

KULUÇKA SONRASI DÖNEMDE TAVUK (*GALLUS GALLUS DOMESTICA*) DUODENUM GOBLET HÜCRELERİNİN HİSTOKİMYASAL YAPISI

Dilek DİLER*, Seval KELEK, Kenan ÇINAR

Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 32260, Isparta. E-mail: dilekyilmaz@stud.sdu.edu.tr

Alınış: 10 Şubat 2009, Kabul: 25 Mart 2009

Özet: Kuluçkadan sonra 7 ve 60 günlük tavukların (*Gallus gallus domestica*) duodenumunda yer alan Goblet hücrelerindeki glikoprotein içeriği klasik histokimyasal yöntemlerle belirlendi. Her iki dönemde de villusun tamamındaki lamina epiteliyalis ve kriptlerde yerleşim gösteren Goblet hücrelerinin asidik, nötral, sülfatlı asidik mukosubstans ile O- sülfat esterli ve güçlü sülfatlı glikoproteinleri içerdiği belirlendi. Asidik ve sülfatlı asidik mukosubstansın baskın olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Duodenum, *Gallus gallus domestica*, Goblet hücresi, histokimya

HISTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF MUCOUS CELLS IN THE DUODENUM OF THE CHICKEN (*GALLUS GALLUS DOMESTICA*) AFTER HATCHING PERIOD

Abstract: The characteristics of glycoproteins in the mucous cells of 7 and 60 days after hatching *Gallus gallus domestica* duodenum were investigated histochemically using conventional methods. It was determined that mucous cells located in the villus lamina epithelialis and crypts and these cells contained acidic, neutral and sulphated asidic mucosubstance, glycoproteins with O- sulphate esters and very sulphated in both period. Asidic and sulphated asidic mucosubstances were dominant.

Key words: Duodenum, *Gallus gallus domestica*, mucous cell, histochemistry

GİRİŞ

Kuşlarda sindirim sistemi, sindirim kanalı ve salgılarını bu kanala akıtan anatomik bezlerden oluşmaktadır (AKSOY 1993). Sindirim kanalı gaga, ağız, yemek borusu, kursak, proventrikulus, gizzard ile ince ve kalın bağırsaklardan oluşur (AKSOY 1993, KARADAĞ & NUR 2004). Duodenumda mukozal epiteli, prizmatik hücreler ile bunların arasında yer alan Goblet hücreleri oluşturur (YÖRÜK 2008). Glikoproteinler Goblet hücreleri ile bez epitel hücreleri tarafından salgılanan mukus örtünün büyük kısmını oluşturan kompleks ve heterojen moleküllerdir (ROSE 1992). Mukus, bileşiminde yer alan glikoproteinlerin içermiş oldukları sülfat ve sialik asit gruplarının miktarına göre nötr ya da asidik karakter kazanır ve yapısında bulunan bu farklı bileşenler sayesinde farklı görevleri de yerine getirebilir. Mukoza kendi kendine

sindirimini önleyen koruyucu bir mekanizma oluşturduğu gibi, bakteriyal enfeksiyonlara karşı bir bariyer görevi de görür. Ayrıca sindirim kanalı yüzeyinde kayganlık sağlayarak besinlerin kanal yüzeyine zarar vermeden ilerlemelerini ve geçişlerini sağlarlar (LUNA 1968, KNOSPE 1991, NOYAN 2004, LIÉVIN-LE MOALAND & SERVIN 2006).

Memelilerde bu konu ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, kuş duodenumunun histokimyasal karakterine yönelik çalışma sayısı oldukça kısıtlıdır.

Bu çalışmada, kuluçka sonrası dönemde *Gallus gallus domestica* duodenumunda bulunan Goblet hücrelerinin histokimyasal yapısının belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada kuluçkadan sonra 7 ve 60 günlük dönemlerden beşer adet olmak üzere toplam 10 adet *Gallus gallus domestica* (broiler-etçi) türüne ait duodenum örnekleri materyal olarak kullanıldı. Alınan doku örnekleri 24 saat süreyle % 10' luk formalin solusyonunda tespit edildi. Rutin histolojik doku takibi işleminden geçirilen örnekler parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 6–7 µm kalınlığında alınan kesitlere Tablo 1'de belirtilen boyama yöntemleri uygulandı. Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskopunda incelendi ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekildi.

