histokimyasal, Enzim Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Özellikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniv. Sağlık Bil, Enst. Hist. Embr. ABD.
- Andrew, A. ve Rawdon, B.B. (1987), "The Embryonic Origin of Connective Tissue Mast Cells," *J. Anat.*, **150**, 129-227.
- Arı, S. (2005), *Karvakrol, Timol, Orto- ve Meta Krezol' Ün İzole Sıçan Mide-Fundus, İleum ve Aorta Üzerinde CaCl₂ Kasılmalarına Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniv. Sağlık Bilimleri Enst. Farmakoloji ABD, Eskişehir.
- Atkins, F.M., Friedmen, M.M., Subra Rao, P.V. ve Metcalfe, D.D. (1985), "Intreaction Between Mast Cells, Fibroblast and Connective Tissue Components," *Int. Arch. Allergy appl. Imm.*, **77**, 96-102.
- Aydın, S., Başer K.H.C. ve Öztürk, Y. (1996), "The chemistry and pharmacology of origanum (kekik) Water," *Proceedings Of the 27th International Symposium on Essential oils*, Allured Publ., P., 52-60.
- Aydın, S. ve Beis, R. (2005), "Karvakrol Yüzdesi Farklı Origanum Onites L. Uçucu Yağının Analjezik Etkisi," *18. Ulusal Farmakoloji Kongresi*, 28 Eylül-1 Ekim, İzmir.
- Aydın, S., Başaran A.A. ve Başaran, N. (2005), "The Effects of Thyme Volatiles on the Induction of DNA Damage by the Heterocyclic Amine IQ and Mitomycin C," *Mutation Research*, **581**, 43-53.
- Aydın, S., Arslan, R., Öztürk, Y. ve Başer, K.H.C. (1993), "Origanum onites L. (İzmir kekiği) uçucu yağının analjezik etkisi," (X. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 20-22 Mayıs 1993, İzmir), *X.Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Özetleri*, s.43.

- Aydın, S., Aral, E., Aydın, Y., Öztürk, Y. Ve Başer K.H.C. (1997), “Kekik (*Origanum onites L.*), Uçucu Yağının Mast Hücreleri Degranülasyonunu İnhibe Edici Etkisi,” XIV. Ulusal Farmakoloji Kongresinde Poster Bildirisi, 2-7 Kasım 1997, Tekirova-Antalya, *Bildiri Özetleri Kitabı*, s.98.
- Baban, N. (1980), *Protein Biyokimyası*, Nazım Terzioğlu Matematik Araştırma Enstitüsü Baskı Atölyesi, İstanbul, 123-127,
- Bancroft, J.D. ve Stevens A. (1990a), *Theory and Practice of Histological Techniques*, Churchill Livingstone, Edinburgh London and New York, First Ed. 91-106.
- Bancroft, J.D. ve Stevens A. (1990b), *Theory and Practice of Histological Techniques*, Churchill Livingstone, Edinburgh London and New York Third Ed. 167-638.
- Bardadin, K.A. ve Scheuer, P.J. (1986), “Mast Cells in Acute Hepatitis,” *J. of Pathology*, **149**, 315-325.
- Başaran, A. (1998), *Deney Hayvanları Ders Notları*, Osmangazi Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.
- Başer, DİE, (2000) Devlet İstatistik Enstitüsü İhracat Ruloları.
- Başer, K.H.C., Honda, G. ve Mki, W. (1986), “Herb Drugs and Herbalists in Turkey,” *Studia Culturae Islamicae* 27, Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa, Tokyo.
- Başer, K.H.C.(1994), “Essential Oils of Labiatae from Turkey, Recent Results,” *Lamiales Newslett.*, **3**, 6-11.
- Başer, K.H.C. (1993), “Essential Oils of Anatolian Labiatae,” *A Profile, Acta Hort.*, **333**, 217-238.
- Baytop, A. (1991), “Türkiye’ de Kullanılan Yabani ve Yetiştirilmiş Aromatik Bitkiler,” *Doğa-Tr.*, *J. of Pharmacy* (1), 76-78.
- Baytop, T. (1999), *Türkiye’ de Bitkiler İle Tedavi*, 2. baskı, Nobel tıp kit., İstanbul.
- Befus, A.D., Bienenstock, J. ve Denburg, J.A. (1986), “Mast Cell Differentiation and Heterogeneity,” *Raven Pres.*, New York.
- Befus, D., Goodarce, R., Dyck, N. ve Bienenstock, J. (1985), “Mast Cell Heterogeneity in Man,” *I. Histologic Studies of the Intestine, Inc. Arch. Allergy appl. Imm.*, **76**, 232-236.

