



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2013; 27 (1): 13 - 17
<http://www.fusabil.org>

Keklik (*Alectoris chukar*) Harder Bezi Üzerine Histolojik ve Histokimyasal Çalışmalar

Öznur ÖNAL
Kenan ÇINAR

Süleyman Demirel
Üniversitesi,
Fen- Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
Isparta, TÜRKİYE

Bu çalışmada keklik (*Alectoris chukar*) Harder bezinin histolojik yapı ve histokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi uygulanan 4 adet erişkin kekliğin (*Alectoris chukar*) Harder bezleri alındı. Uygulanan histokimyasal boyama yöntemleri sonucunda korpus glandulayı oluşturan hücrelerde karboksilatlı, O-sülfat esterli ve sülfatlı mukosubstansın güçlü yoğunlukta reaksiyon verdiği gözlemlendi. Primer ve merkezi kanal hücrelerinde asidik, karboksilatlı ve nötral mukosubstansın orta yoğunlukta olduğu belirlendi. Merkezi kanal mukus hücrelerinin mukosubstans içeriğinin ise asidik karakterde olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: *Alectoris chukar*, Harder bezi, histokimya, mukosubstans.

Histological and Histochemical Studies on The Harderian Gland of Partridge (*Alectoris chukar*)

In this study, it was aimed to determine histological structure and histochemical features of Harderian gland of partridge (*Alectoris chukar*). The Harderian glands of 4 adult partridge were taken after euthanasia by cervical dislocation method. As a result of the applied histochemical methods, it was observed that carboxylated, O-sulfated esters and sulfated mucosubstances gave strong reaction in the corpus glandula epithelial cells. While acidic, carboxylated and neutral mucosubstance were moderate in the primary and central. Mucosubstance content was acidic character in the central canal mucus cells.

Key Words: *Alectoris chukar*, Harderian gland, histochemistry, mucosubstance.

Giriş

Omurgalı sınıfları arasında Harder bezinin yerleşim yeri farklılık göstermektedir. Farelerde (1) göz küresinin posteriyöründe yerleşim gösteren bez tavşanlarda (2) anteriöründe sürüngelelerde (3) mediyalinde ya da mediyoventralinde kobay (4) ve kanatlılarda da ventromediyalde yerleşim göstermiştir (5-7).

Bez sadece memelilere özgü olmayıp; kuşlarda, sürüngelelerde ve kurbağalarda da bulunmaktadır. Ayrıca bez kemiricilerde ve domuzlarda tam gelişim göstermekte, maymunlarda rudimenter olmakta, balıklar, suda yaşayan amfibiler, yarasalar, karada yaşayan karnivorlar ve primatlarda ise hiç bulunmamaktadır (8). Harder bezi salgısının kompozisyonu omurgalı sınıfları arasında büyük farklılık göstermektedir. Bu salgı sürüngelelerde (3) seröz veya serö-müköz, kuşlarda (9) müköz, memelilerde (10, 11) ise lipid şeklindedir.

Harder bezi, korneanın temizlenmesi ve niktitsans membranının yağlanmasıyla sorumludur. Ayrıca bez feromon ve bazı kaplumbağalarda tuz kaynağı olmakta bazı kemiricilerde ozmoregülasyonu ve termoregülasyonu sağlamakta hamsterde östrojen ve testosteron gibi gonadal hormonlar için reseptörlere sahip olup cinsiyet farklılaşmasında da rol almaktadır (4-8). Kanatlılarda Harder bezinin en önemli özelliği bursa Fabricius'dan köken alan plazma hücrelerinin varlığıdır. Buradaki plazma hücreleri IgA ve Ig G (12) sınıfı immunoglobulinleri sentezleyebilmektedir. Ayrıca bu bezin salgısı farinks ve trakeayı korumada da yardımcı olmaktadır (13, 14).

Yapılan literatür taramasında farklı kuş türlerinin (15-17) Harder bezi üzerine yapılmış çalışmalar bulunmasına karşın, keklik Harder bezine yönelik çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada keklik Harder bezinin histolojik yapısı ve histokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı.