Tablo 1. Boyama yöntemleri

Uygulanan Yöntemler	Kaynak	Uygulanan Yöntemin Amacı
Hematoksilen-Eozin	(CULLING vd. 1976)	Genel histolojik yapının belirlenmesi
PAS	(MC MANUS 1948)	Nötral mukosubstansın belirlenmesi
AB pH 2.5	(LEV & SPICER 1964)	Asidik mukosubstansın belirlenmesi
PAS/AB pH 2.5	(MOWRY 1956)	Nötral ve asidik mukosubstans kompozisyonunun karşılaştırılması
AB pH 0.5	(LEV & SPICER 1964)	Güçlü sülfatlı glikoproteinlerin belirlenmesi
AB pH 1.0	(LEV & SPICER 1964)	O-sülfat esterli glikoproteinlerin belirlenmesi
AF	(GOMARI 1952)	Sülfatlı asidik mukosubstansın belirlenmesi
AF/AB pH 2.5	(SPICER & MAYER 1960)	Sülfatlı ve asidik mukosubstansın kompozisyonunun karşılaştırılması

BULGULAR

Yapılan histolojik incelemeler sonucunda 7 ve 60 günlük *Gallus gallus domestica* duodenumunda Goblet hücrelerinin villusların Lamina epiteliyalisi (L. epiteliyalis) boyunca ve kriptlerin üst ile bazal kısımlarında yerleşim gösterdiği tespit edildi.

Duodenumda Goblet hücrelerinin dağılımı Tablo 2 ve histokimyasal reaksiyonların yoğunluğu Tablo 3’de verildi.

7 Günlük Dönem

Bu dönemde nötral mukosubstansın varlığını göstermek amacıyla uygulanan PAS boyama yöntemi sonucunda villusların L. epiteliyalis ve kriptlerinde bulunan az sayıdaki Goblet hücrelerinin bu yöntem karşısında zayıf ve orta dereceli reaksiyon gösterdiği belirlendi.

Asidik ve nötral mukosubstansın kıyaslanması amacıyla uygulanan PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi sonucunda L. epiteliyaliste bulunan Goblet hücrelerinin çoğunda asidik ve nötral mukosubstansın karışım halinde bulunduğu ve asidik mukosubstansın baskın olduğu gözlenirken (Şekil 1), az sayıdaki Goblet hücrelerinin ise PAS ve AB pH 2.5 pozitif özellikte olduğu belirlendi. Kriptlere ait Goblet hücrelerinin çoğunda asidik ve nötral mukosubstansın karışım halinde bulunduğu ve asidik mukosubstansın baskın olduğu dikkati çekerken, az sayıdaki Goblet hücrelerinin ise PAS ve AB pH 2.5 pozitif özellikte olduğu gözlemlendi.

Yedi günlük *Gallus gallus domestica* duodenum villuslarının L. epiteliyalisinde yerleşim gösteren Goblet hücrelerinde AB pH 0.5’e karşı zayıf reaksiyon, kriptlerdeki Goblet hücrelerinde ise güçlü reaksiyonun gerçekleştiği tespit edildi (Şekil 2).

AB pH 1.0 uygulaması sonucunda villusların uç kısımlarındaki az sayıdaki Goblet hücrelerinin zayıf reaksiyon, kriptlerin üst bölümündeki Goblet hücrelerinin bir kısmının ve kriptlerin bazal bölümündeki çok sayıdaki hücrenin ise orta derecede reaksiyon gösterdiği belirlendi (Şekil 3).

AB pH 2.5 uygulanması ile villusların tamamına ait L. epiteliyalis ve kriptlerde bulunan çok sayıdaki Goblet hücrelerinin yoğun miktarda asidik mukosubstans içerdiği tespit edildi.

Sülfatlı asidik mukosubstansın belirlenmesi amacıyla uygulanan AF yöntemi sonucunda L. epiteliyalisteki Goblet hücrelerinin tamamının ve kriptlerde bulunan Goblet hücrelerinin çoğunun sülfatlı asidik mukosubstansı çok yoğun bir biçimde içerdiği gözlemlendi.

Sülfatlı ve asidik mukosubstansın kıyaslanmasını sağlayan AF/AB pH 2.5 kombine boyama yönteminin uygulaması sonucunda L. epiteliyalisteki Goblet hücrelerinin tamamının ve kriptlerin üst bölümünde bulunan Goblet hücrelerinin çoğunun sülfatlı ve asidik mukosubstansı yoğun bir biçimde içerdiği saptandı. Fakat bu kombinasyonda

AF'nin daha baskın olduğu ve bazı hücrelerinde AF ve AB pH 2.5 pozitif materyalleri orta derecede içerdiği belirlendi (Şekil 4). Kriptlerin bazal kısmında ise Goblet hücrelerinin çoğunun sülfatlı ve asidik mukosubstansı yoğun bir biçimde içerdiği fakat AF pozitivitesinin daha baskın olduğu ve az sayıdaki hücrede orta derecede AB pozitif mukosubstans tespit edildi (Şekil 5).