- Beil, W.J., Schuiz, M. ve Wefelmeyer, U. (2000), "Mast Cell Granule Composition and Tissue Location Close Correlation," *Histol Histopatol.*, **15** (3), 937-946.
- Benyon, R.C., Bissonnette, E.Y. ve Befus, A.D. (1991), "Tumor Necrosis Factor-Alpha Dependent Cytotoxicity Of human Skin Mast Cells is Enhanced By Anti-IgE Antibodies," *J. Immunol.*, **147**, 2253-2258.
- Boskabady, M.H. ve Jandaghi, P. (2003), "Relaxant Effects of Carvacrol on Guinea Pig Tracheal Chains and its Possible Mechanisms," *Pharmazie*, **58**, 661-663.
- Brown, J.K., Jones, J.A., Rooney, L.A. ve Caughey, G.H. (2001), "Mast Cell Tryptase Activates Extracellular-Regulated Kinase (p44/p42) in Airway Smooth-Muscle Cells," *Am. J. Res. Cell. Mol.*, **24**, 146-154.
- Buckingham, J., Macdonald, F.M. ve Bradly, H.M., eds. (1994), *Dictionary of Natural Products*, Chapman & Hall: London, **3**, s. 3396.
- Caccioni, D. (1992), "Inhibition of Fungus Germination and Growth by Essential Oil Components," *23rd Int. Symn. On. Essen. Oils*, Scottish Agricultural College, Scotland, Book of Abstracts, p.B-P49.
- Chan, A.S., Pang, H., Yip, E.C., Tam, Y.K. ve Wong, Y.H. (2005), "Carvacrol and Eugenol Differentially Stimulate Intracellular Ca⁺² Mobilization and Mitogen-Activated Protein Kinases in Jurkat T-cells and Monocytic THP-1 cells," *Planta Med.*, **71**, 634-639.
- Chen, W., Alley, M.R., Manktelow, B.W. ve Davey, P. (1990), "Mast Cells in The Ovine Respiratory Tract: Heterogeneity, Morphology and Density," *Int. Arch. Allergy appl. Imm.*, **93**, 99-106.
- Church, M.K., Shute, J.K. ve Sampson A.P. (2003), "Mast Cell-Derived Mediators," *Section a Immunology Chapter*, **13**, 186-209.
- Clarke, G.R., Shirzadeh, H., Pang, G., Beagley, K.W., Butin, R.C. ve Smart, Y.C. (1997), "TNF- α is Not The Sole Mediator Of WEHI-164 Tumour Cell Killing in Natural Cytotoxicity," *Cytokine*, **9**, 254-262.
- Conner, D.E. (1993), "Naturally Occuring Compounds", *In Davidson P.M. and Brannen, A.L. (Ed.), "Antimicrobials in Foods," Marcel Dekker, Inc., 2nd Ed., p. 441-468, New York.*
- Cook, E.B., Stahl, J.L., Barney, N.P. ve Graziano, F.M. (2001), "Ocular Mast Cells," *Clin. Rew. Allergy Immuno.*, **20** (2), 243-268.

- Craig, S.S., Schechter, N.M. ve Schwartz, L.B. (1989), "Ultrastructural Analysis of Maturing Human T and TC Mast Cells In Situ," *Lab. Invest.*, **60** (1): 147-157.
- Crivellato, E., Finato, N., Isola, M., Ribatti, D. ve Beltrami, J.A. (2003), "Low Mast Cell Density in The Human Duodenal Mucosa From Chronic Inflammatory Duodenal Bowel Disorders is Associated With Defective Villous Architecture," *Eur. J. Clin. Invest.*, **33**, 601-610.
- Dahm, R.L. ve Latimer, K.S. (2001), "Mast Cell Disease in Dogs and Cats," An Overview, College of Veterinary Medicine, The University of Georgia, Athens.
- Davis, P.H. (1982), "Flora of Turkey and East Aegean Islands," **7**, *Edinburgh University Press*, Edinburgh, s. 297-313.
- Demirhan, A. (1974), *Mısır Çarşısı Drogları*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Üniv. Tıp Fak., Tıp Tarihi ve Deontoloji Kürsüsü.
- Dortunç, T. (1990), *Bazı Uçucu Yağların Antibakteriyal ve Antifungal Etkileri Üzerinde Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enst, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- Dortunç, T. ve Çevikbaş, A. (1992), "The Investigations on the Antibacterial and Antifungal Effects of Some Volatile Oils," *J. Pharm. Univ. Mar.*, **8**, 117-128.
- Dvorak, A.M, McLeod, R.S., Onderdonk, A.B., Monanan-Early, R.A., Cullen, J.B., Antolioni, D.A., Morgan, E., Blair, J., Estralla, P., Cisneros, R.L., Cohen, Z. ve Silen, W. (1992), " Human Gut Mucosal Mast Cells: Ultrastructural Observations and Anatomic Variation in Mast Cell-Nerve Associations In Vivo," *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **98**, 158-168.
