



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS

*Maja squinado* (HERBST, 1788)'UN  
HEPATOPANKREASINDAKİ FONKSİYONEL  
HÜCRELERİN YAPISI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Sezen ERDOĞAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Programı

Danışman

Prof. Dr. Melike ERKAN

Kasım, 2015

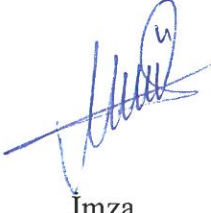
İSTANBUL

Bu çalışma 25/11/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Zooloji programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

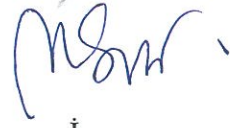
**Tez Jürisi:**



İmza  
Prof. Dr. Melike ERKAN (Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza  
Prof. Dr. Müfit ÖZULUĞ  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza  
Doç. Dr. Meliha İNCELİ  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi



İmza  
Yard. Doç. Dr. Ferhat ÇAĞILTAY  
İstanbul Üniversitesi  
Su Ürünleri Fakültesi



İmza  
Yard. Doç. Dr. Esra ÇIKLER  
DÜLGER  
İstanbul Bilim Üniversitesi  
Tıp Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 48399 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Bu çalışma, *Maja squinado* (Herbst, 1788)'nin hepatopankreasının biyokimyasal içeriğinin ve fonksiyonel hücrelerinin yapısının ışık mikroskobu düzeyinde açığa çıkarılması amacıyla yapılmıştır.

Yüksek lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Melike Belkız ERKAN'a ve Araş. Gör. Dr. Yasemin TUNALI'ya en içten dileklerle teşekkür ederim.

Tezimin deney aşamalarında tecrübelerini ve yardımını benden esirgemeyen Araş. Gör. Uzman Biyolog Banu ORTA'ya, tezin her aşamasında yanımda olan çok sevgili arkadaşım Biyolog Nebahat YILDIZBAYRAK'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca ve tez sırasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen, beni yetiştirip bugünlere gelmemi sağlayan çok değerli aileme destekleri sabırları için çok teşekkür ederim.

KASIM, 2015

SEZEN ERDOĞAN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|   |           |
|---|-----------|
| ÖNSÖZ.....  | i         |
| İÇİNDEKİLER .....   | ii        |
| ŞEKİL LİSTESİ.....  | iv        |
| TABLO LİSTESİ .....   | vi        |
| SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....                                       | vii       |
| ÖZET.....   | viii      |
| SUMMARY .....   | x         |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2. GENEL KISIMLAR .....</b>  | <b>3</b>  |
| <b>3. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>                                     | <b>14</b> |
| 3.1. HİSTOLOJİK YÖNTEMLER.....  | 14        |
| 3.2. BİYOKİMYASAL YÖNTEMLER.....                                      | 15        |
| 3.2.1. Membran Lipit Peroksidasyon Tayini.....                        | 15        |
| 3.2.2. Hidroksil Radikalinin Tayini.....                              | 17        |
| 3.2.3. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Tayini..... | 18        |
| 3.2.4. Total Protein Tayini .....                                     | 19        |
| 3.2.5. Süperoksit dismutaz (SOD) Tayini .....                         | 21        |
| 3.2.6. Katalaz Tayini .....   | 22        |
| 3.2.7. Glutatyon Peroksidaz (GP <sub>x</sub> ) Tayini.....            | 23        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>  | <b>25</b> |
| 4.1. HİSTOLOJİK BULGULAR.....   | 25        |
| 4.1.1. E (Embriyonik) Hücreleri.....                                  | 26        |
| 4.1.2. F (Fibrillar) Hücreleri.....                                   | 29        |
| 4.1.3. R (Geri Emilim) Hücreleri .....                                | 31        |
| 4.1.4. B (Vezikül) Hücreleri.....                                     | 33        |
| 4.1.5. M (Mini) Hücreleri.....  | 36        |
| 4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR .....                                      | 38        |
| <b>5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....</b>                                  | <b>40</b> |

|                        |           |
|------------------------|-----------|
| <b>KAYNAKLAR .....</b> | <b>46</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>   | <b>52</b> |