Yazışma Adresi Correspondence

Öznur ÖNAL
Süleyman Demirel
Üniversitesi,
Fen- Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
Isparta - TÜRKİYE

oznural1@hotmail.com

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada araştırma materyali olarak Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Çiftçi Eğitim Tarımsal Uygulama Merkezi kümesinden temin edilen 4 adet erişkin keklik (*Alectoris chukar*) kullanıldı. Araştırma için Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan etik kurul izni alınmıştır. Servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi uygulanan kekliklerin Harder bezleri alındı. Alınan bezler Bouin solüsyonunda 18 saat süreyle tespit edildi. Tespit işleminden sonra, Bouin solüsyonundaki örnekler rutin doku takibi aşamalarından geçirilerek (yükselen derecedeki alkoller ve ksiloller) parafinde bloklandı. Bloklardan 5-6 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitlere Harder bezinin genel histolojik yapısının belirlenmesi amacıyla hematoksisilen-eozin boyama metodu (18) uygulandı. Ayrıca bezin histokimyasal karakterinin belirlenmesi amacıyla aşağıda belirtilen boyama yöntemleri uygulandı.

1. Nötr mukosubstansın belirlenmesi için periyodik asit-Schiff (PAS) (19).
2. Güçlü sülfatlı mukosubstansın belirlenmesi için (AB) pH 0.5 (20).
3. O-sülfat esterli mukosubstansın belirlenmesi için (AB) pH 1.0 (20).
4. Karboksilatlı mukosubstansın belirlenmesi için (AB) pH 2.5 (20).
5. Nötr ve asidik mukosubstansı karşılaştırmak için periyodik asit Schiff/alcian blue (PAS/AB) pH 2.5 (21).
6. Sülfatlı mukosubstansın belirlenmesi için aldehid fuksin (AF) (22).
7. Sülfatlı ve karboksilatlı mukosubstansı karşılaştırmak için aldehid fuksin/alcian blue (AF/AB) pH 2.5 (23).

Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskopunda incelendi ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekimi yapıldı.

Bulgular

Histolojik Bulgular: Bezin, ince bir bağ dokusu kapsülüyle sarıldığı ve kapsülden ayrılıp bezin içine doğru gönderilen bağ dokusu septumlarının da bezi irili ufaklı loplara ayırdığı gözlemlendi (Şekil1). Loplara içerisinde bileşik tubuloalveolar yapıda korpus glandulaların bulunduğu ve bu korpus glandulaları alçak veya yüksek prizmatik biçimli hücrelerin oluşturduğu saptandı. Bileşik tubuloalveolar yapı gösteren korpus glandulaların alveolar kısmındaki epitel hücrelerinin müköz, tubuler kısma doğru gidildikçe ise seröz karakterde oldukları gözlemlendi.

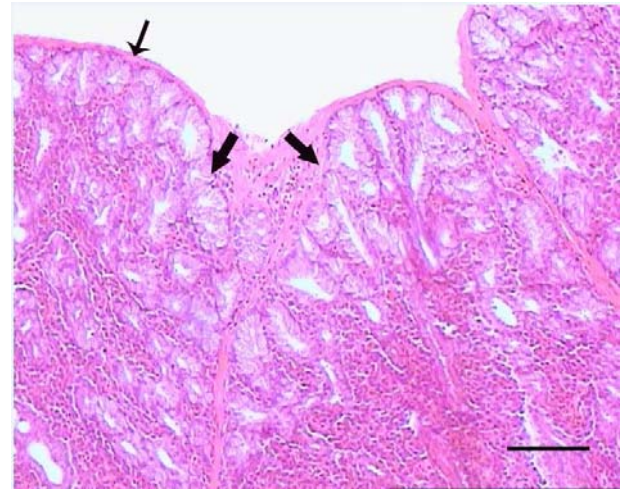
Her bir lobun içerisinde primer akıtıcı kanallarla birlikte oldukça geniş bir lümeneye sahip tek bir merkezi kanalın bulunduğu gözlemlendi. Primer ve merkezi kanalların tek katlı kübik epitel ile kuşatıldığı ve

hücrelerinin seröz karakterde oldukları gözlemlendi. Bezi saran bağ dokusu kapsülünün hemen altında, kapsülden ayrılan septumlarda, korpus glandula ve akıtıcı kanalların etrafında çok sayıda plazma hücrelerine rastlandı.