60 Günlük Dönem

Bu dönemde villuslarda ve kriptlerin üst kısmında bulunan Goblet hücrelerinin çoğunun PAS yöntemine karşı orta, kriptlerin bazal kısmında bulunan hücrelerin ise bu yönteme karşı zayıf reaksiyon verdiği belirlendi.

PAS/AB pH 2.5 kombine uygulaması ile *L. epiteliyalis* (Şekil 6) ve kriptlerde (Şekil 7) bulunan çok sayıdaki hücrede karşım halinde bulunan mukosubstansta AB pH 2.5'in baskın olduğu saptandı.

Altmış günlük *Gallus gallus domestica* duodenum kesitlerine uygulanan AB pH 0.5 yöntemi ile *L. epiteliyalis*de yerleşim gösteren az sayıdaki Goblet hücrelerinde zayıf, kriptlerde bulunan çok sayıdaki hücrede ise güçlü reaksiyonun gerçekleştiği tespit edildi (Şekil 8).

AB pH 1.0 yöntemi ile villuslar ve kriptlerdeki Goblet hücrelerinin çoğunun O-sülfat esterli glikoproteinleri içerdiği gösterildi (Şekil 9). Villuslardaki Goblet hücrelerinin tamamı ile kriptlerdeki Goblet hücrelerinin çoğunun AB pH 2.5 yöntemine karşı güçlü reaksiyon gösterdiği tespit edildi (Şekil 10).

AF uygulaması sonucunda villuslardaki Goblet hücrelerinin ve kriptlerdeki Goblet hücrelerinin çoğunun bu yönteme karşı çok güçlü reaksiyon verdiği belirlendi.

Sülfatlı ve asidik mukosubstansın kıyaslanmasını sağlayan AF/AB pH 2.5 kombine boyama metodunun uygulanması sonucunda villuslarda bulunan Goblet hücrelerinin çoğunun sülfatlı ve asidik mukosubstansı yoğun bir biçimde içerdiği tespit edildi. Uygulanan bu kombine yöntemde AF'nin daha baskın olduğu ve az sayıdaki hücrenin de sülfatlı ve asidik mukosubstansı birlikte içerdiği belirlendi (Şekil 11). Kriptlerdeki Goblet hücrelerinin çoğunun sülfatlı ve asidik mukosubstansı yoğun bir biçimde içerdiği ancak AF pozitivitesinin daha baskın olduğu (Şekil 12) tespit edildi.

Tablo 2. L. epitelyalis ve kriplerde bulunan Goblet hücrelerinin dağılımı

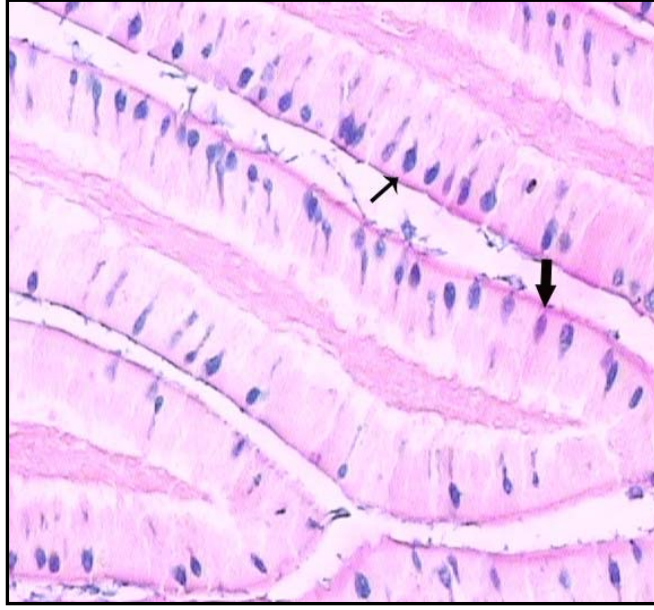
Yöntem	7 günlük dönem			60 günlük dönem		
	Villus	Kript		Villus	Kript	
		Kriptlerin Üst Bölümü	Kriptlerin Bazal Bölümü		Kriptlerin Üst Bölümü	Kriptlerin Bazal Bölümü
PAS	+	+	+	+++	+++	+++
AB pH 2.5	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PAS/AB pH 2.5	K +++	K +++	K +++	K +++	K +++	K +++
AB pH 0.5	+	++	+++	+	+++	+++
AB pH 1.0	+	++	+++	+++	+++	+++
AF	+++	+++	+++	+++	+++	+++
AF/AB pH 2.5	K +++	K +++	K +++	K +++	K +++	K +++

