

Koyun Fötus Derisinde Mast Hücrelerinin Gelişimi ve Sayısal Yoğunluğu

Abit AKTAŞ *  Suzan DAĞLIOĞLU *

* İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-114

Özet

Bu çalışmada, fetal koyun derilerinde mast hücrelerinin histolojik ve histokimyasal özellikleri ve dağılımları incelendi. Fötüsler yedi yaş grubuna ayrıldı. Deri örnekleri 56. ve 145. günler arasında toplam 35 fötüstan alındı. Doku örnekleri tamponlu formaldehitte tespit edildi. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Örnekler hemotoksilen eosin, toluidin blue (TB) ve alcian blue-safranin O (AB/SO) ile boyandı. Işık mikroskopta incelendi. Mast hücrelerinin sayısal yoğunluğu birim alanda (1 mm²) belirlendi. Mast hücreleri ilk 83. günlük fötüs derisinde (3. grupta) görüldü. Hücreler dermiste kan damarları ve kıl folikülleri çevresinde yerleşmişti. Mast hücrelerinin 3. ve 4. grupta AB pozitif, son üç grupta ise AB/SO pozitif granüller taşıdığı izlendi. Mast hücrelerinin yoğunluğu 3. grupta (75-85. günde) 2.80±0.87/mm², dördüncü grupta (85-100. gün) 12.40±2.03/mm², beşinci grupta (100-110. günde) 22.80±2.01/mm², altıncı grupta (110-120. gün) 26.00±1.04/mm² ve yedinci grupta (120-145. günde) 27.20±0.24/mm² olarak belirlendi. Üçüncü ve dördüncü grubun son üç grupta arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (P<0.001).

Anahtar sözcükler: *Fötal deri, Mast Hücresi, Koyun*

Mast Cell Development and Density in Fetal Sheep Skin

Summary

In this study, histological and histochemical properties and distribution of mast cells (MCs) were investigated in the fetal sheep skin. Fetuses were divided into 7 age groups. Skin samples were taken from 35 fetuses of between 56 day and 145 day-old. The samples were fixed in neutral buffered formaline and paraffin sections were cut a thickness of 5 µm. Tissues were stained with haematoxylin and eosin, toluidine blue (TB) and alcian blue/safranin O (AB/SO). Mast cell numbers determined in a test area (1 mm²). Mast cells were firstly recognized in skin of 83 days-old fetuses. The MCs were observed around the blood vessels and hair follicles in dermis. MCs granules were stained with AB in 3rd and 4th groups also were stained with AB/SO in last three groups. MCs numbers were 2.80±0.87/mm² in 3rd group (75th-85th days), 12.40±2.03/mm² in 4th group (85th-100th days), 22.80±2.01/mm² in 5th group (100th-110th days), 26.00±1.04/mm² in 6th group (110th-120th days) and 27.20±0.24/mm² in 7th group (120th-145th days). The significance between 3rd-4th groups and last three groups were statistically important (P<0.001).

Keywords: *Fetal skin, Mast Cell, Sheep*

GİRİŞ

Deri organizmada travmalar, mikroorganizmalar, UV ışınları gibi dış etkenlere karşı önemli bir bariyer görevi üstlenmiştir. Mast hücreleri yabancı uyarılara karşı direnç veya koruma görevi yaparak derinin bu bariyer fonksiyonunda önemli rol oynar ¹.

bağ doku hücreleri olarak bilinir ^{2,3}. Bu hücreler kemik iliğindeki öncül hücrelerden köken alır, dokulara göç eder ve farklılaşmasını tamamlar ⁴⁻⁸.

Mast hücreleri IgE için yüzey reseptörleri taşıy ve IgE'ye bağlanan spesifik antijenler tarafından aktive edilir ^{3,9}. Aktifleşen hücreler hızlı tip allerjik reaksi-

Mast hücreleri sitoplazmasında iri granüller taşıyan



İletişim (Correspondence)