Histokimyasal Bulgular: Histokimyasal bulgular tablo 1'de gösterilmiştir.

Korpus glandula epitel hücreleri ile merkezi kanal mukus hücrelerinde orta yoğunlukta; primer (Şekil 2) ve merkezi kanal epitel hücrelerinde ise orta ve güçlü yoğunlukta AB pH 0.5 reaksiyonu saptandı.

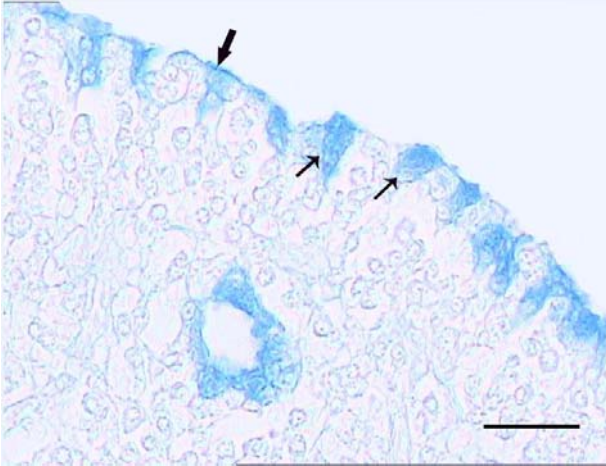
AB pH 1.0 uygulamasında; korpus glandula, primer kanal, merkezi kanal epitel hücreleri ile merkezi kanal mukus hücrelerinde güçlü ve çok güçlü reaksiyon gözlemlendi (Şekil3).



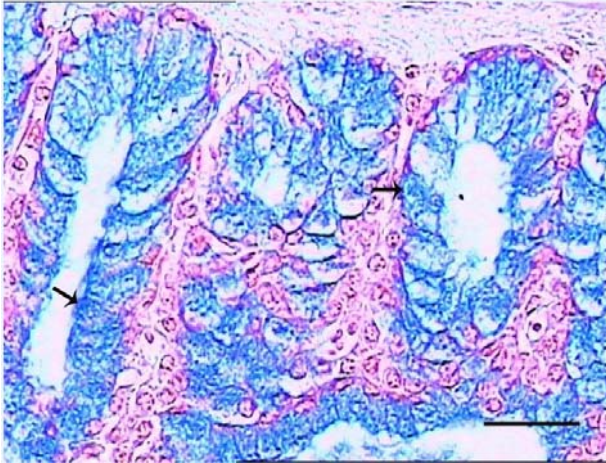
Şekil 1. Bağ dokusu kapsülü (ince ok) ve loplara (kalın oklar). Hematoksisilen-eozin uygulaması. Bar: 40 µm



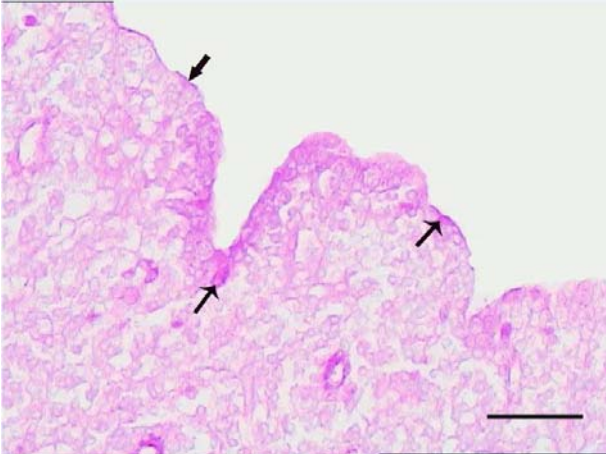
Şekil 2. Orta yoğunlukta asidik mukosubstans içeren primer kanal epitel hücreleri (oklar). AB (pH 0.5) uygulaması. Bar: 25 µm