Goblet hücrelerinin dağılımı; +++, çok sayıda; ++, orta sayıda; +, az sayıda; -, yok; K, Karışım

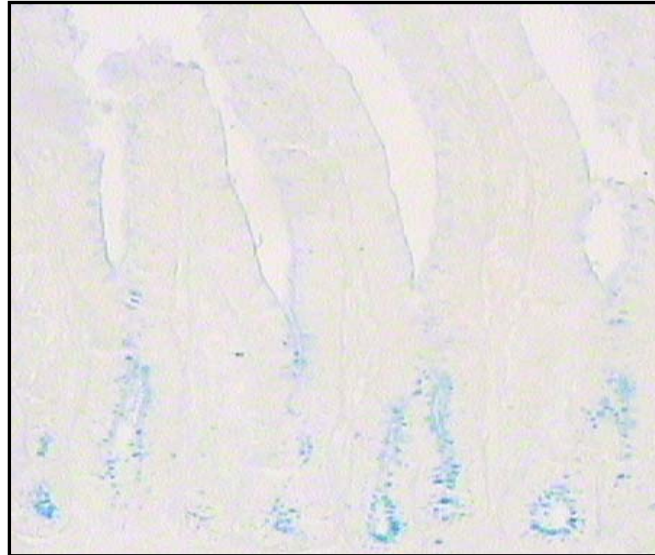
Tablo 3. L. epiteliyalis ve kriptlerde bulunan Goblet hücrelerinin uygulanan yöntemlere karşı verdikleri reaksiyonun yoğunluğu

Yöntem	7 günlük dönem			60 günlük dönem		
	Villus	Kript		Villus	Kript	
		Kriptlerin Üst Bölümü	Kriptlerin Bazal Bölümü		Kriptlerin Üst Bölümü	Kriptlerin Bazal Bölümü
PAS	+/+++	+/+++	+/+++	++	++	+
AB pH 2.5	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PAS/AB pH 2.5	AB 2.5*	AB 2.5*	AB 2.5*	AB 2.5*	AB 2.5*	AB 2.5*
AB pH 0.5	+	+++	+++	+	+++	+++
AB pH 1.0	+	++	++	++	+++	+++
AF	++++	++++	++++	++++	++++	++++
AF/AB pH 2.5	AF*	AF*	AF*	AF*	AF*	AF*

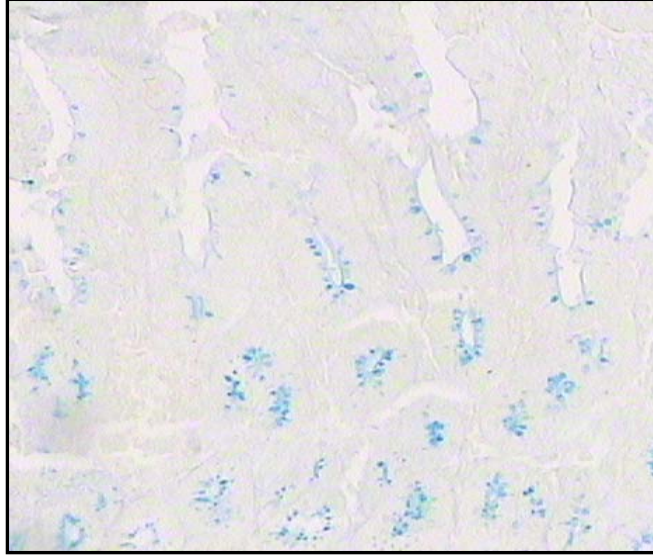
Reaksiyon şiddetinin gösterimi; +++++, çok güçlü; +++, güçlü; ++, orta; +, zayıf; -, negatif; * baskın



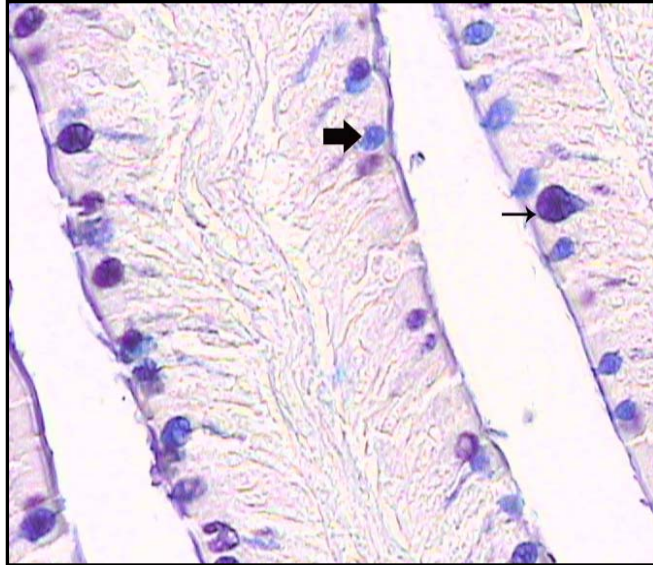
Şekil 1. L. epithelialisde asidik ve nötral mukosubstans içeren Goblet hücresi (ince ok), PAS pozitif Goblet hücresi (kalın ok), 7 günlük dönem, PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X200