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

- Şekil 2.1:** Dekapodların sindirim sisteminin anatomisi; ön, orta ve arka bağırsağın gösterimi (Wallace ve Taylor tarafından 1922’de uyarlanmıştır.) ..... 4
- Şekil 2.2:** Dekapodların bağırsak sisteminin şematik gösterimi (Conklin tarafından 1995’te uyarlanmıştır.) ..... 5
- Şekil 2.3:** Dekapod hepatopankreas hücrelerinin hücresel farklılaşma ait fikirlerin yıllara göre şeması. a- Guieysse (1904) b- Apathy ve Farkas (1908) c-Jacobs (1928) d- Hirsch ve Jacobs (1930) e- Van Weel (1955) f- Ogura (1959) g- Davis ve Burnett (1964) h- Bunt (1968) ı- Stanier, Woodhouse ve Griffin(1968) ..... 7
- Şekil 3.1:** *Maja squinado*.....14
- Şekil 4.1.1:** Hepatopankreasın genel görünümü. Primer kanal (pk), hepatopankreatik tübüller (hp), bağ doku (bd). Boya: H+E..... 26
- Şekil 4.1.1.1:** Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü. E hücreleri (E), nukleus (▣). Boya: H+E ..... 27
- Şekil 4.1.1.2:** Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü: E hücreleri (E), fırça kenar (↙). Boya: PAS..... 27
- Şekil 4.1.1.3:** Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü. E hücreleri (E), fırça kenar (←). Boya: Brf B ..... 28
- Şekil 4.1.1.4:** Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü. E hücreleri (E), fırça kenar (↙), nukleus (▣). Boya: AB ..... 28
- Şekil 4.1.2.1:** Hepatopankreatik tübüllerde F hücrelerinin görünümü. F hücreleri (F), nukleus (▣). Boya: H+E ..... 29
- Şekil 4.1.2.2:** Hepatopankreatik tübüllerdeki F hücrelerinin görünümü. F hücreleri (F), lümen (L), bağ dokusu (bd), fırça kenar (▣). Boya: PAS..... 30
- Şekil 4.1.2.3:** Hepatopankreatik tübüllerdeki F hücrelerinin görünümü. F hücreleri (F), lümen (L), bağ dokusu (bd). Boya: Brf B..... 30
- Şekil 4.1.3.1:** Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri (R), bağ dokusu (bd), sindirim içeriği (si), nukleus (▣). Boya: H+E ..... 31

- Şekil 4.1.3.2:** Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri (R), sindirim içeriği (si), miyoepitel hücre (m), nukleus (▼). Boya: PAS..... 32
- Şekil 4.1.3.3:** Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri (R), lümen (L), fırça kenar (↙). Boya: Brf B..... 32
- Şekil 4.1.3.4:** Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri(R), lümen (L), sindirim içeriği (si), fırça kenar (→), nukleus (▼), vakuol (↔). Boya: AB..... 33
- Şekil 4.1.4.1:** Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), lümen (L), sindirim içeriği (si), vakuol (v), nukleus(←). Boya: H+E..... 34
- Şekil 4.1.4.2:** Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), lümen (L), fırça kenar (→), vakuol (v). Boya: PAS..... 34
- Şekil 4.1.4.3:** Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), sindirim içeriği (si), vakuol (v). Boya: Masson'un üçlü boyası ..... 35
- Şekil 4.1.4.4:** Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), sindirim içeriği (si), vakuol (v). Boya: Brf B..... 35
- Şekil 4.1.4.5:** Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), sindirim içeriği (si), fırça kenar (←), vakuol (v). Boya: AB..... 36
- Şekil 4.1.5.1:** Hepatopankreatik tübüllerde M hücrelerinin görünümü. M hücreleri (M), F hücreleri (F), lümen (L), nukleus (▼). Boya: H+E..... 37
- Şekil 4.1.5.2:** Hepatopankreatik tübüllerde M hücrelerinin görünümü. M hücreleri(M), F hücreleri (F), R hücreleri (R), B hücreleri (B), nukleus (▼). Boya: Masson'un üçlü boyası..... 37
- Şekil 4.1.5.3:** Hepatopankreatik tübüllerde M hücrelerinin görünümü. M hücreleri (M), F hücreleri (F), R hücreleri (R), B hücreleri (B), lümen (L), bağ doku (bd). Boya: Brf B..... 38



