

SUDAK (*Stizostedion lucioperca* (L., 1758)) BALIĞINDA MİDE VE BAĞIRSAKTA BAZI PEPTİDLERİN LOKALİZASYONU

Nurgül ŞENOL¹, Kenan ÇINAR², Ülker EREN³

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Gelendost Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Gelendost/Isparta. e-mail: ngsenol@hotmail.com

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta

³ Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji ABD, Aydın

Alınış: 24 Haziran 2009, Kabul: 7 Ekim 2009

Özet: Bu çalışmada, *Stizostedion lucioperca* (sudak) gastrointestinal kanal mukozasının kolesistokin-8, gastrin 1, vasoaktif intestinal polipeptid, sekretin, somatostatin-14, bombesin ve histamin peptidlerinin lokalizasyon ve dağılımlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan immunohistokimyasal çalışmalar sonucunda sudak (*Stizostedion lucioperca*) mide (kardiya, fundus, pilorus) ve bağırsak bölümlerinde (ilk, orta ve son bağırsak) genel olarak çalışılan tüm peptidlerin farklı yoğunlukta lokalize oldukları tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Gastrointestinal kanal, immunohistokimya, peptid, *Stizostedion lucioperca*

THE LOCALIZATION OF SOME PEPTIDES OF STOMACH AND INTESTINE OF ZANDER (*Stizostedion lucioperca*)

Abstract: In this study, it was aimed to identify the distribution of cholecystokinin-8 (CCK-8), gastrin 1, vasoactive intestinal polypeptide (VIP), secretin, somatostatin-14, bombesin, and histamine peptides within the gastrointestinal tract mucosa of zander (*Stizostedion lucioperca*). As a result of the immunohistochemical studies, all the peptides studied were determined to be localized generally in different distribution within the stomachs of zander (*Stizostedion lucioperca*) (cardia, fundus, pylorus) as well as within its intestine (anterior, middle and posterior intestine).

Key words: Gastrointestinal tract, immunohistochemical, peptide, *Stizostedion lucioperca*

GİRİŞ

Bu çalışmada gastrointestinal kanalın bazı bölgelerinin (mide, bağırsak) peptidleri araştırılan Sudak (*Stizostedion lucioperca*), Percidae familyasına ait karnivor bir tatlısu balığıdır. Boyu 1.25 metreye, ağırlığı 12–19 kilograma ulaşabilir. Sırtı yeşilimsi gri renkte olup sırttan karına doğru 8–10 adet koyu renkli enine bant bulunur. Bu koyu renkli bantlar yaşlı balıkta solgunlaşır ve birbirini küçük aralarla takip eder. Birbirinden ayrı duran iki sırt yüzgeci vardır. Kuyruk yüzgeci az girintili ve loplarının ucu yuvaraktır. Kuyruk ve sırt yüzgeçleri üzerindeki ışınları birbirine bağlayan şeffaf zarlar üzerinde sıralanmış siyah benekler vardır. Yanakları genellikle çıplaktır. Ağız uç konumlu, ağız açıklığı ise geniştir. Gündüzlerini dipte geçirip, avlanmak için sabah erken veya akşama

doğru su yüzeyine çıkar. Sudak tipik ılık ve sakin su balığıdır ve suyu çok berrak olmayan akarsu, göl ve baraj göllerinde kumlu tabanları tercih eder (ÖZYURT & AVŞAR 2002, ALAGÖZ 2005). Sudak balığı fonksiyonel ve gelişmiş bir mideye sahip olup, midesi kardiya, fundus ve pilorus olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Bağırsak, genellikle düz ve vücut boyundan daha kısadır. Tatlısu balıkları içinde en kısa bağırsak yapısına sahip türdür (HIBIYA 1982, BARAN & TIMUR 1983).

Gastrointestinal kanalda yer alan tüm epitel hücrelerin %1'i entero-endokrin hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler çeşitli peptid ve hormonları salgırlar ve bunlar gastrin, sekretin, kolesistokinin (Cholecystokinin, CCK) serotonin, glukagon benzeri peptid, glukagon benzeri peptid 2, somatostatin, substans-P, vasoactive intestinal peptide (VIP), bombesin, gastrik inhibitor peptid, motilin ve pankreatik polipeptidten oluşmaktadır (GIROLAMO vd. 1999, LUCINI vd. 1999, KIM vd. 2000, DOMENEGHINI vd. 2000, PAN vd. 2000a, YOUSON vd. 2001, BURRIN vd. 2003, KU vd. 2004, BOSI vd. 2005). Entero-endokrin sistemi oluşturan hücreler az ve seyrek olmasına rağmen kompleks bir sistemdir. Entero-endokrin sistem tarafından salgılanan pek çok peptid ve hormon sinir sisteminden de salgılanmaktadır. Bu sistem birçok gastrointestinal aktiviteyi düzenler, otonom sinir sistemi ile uyum gösterme özelliği, glukoz metabolizmasını düzenleme, pankreas ve safra salgısının iletimi, bağırsak epitelinin rejenerasyonu gibi faaliyetleri gerçekleştirmektedir (LEE & KAESTNER 2004).

Bu çalışmada; *Stizostedion lucioperca* (sudak) türünün gastrointestinal kanal mukozasında cholecystokinin-8 (CCK-8), gastrin 1, vasoactive intestinal polypeptide (VIP), sekretin, somatostatin-14, bombesin ve histamin peptidlerinin mide (kardiya, fundus, pilorus) ile ilk, orta ve son bağırsakta lokalizasyon ve dağılımlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

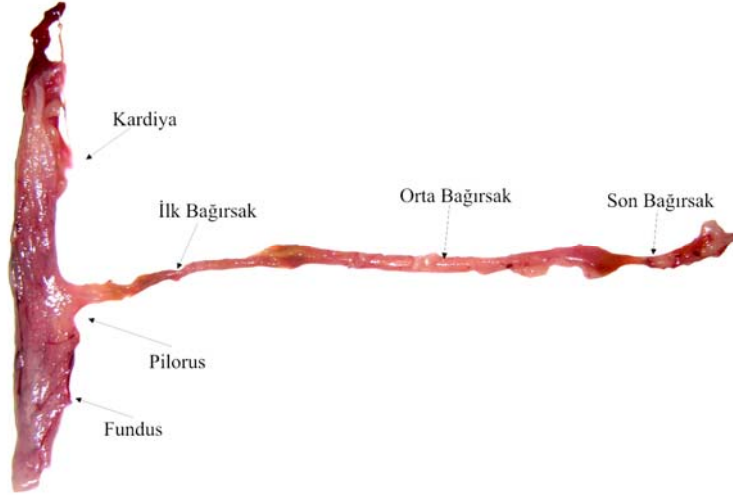
MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada 1–2 yaşında olan 20 adet sudak (*Stizostedion lucioperca*) balığı Kovada Gölünden temin edildi (Şekil 1). Yaş tayini pullara bakılarak yapıldı (ÇELİKKALE 1991). Temin edilen balıkların boyları (25–30 cm) ve total ağırlıkları (250–350 g) belirlendikten sonra mide ve bağırsaklardan örnek alımı gerçekleştirildi.