+90 212 4737070/17220



abit@istanbul.edu.tr

yonlarda rol oynayan histamin ve lipid mediyatörleri gibi bioaktif maddeleri salgılar^{10,11}. Mast hücrelerinin allerjik reaksiyonlarda ve yangısal bozukluklarda düzenleyici rol oynadığı⁹⁻¹³, çeşitli akut ve kronik hastalıklarda artış gösterdiği bildirilmiştir^{1,13-16}. Milena ve ark.¹² stres altındaki farelerde, Roosje ve ark.¹⁴, kedilerde allerjik dermatitiste, Welle ve ark.¹⁰ da köpeklerde atopik dermatitiste mast hücrelerinin sayılarında belirgin artışlar tespit etmişlerdir. Farelerde¹⁷ ve koyunlarda¹⁸ paraziter enfestasyonlarda mast hücrelerinin degranülasyona uğradığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Mast hücreleri yerleşim yeri, içerdikleri granüllerin özellikleri, histokimyasal farklılıklar ve fonksiyonel kriterlere göre değerlendirilerek bağ doku mast hücreleri ve mukozal mast hücreleri olarak iki alt gruba ayrılmıştır¹⁹⁻²⁵. Kemiricilerde bağ doku mast hücrelerinin safranin O pozitif granüller taşıdığı, mukozal mast hücrelerinin SO (-) granüller içerdiği bildirilmiştir². Aşti ve ark.²¹, köpeklerde mukozal mast hücre granüllerinin kondroitin sülfat içerirken, bağ doku mast hücre granüllerinin heparinden zengin olduğunu bildirmişlerdir. Yine köpeklerde yapılan bir başka çalışmada¹⁹ ise mast hücreleri triptaz ve kimaz içerikleri dikkate alınarak sadece triptaz içeren, sadece kimaz içeren ve her ikisini de içeren mast hücreleri olmak üzere üç alt gruba ayrılmıştır. Noviana ve ark.¹¹, kedilerde triptaz pozitif mast hücrelerinin her organda bulunduğunu, ancak kimaz içeren mast hücrelerinin özellikle deri, dil, mide ve rektum submukozasında bulunduğunu göstermiştir.

İnsanda, deride, akciğerde ve ince bağırsakta iki tip mast hücresi tanımlanmıştır. Birincisi nötral proteazlardan triptaz ve kimotriptik proteinaz içerir, ikincisi ise sadece triptaz içerir²⁶. Feyerabend ve ark.²⁷, mast hücrelerinde heparin sentezinin mekanizmasını açıklamıştır. Sture ve ark.²⁵ da koyunlarda mast hücrelerini proteinaz reaksiyonuna göre sınıflandırmış ve mukozal mast hücrelerinin proteinaz pozitif, bağ doku mast hücrelerinin proteinaz negatif olduğunu bildirmiştir. Pemberton ve ark.²⁸ ise koyunda dermal ve pulmoner mast hücrelerinin triptaz pozitif olduğunu göstermiştir.

Mast hücrelerinin köpek derisinde^{21,22} ve koyun derisinde²³ kan damarları, sinirler, yağ bezleri, ter bezleri ve kıl foliküllerinin çevresinde yerleştikleri gösterilmiştir. Mast hücrelerinin fetal dönemdeki gelişmeleri üzerine araştırmalar az sayıdadır. Omi ve ark.²⁹ insan fötüs derisinde mast hücrelerinin ilk 18 haftalık dönemde ayırt edildiğini, hücrelerin miktarının dereceli olarak artış gösterdiğini ve erken post-

natal dönemde önemli miktarda arttığını bildirmişlerdir. Yine, insan fötüs derisinde yapılan bir çalışmada³⁰ mast hücrelerinin 14. hafta ile 21. hafta arasında ayırt edildiğini bildirilmiştir. Saval ve Ferrer³¹ ise, rat fötüs derisinde mast hücrelerinin 17. günden itibaren artış gösterdiğini ve bu artışın postnatal ilk ayda sonlandığını bildirirken, Shahroz ve Ahmadi³², koyun fötüsünün 5. ayında derinin dermis katmanında mast hücrelerinin varlığını göstermiştir.