## TABLO LİSTESİ

Sayfa No

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablo 4.2.1:</b> <i>Maja squinado</i> 'nun hepatopankreasındaki total protein, lipit peroksidasyonu ve çeşitli enzimler ..... | 39 |
|--|----|

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

| <b>Simgeler</b>                   | <b>Açıklama</b>                         |
|-----------------------------------|---|
| <b>DER</b>                        | : Düz yüzlü endoplazmik retikulum       |
| <b>GER</b>                        | : Granüllü endoplazmik retikulum        |
| <b>GGT</b>                        | : $\gamma$ -glutamil transpeptidaz      |
| <b>GP<sub>x</sub></b>             | : Glutasyon peroksidaz                  |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen peroksit                     |
| <b>MDA</b>                        | : Malondialdehit                        |
| <b>NAD</b>                        | : Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat |
| <b>SOD</b>                        | : Superoksit dismutaz                   |
| <b>TBA</b>                        | : Tiyobarbitürik asit                   |
| <b>TBARS</b>                      | : Tiyobarbitürik asit reaktif türleri   |
| <b>TCA</b>                        | : Trikloro asetik asit                  |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklama</b>                      |
|--------------------|--------------------------------------|
| <b>AB</b>          | : Alcian Mavisi                      |
| <b>Brf B</b>       | : Bromfenol Mavisi                   |
| <b>H+E</b>         | : Hematoksilen Eozin                 |
| <b>PAS</b>         | : Periyodik-asit Schiff-Hematoksilen |

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### *Maja squinado* (HERBST, 1788)'UN HEPATOPANKREASINDAKİ FONKSİYONEL HÜCRELERİN YAPISI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Sezen ERDOĞAN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman :Prof. Dr. Melike ERKAN

Bu çalışmada, *Maja squinado* (Herbst,1788)'nin hepatopankreasının histolojisi ve biyokimyasal içeriği araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada kullandığımız örnekler, Mart-Nisan 2014 tarihleri arasında Çanakkale Boğazı'ndan toplanmıştır. Toplanan örneklerden alınan hepatopankreas parçalarından histolojik yöntemler kullanılarak parafin bloklar yapılmıştır. Yapılan bloklardan alınan 4-5 µm kalınlığındaki kesitler histolojik boyalar ile boyanmıştır. Ayrıca biyokimyasal yöntemler kullanılarak total protein miktarının, membran lipit peroksidasyonun, hidroksil radikalının, hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz tayini yapılmıştır.

*Maja squinado*'nun iki loba sahip hepatopankreası kahverengi-sarımsı büyük bir organdır. Hepatopankreas, ön bağırsağın pilorik bölümü ile orta bağırsağın birleşiminde başlayan sefalatoraksın arka bölümün geniş bir kısmında bulunur. Hepatopankreasın sağ ve solda bulunan iki lobu birbirine çok yakındırlar ve bu loblar ince bir bağ doku ile birbirine bağlıdırlar. Sağ ve sol loblar primer kanallara bağlıdır. Primer kanallar dallanarak sekonder kanalları verir ve sekonder kanallarda hepatopankreatik tübüllere dallanır.