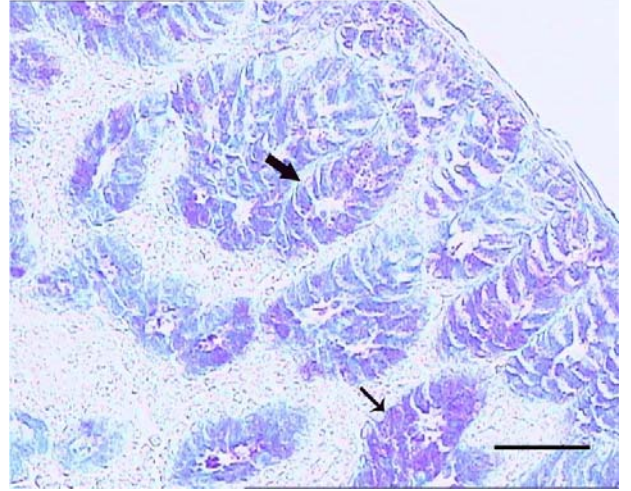
Şekil 3. Güçlü asidik mukosubstans içeren merkezi kanal epitel yüzeyi (kalın ok) ile merkezi kanal mukus hücreleri (ince oklar). AB (pH 1.0) uygulaması. Bar: 25 μ m



Şekil 4. Güçlü karboksilatlı mukosubstans içeren korpus glandula epitel hücreleri (oklar). AB (pH 2.5) uygulaması. Bar: 25 μ m



Şekil 5. Orta yoğunlukta nötral mukosubstans içeren merkezi kanal epitel yüzeyi (kalın ok) ile merkezi kanal mukus hücreleri (ince oklar). PAS uygulaması. Bar: 15 μ m



Şekil 6. Sülfatlı ve karboksilatlı mukosubstans karışımını birlikte içeren epitel hücresi (ince ok) ile AB (+) korpus glandula epitel hücresi (kalın ok). AF/AB (pH 2.5) uygulaması. Bar: 25 μ m

AB pH 2.5 uygulamasında; korpus glandulayı oluşturan hücrelerin güçlü (Şekil 4), primer ve merkezi kanal epitel hücreleri ve merkezi kanaldaki mukus hücrelerinde ise orta ve güçlü AB pH 2.5 reaksiyonu saptandı.

PAS boyamasında; korpus glandulayı oluşturan hücrelerde reaksiyona rastlanmazken, primer akıtıcı kanalı oluşturan hücrelerde ve merkezi kanalın sadece epitel yüzeyinde orta yoğunlukta reaksiyon görüldü. Ayrıca merkezi kanal epiteli içerisinde yer alan az sayıda mukus hücresinde de orta yoğunlukta PAS pozitif reaksiyon gözlemlendi (Şekil 5).

PAS/AB pH 2.5 boyamasında; korpus glandula epitel hücrelerinde sadece AB reaksiyonu görüldü. Primer akıtıcı kanal epitel hücrelerinin genelinde AB baskınlığı, az sayıda hücrede PAS reaksiyonu saptandı. Merkezi kanal mukus hücrelerinin genelinde AB baskınlığı, az sayıda hücrede de eş baskın reaksiyon gözlemlendi.

AF uygulaması sonucunda; korpus glandula ve primer kanalı oluşturan hücrelerde güçlü, merkezi kanalın hücrelerinde ve mukus hücrelerinde ise orta yoğunlukta reaksiyon tespit edildi.

AF/AB boyamasında; korpus glandula epitel hücrelerinin genelinde eş baskın reaksiyon ile az sayıda hücrede asidik mukosubstansın varlığı saptandı (Şekil 6). Primer kanalda AB baskın reaksiyon veren hücreler ile az sayıda hücrede eş baskın reaksiyon gözlemlendi. Merkezi kanal epitel hücreleri ile merkezi kanal mukus hücrelerinde ise AB baskınlığı saptandı.

Tablo 1. Araştırma bulguları.

Uygulanan Yöntemler	AB pH 0.5	AB pH 1.0	AB pH 2.5	PAS	PAS/AB pH 2.5	AF	AF/AB pH 2.5
Bölgeler							
Kapsül	-	-	+	+	K*	-	-
Korpusglandula	++	+++ /++++	+++	-	AB*	+++	AB* K
Primer kanal	++ /+++	+++ /++++	++ /+++	++	AB*PAS*	++ /+++	AB* K
Merkezi kanal	++ /+++	+++ /++++	++ /+++	++	K AB*	++ /+++	AB* K
Merkezi kanal mukus hücresi	++	+++ /++++	++ /+++	++	AB* K	+	AB*