Şekil 1. *Stizostedion lucioperca* (Sudak)

Sudakların mide (kardiya, fundus, pilorus) ile ilk, orta ve son bağırsaklarından (Şekil 2) alınan doku örnekleri Bouin tespit solusyonunda 16–18 saat tespit edildi.



Şekil 2. *Stizostedionlucioperca* (sudak)'nın mide ve bağırsak bölümleri

Rotary mikrotomda 5-6 µm kalınlığında alınan kesitlere Gastrin-1, CCK-8, secretin, VIP, somatostatin-14, bombesin ve histamin içeren hücrelerin belirlenmesi için Peroxidase anti-peroxidase (PAP) yöntemi (STERNBERGER 1979) uygulandı.

Bu metoda göre ksilol ve alkollerden geçirilen kesitler, suda yıkandıktan sonra rehidrasyonu daha da arttırmak için 30 dakika laboratuvar koşullarında PBS içinde bekletildi. Antijenik etiketlenmeyi arttırmak için 37°C'de pH 7.8 olan 0.1% trypsin içerisine alındı. Bu işlem 20 –30 dakika arasında uygulandı. Kesitler daha sonra normal keçi serumunda (1:100) oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Kesitler ayrı ayrı Çizelge 3.2'de isim ve sulandırılmaları verilen antiserumlarda + 4 ° C'de 12–18 saat süreyle tutuldu. Sonraki aşamalarda sırasıyla PBS (0.01 M, pH 7.4) ile yıkayıp, anti-rabbit IgG içerisinde oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitlere PAP (1:400) complex oda sıcaklığında 1 saat uygulandı. Kesitlerin boyanması -3.3-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) (10-20 dakika) yapıldı. Boyanan kesitler PBS ile yıkanarak alkol ve ksilollerden geçirilip entellan ile kapatıldı.

PAP metodu uygulanan preparatlar Olympus C400 Işık mikroskopunda incelendi ve bulgular kaydedildi ve fotoğrafları çekildi. Mikroskopta 10 x 40 büyütme ile toplam 4 ayrı preparatta Gastrin-1, CCK-8, secretin, vasoactive intestinal polypeptide, somatostatin-14, bombesin ve histamin immunreaktif hücrelerinin sayımları yapıldı. Kesitlerde milimetrekareye (mm²) düşen hücre sayıları belirlendi. Veriler SPSS 10 istatistiksel yazılım programında varyans analizine tabi tutuldu ve varyans analizi sonucu önemli bulunan bölgelerdeki immunreaktif hücre tipi ortalama yoğunlukları Duncan testi ile karşılaştırıldı.

Tablo 1. Uygulanan antiserumlar ve sulandırılmaları

Antiserum	Ürün No	Dilüsyon Oranı	Markası
CCK-8	C2581	1: 200	Sigma USA
Gastrin-1	G0785	1: 200	Sigma USA
VIP	V3508	1: 200	Sigma USA
Somatostatin-14	S0694	1: 200	Sigma USA
Histamine	H7403	1: 200	Sigma USA
Secretin	sc-20938	1: 200	Santa Cruz Biotec. INC.
Bombesin	NCL-BOMp	1: 200	Nova Castra Lab. UK

BULGULAR

Yapılan immunohistokimyasal incelemeler sonucunda sudak balığında (*Stizostedion lucioperca*) çalışılan bölgelerde, genel olarak tüm peptidlerin farklı yoğunlukta lokalize oldukları tespit edildi (Tablo 2). Tespit edilen immunreaktif hücrelerin genellikle lümene kadar uzandığı gözlemlendi.

Tablo 2. Sudak balığı (*Stizostedion lucioperca*)'nın sindirim sisteminde immunreaktif hücrelerin kompozisyonu

Hücre tipi	X (hücre sayısı/mm ²) ±SEM					
	Kardiya	Fundus	Pilorus	İlk bağırsak	Orta bağırsak	Son bağırsak
CCK-8	6.67 ^a ±2.89	8.67 ^{ab} ±1.15	6.00 ^a ±1.73	7.00 ^a ±1.73	15.67 ^c ±1.15	10.67 ^b ±1.15
Bombesin	16.00 ^c ±1.73	13.00 ^b ±1.73	4.00 ^a ±1.00	5.33 ^a ±0.58	10.67 ^b ±1.15	10.67 ^b ±1.15
Gastrin-1	17.33 ^c ±2.31	39.33 ^d ±2.31	6.33 ^a ±0.58	9.33 ^{ab} ±2.31	15.67 ^{bc} ±8.14	10.67 ^{abc} ±1.15
Sekretin	19.33 ^c ±2.31	19.00 ^c ±5.20	4.00 ^a ±1.73	5.67 ^a ±1.15	15.67 ^{bc} ±1.15	13.33 ^b ±0.58
Somatostatin-14	21.33 ^f ±0.58	16.00 ^e ±1.73	1.67 ^a ±0.58	5.33 ^b ±0.58	11.33 ^d ±0.58	8.67 ^c ±1.15
Histamine	23.33 ^{cd} ±2.31	16.67 ^b ±1.15	4.00 ^a ±0.00	16.33 ^b ±2.31	25.67 ^d ±1.15	20.67 ^c ±1.15
VIP	26.67 ^c ±2.89	32.33 ^d ±4.04	11.33 ^a ±2.31	18.00 ^b ±1.73	12.33 ^a ±0.58	16.67 ^b ±1.15

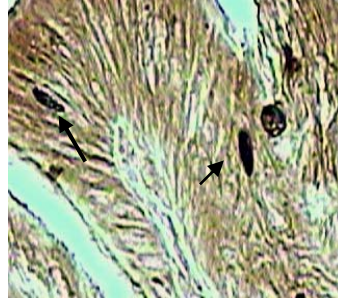
Gastrin-1 immunreaktif hücreler

Gastrin-1 immunreaktif hücrelerinin fundusun lamina epitelyalisinde oldukça yoğun olduğu belirlendi. Bunu kardiya ve orta bağırsak bölgelerinin izlediği saptandı. Kardiya ve özellikle de fundus bölgesindeki bezlerde de gastrin-1 immunreaktif hücre yoğunluğunun fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 3, 4). Bu hücrelerin özellikle villuslar ve

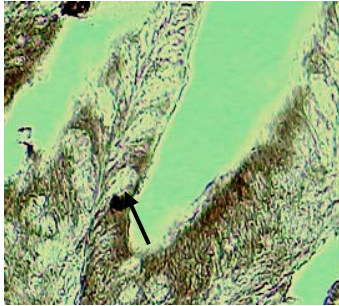
kriptlerde lokalize olduğu belirlendi (Şekil 5, 6). Çalışılan tüm bölgelerde gastrin immunreaktivitesinin sinir sonlanmaları ile submukozadaki bazı bağ dokusu hücrelerinde rastlandı (Şekil 7, 8). Gangliyon hücrelerinde ise oldukça zayıf reaksiyon gözlemlendi.