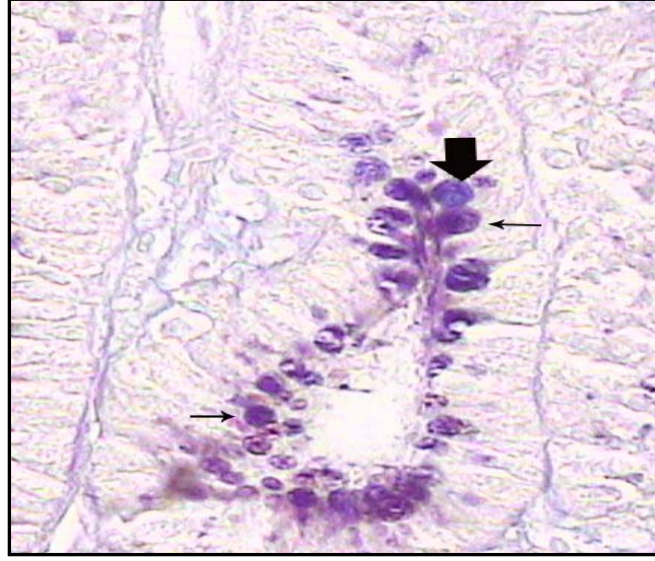
Şekil 2. L. epithelialis ve kriptlerdeki güçlü sülfatlı glikoproteinleri içeren Goblet hücreleri, 7 günlük dönem, AB pH 0.5 boyama yöntemi, X100



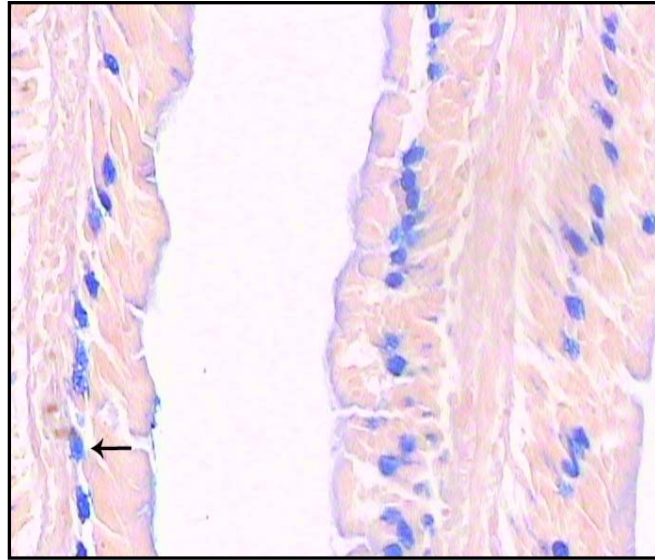
Şekil 3. L. epithelialis ve kriptlerdeki O- sülfat esterli glikoproteinleri içeren Goblet hücreleri, 7 günlük dönem, AB pH 1.0 boyama yöntemi, X100



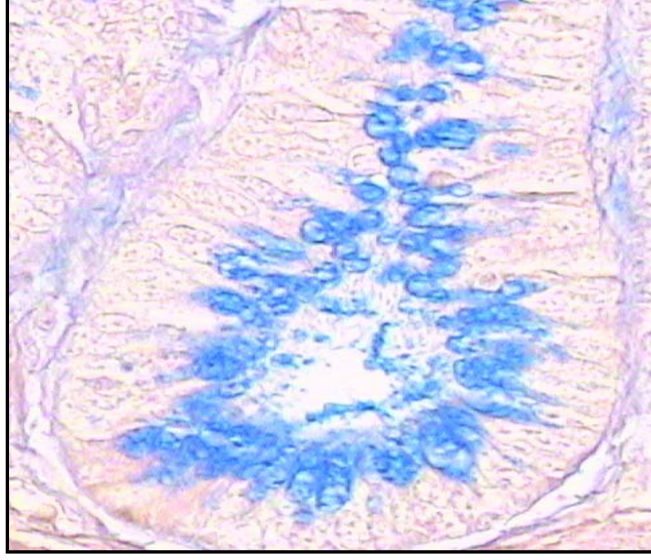
Şekil 4. L. epithelialisde sülfatlı ve asidik mukosubstans karışımını içeren Goblet hücresi (ince ok), asidik mukosubstans içeren Goblet hücresi (kalın ok), 7 günlük dönem, AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X200