PAS, periyodik asit-Schiff; PAS/AB, periyodik asit-Schiff/alcian Blue; AB, alcian blue; AF, aldehid fuksin; AF/AB, aldehid fuksin/ alcian blue

Reaksiyon şiddetlerinin gösterimi; +++++, çok güçlü; +++, güçlü; ++, orta; +, zayıf; -, negatif; *, baskın; K, karışım

Tartışma

Bazı hayvan türlerinde (16, 24) Harder bezini çevreleyen kapsülün bezi lop ve lopçuklara ayırdığı bildirilirken, bu çalışmada bezin irili-ufaklı loplara ayrıldığı gözlemlendi. Fare (1), devekuşu (15), balık kartalı (16) ve bıldırcında (24) elde edilen bulgulara benzer tarzda Harder bezinin bileşik tubuloalveolar yapısına bu çalışmada da rastlandı.

Fransız beyazı ırkı kazlarda (25) ve dişi sülünlerde (26) korpus glandulaları oluşturan epitel hücrelerinin yüksek prizmatik yapıda olduğu bildirilirken, bu çalışmada korpus glandulaları alçak veya yüksek prizmatik biçimli hücrelerin oluşturduğu saptandı.

Bu çalışmada dişi sülünlerin (26) Harder bezinde elde edilen bulgulara benzer tarzda her bir lobun içerisinde primer akıtıcı kanallarla birlikte oldukça geniş bir lümene sahip tek bir merkezi kanalın bulunduğu gözlemlendi.

Dişi sülünlerde (26) primer kanal epitel hücrelerinin tek katlı prizmatik, ana akıtıcı kanal epitel hücrelerinin ise tek katlı kübik epitel yapısında olduğu bildirilirken, bu çalışmada her iki akıtıcı kanal epitel hücrelerinin tek katlı kübik karakterde olduğu saptandı. Kaplumbağalarda (3) korpus glandulaların serö-müköz, bıldırcınlarda (17) ise müköz karakterde olduğu bildirilirken, bu çalışmada korpus glandulaların alveolar kısmındaki epitel hücrelerinin müköz, tubuler kısma doğru ise seröz karakterde olduğu tespit edildi.

Kaynaklar

1. Watanabe M. An autoradiographic biochemical and morphological study of the Harderian gland of Mouse. J Morph 1980; 163: 349-365.
2. Bayraktaroğlu AG, Ergün E. Histomorphology of the Harderian gland in the Angora rabbit. Anat Histol Embryol 2010; 39: 494-502.
3. Chieffi BG, Dimatteo L, Minucci S. The orbital glands of the chelonians *Pseudemys scripta* and *Testudo graeca*: comparative histology, histochemical and ultrastructural investigations. J Anat 1992; 180: 1-13.
4. Chieffi G, Baccari GC, Dimatteo L, et al. Cell biology of the Harderian gland. Int Rev Cytol 1992; 168: 1-80.
5. Brobby GW. On the Harderian gland of the duck (*Anas platyrhynchos*). Zeitsch Zellforsch 1992; 133: 223-230.
6. Burns RB, Maxwell MH. The structure of the Harderian gland and lacrimal gland ducts of the turkey, fowl and duck. A light microscope study. J Anat 1979; 128: 285-292.
7. Kozlu T, Akaydin Bozkurt Y, Altunay H, Karadağ Sarı E. Histological and histochemical studies on the Harderian

Evci ördek (5), balık kartalı (24) ve sülünlerde (26) korpus glandula epitel hücrelerinin zayıf nötral mukosubstans ve güçlü asidik mukosubstans içerdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada da güçlü asidik mukosubstans içeren hücreler gözlemlendi ancak, nötral mukosubstansa sahip hücrelere rastlanmadı.

Evci ördek (5) ve dişi sülünlerde (26) primer ve merkezi akıtıcı kanal epitel hücrelerinin zayıf PAS ve güçlü AB pH 2.5 reaksiyon verdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise primer akıtıcı kanal hücrelerinin çoğunluğunda AB baskınlığı gözlenirken, az sayıda hücrede orta yoğunlukta PAS reaksiyonu gözlemlendi. Ayrıca merkezi akıtıcı kanal epitel hücrelerinde de her iki mukosubstansın eşit miktarda bulunduğu saptandı.