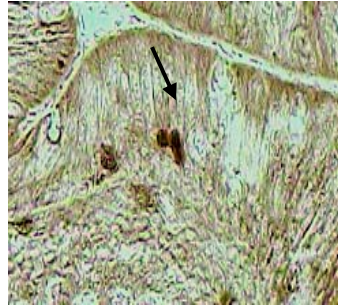
Şekil 3. Fundusta L. epitelyaliste gastrin IR hücre, PAP X 400 ok



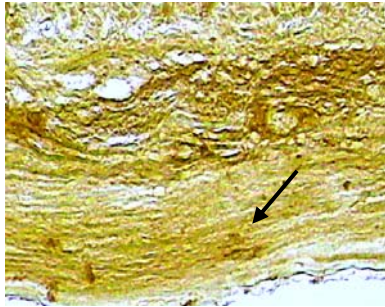
Şekil 4. Pilorusta L. epitelyaliste gastrin IR hücreler, PAP X 400 oklar



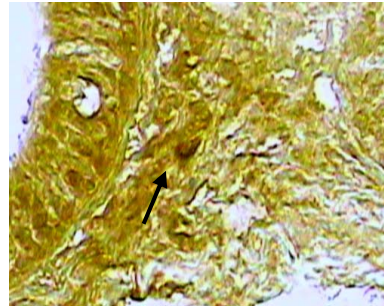
Şekil 5. Orta bağırsakta L. epitelyaliste gastrin IR hücre, PAP X 200 ok



Şekil 6. Son bağırsakta L. epitelyaliste gastrin IR hücreler, PAP X 200 ok



Şekil 7. İlk bağırsakta sinir sonlanmalarında gastrin immunreaktivitesi, PAP X 400 ok

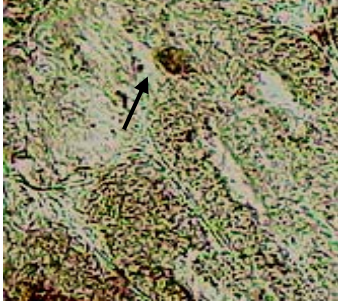


Şekil 8. Son bağırsakta bağ dokusunda gastrin IR hücre, PAP X 400 ok

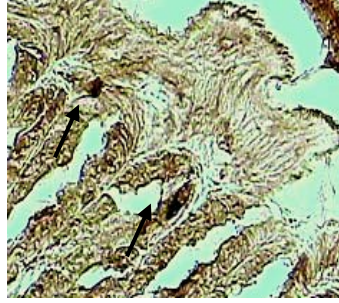
CCK-8 immunreaktif hücreler

CCK-8 immunreaktif hücrelerin kardiya ve pilorus bölgesine oranla fundusun lamina epitelyalisinde daha yoğun olduğu gözlemlendi (Şekil 9-11). Bu immunreaktivite kardiya ve fundus bölgesindeki bezlerde yer alan hücrelerde de tespit edildi. Bağırsaklarda ise bu hücrelerin orta bağırsak bölgesinin lamina epitelyalisinde yoğun olduğu bunu son bağırsağın lamina epitelyalisinin izlediği gözlemlendi. CCK-8 immunreaktif hücrelerinin genelde kriptlerde daha yoğun bulunduğu, villuslarda da lokalize oldukları saptandı.

Mide ve bağırsaklar CCK-8 immunreaktif hücre yoğunlukları açısından kıyaslandığında bağırsaklarda yoğunluğun daha fazla olduğu tespit edildi. Çalışılan bölgelerin sinir sonlanmaları ve submukozadaki bazı bağ dokusu hücrelerinde de CCK-8 immunreaktivitesi gözlemlendi. Gangliyon hücrelerinde ise oldukça zayıf reaksiyon tespit edildi (Şekil 12, 13).



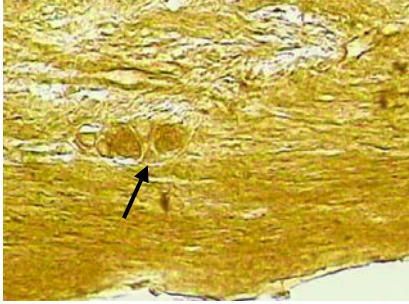
Şekil 9. Kardiyada L. epitelyaliste CCK-8 IR hücre, PAP X 400 ok



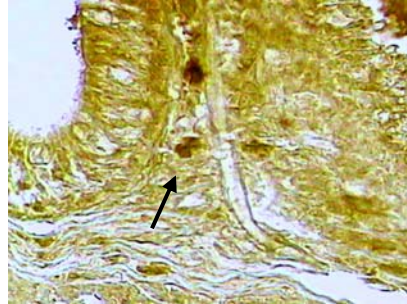
Şekil 10. Fundusta L. epitelyaliste CCK-8 IR hücreler, PAP X 400 oklar



Şekil 11. Pilorusta L. epitelyaliste CCK-8 IR hücreler, PAP X 400 ok



Şekil 12. Son bağırsakta gangliyon hücresinde CCK-8 immunreaktivitesi, PAP X 400 ok



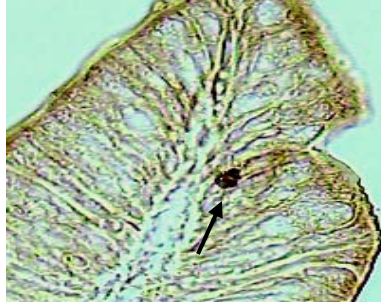
Şekil 13. Son bağırsakta bağ dokusunda CCK-8 immunreaktivitesi , PAP X 400 ok

VIP immunreaktif hücreler

VIP immunreaktif hücrelerin fundusun lamina epitelyalisinde yoğun olduğu tespit edildi. Kardiya ve fundus bezlerinde de bu immunreaktiviteyi gösteren hücrelere rastlandı (Şekil 14). İlk bağırsağın lamina epitelyalisinde bu hücre yoğunluğunun diğer bağırsak bölgelerine göre daha fazla olduğu görüldü (Şekil 15). Bu hücrelerin villuslarda ve kriplerde lokalize oldukları belirlendi. Mide ve bağırsak bölümlerinde yer alan sinir tellerinde ise az sayıda tespit edildi.