Bu araştırmada koyun fötüsünün farklı günlerinde derideki mast hücrelerinin histolojik ve histokimyasal özellikleri ve sayısal dağılımı incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Mezbaha kesiminden elde edilen fötüslerin CRL (Crown-Rump-Lenght) tekniğine göre ölçümleri yapılarak yaşları belirlendi³³. Yaşları 56-145. günler arasında bulunan toplam 35 adet fötüs kullanıldı. Fötüsler her grupta 5 hayvan olmak üzere 7 yaş grubuna ayrıldı (*Tablo 1*). Her fötüstan histolojik incelemeler için 1.0 x 0.5 cm boyutlarında sırt bölgelerinden alınan deri örnekleri %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edildi. Deri örneklerinden rutin histolojik preparat hazırlama yöntemi ile deri yüzeyine dik kesit alabilecek şekilde parafin bloklar hazırlandı. Her blokta 5 µ kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hematoxilen - eosin, toluidine blue (TB) (%0.5 - pH 0.5) ve alcian blue (%0.5, pH 0.2) / safranin O (%0.25, pH 1) (AB/SO) boyama metotları ile boyandı³⁴. Mikroskopik incelemeler Nikon Microphot FX araştırma mikroskopunda gerçekleştirilerek mikrofotografları hazırlandı. Her hayvana ait deri örneğinde 1 mm² birim alanda mast hücrelerinin sayımı yapıldı. Gruplar arası farkın önem kontrolü tek yönlü varyans analizi (Anova) ile yapıldı. Bu farkın önem derecesini belirlemek için

Tablo 1. Fötüslerin yaş grupları, derideki mast hücre sayısı ve gruplar arasındaki fark

Table 1. Ages groups of fetuses, mast cell numbers in skin and differences of the groups

Gruplar	n	Fötüsün yaşı (gün)	Mast hücre sayısı (1 mm ²) X±s x
1. grup	5	56-65	-
2. grup	5	65-75	-
3. grup	5	75-85	2.80±0.87 ^c
4. grup	5	85-100	12.40±2.03 ^b
5. grup	5	100-110	22.80±2.01 ^a
6. grup	5	110-120	26.00±1.04 ^a
7. grup	5	120-145	27.20±0.24 ^a

a,b,c: Farklı harfler arasındaki önem derecesi istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.001)

DUNCAN testi uygulandı. İstatistiksel analizlerde SPSS 11.5 programı kullanıldı ³⁵.

BULGULAR

Mast hücreleri ilk olarak fötal dönemin 83. gününde alınan deri örneklerinde ayırt edilebildi. Bu hücrelerin dermisin str. superfisiyalesinde kan damarlarının ve kıl foliküllerinin yakınında yerleştikleri belirlendi.

Tüm gruplarda mast hücrelerinin toluidin blue ile boyandığı görüldü. Yuvarlak veya oval şekilli hücrelerin sitoplazmasında metakromatik granüller taşıdığı gözlemlendi. Hücreler merkezi veya ekzantrik yerleşimli oval veya yuvarlak bir nukleusa sahipti (*Şekil 1. A-B*).

Alcian blue/Safranin O ile boyanan örneklerde 3. ve 4. grupta mast hücre granülünün alcian blue ile maviye boyandığı gözlemlendi. Son üç grupta ise alcian blue pozitif mavi granüllerle birlikte safranin O ile pembe boyanan granüller de bulunmaktaydı. İlerleyen dönemlerde hücrelerin granüllerinin daha yoğun oldukları izlendi (*Şekil 1. C-D*). Fötal deride mast hücrelerinin gruplara göre sayısal değeri *Tablo 1*'de gösterilmiştir. İlk iki grupta mast hücresi gözlenmedi. İlk kez 3. grupta görülen hücrelerin miktarının 4. ve 5. grupta önemli bir artış gösterdiği belirlendi. Son iki gruptaki sayısal artışın daha az olduğu dikkati çekti.