- Dvorak, A.M., Schleimer, R.P. ve Lichtenstein, L.M. (1987), "Morphologic Mast Cell Cycles," *Cellular Immuno.*, **105**, 199-204.
- Ebstein, B. Ve Yanni, J. (2005), "Recent Developments in Understanding and Treating Allergy Make Atopic Patient More Treatable," *Jobson Publishing*.
- Enerback, L. (1966a), "Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: I. Effects Of Fixation," *Acta Path. Et Microbiol.*, Scandinav., **66**, 289-302.

- Enerback, L. (1966b), "Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: II. Dye-Binding and Metachromotic Properties," *Acta Path. Et Microbiol., Scandinav*, **66**, 303-312.
- Enerback, L. (1981), "The Gut Mucosal Mast Cell," *Monorg. Allergy*, **17**, 222-232.
- Enerback, L. (1987), "Mucosal Mast Cells in The Rat in Man," *Int. Archs. Allergy Appl. Immune.*, **82**, 249-255.
- Enerback, L., Pipkorn, U., Aldenborg, F. ve Wingren, U. (1989), "Mast Cell Heterogeneity in Man: Properties and Function Of Human Mucosal Mast Cells," (In: Eds: Galli, S.J. ve Austen, K.F., Mast Cell and Basophil Differentiation and Function in Health and Disease), *Laven pres. Ltd.*, NewYork.
- Erpek, S. (2004), *Mast Hücreleri*, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, **11**(2), 109-120.
- Erpek, S. ve Otlu, A. (1995), "Tavşan Ağız Mukozasında Mast Hücrelerinin Dağılımı," *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, **2** (3), 258-67.
- Farrel, D., Hines, J. ve Walls, A.F. (1995), "Intrahepatic Mast Cell in Chronic Liver Diseases," *Hepatology*, **22**, 1175-1181.
- Galli, S.J. (1990), "New Insights into 'the riddle of mast cells' Microenviromental Regulation of Mast Cell Development and Phenotypic Heterogeneity," *Lab. Invest.*, **62**, 5-33.
- Galli, S.C., Tsai, M. ve Wershil, B.K. (1993), "The c-kit Receptör, Stem Cell Factor and Mast Cells: What each is teaching us about the others," *Am. J. Pathol.*, **142**, 965-974.
- Garland, S. (1979), *The Herbs and Spice Book*, Frances Lincoln Publ., London, p. 88.
- Gleich, G.J. (1989), "Eozinophils," *Basophils and Mast Cells. J. of Allergy and Clinical Immunol.*, **84** (6-2), 1024-27.
- Glenner, G.G., Hopsu, V.K. ve Cohen, L.A. (1964), "New Substrates Of Trypsin and Some Trypsin-Like Enzymes," *Journey Of Histochemistry and Cytochemistry*, **12** (7), 545.
- Gomez, E., Corrado, O.J. ve Davies, R.J. (1987), "Histochemical and Functional Characteristics Of The Human Nasal Mast Cells," *Int. Arch. Allergy, appl., Imm.*, **83**, 52-56.

- Guy-Grand, D., Dy, M. ve Luffav, G., et all. (1986), "Mucosal Mast Cells: Origin, Traffic and Differentiation In Mice and Rats," *Ann Inst. Pasteur/Immunol.*, **137** (D): 215-222.
- Gülmezoğlu, E. ve Ergüven, S. (1994), *İmmünoloji*, Ankara Hacettepe-Taş Kitapçılık, 214-219.
- Güneş, H. (1999), "Sitokinlerin Hücre Döngüsü Üzerine Etkisi," *Tr. J. Of Biology*, **23**, 283-284.
- Gracza, L. (1985), "Biochemical Pharmacological Study of Medicinal Plant Substances, Inhibition of Acetylcholinesterase by Monoterpene Derivatives In Vitro," *Z. Naturforsch*, **40**, 151-153.
- Gray' s (2004), Anatomy Body Part-Mast Cell.
- Harem Koçak, M. (2005), "Mast Hücre Proteazları ve Biyolojik Önemi," *Sağlık Bilimleri Dergisi*, **14** (1), 61-67.
- He, S.X., Luo, J.Y. ve Wang, Y.P., et all. (2006), "Effects Of Extract From Ginkgo Biloba On Carbon Tetra-Chloride-Induced Liver Injury in Rats," *World J. Of Gastroenterology*, **12** (24): 3924-3928.
- Hiromatsu, Y. ve Toda, S. (2003), "Mast Cells and Angiogenesis," *Microsc. Res. Tech.*, **60**, 64-69.