Şekil 14. Pilorusta L. epitelyaliste VIP IR hücre, PAP X 400 ok



Şekil 15. İlk bağırsakta L. epitelyaliste VIP IR hücre, PAP X 400 ok

Sekretin immunreaktif hücreler

Sekretin immunreaktif hücre yoğunluğunun kardiya ve fundusun lamina epitelyalis bölgesinde fazla olduğu, pilorusun lamina epitelyalis bölgesinde ise yoğunluğun oldukça azaldığı belirlendi. Bu immunreaktivite kardiya ve fundus bölgesindeki bezlerde yer alan hücrelerde de tespit edildi. Bağırsaklarda özellikle ilk bağırsağın lamina epitelyalisinde yoğunluğun oldukça azaldığı bunu sırasıyla orta ve son bağırsağın izlediği saptandı. Sekretin immunreaktif hücrelerinin villus ve kriptlerde, kriptlerin de daha çok bazalinde lokalize oldukları tespit edildi.

Somatostatin-14 immunreaktif hücreler

Somatostatin-14 immunreaktif hücrelerinin pilorusun lamina epitelyalis bölgesinde oldukça az yoğunlukta, kardiya ve fundusun lamina epitelyalisinde ise oldukça fazla olduğu tespit edildi. Bu immunreaktiviteyi gösteren hücelere bezlerde rastlanmadı. Bağırsaklarda ise somatostatin-14 immunreaktif hücrelerinin en yoğun olarak orta bağırsağın lamina epitelyalisinde bulunduğu; bunu sırasıyla son ve ilk bağırsağın lamina epitelyalisinin izlediği saptandı. Bu immunreaktiviteye ayrıca sinir sonlanmaları ve submukozadaki bazı bağ dokusu hücrelerinde rastlandı. Gangliyon hücrelerinde ise oldukça zayıf reaksiyon gözlemlendi.

Bombesin immunreaktif hücreler

Bombesin immunreaktif hücrelerin kardiyanın lamina epitelyalis bölgesinde yoğun olduğu belirlendi. Bu immunreaktiviteyi gösteren hücelere bezlerde rastlanmadı. Bağırsaklarda ise bu hücrelerin orta ve son bağırsağın lamina epitelyalisinde, ilk bağırsağın lamina epitelyalisine oranla daha fazla olduğu gözlemlendi. Bombesin immunreaktif hücrelerin villus ve kriptlerin bazalinde lokalize oldukları belirlendi.

Histamin immunreaktif hücreler

Histamin immunreaktif hücrelerin kardiyanın lamina epitelyalisinde yoğun olduğu, bunu orta bağırsak ve fundus lamina epitelyalisinin izlediği belirlendi. Pilorusun lamina epitelyalisinde ise histamin immunreaktif hücre yoğunluğunun oldukça azaldığı gözlemlendi. Bu immunreaktiviteyi gösteren hücreler kardiya ve fundus bölgesindeki bezlerde yer alan hücreler arasında da tespit edildi. Bağırsaklarda histamin immunreaktif hücre yoğunluğunun sırasıyla orta, son ve ilk bağırsak lamina epitelyalisine doğru azaldığı saptandı. Histamin immunreaktif hücrelerinin villus ve kriptlerde lokalize oldukları belirlendi. Mide ve bağırsak bölümlerinde gangliyon hücrelerinde oldukça zayıf reaksiyon gözlemlendi. Çalışılan tüm bölgelerin sinir telleri ile düz kas dokusunda ve submukozadaki bazı bağ dokusu hücrelerinde de histamin immunreaktivitesi gözlemlendi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Mide asit sekresyonu için güçlü bir uyarıcı peptid olan gastrinin (SOLCIA vd. 2000), *Stizostedion lucioperca* türünün mide bölgelerinden özellikle fundusta yoğunluğun fazla olduğu tespit edildi. Gastrin 3 formundaki antiserumun uygulandığı *Gadus morhua* türünde bu immunreaktif hücrelerin midenin kardiya ve pilorusunda (JENSEN vd. 1987), gastrin 17 ve 34 formlarının uygulandığı *Oncorhynchus mykiss*'in pilorusunda (BARRENECHEA vd. 1994) gözlemlendiği belirtilirken, gastrin 4 formu uygulamasında *Squalus acanthias* (HOLMGREN & NILSSON 1983) ile gastrin 1 ve

gastrin 34 uygulanan *Sparus auratus*'da (ELBAL & AGULLEIRO 1986) bölgesel fark belirtilmeksizin midenin tümünde gastrin immunreaktif hücrelerin bulunduğu belirtilmiştir.

Farklı formlardaki gastrin antiserumu uygulamaları sonucunda çok sayıda araştırmacı bağırsakların ilk bölümünde ya da tamamında gastrin IR'si tespit ettiklerini bildirmişlerdir (HIMICK & PETER 1994, PAN vd. 2000b). *Stizostedion lucioperca* türünde orta bağırsakta yoğunluğun fazla olduğu gözlenirken, bu çalışmada gastrin immunreaktif hücreler ilk, orta ve son bağırsak bölgelerinde tespit edildi. Bu çalışma ile uyumlu olarak *Sparus auratus* (ELBAL & AGULLEIRO 1986), *Oncorhynchus mykiss* (BARRENECHEA vd. 1994), *Squalus acanthias* (HOLMGREN & NILSSON 1983) ve *Carassius auratus* (HIMICK & PETER 1994) bağırsaklarının tamamında bu hücrelerin yerleşim gösterdiği belirtilmektedir. Gelişmiş midesi olmayan farklı teleost türlerinde (*Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis*, *Carassius gibelio*, *Megalobrama amblycephala*, *Cyenopharyngodon idellus*, *Mylopharyngodon piceus*) (PAN vd. 2000b), *Barbus conchoni* (ABAD vd. 1987), *Sparus auratus* (ABAD vd. 1987), *Poecilia reticulata* ve *Leuciscus idus melanatus*'da (HOLM & HOLMGREN 1989) yapılan çalışmalarda Gastrin-1 immunreaktivitesinin ilk ve orta bağırsakta oldukça yoğun olduğu bildirilmiştir.