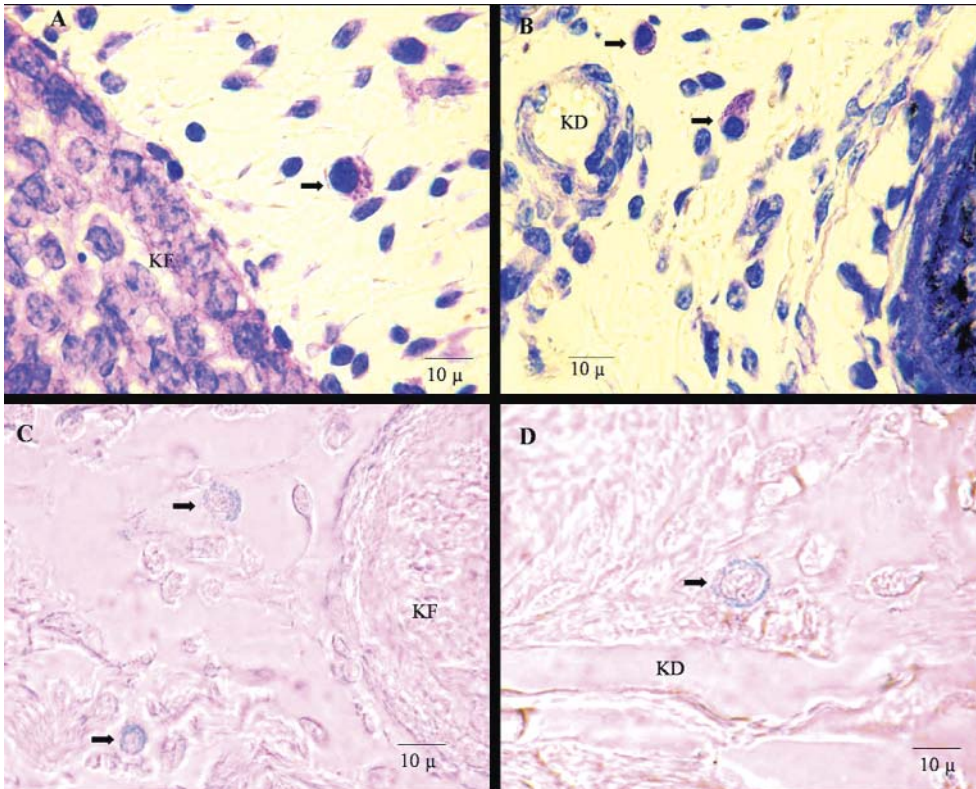
İstatistiksel değerlendirmede, 3. ve 4. grup ile son üç grup arasındaki fark önemli bulunurken ($P<0.001$), beşinci, altıncı ve yedinci grupların kendi aralarındaki farkın anlamlı olmadığı tespit edildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Deri organizmanın dış etkenlere açık bir organıdır. Derinin bariyer görevinde mast hücrelerinin yabancı uyarılara karşı savunma görevi ile birlikte birçok fonksiyonunda rol aldığı bildirilmiştir ^{1,36}.

Deride mast hücrelerinin yerleşimi türler arasında genel olarak benzerlik göstermektedir.

Aştı ve ark.²¹ ile Eren ²² köpek derisinde, Roosje ve ark.¹⁴ kedi derisinde, Yörük ve Özcan ²³, koyun derisinde, mast hücrelerinin dermisin yüzeysel katmanında kan damarı, kıl follikülü, yağ ve ter bezlerinin çevresinde yerleştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da mast hücrelerinin dermisin str. superfisiyalesinde kan damarlarının ve kıl foliküllerinin yakınında yerleştikleri belirlendi. Huntley ³, mast hücrelerinin sinirler ve kan damarlarına yakın yerleşiminden dolayı, uyarıldıklarında nöropeptitler vasıtasıyla derinin kan akımında düzenleyici rol oynadığını bildirmiştir. Milena ve ark.¹², ise stres altındaki farelerde nöropeptik substans salgılayan sinir uçları ile degranulasyon gösteren mast hü-



Şekil 1. A. 83. gün toluidin blue, B. 106. gün toluidin blue, C. 106. gün alcian blue/safranin O, D. 108. gün alcian blue/safranin O. **Oklar:** Mast hücresi, **KD:** Kan damarı, **KF:** Kıl folikülü.

Fig 1. A. 83rd days toluidin blue, B. 106th days toluidin blue, C. 106th days alcian blue/safranin O, D. 108th days alcian blue/safranin O. **Arrows:** Mast cells, **KD:** Blood vessel, **KF:** Hair follicle

relerinin yakın ilişkide olduğunu göstermişlerdir. Erginlerde olduğu gibi fetal deride de mast hücrelerinin perivasküler yerleşimi dolaşım düzenlenmesi ile yakın ilişkisini göstermektedir. Gelişmekte olan folliküllerin çevresinde bulunması ise gerek bağ dokunun yapılmasında gerekse çoğalan follikül hücrelerinin beslenmesinde rolü olduğunu düşündürmektedir.

Mast hücre granüllerinin tiplerine göre heterojenite gösterdikleri araştırmalarla gösterilmiştir ^{10,21,24}. Deri mast hücreleri granüllerinin toluidin blue ile metakromazi gösterdiği bildirilmiştir ²¹⁻²³.