- Huntley, J.F. (1992), "Mast Cells and Basophils: A Review Of Their Heterogeneity and Function," *J. Comp. Path.*, **107**, 349-372.
- Huntley, J.F., Newlands, G., Gibson, S., Ferguson, A. ve Miller, H. (1985), "Histochemical Demonstration of Chymotrypsin Like Serine Esterases in Mucosal Mast Cells in Four Species Including Man," *J. Clin. Pathol.*, **38**, 375-384.
- Irani, A.A., Schechter, N.M., Craig, S.S., DeBlois, G. ve Schwartz, L.B. (1986), "Two Human Mast Cells Subsets With Distinct Neutral Protease Compositions," *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **83** (12), 4464-4468.
- Izumi, I. ve Yoshiko, K. (1962), "Effect of Essential Oils and Their Components on the Isolated Intestine of Mice," *Yakugaku Zasshi*, **82**, 1326-1328, 1962, Chem. Abstr., **58**, 7279.
- Jackson, M., et all. (1998), "Expression Of Nitric Oxide Syntes III (eNOS) mRNA By Human Skin Cells: Melanocytes But Not Keratinocytes Express eNOS mRNA," *Arch. Dermatol. Res.*, **290**, 350-352.

- Junquera, L.C., Carnerio, J. ve Kelley R.O. (1993), "Mast Hücreleri", *Temel Histoloji*, Barış Kitapevi, İstanbul.
- Junquera, L.C., Carnerio, J. ve Kelley R.O. (1998), *Temel Histoloji*, Barış Kitapçılık, **15**, 307-319.
- Juven, B.J., Kanner, J., Schved, F. ve Weisslowicz, H. (1994) "Factor That Interact With The Antibacterial Action of Thyme essential Oil and its Active Constituents," *J. Appl. Bacteriol.*, **76**, 626-631.
- Kambe, N., Kambe, M., Kochan, J.P. ve Schwartz, L.B. (2001), "Human Skin-Derived Mast Cells Can Proliferate While Retaining Their Characteristic Functional and Protease Phenotypes," *Blood*, **97**, 2045-2052.
- Karaca, T. ve Yörük, M. (2005), "Mast Hücre Heterojenitesi," *YYÜ Vet. Fak. Derg.*, **16** (2), 57-60.
- Karol, S., Ayvalı, C. ve Suludere, Z. (2000), "Bölüm IV, Hücrenin Kimyasal Yapısı," *Hücre Biyolojisi*, IV. Baskı, Öğün Matbaacılık, Ankara, s.61.
- Karouhtsis, I., Pardali, E., Feggou, E., Kokkini, S. ve Scouras, Z.G. (1998), "Mavragani Tsipidoum P.: Insecticidal and Genotoxic Activities of *Oregano* Essential Oils," *J. Agr. Food Chem.*, **46**, 1111-1115.
- Kıvanç, M. Ve Akgül, A. (1988), "Effect of Some Essential Oil Components on the Growth of Food-Borne Bacteria and Synergism With Some Food Ingredients," *Flavour Fragr. J.*, **3**, 95-98.
- Kıvanç, M.ve Akgül, A. (1986), "Antibacterial Activities of Essential Oils from Turkish Spices and Citrus," *Flavour Fragrance J.*, **1**, 175-179.
- Kircpatrick, C.J., Jones C.J.P. ve Stoddort, R.W. (1988), "Lectin Histochemistry Of Mast Cell: A Light Microscopial Study," *Histochemical Journey*, **20**, 139-146.
- Kitamura, Y., Shimada, M. ve Go, S., et. all. (1978), "Decrease of Mast Cells in W/W^v Mice and Their Increase By Bone Marrow Transplantation," *Blood.*, **52**, 2: 447-452.
- Kitamura, Y., Kanakura, Y., Sonoda, S., Asai, H. ve Nakano, T. (1987), "Mutual Phenotypic Changes Between Connective Tissue Type and Mucosal Mast Cells," *Int. Arch. Allergy, appl. Imm.*, **82**, 244-248.
- Kitamura, Y. (1989), "Heterogeneity of Mast Cells and Phenotype Changes Between Subpopulations," *Ann. Rev. Immunol.*, **7**, 59-76.

- Koçak Harem, M. (2001), *Solunum Yollarındaki Mast Hücreleri Üzerine Histolojik Çalışmalar*, Doktora Tezi, Ankara Üniv., Sağlık Bilim. Enst., Histoloji-Embriyoloji ABD, s. 7-9, Ankara.
- Krüger, P.G. (1984), "Morphology of Normal and Secreting Mast Cells," *Acta Otolaryngol (stockh) suppl.*, **414**, 118-123.