CCK-8 pankreas ve safra salgısını stimüle eden, gastrointestinal motiliteyi düzenleyen, gastrik salgıyı inhibe eden en önemli gastrointestinal hormondur. RAJJO vd. (1988) *Amia calva* ve *Lepomis macrochirus* midelerinde bu IR'yi gösteren hücrelerin bulunmadığını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada ise *Stizostedion lucioperca* türünde mide bölgesinde yoğun bir şekilde buldukları saptanan CCK immunreaktif hücrelerin aynı zamanda *Salmo gairdneri* (VIGNA 1985), *Gadus morhua* (JONSSON vd. 1987) ve *Oncorhynchus mykiss* (BARRENECHEA vd. 1994) türlerinin midelerinde de bulunduğu bildirilmiştir. *Salmo salar* (EINARSSON & DAVIES 1996) türünde midenin kardiya bölgesinde yoğun olarak gözlemlendiği belirtilmiştir.

Bazı balık türlerinde CCK-8 immunreaktif hücreler bağırsağın proksimal bölümünde bulunmaktadır (DEZFULI vd. 2003; BOSI vd. 2005). Bu çalışmada bağırsakların bütün bölgelerinde buldukları saptanan CCK immunreaktif hücrelerinin aynı zamanda *Sparus auratus* (ABAD vd. 1987), *Amia calva* ve *Lepomis macrochirus* (RAJJO vd. 1988), *Scyliorhinus stellaris* (CIMINI vd. 1989), *Oncorhynchus mykiss* (BOERLEGUI vd. 1992) ve *Anguilla anguilla* (DOMENEGHINI vd. 2000), *Coreopecta herzi* (LEE vd. 2004) türlerinin bölge belirtilmeksizin bağırsakların tüm bölümlerinde bulunduğu ancak *Carassius carassius* (HIMICK & PETER 1994) ve *Ambystoma mexicanum* (MAAKE vd. 2001) türlerinde bağırsağın ilk kısmında yoğun olarak bulunduğu bildirilmiştir.

VIP, 28 amino asitli bir peptid olup bağırsak duvarının kasılmasını, rektumdan tuz salgılanmasını aktive eder, gastrin salınımını inhibe eder (KILIAAN vd. 1997, KU vd. 2004, LEE vd. 2004). RAJJO vd. (1989) *Amia calva* mide lamina epitelyalisinde VIP-IR hücrelerinin yoğun olarak yer aldığını ve bunun da gastrik asit sekresyonu ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada sudak balığında bu hücreler yoğun olarak gözlemlendi. VIP immunreaktif hücrelerin *Gadus morhua* (JENSEN vd. 1987), *Coreopecta herzi* (LEE vd. 2004) ve *Oncorhynchus mykiss*'in (HOLMGREN vd. 1986, BARRENECHEA vd. 1994) gastrointestinal kanalının tamamında bu hücrelere

rastlanmadığı, *Amia calva*'da (RAJJO vd. 1989) ise oldukça az sayıda olduğu bildirilmektedir.

Midesiz bir teleost türü olan *Barbus conchoni* türünde VIP immunreaktif hücrelerin tüm gastrointestinal kanalda gözleendiği, anterior bağırsakta yoğunluğunun az olduğu bildirilmektedir (ROMBOUT & REINECKE 1984). Bu çalışmada bu hücreler tüm gastrointestinal kanal boyunca gözleendi. VIP immunreaktivitesinin *Carassius auratus* ve *Oreochromis mossambicus* türlerinin bağırsak bölgelerinde oldukça yoğun olduğu (KILIAAN vd. 1997), *Zacco platypus* (KU vd. 2004) bağırsaklarında ise gözlenmediği bildirilmektedir. *Anguilla anguilla* (DOMENEGHINI vd. 2000) türü ile uyumlu olarak bu çalışmada VIP immunreaktif hücreler bağırsaklarda orta yoğunlukta gözleendi. *Ambystoma mexicanum*'un (MAAKE vd. 2001) gastrointestinal kanalı boyunca sinir tellerinde, *Salmo trutta* (DEZFULI vd. 2000, 2002), *Carassius auratus* ve *Oreochromis mossambicus*'un (KILIAAN vd. 1997) bağırsak bölümlerinde sinir tellerinde, *Anguilla anguilla*'nın (DOMENEGHINI vd. 2000) bağırsak bölümlerinin kas arası myenterik pleksuslarında ve propriya-submukoza tabakalarında, *Squalus acanthias* (HOLMGREN & NILSSON 1983), *Gadus morhua* (JENSEN vd. 1987), *Lepomis macrochirus* ve *Amia calva* (RAJJO vd. 1988), *Scyliorhinus stellaris* (CIMINI vd. 1989) bağırsak myenterik pleksus sinir telleri, gangliyon hücreleri ve kas tabakasında bu immunreaktivitenin gözleendiği bildirilirken, sudak balığında da benzer bulgular saptandı.

Bombesin entorokromaffin hücreler tarafından üretilen bir peptid olup memeliler, amfibiler ve balıkların gastrointestinal kanalında bulunmaktadır (NISA vd. 2005, BORDI vd. 2000, KU vd. 2001, DEZFULI vd. 2003, LEE vd. 2004, BOSI vd. 2005). Bombesin gastrik asit salgılanmasını ve motilitesini düzenlemektedir (RAJJO vd. 1989). *Amia calva* (RAJJO vd. 1989)'da yapılan bir çalışmada bombesin immunreaktif hücrelerinin fundus bölgesinde yaygın biçimde buldukları bildirilmiştir. Bu çalışmada *Stizostedion lucioperca* türünde midenin tüm bölgelerinde bu hücreler gözleendi ve kardiyaya bölgesinde yoğunluğunun daha fazla olduğu tespit edildi. Ancak *Oncorhynchus mykiss*'de (BARRENECHEA vd. 1994) bombesin immunreaktivitesinin kardiyaya bölgesinde az sayıda gözleendiği bildirilmektedir. *Oncorhynchus mykiss* (BARRENECHEA vd. 1994) ile yapılan çalışma ile uyumlu olarak *Stizostedion lucioperca* türünün pilorusunda da bombesin immunreaktif hücrelerinin az sayıda olduğu tespit edildi.