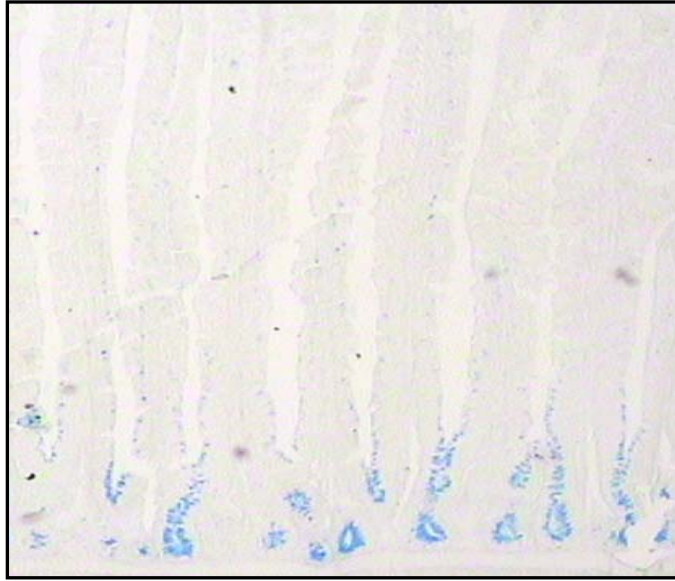
Şekil 5. Kriptin bazal kısmında sülfatlı ve asidik mukosubstans karışımını içeren Goblet hücreleri (ince oklar), AB pozitif Goblet hücre (kalın ok), 7 günlük dönem, AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X400



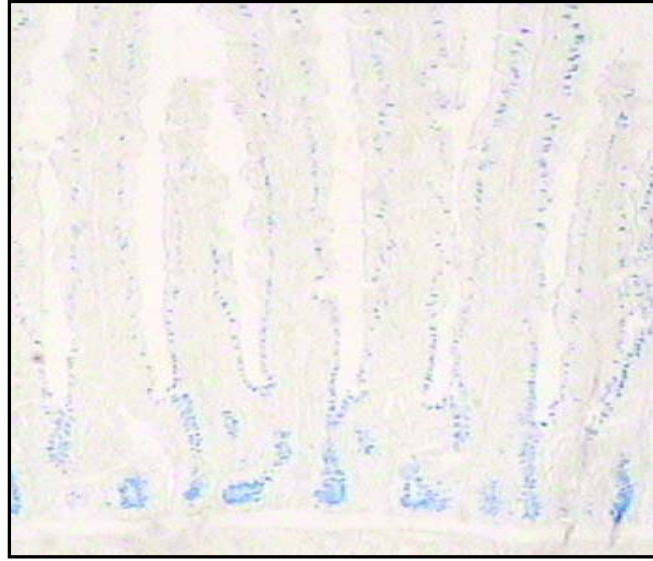
Şekil 6. L. epithelialisde asidik mukosubstans içeren Goblet hücresi (ok), 60 günlük dönem, PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X200



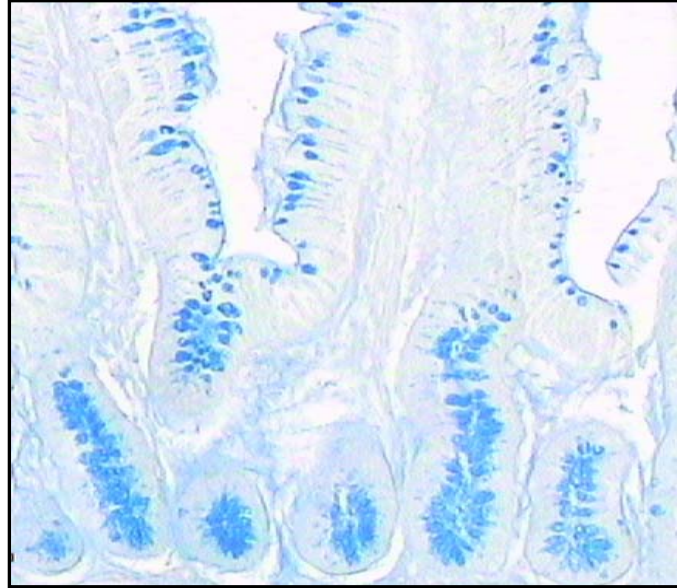
Şekil 7. Kriptin bazal kısmında asidik mukosubstans içeren Goblet hücreleri, 60 günlük dönem, PAS/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X400