- Kubes, P. ve Granner, D.N. (1996), "Leukocyte-Endothelial Cell Intraction Evoked by Mast Cells," *Cardiovasc. Res.*, **32**, 699-708.
- Kube, P., Audige, L., Künther, K. ve Welle, M. (1998), "Distribution Density and Heterogeneity of Canine Mast Cells and Influence of Fixation Techniques," *Histochem. Cell. Biol.*, **110**, 129-135.
- Lee, T.D., Swieter, M., Bienenstock, J. ve Befus, A.D. (1985), "Heterogeinty in Mast Cells Populations," *Clin. Immunol. Rev.*, **4** (2), 143-199.
- Leeson, T.S., Leeson, C.R. ve Paparo, A.A. (1988), Text/Atlas of Histology, *WB Saunders CO*, Philadelphia.
- Lever, W.F. ve Schaumburg-Lever, G. (1990), "Histopathology of The Skin," 7th Ed. Philadelphia: *J.B. Lippincott Company*, 62-64.
- Levi-Schaffer, F. ve Weg, V.B. (1997), "Mast Cell, Eosinophils and Fibrosis," *Clin. Exp. Allergy*, **27** (1), 64-70.
- Lin, W.C. ve Lin, W.L. (2006), "Ameriorative Effect Of Ganoderma Lucidum On Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrozis in Rats," *World J. Gastroenterology*, **14:12** (2), 265-277.
- Livingston, A.E. (1921), U.S. *Public Health Reports* 36, 1317-1331, 1921, *J. Pharmacol.*, **17**, 261-275, 1921, Chem. Abst., **15**.
- Lorante, L., Ocete, M.A., Zarzuelo, A., Cabo, M.M. ve Jimenez, J. (1989), "Bioactivity of the Essential Oil of *Bubleurum fruticosum*," *J. Nat. Prod.*, **52**, 267-272.
- Macleod, J.D., Anderson, D.F., Baddeley, S.M., Holgate, S.T., McGill, J.I. ve Roche, VWR. (1997), "Immunolocazition Of Cytokines To Mast Cells in Normal and Allergic Conjunctiva," *Clin. Exp. Allergy*, **27**(1), 1328-1334.
- Magyar, J., Szentandrassy, N., Banyasz, T., Fulop, L., Varro, A. ve Nanasi, P.P. (2002), "Effects of Thymol on Calsium and Potassium Curents in Canina and Human Ventricular Cardiomyocytes," *Br. J. Pharmacol.*, **136**, 330-338.

- Majerus, P.W., Broze, G.J., Mitetich, J.P. ve Tollefsen, D.M. (1990), "Anticoagulant, Thrombolytic and Antiplatelet Drugs in," *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics*, Eighth Edition (Ed. A.F.G., T.W.R., A.S.N., P.T.), 1311-1331, Pergamon Press, New York.
- Marshall, J.S. ve Bienenstock, J. (1990), "Mast Cells," *Springer Seminars in Immunopathology*, **12**, 191-202.
- Melman, S.A. (1987), "Mast Cells and Their Mediators," *Int. J. Dermatol.*, 26 (2), 335-343.
- Metcalf, D.D., Baram, D. ve Mekori, Y.A. (1997), "Mast Cells," *Physiological Reviews*, **77** (10): 1033-1079.
- Metzger, H. (1991), "The High Affinity Receptor For IgE On Mast Cells," *Clin. Exp. Allergy*, **21** (3): 169-179.
- McCauley, S.D., Gilchrist, M. ve Befus, A.D. (2005), "Nitric Oxide: A Major Determinant Of Mast Cells Phenotype and Function," *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **100**, 11-14.
- McCurdy, J.D., Lin, T.J. ve Marchall, J.S. (2001), "Toll-Like Receptor 4-Mediated Activation of Murine Mast Cells," *J. Leukoc. Biol.*, **70** (6), 977-984.
- McGill, J. (2000) "Conjunctival Cytokines in Ocular Allergy," *Clinical and Experimental Allergy*, **30**, 1355-1357.
- Merck Index, (1996), 12th Ed., p. 436, Merck & Co. Inc., NJ.
- Miller, H.R.P. ve Jarret, W.F.H. (1971), "Immune Reactions in Mucosa Membranes, I. Intestinal Mast Cell Response During Helminth Expulsion in The Rat," *Immunology*, **20**, 277-288.
- Mitsui, H., Furitsu, T. ve Dvorak, A.M., et all. (1990), "Development of Human Mast Cell From Umbilical Cord Blood Cells By Recombinant Human and Murine c-kit Ligand," *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **90**, 753-759.
- Morgan, S.J., Williams, J.H, Walls, A.F., Church, M.K., Holgate, S.T. ve McGill, J.I. (1991), "Mast Cell Numbers and Staining Characteristics in The Normal and Allergic Human Conjunctiva J.," *Allergy Clin Immunol.* **87** (1 Pt 1), 111-116.