Salmo trutta (DEZFULI vd. 2003) bağırsaklarında az sayıda bulunduğu belirtilen bombesin IR hücrelerin bu çalışmada belirtilen bölgelerde orta yoğunlukta buldukları saptandı. *Anguilla anguilla*'da bu immunreaktivitenin bağırsak bölgelerinde gözleendiği bildirilmiştir (DOMENEGHINI vd. 2000). Parazitli ve parazitsiz *Salmo trutta*'larda bombesin immunreaktif hücrelerin ise az sayıda olduğu bildirilmiştir (DEZFULI vd. 2003). Bu çalışmada genel olarak bağırsak bölgelerinde bu hücreler gözlenirken, *Coreoperca herzi* (LEE vd. 2004) ve *Zacco platypus* (KU vd. 2004) bağırsaklarında bu immunreaktiviteyi gösteren hücrelere rastlanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgulara benzer biçimde RAJJO vd. (1989) *Amia calva*'nın gastrointestinal kanalına ait sinir tellerinde bu immunreaktivitenin gözlenmediğini bildirilmiştir. *Anguilla anguilla*'da (DOMENEGHINI vd. 2000) ise bu çalışmada elde edilen

bulgularından farklı olarak bağırsak kas arası myenterik pleksuslarında ve propriya-submukoza tabakalarında bombesin immunreaktivitesinin gözlemlendiği bildirilmiştir.

Sekretin 27 amino asitli bir polipeptid olup VIP/glukagon ailesine dahil edilmektedir (SHERWOOD vd. 2000). Bu çalışmada bağırsak bölümlerinde sekretin IR hücrelerinin orta yoğunlukta tespit edilmesi DEZFULI vd. (2003) ve BOSI vd. (2005)'nin bulguları ile uyum göstermektedir. Öte yandan *Zacco platypus* (KU vd. 2004) ve *Coreoperca herzi* (LEE vd. 2004) türlerinde bu hücrelerin bağırsakların dışında midede (LEE vd. 2004) bulunmadığı bildirilmektedir. Parazitli *Salma trutta*'nın bağırsaklarında bu hücrelerin oldukça az olmasına rağmen parazitsiz örneklerde yoğunluğun arttığı bildirilmiştir (DEZFULI vd. 2000). Mideli *Sparus auratus* ile midesiz *Barbus conchoni* (ABAD vd. 1987) türleri ile benzer biçimde, bu hücrelerin mide ve bağırsaklarda bulunduğu tespit edildi. *Oncorhynchus mykiss*'in kardiya ve pilorusunda bu hücrelere rastlanmazken (BARRENECHEA vd. 1994) bu çalışmada *Stizostedion lucioperca*'nın kardiya ve pilorusunda ise az sayıda sekretin immunreaktif hücreler gözlemlendi. Bu çalışma ile uyumlu olarak *Salmo trutta*'nın (DEZFULI vd. 2000) bağırsak sinir tellerinde bu immunreaktivitenin gözlenmediği bildirilmiştir.

Somatostatin-14, 14 amino asitli bir peptid olup D hücreleri tarafından üretilmekte ve mide, bağırsak, pankreasta yer almaktadır (SCHEUERMANN vd. 1991, AL-MAHROUKI & YOUSON 1998, PAN vd. 2000a, SOLCIA vd. 2000, KU vd. 2004). Bu çalışmada olduğu gibi somatostatin-14 immunreaktif hücrelerin *Ambystoma mexicanum* (MAAKE vd. 2001), *Oncorhynchus mykiss* (BARRENECHEA vd. 1994) *Osteoglossomorpha* türleri (AL-MAHROUKI & YOUSON 1998), *Pelteobagrus fulvidraco*, *Monopterus albus*, *Siniperca chuatsi* (PAN vd. 2000a), *Zacco platypus* (KU vd. 2004), *Coreoperca herzi* (LEE vd. 2004) türlerinin mide ve bağırsaklarında lokalize olduğu gösterilmiştir. *Oncorhynchus mykiss* türünde bu hücrelerin özellikle kardiya ve pilorusda yerleşim gösterdiği bildirilmiştir (BARRENECHEA vd. 1994). Bu çalışmada da *Stizostedion lucioperca* türünde kardiya ve pilorusda bu hücreler gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile uyumlu olarak somatostatin-14 immunreaktif hücrelerinin *Coreoperca herzi* (LEE vd. 2004) midesinde yoğun olarak gözlemlendiği bildirilmiştir.

Midesiz teleost türlerinde (*Hypophthalmichthys molitrix*, *Aristichthys nobilis*, *Carassius gibelio*, *Megalobrama amblycephala*, *Ctenopharyngodon idellus*, *Mylopharyngodon piceus*) yapılan çalışmada somatostatin-14 immunreaktif hücrenin ilk ve orta bağırsakta çok sayıda olduğu bildirilmiştir (PAN vd. 2000b). *Stizostedion lucioperca* türünde yoğunluğun orta ve son bağırsakta fazla olduğu tespit edildi. Bu çalışmada somatostatin-14 immunreaktivitesi gösteren hücrelerin gastrointestinal kanal boyunca lokalize oldukları tespit edilirken, *Coreoperca herzi* (LEE vd. 2004) gastrointestinal kanalında somatostatin-14 immunreaktif hücrelerinin midede oldukça yoğun olmasına karşın bağırsaklarda gözlenmediği bildirilmiştir. Bu çalışma ile uyumlu olarak *Ambystoma mexicanum*'un (MAAKE vd. 2001) gastrointestinal kanalı boyunca, *Pelteobagrus fulvidraco* ve *Siniperca chuatsi* (PAN vd. 2000a) bağırsak kas arası sinir pleksuslarında, *Anguilla anguilla* (DOMENEGHINI vd. 2000) bağırsak kas arası myenterik pleksuslarında ve propriya-submukoza tabakalarında somatostatin-14 immunreaktif hücrelerin tespit edildiği bildirilmiştir.

Histamin, sindirim kanalı düz kas kontraksiyonunu sağlayan ve mide asit sekresyonunu stimüle eden bir peptittir ve ECL hücreleri tarafından üretilmektedir (KÖSE & HALL, 2000, SOLCIA vd. 2000). *Salmo salar* türünün parazit taşıyan örneklerinde bağırsağın bağ dokusundaki mast hücrelerin yüksek oranda histamin salgıladığı belirtilmiştir (REITE 1997). *Oncorhynchus mykiss*'e toksik maddeler verildiğinde bağırsaktaki histamin immunreaktivitesinin arttığı bildirilmiştir (ELLIS 1985). *Oncorhynchus mykiss* (FAIRGRIEVE vd. 1994) ve *Gadus morhua* (BOMGREN vd. 1998) da yapılan çalışmalarla benzer biçimde bu çalışmada da histamin IR'sinin midede yoğun biçimde bulunduğu saptandı. BARRENECHEA vd. (1994)'nin yine *Oncorhynchus mykiss* de yapmış oldukları çalışmada bu hücrelerin midede gözlenmediği bildirilmiştir. Bu çalışmada bağırsaklarda yoğun bir şekilde buldukları saptanan histamin immunreaktif hücrelerinin, aynı zamanda *Oncorhynchus mykiss* (ELLIS 1985), *Salmo salar* (REITE 1997), *Dicentrarchus labrax* (PALEOLOGOS vd. 2004) türlerinin bağırsaklarında da buldukları bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada elde edilen bulgularla uyumlu olarak bağırsak lamina epitelyalisinde bulunan bu hücrelerin *Dicentrarchus labrax* (PALEOLOGOS vd. 2004) ve *Salmo salar* (REITE 1997) türlerinin bağ dokusunda lokalize olduğu bildirilmiştir. BOMGREN vd. (1998)'nin *Gadus morhua*'da elde ettikleri bulgularla uyumlu olarak histamin immunreaktivitesi gösteren hücrelerin mide bağ dokusunda da bulunduğu tespit edildi.