Aştı ve ark.²¹ köpek derisinde, Yörük ve Özcan ²³ koyun derisinde toluidin blue ile boyanan örneklerde mast hücreleri granüllerinin belirgin olmadığını ve sitoplazmanın homojen izlendiğini bildirmişlerdir. Örneklerimizde mast hücreleri toluidin blue ile metakromatik boyanma göstermiştir. Araştırmacıların ^{21,23}, bildirimlerinin aksine sitoplazmada granüllerin belirgin boyandığı gözlenmiştir.

Deride mast hücrelerinin kimyasal özellikleri ve fonksiyonları üzerinde araştırmalar bulunmaktadır. Ergin hayvanlarda dermal mast hücrelerinin ışık mikroskop incelemelerinde granüllerin Alcian blue ve Safranin O ile boyandığı Aştı ve ark.²¹ ve Eren ²² tarafından köpek derisinde, Karaca ve Yörük ²⁴, tarafından da koyun derisinde gösterilmiştir. Rodentlerde de mast hücrelerinde Safranin O'nun heparine bağlandığı bildirilmektedir ². Mast hücrelerinde bulunan heparin ve histaminin derideki fonksiyonları ile ilgili çeşitli yorumlar bulunmaktadır. Welle ve ark.¹⁰, mast hücrelerinden salınan histaminin yara iyileşmesinde kritik rol oynadığını bildirmiştir. Savall ve Ferrer'de ³¹ yaralanmalarda histaminin vazoaaktif etkisinin rolünün önemli olduğunu ileri sürmüştür. Lucio ve ark.¹⁵ ise allerjik deri reaksiyonlarında heparinin acil reaksiyonu inhibe ettiğini bildirmiştir. Feyerabend ve ark.'nın ²⁷ yapmış oldukları bir çalışmada ise mast hücrelerinin granüllerinde heparinle birlikte proteazların da depolandığını ve salgılanan heparinin ekstrasellüler matrisde IgE reseptörünü stimüle ettiğini ileri sürmüştür. Araştırmamızda mast hücrelerinin 3. ve 4. grupta alcian blue ile mavi boyanan granüller içerdiği, son üç grupta ise alcian blue pozitif granüllerle birlikte safranin O ile pembe boyanan granüller de taşıdığı belirlendi. Hücrelerdeki granül miktarının ilerleyen fetal dönemde daha yoğun oldukları da izlendi. Bu bulgular mast hücrelerinin kimyasal özelliklerinin fetal derinin gelişimine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Fötal deride mast hücrelerinin gelişimi ile ilgili araştırmalar oldukça azdır. Savall ve Ferrer ³¹, rat derisinde mast hücrelerinin embriyonik dönemin 17. gününden itibaren artış gösterdiğini ve gelişimlerinin postnatal ilk ayın sonunda tamamlandığını ileri sürmüştür. Yamada ve ark.⁶, kemiricilerin fetal deri mast hücre kültürünün erişkin deriden hazırlanan kültüre çok benzediğini ve fetal deride mast hücre olgunlaşmasının diğer stromal hücrelerin varlığında gerçekleştiğini bildirmiştir. Breathnach ³⁰, insanda mast hücrelerinin 14. ve 21. hafta arasında görüldüğünü ve bu dönemde fibroblastların da çok sayıda ve aktif olduğunu göstermiştir. Prost-Squarcioni ve ark.¹³ ile Yamada ve ark.⁶, gelişim sırasında mast hücrelerinin fibroblastlar, makrofajlar gibi stromal hücrelerle birlikte geliştiğini bildirmişlerdir. Shahrooz ve Ahmadi ³², koyun fötüsünün 5. ayında dermisen derin bölümlerinde mast hücrelerinin görüldüğünü bildirmiştir.