- Murray, R.K, Granner, D.K., Mayes, P.A. ve Rodwell, V.W. (1998), "Amino Asitlerin Özgül Ürünler Çevrimi," *Harper' in Biyokimyası* (Ed. Dikmen, N. ve Özgünen C.), Barış Kitapevi, İstanbul, 348-359.
- Mühlbauer, R.C., Rozano, A., Palacio, S., Reinli, A. ve Felix, R. (2003), "Common Herbs, Essential Oils and Monoterpenes Potently Modulate Bone Metabolism," *Bone*, **32**, 372-380.
- Nienartowicz, A., Lotowska, M.E.S., Cyrta, E.J. ve Lemancewicz, D. (2006), "Mast Cell in Neoangiogenesis," *Med. Sci. Monit.*, **12**, 53-56.
- Norrby, K. (2002), "Mast Cells and Angiogenesis," *Apmis*, No: 110, 355-371.
- Norrby, K. (1983), "Intradermal Mast Cell Secretion Causing Cutaneous Mitogenesis," *Virchow S. Arch. (Cell Pathol.)*, **42**, 263-269.
- Oflaz, S., Kürkçüoğlu, M. ve Başer, K.H.C. (2004), "*Origanum onites* ve *Origanum vulvare* subsp. Hirtum Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar," *14. Bitkisel İlaç Hammadleri Toplantısı, Bildiriler*, (Eds. Başer, K.H.C., Kırimer N.), Eskişehir, 252-253.
- Öğütveren, M., Erdemgil, F.Z., Kürkçüoğlu, M., Özek, T. ve Başer, K.H.C. (1992), "Composition of the Essential oil of *origanum onites*," In, *Proceedings of 8st National Symposium on Chemistry and Chemical Engineering*, Marmara Üniversitesi Publ., **2**, s. 119-124.
- Özdemir, Ö. ve Savaşan, S. (2005), "Gözardı Edilmiş Bir Hücrenin Dönüşü: mast hücresi ve hematoloji-onkoloji/immunoloji alanlarında tanımlanan yeni rolleri," *Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Dergisi*, **48**, 85-92.
- Padilla, L., Reinicke, K. Ve Montesino, H., et. all. (1990), "Histamine Content and Mast Cells Distribution in Mouse Uterus," *Cellular and Molecular Biology*, **36** (1), 93-100.
- Parish W.E ve Ryan T.J. (1979), "Inflammation. Textbook of Dermatology," (Ed. Rook, A. ve ark.), 3. Baskı, *Blackwell*, Oxford, **1**, 236-237.
- Pearce, F.L. (1986), " On The Heterogeneity Of Mast Cells," *Pharmacology*, **32**, 61-71.
- Penissi, A.B., Rudolph, M.I. ve Piezzi, R.S. (2003), "Role of Mast Cells in Gastrointestinal Mucosal Defense," *Biocell*, **27** (2), 163-172.
- Prussin, C. Ve Metcalfe, D.D. (2003), "IgE, Mast Cells, Basophils and Eosinophils," *J. Allergy Clin. Immuno.*, No:111, 486-494.

- Puxeddu, I. ve Levi-Schaffer, F. (2002), "Mast Cells Tissue Remodeling," *Rev. Fr. Alergol. Immunol. Clin.*, **42**, 16-18.
- Ribatti, D., Contino, R., Quondamatteo, F., Formica, V. ve Tursi, A. (1992), "Mast Cell Population in the Chick Embryo Lung and Their Response Compound 48/80 and Dexamethasone," *Anatomy and Embryology*, **186**, 241-244.
- Rioux, K.P., Sharkey, K.A., Wallace, J.L. ve Swain, M. (1996), "Hepatic Mucosal Mast Cell Hyperplasia in Rats With Secondary Biliary Cirrhosis," *Hepatology*, **23**, 88-95.
- Rodewald, H.R., Dessing, M., Dvorak, A.M. ve Gali, S.J. (1996), "Identification of A Committed Precursor for the Mast Cell Lineage," *Science*, **271**, 818-822.
- Ross, M.H. ve Reith, E.J. (1985), "A Text and Atlas," *Histology*, Harper International Edition, J.B. Lippincott Compony, 92-97.
- Rossi, G.L. ve Olivieri, D. (1997), "Does the Mast Cell Have A Key Role in Asthma?," *Chest*. **112**, 523-529.
- Rozga, J., Foss, A. ve Aluments, J. et all. (1991), "Liver Cirrhosis in Rats: Regeneration and Assesment Of The Role Of Phenobarbital," *J. Surgical Research*, **51**, 329-335.