KAYNAKLAR

- ABAD ME, BINKHORST FM, ELBAL MT, ROMBOUT JH, 1987. A comparative immunocytochemical study of the gastro-entero-pancreatic (gep) endocrine system in a stomachless and a stomach-containing Teleost. *General and Comparative Endocrinology*, 66, 123–36.
- ALAGÖZ S, 2005. Seyhan baraj gölü (Adana) balık faunasının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 82s, Adana.
- AL-MAHROUKI AA, YOUSON JH, 1998. Immunohistochemical studies of the endocrine cells within the gastro-entero-pancreatic system of osteoglossomorpha, an Ancient Teleostean Group. *General and Comparative Endocrinology*, 110, 125–39.
- BARRENECHEA MA, LOPEZ J, MARTINEZ A, 1994. Regulatory peptides in gastric endocrine cells of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) general distribution and colocalizations. *Tissue and Cell*, 26, 309–321.
- BARAN İ, TİMUR M, 1983. *Balık Bilimi*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara, No: 392, 176s.
- BOSI G, SHINN AP, GIARI L, SIMONI F, DEZFULI BS, 2005. Changes in the neuromodulators of the diffuse endocrine system of the alimentary canal of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), naturally infected with *Eubothrium crassum* (Cestoda). *Journal of Fish Diseases*, 28, 703–711.
- BOERLEGUI C, MARTINEZ A, SESMA P, 1992. Endocrine cells and nerves in the pyloric caeca and intestine of *Oncorhynchus mykiss* (Teleostei): an immunocytochemical study. *General and Comparative Endocrinology*, 86, 483–95.
- BOMGREN P, EINARSSON S, JONSSON AC, 1998. Similarities and differences in oxytoco-peptic cell ultrastructure of one marine teleost, *Gadus morhua* and one

- freshwater teleost, *Oncorhynchus mykiss*, during basal and histamine stimulated phases of acid secretion. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18, 285–296.
- BORDI C, TIZIANA D, CINZIA A, GABRIELLA F, 2000. Classification of gastric endocrine cells at the light and electron microscopical levels. *Microscopy Research and Technique*, 48, 258–271.
- BURRIN DG, STOLL B, GUAN X, 2003. Glucagon-like peptide 2 function in domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*, 24, 103–122.
- CIMINI V, NOORDER S, NARDINI, V, 1989. Peptides of the gastrointestinal tract of the dogfish (*Scyliorhinus stellaris*). 8th Int. symposium on *Morphological Sciences*, 146-57.
- ÇELİKKALE MS, 1991. *Balık Biyolojisi*. Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu Yayınları, Trabzon, No:101, 387s.
- DEZFULI BS, ARRIGHI, S, DOMENEGHINI C, BOSI G, 2000. Immunohistochemical detection of neuromodulators in the intestine of *Salmo trutta* L. naturally infected with *Cyathocephalus truncatus* Pallas (Cestoda). *Journal of Fish Diseases*, 23, 265–273.
- DEZFULI BS, PIRONI F, GIARI L, DOMENEGHINI C, BOSI G, 2002. Effect of *Pomphorynchus laevis* (Acanthocephala) on putative neuromodulator in the intestine of naturally infected *Salmo trutta*. *Diseases of Aquatic Organs*, 51, 27–35.
- DEZFULI BS, GIARI L, ARRIGHI S, DOMENEGHINI C, BOSI G, 2003. Influence of enteric helminths on the distribution of intestinal endocrine cells belonging to the diffuse endocrine system in brown trout, *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Diseases*, 26, 155-166.
- DOMENEGHINI C, RADAELLI G, ARRIGHI S, MASCARELLO F, VEGGETTI A, 2000. Neurotransmitters and putative neuromodulators in the gut of *Anguilla anguilla* (L.). localizations in the enteric nervous and endocrine systems. *European Journal of Histochemistry*, 44, 295–306.
- EINARSSON S, DAVIES DS, 1996. On the localization and ultrastructure of pepsinogen, trypsinogen, chymotrypsinogen secreting cells in the atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 114, 295-301.
- ELBAL MT, AGULLEIRO MT, 1986. An immunocytochemical and ultrastructural study of endocrine cells in the gut of a teleost fish, *Sparus auratus* L. *General and Comparative Endocrinology*, 64, 339-54.
- ELLIS AE, 1985. Eosinophilic granular cells (egc) and histamine responses to toxins in rainbow trout. *Developmental and Comparative Immunology*, 9, 251–260.
- FAIRGRIEVE WT, MYERS MS, HARDY RW, DONG FM, 1994. Gastric abnormalities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amine supplemented diets or chicken gizzard erosion positive fish meal. *Aquaculture*, 127, 219–232.
- GIROLAMO P, LUCINI C, VEGA JA, ANDREOZZI G, COPPOLA L, CASTALDO L, 1999. Co-Localization of trk neurotrophin receptors and regulatory peptides in the endocrine cells of the teleostean stomach. *The Anatomical Record*, 256, 219–226.
- HIBIYA T, 1982. *An atlas of fish histology*. college of agriculture and veterinary Medicine Nihon University Tokyo, No: 154, 147p.