Hindi, ördek ve tavuklarda (6) ana akıtıcı kanal epitelinde yer alan mukus hücrelerinin PAS ve AB pH 1.0 ile zayıf, AB pH 2.5'ta da güçlü reaksiyon verdikleri bildirilmiştir. Bu çalışmada ise merkezi kanal epitelindeki mukus hücrelerinin AB pH 2.5 uygulamasında orta ve güçlü, AB pH 1.0 uygulamasında güçlü ve çok güçlü, PAS uygulamasında da orta yoğunlukta reaksiyon gösterdikleri belirlendi.

Keklik Harder bezinin histolojik yapısı ile histokimyasal özelliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre; Harder bezinin histolojik yapısının dişi sülünler (26) ile benzerlik gösterdiği histokimyasal yönden ise diğer kuş türlerinden (5, 16, 24) belirgin farklılıklara sahip olduğu belirlendi.

- gland of the osprey (*Pandion haliaetus*). J Anat 2010; 9: 1875-1879.
8. Rehorek SJ, Smith TD. The primate Harderian gland: Does it really exist. Ann Anat 2006; 188: 319-327.
 9. Payne AP. The Harderian gland: a tercentennial review. J Anat 1994; 185: 1-49.
 10. Olcese J, Wesche A. The Harderian gland. Comp Biochem Physiol 1989; 93: 655-665.
 11. Sakai T, Yohro T. A histological study of the Harderian gland of Mongolian gerbils (*Meriones meridianus*). Anat Rec 1981; 100: 259-270.
 12. Russel PH, Koch G. Local antibody forming cell responses to the Hitcher and Ulster strains of Newcastle disease virus. Vet Immunol Immunopathol 1989; 37: 165-180.
 13. King AS, McLelland J. Birds their structure and function. 2nd Edition. London, Philadelphia: Bailliere Tindall, 1989.
 14. Liman N. Duyu Sistemi. Özer A. (Editör). Veteriner Özel Histoloji. 3. Baskı, Ankara: Nobel Yayıncılık, 2011: 319-320.
 15. Altunay H, Kozlu T. The fine structure of the Harderian gland in the ostrich (*Struthio camelus*). Anat Histol Embryol 2004; 33: 141-145.
 16. Dimitrov DS, Nikiforov IP. Histological and histochemical studies of harderian gland, lacrimal gland and bursa fabricius in mallard ducks (*Anas sterilis*) with chlamydial infection. Bulg J Vet Med 2005; 8: 119-127.
 17. Kozlu T, Altunay H. Light and electron microscopic studies of the quail (*Coturnix coturnix*) Harderian gland. J Anat 2011; 10: 932-938.
 18. Culling CFA, Reid PE, Dunn WL. A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and non-acylated sialic acids. J Histochem Cytochem 1976; 24: 1225-1230.
 19. McManus JFA. Histological and histochemical uses of periodic acid. Stain Technol 1948; 23: 99-108.
 20. Lev R, Spicer SS. Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. J Histochem Cytochem 1964; 12: 309.
 21. Mowry RW. Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates. J Histochem Cytochem 1956; 4: 407-408.
 22. Gomari G. Gomari's aldehyde fuchsin stain. In: Culling CFA, Allison RT, Barr WT (Editors). Cellular Pathology Technique. London: Butterworths 1952: 238.
 23. Spicer SS, Mayer DR. Aldehyde fuchsin/Alcian blue. In: Culling CFA, Allison RT, Barr WT (Editors). Cellular Pathology Technique. London: Butterworths 1960: 233.
 24. Djeridane Y. The Harderian gland and its excretory duct in the Wistar rat. A histological and ultrastructural study. J Anat 1994; 184: 553-566.
 25. Liman N, Gülmez N. Fransız Beyazı (*Anser anser*) ırkı kazlarda Harderian bezinin gelişimi üzerinde ışık mikroskopik incelemeler. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1996; 43: 25-30.
 26. Yaren FM. "Dişi sülün (*Phasianus colchicus*)'lerin Harder bezi üzerinde histolojik ve histokimyasal çalışmalar". <http://www.bcltechnologies.com/allpdf/15.12.2011>.