- Sağlam, M., Aştı, R. ve Özer, A. (2001), *Genel Histoloji*, Yorum Matbaacılık, Ankara, 158-160.
- Sandvei, R., Wollen, A. ve Flood, P.R. (1993), "Mast Cells in The Tuball in Women Using An Intrauterina Contraceptive Devices," *British, J. of Obstetrics and Gynaecology*, 758-764.
- Schmauder-Choc, E.A. ve Chock, S.P. (1987), "Mechanism Of Secretary Granule Exocytosis: Can Granule Enlargement Precede Pore Formation?," *Histochemical Journol.*, **19**, 413-418.
- Schwartz, L.B.(1994), "Mast Cells: Function and Contents," *Current Opinion in Immunology*, **6**, 91-97.
- Schwartz, L.B. (1991), "Mast Cells and Their Role in Urticaria," *J. Am. Acad. Dermatol.*, No: 25, 190-204.
- Slomin, C.B. ve Boone, R. (2004), "The Ocular Allergic Response," *A Pharmacotherapeutic Review. Formulary*, **39**, 213-222.

- Sotti, M.L. ve Delta Beffa M.I. (1989), "Le Piante Aromatiche," *Giorgia Manddori & Assoc. Ed.*, Torino, p. 136.
- Soylu, R., Kalkan, S.S., Duman, S. ve ark. (1990), "Mast Hücreleri," *Optimal Tıp Dergisi*, **3**, 35-39.
- Stammata, P., Bonsia, F., Zuccob, R. ve Moezelaarc, H. (1999), "Toxicity of Selected Plant Volatiles in Microbial and Mammalian Short-Therm Assays," *Food Chem.*, **37**, 813-823.
- Steen, V.D., Medsger, T.A.ve J.R., Rodnan, G.P. (1982), "D-Penicillamine Therapy in Progressive Systemic Sclerosis (Scleroderma): A Retrospective Analysis," *Ann. Intern. Med.*, **97**, 652- 659.
- Stendon, G.R. ve Befus, A.D. (1998), "Role Of Intestinal Mast Cell in Modulating Gastrointestinal Pathophysiology," *Ann. Allergy Asthma Im.*, **81**, 1-15.
- Stevens, R.L. ve Austen, K.F. (1989), "Recent Advonces in The Celluler and Molecular Biology of Mast Cells," *Immunology Today*, **10** (11), 381-386.
- Sugihara, A., Tsujimura, T. ve Fujita, Y., et all. (1999), "Evaluation Of Role Of Mast Cell in The Development Of Liver Fibrozis Using Mast Cell-Deficient Rats and Mice," *J. Of Hepatology*, **30**, 859-867.
- Şeftalioğlu, A. (1996), "48/80 ile Stimüle Olmuş Sıçan İnguial Lenf Düğümü Mast Hücrelerinin Histokimyasal ve Morfolojik Değişiklikleri," *Deniz Tıp Bülteni*, No:12, 1-20.
- Takeuchi, K., Nishiwaki, H. Ve Nijda, H., et. all. (1990), "Different Effects of Cytoprotective Drugs On Ethaol- And Aspirin Induced Gastric Mucosal Injury Inpylorus-Ligated Rats," *Dig. Dis. Sci.*, **35** (2), 178-185.
- Tavlı, L., Karaca, A.R. ve Erol, O. (1990), "Abortus Olaylarında Mast Hücrelerinin Plasentadaki Durumu," *Selçuk Üniversitesi tıp Fakültesi Dergisi*, **3** (1), 35-39.
- Tharp, M.D. (2003), "Mast Cells and Their Mediators," *American Academy of Dermatology*.
- Tharp, M.D., Kagey-Sobotka, A. ve Foy, C.C. (1987), "Functional Heterogeneity of Human Mast Cells From Different Anatomic Sites: In Vitro Responses To Morphine Sulfate," *J. Allergy Clin. Immunol.*, **79**, 646-653.
- Tharp, M.D., Kasper, C., Thiele, D., Charley, M.L., Kennerly, D.A. ve Sullivan, T.J. (1991), "Studies Of Connective Tissue Mast Cell-Mediated Cytotoxicity," *J. Invest. Dermatol.*, **93**, 423-428.

- Theoharides, T.C. (1990), "Mast Cells," *The Immune Gate To The Brain*, Life Sciences, **46**, 607-617.
- Tekelioğlu, M. (2002), *Özel Histoloji*, Antıp A.Ş. Yayınları, 3: 53-54.
- Teuscher, E. (1990), *Pharmazeutische Biologie*, 4 bearb., Braunschweig, Wiesbaden, Wieweg, p. 337.
- Tibori, A.G. (1982), Nasal Spray, (Intreprinderea de Medicamenta, Bururesti), 01, Oct, 1979, Appl., 84, 267, 20 Dec., 1975: 3 pp. *Chem. Abstr.* **96**, 11702p.