Araştırmamızda mast hücreleri ilk iki grupta gözlenmemiştir. İlk kez 83. günde belirgin olarak izlenen hücrelerin miktarının 4. ve 5. grupta önemli bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Son iki grupta sayısal artışın daha az olduğu gözlenmiştir. Mast hücre sayısı en yüksek son grupta $27.20 \pm 0.24/\text{mm}^2$ bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirmede 3. ve 4. grup ile son üç grup arasındaki fark önemli bulunmuş. 5., 6. ve 7. gruplar arasındaki fark ise anlamlı bulunmamıştır. Mast hücrelerinin erken dönemlerde görülmemesi bağ dokusunun gelişiminin henüz tamamlanmamış olmasına bağlı olabilir. Fötal dönemde dermis şekillenirken bağ doku hücrelerinin gelişimi, bağ doku ipliklerinin şekillenmesi, kan damarları ve kıl folliküllerinin gelişimi ile mast hücrelerinin gelişiminin paralellik gösterdiği düşünülmektedir. Bu sonuç, araştırmacıların ^{6,13,31} bulguları ile de benzerlik göstermektedir. Araştırmalarda ergin hayvanlarda mast hücre miktarını köpek derisinde Welle ve ark. ¹⁰ $23.3/\text{mm}^2$, Eren ²² $27.80 \pm 1.68/\text{mm}^2$, Aştı ve ark. ²¹ $34.24 \pm 2.56/\text{mm}^2$ olarak bildirmiştir. Yörük ve Özcan ²³ ise ergin koyun derisinde mast hücre miktarını ort. $74.7 \pm 2.76/\text{mm}^2$ bildirmiştir. Bu araştırmaların sonuçları mast hücre miktarının hayvan türüne göre değiştiğini göstermektedir. Fötal koyun derisinde mast hücre miktarı ile ilgili bir yayın bulunmamıştır. Omi ve ark.²⁹, insan fötüsünde mast hücre miktarının dereceli olarak artış gösterdiğini ve erken postnatal dönemde ise hücre miktarında önemli bir artış olduğunu bildirmektedir. Bu araştırmacıların sonuçları araştırmamızdaki fetal deri mast hücrelerinin ergin hayvanlardakine göre düşük değerlerde bulunmasına açıklık getirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Metz M, Siebenhaar F, Maurer M: Mast cell function in innate skin immune system. *Immunobiology*, 213 (3-4): 251-260, 2008.
2. Ercan F, Çetinel Ş: Mast hücrelerinin enflamasyondaki rolü: insan ve deney hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmaların değerlendirilmesi. *Marmara Med J*, 21 (2): 179-186, 2008.
3. Huntley JF: Mast cells and basophils: A review of their heterogeneity and function. *J Comp Path*, 107, 349-372, 1992.
4. Crowle PK, Reed ND: Bone marrow origin of mucosal mast cells. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 98, 58-168, 1984.
5. Charley MR, Mikhael A, Sontheimer RD, Gilliam JN, Bennett M: Cutaneous mast cell maturation does not depend on an intact bone marrow microenvironment. *J Invest Dermatol*, 82 (1): 25-27, 1984.
6. Yamada N, Matsushima H, Tagaya Y, Shimada S, Katz S: Generation of a large number of connective tissue type mast cells by culture of Murine fetal skin cells. *J Invest Dermatol*, 121, 1425-1432, 2003.
7. Shiohara M, Kooike K: Regulation of mast cell development. *Chem Immunol Allergy*, 87, 1-21, 2005.
8. Quackenbush EJ, Wershil BK, Aguirre V, Ramos JCG: Eotaxin modulates myelopoiesis and mast cell development from embryonic hematopoietic progenitors. *Blood*, 92 (6): 1887-1897, 1998.
9. Welle MM, Olivry T, Grimm S, Suter M: Mast cell density and subtypes in the skin dogs with atopic dermatitis. *J Comp Path*, 120, 187-197, 1999.
10. Noviana D., Kono F, Nagakui Y, Shimizu H, Mamba K, Makimura S, Horii Y: Distribution and enzyme histochemical characterisation of mast cells in cats. *Histochem J*, 33 (11-12): 597-603, 2001.
11. Holgate, ST: The role of mast cells on basophils in inflammation. *Clin Exp Allergy*, 30 (1): 28-32, 2000.
12. Milena EJP, Kuhlmei A, Tobin DJ, Röver MS, Klapp BF, Arck PC: Stress exposure modulates peptidergic innervation and degranulates mast cells in murine skin. *Brain Behav Immun*, 19 (3): 252-262, 2005.
13. Prost-Squarcioni C, Fraitag S, Heller M, Boehm N: Functional histology of dermis. *Ann Dermatol Venereol*, 135 (2): 15-20, 2008.