*Maja squinado*'nun hepatopankreatik tübülleri yalancı çok katlı epitelden oluşur ve tübüllerde E (Embriyonik), F (Fibrillar), R (Geri Emilim), B (Vezikül) ve M (Mini) hücreleri olmak üzere beş tip hücre bulunur.

Diğer hepatopankreatik hücreleri veren E hücreleri silindirik biçimlidir ve hücrenin bazaline yakın konumlanmış yuvarlak nukleus bulunmaktadır. F hücrelerinde sindirim enzimlerinin sentezi gerçekleşir. F hücreleri üçgenimsi şekli, bazofilik sitoplazması ile diğerlerinden ayırt edilir. Lipit ve glikojen depolayan R hücreleri silindirik yapıdadır ve karakteristik subapikal vakuollere sahiptirler. Hücre içi sindirim yapan B hücrelerini tübüllerdeki diğer hücrelerden ayıran en belirgin özelliği hücrenin apikalinde büyük bir sindirim vakuolünün bulunmasıdır. Çoğu dekapodların hepatopankreasında M hücreleri bulunmazken, *Maja squinado*'nun hepatopankreasında bulunur. Hepatopankreatik tübüllerde lümeneye ulaşamayan tek hücre tipi olan M hücrelerinin fırça kenarları da yoktur.

Çalışmamızda, *Maja squinado* (Herbst,1788)'un hepatopankreasının histolojik yapısı, ışık mikroskobu düzeyinde açığa çıkarılarak, özellikle üreme dönemi öncesi protein depoladığı sonucuna varılmıştır.

KASIM 2015, 63 Sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Hepatopankreas, dekapod, histoloji, *Maja squinado*, biyokimyasal

## **SUMMARY**

**M. Sc. THESIS**

**A STRUCTURAL STUDY OF FUNCTIONAL CELLS IN HEPATOPANCREAS  
in *Maja squinado* ( HERBST, 1788)**

**Sezen ERDOĞAN**

**İstanbul University**

**Institute of Graduate Studies in Science and Engineering**

**Department of Biology**

**Supervisor :Prof. Dr. Melike ERKAN**

This work, is intended for histology and biochemical analysis of hepatopancreas of *Maja squinado*. The sample in the work we use, collected in Çanakkale Bosphorus between March- April 2014.Using the histological methods, parafine blocks have been made from collected the samples. The section with 4-5µm of thickness which has been cut from parafine blocks were stained with histological stains. I addition, the amount of total protein, membrane lipid peroxidation, hydroxly radical, hydrogen peroxide, superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase determination is made using biochemical methods.

Hepaotopancreas of *Maja squinado*is Brown-yellowish is a great organ with two lobes. The hepatopancreas occupies between most of the dorsal region of the cepaholathorax and pyloric region of foregut. Two lobes the right and left of hepatopancreas are very close and these lobes are connected by a thin connective tissue. Right and left lobes are connected to primary channel. Primary channels branch secondary channels and secondary channel branches into hepatopancreatic tubules.

The hepatopancreatic tubules of *Maja squinado* are composed of pseudostratified epithelium and each hepatopancreatic tubule consists of different cell types, which include the E (embryonic), F (fibrillar), R ( resoptive), B (blisterlike) and M (midget) cells.

E cells which give the other hepatopancreatic cells are cylindrical and have round nucleus that situated close to the basal. Synthesis of digestive enzymes takes place in

the F cells. F cells are distinguished by triangular shape and basophilic cytoplasm. R cells which lipid and glycogen stores is cylindrically shaped and have characteristic subapical vacuoles. B cells which intracellular digestion is distinguished the other cells by one big digestion vacuole. The hepatopancreas of most Decapoda doesn't have M cell, but the hepatopancreas of *Maja squinado* has M cell. In the hepatopancreatic tubules M cells which only the cell type that don't reach the lumen haven't brush border.

In our study, by the exposure of the histological structure of hepatopancreas of *Maja squinado* (Herbst, 1788) by light microscope, especially prior to the reproductive period have been concluded that protein are stored.