- Ultee, A., Bennik, M.H.J. ve Moezelaar, R. (2002), "The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol is Essential for Action Against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*," *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 1561-1568.
- Vadi, H.K., Ho, P.C., Chan Y.W. ve Chan S.Y. (2002), "Terpenes in Ethanol Haloperidol Permeation and Partition Throuh Human Skin and Stratum Corneum Changes," *Journal of Controlled Release*, **81**, 121-133 (13).
- Van den Broucke, C.O. ve Lemli, J.A. (1981), "Pharmacological and Chemical Investigation of Thyme Liquid Extracts," *Planta Medica*, **41** (2), 129-135.
- Vicher, T.L. (1974), "Stimulation Of Mouse B Lymphocytes By Trypsin," *J. Immunol.*, **113**, 58-62.
- Vincenzi, M. De., Stamatı, A., Vincenzi, A. De. ve Silano, M. (2004), "Constituents of Aromatic Plant, Carvacrol," *Fitoterapia*, **75**, 801-804.
- Vural, Ö, Yılmaz, O., Tavlı, L. ve ark. (1991), "Mast Hücrelerinin İltahap ve Tümörlerle Olan İlişkileri," *Selçuk Üniv. Tıp Fak. Dergisi*, **7** (3), 307.
- Weidingner, S., Mayerhofer, A., Frungieri, M.B., Meineke, V., Ring, J. ve Kohn, F.M. (2000), "Mast Cell Sperm İnteraction: Evidence for Tryptase and Proteinase-Activated Receptors in the Regulation of Sperm Motility," *Human Reprod.*, **318**, 2519-2524.
- Wingren, U. ve Enerback, L. (1983), "Mucosal Mast Cells Of The Rat Intestine: A Re-Evelution Of Fixation and Staining Properties, With Special Reference To Protein Bloking and Solobility Of The Granular Glycosaminoglycan," *Histochem.*, **15**, 571-587.
- Wagner, H., Wierer, M. ve Bauer, R. (1986), "In Vitro Inhibition of Prostaglandin Biosynthesis by Essential Oils and Phenolic Compounds," *Planta Med.*, 184-187.

- Wang, H., Weit, W. ve Wang, N.P. (2005), "Melatonin Amelioates Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Fibrogenesis in Rats Via Inhibition Of Oxidative Stres," *Life Sciences*, **77**, 1902-1915.
- Wasserman, S.L. (1990), "Mast Cell Biology," *J. Allergy Clin. Immunol.*, **86**, 590-593.
- Wasserman, S.I. (1980), "The Mast Cell: Its Diversity of Chemical Mediators," *Int. J. Dermatol.* **19**, 7-17.
- Wei, H. ve Frenkel, K. (1993), "Relationship Of Oxidative Events and DNA Oxidation in Sencar Mice To In Vivo Promiting Activity Of Phorbol Ester-Type Tumor Promoers," *Carginogenesis*, **14**, 1195-1201.
- Welle, M. (1997), "Development, Significance and Heterogeneity Of Mast Cells With Particular Regard To Mast Cell-Spesific Proteases, Chymase and Tryptase," *J. Leukoc. Biol.*, **61** (3), 233-245.
- Wolters, P.J., Laig-Webster, M. ve Caughey, G.H. (2000), "Dipeptyl Peptidase I Cleaves Matrix-Associated Proteins and Is Expressed Mainly by Mast Cells in Normal Dog Airways," *Am. J. Resp. Cell. Mol.*, **22**, 183-190.
- Yaman, K. (1996), *Fizyoloji*, Uludağ Üniv. Basım Evi, Bursa, 164-165.
- Yong, L.C.J. (1997), "The Mast Cell: Origion, Morphology, Distribution and Function," *Exp. Toxic. Pathology*, **49**, 409-424.
- Zeytinoğlu, M., Aktaş, A. ve Koparal, A.T. (2003), "Kekik (*Origanum onites L.*)' in Rat Mide Fundus Bölgesindeki Mast Hücreleri ve Mast Hücre Salgıları Üzerine Etkileri," *Anadolu Üniv. Fen Fak. Dergisi*, s.6, 29-44.
- Zeytinoğlu, M., Aydın, S., Öztürk, Y. ve Başer, K.H.C. (1998), "Inhibitory Effects of Carvacrol on DMBA Induced Pulmonary Tumorigenesis in Rat," *Acta., Pharmaceutical Turcica*, **40**, 93-98.
- <http://www.jupiterimages.com/popup2.aspx?navigationSubType=itemdetails&itemID=23281380>
- <http://cytochemistry.net/Cell-biology/Medical/practi8.jpg>