- HIMICK BA, PETER RE, 1994. CCK/Gastrin like immunoreactivity in brain and gut, and cck suppression of feeding in gold fish. *Integrative and Comparative Physiology*, 267, 841–851.
- HOLMGREN S, NILSSON S, 1983. Bombesin-gastrin/ cck-5-hydroxytryptamine-neurotensin-somatostatin and vip-like immunoreactivity and catecholamine fluorescence in the gut of elasmobranch, *Squalus acanthias*. *Cell Tissue Research*, 234, 595–618.
- HOLMGREN S, JONSSON AC, HOLSTEIN B, 1986. *Gastrointestinal peptides in fish*. In: Nilsson, S., Holmgren, S., (eds) *Fish Physiology: Recent advances* Crom Helm., NewHampshire, pp.119-39.
- HOLM PB, HOLMGREN S, 1989. A comparative study of neuropeptides in the intestine of two stomachless teleost (*Poecilia reticulata*, *Leuciscus idus melanatus*) under conditions of feeding and starvation. *Cell Tissue Research*, 255, 245–254.
- JENSEN J, HOLMGREN S, JOHNSON A, 1987. Substance-P like immunoreactivity and the effects of tachykinins in the intestine of the Atlantic cod *Gadus morhua*. *Journal Autonom Nervous System*, 20, 25-30.
- JONSSON AC, HOLMGREN S, HOLSTEIN B, 1987. Gastrin/cck-like immunoreactivity in endocrine cells and nerves in the gastrointestinal tract of cod, *Gadus morhua* and the effect of peptides of gastrin/cck family on cod gastrointestinal smooth muscle. *General and Comparative Endocrinology*, 66, 190–202.
- KILIAAN AJ, SCHOLTEN G, GRAOT JA, 1997. Exocytotic release of vasoactive intestinal polypeptide and serotonin from mucosal nerve fibres and endocrine and the tilapia (*Oreochromis mossambicus*): an ultrastructural study. *Histochemical Journal*, 29, 45–51.
- KIM JB, GADSBOLL V, WHITTAKER J, BARTON BA, CONLON JM, 2000. Gastroenteropancreatic hormones (insulin, glucagon, somatostatin, and multiple forms of ppy) from the pallid sturgeon, *Scaphirhynchus albus* (Acipenseriformes). *General and Comparative Endocrinology*, 120, 353–363.
- KÖSE S, HALL G, 2000. Modification of a colorimetric method for histamine analysis in fish meal. *Food Research International*, 33, 839–845.
- KU SK, LEE JH, LEE HS, 2004. Immunohistochemical study on the endocrine cells in the gut of the stomachless teleost, *Zacco platypus* (Cyprinidae). *Anatomia Histologia Embryologia*, 33, 212–219.
- LEE JH, KU SK, PARK KD, LEE HS, 2004. Immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells in the Korean aucha perch. *Journal of Fish Biology*, 65, 170–181.
- LEE CS, KAESTNER KH, 2004. Development of gut endocrine cells. *Clinical Endocrinology and Metabolism*, 18, 453–462.
- LUCINI C, GIROLAMA P, MARUCCIO L, LAMANNA C, CASTALDO L, VEGA JA, 1999. Trk-neurotrophin receptor-like immunoreactivity in the gut of teleost species. *Cell Tissue Research*, 262, 323–30.
- MAAKE C, KAUFMANN C, REINECKE M, 2001. Ontogeny of neurohormonal peptides, serotonin and nitric oxide synthase in the gastrointestinal neuroendocrine system of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*): an

- immunohistochemical analysis. *General and Comparative Endocrinology*, 121, 74–83.
- NISA C, KITAMURA N, SASAKI, M, AGUNGPRİYONO S, CHOLIQ C, BUDIPITOJO T, YAMADA J, SIGIT K, 2005. Immunohistochemical study on the distribution and relative frequency of endocrine cells in the stomach of the malayan pangolin. *Manis Javanica Anatomia Histologia Embryologia*, 34, 373–378.
- ÖZYURT CE, AVŞAR D, 2002. Seyhan baraj gölü’ndeki (adana) sudakların (*Sander lucioperca*) Bogustkaya & Naseka, 1996) bazı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19, 77–84.
- PALEOLOGOS EK, SAVVAIDIS IN, KONTOMINEAS MG, 2004. Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole gutted and filleted mediterranean sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Microbiology*, 21, 549–557.
- PAN QS, FANG ZP, HUANG FJ, 2000a. Identification, localization and morphology of apud cells in gastroenteropancreatic system of stomach-containing teleosts. *World Journal of Gastroenterology*, 6, 842–847.
- PAN QS, FANG ZP, ZHAO YX, 2000b. Immunocytochemical Identification and Localization of APUD Cells in the Gut of Seven Stomachless Teleost Fishes. *World Journal of Gastroenterology*, 6, 96–101.
- RAJJO IM, VIGNA SR, CRIM JW, 1988. Cholecystokinin immunoreactivity in the digestive tract of bowfin (*Amia calva*), bluegill (*Lepomis macrochirus*) and bullfrog (*Rana Catesbeina*). *General and Comparative Endocrinology*, 70, 133–44.
- RAJJO IM, VIGNA SR, CRIM JW, 1989. Immunohistochemical localization of bombesin-like peptides in the digestive tract of the bowfin, *Amia calva*. *Comparative and Biochemistry Physiology*, 94, 405–409.
- REITE OB, 1997. Mast cells eosinophilic granule cells of salmonids staining properties and response to noxious agents. *Fish and Shellfish Immunology*, 7, 567–584.
- ROMBOUT JH, REINECKE M, 1984. Immunohistochemical localization of (neuro) peptide hormones in endocrine cells and nerves of the gut of a stomachless teleost fish, *Barbus conchoni* (Cyprinidae). *Cell Tissue Research*, 237, 57–65.
- SCHEUERMANN DW, ADRIAENSEN D, TIMMERMANS JP, DE GROODT-LASSEEL MH, 1991. Immunohistochemical localization of polypeptide hormones in pancreatic endocrine cells of a dipnoan fish, *Protopterus aethiopicus*. *Acta Histochemistry*, 9, 185–92.
- SHERWOOD NM, KRUECKE SL, MCRORY JE, 2000. The origin and function of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)/glucagon superfamily. *Endocrine Review*, 21, 619–670.
- SOLCIA E, RINDI G, BUFA R, FIOCCA R, CAPELLA C, 2000. Gastric endocrine cells: types, function and growth. *Regulatory Peptides*, 93, 31–35.
- STERNBERGER LA, 1979. *The unlabeled antibody peroxidase-antiperoxidase (PAP) method*. In *immunocytochemistry* (Sternberger, L. A., ed.). New York.pp.104-169.
- VIGNA SR, FISCHER BL, MORGAN JLM, ROSENQUIST GL, 1985. Distribution and molecular heterogeneity of cholecystokinin like immunoreactive peptides in the brain and gut of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry Physiology*, 82, 143–46.



YOUSON JH, AL-MAHROUKI AA, NAUMOVSKI D, CONLON JM, 2001. The endocrine cells in the gastroenteropancreatic system of the bowfin, *Amia calva* L: An immunohistochemical, ultrastructural and immunohistochemical analysis. *Journal of Morphology*, 250, 208–24.