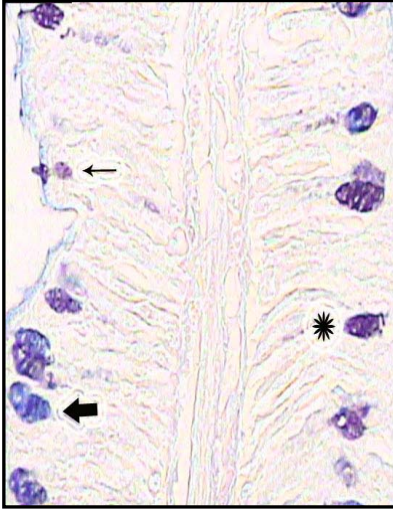
Şekil 8. L. epithelialis ve kriptlerdeki güçlü sülfatlı glikoproteinleri içeren Goblet hücreleri, 60 günlük dönem, AB pH 0.5 boyama yöntemi, X100



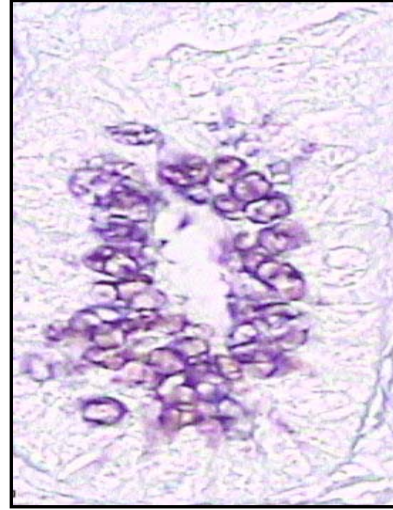
Şekil 9. L. epithelialis ve kriptlerdeki O- sülfat esterli glikoproteinleri içeren Goblet hücreleri, 60 günlük dönem, AB pH 1.0 boyama yöntemi, X100



Şekil 10. L. epithelialis ve kriptlerdeki asidik mukosubstans içeren Goblet hücreleri, 60 günlük dönem, AB pH 2.5 boyama yöntemi, X200



Şekil 11. L. epithelialisde sülfatlı ve asidik mukosubstans içeren Goblet hücresi (yıldız), AF (ince ok) ve AB pH 2.5 (kalın ok) pozitif Goblet hücresi, 60 günlük dönem, AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X400



Şekil 12. Kriptin bazal kısmındaki sülfatlı ve asidik mukosubstans içeren Goblet hücreleri, 60 günlük dönem, AF/AB pH 2.5 boyama yöntemi, X400

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kuluçka sonrası 7 günlük tavuklarda ince bağırsağın proksimal, orta ve distal segmentlerinde bulunan Goblet hücrelerinin asidik ve nötral mukosubstans ürettiği bildirilmektedir (UNI vd. 2003). Araştırmacıların bulgusuyla uyumlu olarak bu çalışmada da 7 günlük dönemde duodenumda bulunan Goblet hücrelerinin asidik ve nötral mukosubstansı içerdiği tespit edildi.

PASTOR vd. (1988) erişkin tavuk ince bağırsak villus epitelinde bulunan hücrelerin PAS yöntemine karşı zayıf reaksiyon verdiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise 60 günlük dönemde villuslarda bulunan hücrelerde PAS yöntemine karşı orta derecede reaksiyon gerçekleştiği saptandı.

ÖZDEMİR vd. (2004) bir günlük kobay duodenumunda L. epithelialisde bulunan Goblet hücrelerinin PAS pozitif özellikte olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da her iki dönemde L. epithelialisde bulunan Goblet hücrelerinin nötral mukosubstansı içerdiği belirlendi.

KATSUYAMA & SPICER (1978) ratların duodenumunda L. epithelialis ve kriptlerde bulunan Goblet hücrelerinde nötral mukosubstansın PAS yöntemine karşı güçlü reaksiyon gösterdiğini, AB pH 2.5/ PAS uygulaması ile de asidik ve nötral mukosubstans karışımının yoğun halde bulunduğunu bildirilmişlerdir. Bu çalışmada da 60 günlük dönemde araştırmacıların (KATSUYAMA & SPICER 1978) bulgularıyla uyumlu sonuçlar elde edildi.