14. Roosje PJ, Koeman JP, Thepen T, Willemse T: Mast cells and eosinophils in feline allergic dermatitis: A qualitative and quantitative analysis. *J Comp Pathol*, 131 (1): 61-69, 2004.
15. Lucio J, D'Brot J, Guo CB, Abraham W, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Ahmed T: Immunologic mast cell-mediated responses and histamine release are attenuated by heparin. *J Appl Physiol*, 73 (3): 1093-1101, 1992.
16. Metz M, Grimbaldston MA, Nakae S, Piliponsky AM, Tsai M, Galli SJ: Mast cells in the promotion and limitation of chronic inflammation. *Immunol Rev*, 217, 304-328, 2007.
17. Kalender Y, Kalender S, Uzunhisarcıklı M, Ögütçü A, Açıkgöz F: Effects of thaumetopoea pityocampa (*Lepidoptera Thaumetopoeidae*) larvae on the degranulation of dermal mast cells in mice: An electron microscopic study. *Folia Biol*, 52 (1-2): 13-17, 2004.
18. Mwangi DM, Hopkins J, Luckins AG: Trypanosoma congolense infection in sheep: Ultrastructural changes in the skin prior to development of local skin reactions. *Vet Parasitol*, 60 (1-2): 45-52, 1995.
19. Kube P, Audige L, Kuther K, Welle M: Distribution, density and heterogeneity of canine mast cells and influence of fixation techniques. *Histochem Cell Biol*, 110 (2): 129-135, 1998.
20. Befus D, Goodarce R, Dyck N, Bienenstock J: Mast cell heterogeneity in man. I. Histologic studies of the intestine. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 76, 232-236, 1985.
21. Aştı RN, Kurtkede A, Kurtkede N, Ergün E, Güzel M: Mast cells in the dog skin: Distribution, density, heterogeneity and influence of fixation techniques. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 52, 1-12, 2005.
22. Eren Ü: Köpek derisinde mast hücreleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 47, 167-175, 2000.
23. Yörük M, Özcan Z: Koyun ve keçi derisinde mast hücreleri üzerinde morfolojik ve histometrik araştırmalar. *YYÜ Sağlık Bil Derg*, 2 (1-2): 47-55, 1996.
24. Karaca T, Yörük M: Mast hücre heterojenitesi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16 (2): 57-60, 2005.
25. Sture GH, Huntley JF, MacKellar A, Miller HRP: Ovine mast cell heterogeneity is defined by the distribution of sheep mast cell proteinase. *Vet Immunol Immunopathol*, 48 (3): 275-285, 1995.
26. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, Deblois G, Schwartz LB: Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83 (12): 4464-4468, 1986.
27. Feyerabend TB, Li JP, Lindahi U, Rodewald HR: Heparan sulphate C5-epimerase is essential for heparin biosynthesis in mast cells. *Nat Chem Biol*, 2 (4): 195-196, 2006.
28. Pemberton AD, Mc Aleese SM, Huntley JF, Collie DD, Scudamore CL, Mc Euen AR, Walls AF, Miller HR: cDNA sequence of two sheep mast cell tryptases and the differential expression of tryptase and sheep mast cell proteinase-1 in lung, dermis and gastrointestinal tract. *Clin Exp Allergy*, 30 (6): 818-832, 2000.
29. Omi T, Kawanami O, Honda M, Akamatsu H: Human fetal mast cell under development of the skin and airways. *Arerugi*, 40 (11): 1407-1414, 1991.
30. Breathnach AS: Development and differentiation of dermal cells in man. *J Invest Dermatol*, 71, 2-8, 1978.
31. Savall R, Ferrer I: Mast cells in the skin of rats during development. *Med Cutan Ibero Lat Am*, 9 (5): 345-350, 1981.
32. Shahrooz R, Ahmadi A: Histomorphometric study of skin in the sheep fetus. *IJVR*, 3, 56-61, 2005.
33. Ozan İE, Otlu A, Bayram G: Prenatal dönemde koyun ve keçi akciğerlerinin ışık mikroskopik yapısı. *Doğa-Tr J Vet Anim Sci*, 15, 263-271, 1991.
34. Culling CFA: Handbook of Histopathological Techniques, Third ed. Butterworths & Co Ltd. London. UK, 1974.
35. Özdamar K: SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Kitabevi. Eskişehir, 1999.
36. Weller K, Foitzik K, Paus R, Syska W, Maurer M: Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. *FASEB J*, 20, 2366-2368, 2006.