Erişkin tavuk ince bağırsağında yapılan bir araştırmada PAS/ AB pH 2.5 boyama yönteminin uygulanması sonucunda, her iki mukosubstansın karışımından oluşan içeriğinin yoğun olduğu ve bu karışımda asidik mukosubstansın baskın olduğu bildirilmiştir (PASTOR vd. 1988). Bu çalışmada da 60 günlük dönemde araştırmacıların (PASTOR vd. 1988) bulgusuyla uyumlu olarak musin içeriğinde asidik mukosubstans baskınlığı gözlemlendi.

PASTOR vd. (1988) erişkin tavuk ince bağırsağında zayıf yoğunlukta O-sülfat esterli glikoproteinlerin bulunduğunu bildirilmelerine karşın, bu çalışmada 60 günlük dönemde kripterlerde güçlü, kripter dışındaki bölümlerinde ise orta yoğunlukta AB pH 1.0 pozitif mukosubstansın bulunduğu gözlemlendi. PASTOR vd. (1988)' nin bulgularından farklı olarak bu çalışmada 60 günlük dönemde asidik mukosubstansın yoğun olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, bu çalışmada kuluçka sonrası farklı dönemlerdeki *Gallus gallus domestica* duodenumunun L. epitelyalis ve kripter bölümlerinde bulunan Goblet hücrelerinin asidik, nötral, sülfatlı asidik mukosubstans ile O- sülfat esterli ve güçlü sülfatlı glikoproteinleri içerdiği belirlendi. Asidik ve sülfatlı asidik mukosubstansın baskın olduğu gözlemlendi. Goblet hücrelerinin içeriğinin dönemler arasında önemli farklılıklar göstermediği tespit edildi.

KAYNAKLAR

- AKSOY FT, 1993. *Tavuk yetiştiriciliği*. Şahin Matbaası, Ankara. pp. 251.
- CULLING CFA, REID PE, DUNN WL, 1976. A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and non-acylated sialic acids. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 24, 1225-1230.
- GOMARI G, 1952. Gomari' s Aldehyde Fuchsin Stain. In: CULLING CFA, ALLISON RT. & BARR WT. (Eds.) *Cellular Pathology Technique*. Butterworths, London. pp. 238.
- KARADAĞ H, NUR İH, 2004. Sindirim Sistemi (Systema Digestorium). In: DURSUN N. (Ed.) *Evcil Kuşların Anatomisi*. Medisan Yayınevi, Medisan Yayın Serisi: 49, 2. Baskı, Ankara. pp. 230.
- KATSUYAMA T, SPICER SS, 1978. Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. *The Histochemical Society*, 26, 233-250.
- KNOSPE C, 1991. Evidence for secretion channels in the gastric mucous sheet of the cat. *Acta Anatomica*, 142, 1-5.
- LEV R, SPICER SS, 1964. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 12, 309-309.
- LIÉVIN-LE MOALAD V, SERVIN AL, 2006. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: Mucins, antimicrobial peptides, and microbiota. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 315-337.
- LUNA LG, 1968. Methods for Carbohydrates and Mucoproteins. In: LUNA LG. (Ed.) *Manual of histologic staining methods of armed forces institute of pathology*. McGraw-Hill Book Company, New York. pp. 163-171.

- MC MANUS JFA, 1948. Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, 23, 99-108.
- MOWRY RW, 1956. Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 4, 407-408.
- NOYAN A, 2004. *Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji*. Meteksan anonim şirketi. Ankara. pp. 1154.
- ÖZDEMİR D, AYDIN A, ATALAR Ö, 2004. Dişi kobaylarda (*Cavia porcellus*) duodenum mukozasının postnatal gelişimi üzerine ışık mikroskopik incelemeler. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 18, 2, 81-84.
- PASTOR LM, BALLESTA J, MADRID JF, PEREZ-TOMAS R, HERNANDEZ F, *Acta Histochemica*, 83, 91-97.
- ROSE MC, 1992. Mucins: Structure, function and role in pulmonary diseases. *Lung Cellular and Molecular Physiology*, 263, 413-429.
- SPICER SS, MAYER DR, 1960. Aldehyde Fuchsin/ Alcian Blue. In: CULLING CFA, ALLISON RT. & BARR WT. (Eds.) *Cellular Pathology Technique*. Butterworths, London. pp. 233.
- UNI Z, SMIRNOV A, SKLAN D, 2003. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. *Poultry Science*, 82, 320-327.
- YÖRÜK M, 2008. Sindirim Sistemi II: Sindirim Kanalı. In: ÖZER A. (Ed.) *Veteriner Özel Histoloji*. Nobel Basımevi, Ankara. pp. 161-184.