NOVEMBER 2015, 63 Pages.

**Keywords:** Hepatopancreas, decapoda, histology, *Maja squinado*, biochemical

## 1. GİRİŞ

Günümüzde azalan besin kaynakları nedeniyle su kaynaklarından elde edilen su canlılarının önemi artmıştır. Denizel omurgasızlar, tüm dünyada gıda olarak geniş ölçüde kullanılmaktadır. Bunların bir sınıfı olan yengeçlerde diğer birçok omurgasızlar arasında kabuklu üretiminde su ürünleri önemli bir yere sahiptir. Yengeç eti, ülkemiz insanların tüketmediği su ürünlerindedir. Bununla birlikte yenilebilir et kalitesi ve ekonomik değer bakımından gelişmiş ülkelerde yüksek fiyat bulan bir su ürünüdür. Bu endüstride çeşitli işleme kademelerinden geçen yengeçler üç tip ürün halinde değerlendirilmektedir. Bunlar, yengeç eti, bütün yengeç ve yengeç atıklarıdır. Atık denilen kısımlar ise yengeç parçaları, kabuklar, kitin, protein konsantrasyonları, etler ve iç organlarından oluşmaktadır. Bu atık etler fazla miktarda protein ve mineral madde içerdiğinden dolayı sığır, domuz, kümes hayvanları ve hatta balık beslenmesinde kullanılmaktadır (Türel ve diğ., 2002).

Bu çalışmada, ülkemiz denizlerinde dağılım gösteren bir yengeç türü olan, Avrupa örümcek yengeci diye de bilinen *Maja squinado* (Herbst, 1788)'nin sindirim bezi görevi yapan hepatopankreasındaki fonksiyonel hücrelerin yapısı ışık mikroskobu düzeyinde açığa çıkarılmıştır.

Yaptığımız literatür taramasında dekapodların hepatopankreası ile ilgili birçok çalışma yapılmışken (Allardyce ve Linton,2010; Al-Mohanna ve diğ., 1985a,b;Al-Mohanna ve Nott,1989; Barim ve diğ.,2009; Barker ve Gibson,1977, 1978; Brosing,2010; Bortolini ve Alvarez, 2008; Burighel ve Milanesi, 1973; Caceci ve diğ., 1988; Cecaldi, 1989; Dall,1967; Dall ve Moriarty,1983; Davis ve Burnett, 1964;Diaz ve diğ.,2010; Demirsoy, 2005; Factor,1981a,b; Factor ve Naar, 1985,1990; Franceschini ve diğ., 2009; Gibson ve Barker, 1979; Heeren ve Mitchell, 1997; Heinzl, 1988; Heinzl ve diğ., 1993; Hopkin ve Nott,1980; Icely ve Nott, 1992; Jacobs, 1928; Johnston ve diğ., 1998; Loizzi,1971; Loizzi ve Peterson, 1971; Lovett ve Felder, 1989; Miyawaki ve diğ., 1961; Momin ve Rangneker, 1975a,b; Patwardhan, 1937; Sharshar ve Azab, 2008; Smith, 1978; Soegianto ve diğ.,1999; Sousa ve diğ., 2005; Sousa ve Petriella, 2000; Storch ve

Welsch, 1977; Stentiford ve Shields, 2005; Travis, 1960; Trelu ve Cecaldi, 1977, Türel ve diğ., 2002; van Herp, 1970; Vogt ve diğ., 1985, Vogt, 1990, 1994; Vogt ve diğ., 1989) *Maja squinado*'nun hepatopankreası ile ilgili sadece bir adet çalışma bulunmaktadır (Mansour-Bek,1932). Ülkemizde dekapod hepatopankreası ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. *Maja squinado*, ülkemizde Akdeniz, Ege ve Marmara Denizi'nde yaşamaktadır (Bakır ve diğ.,2014). Yeni bir besin kaynağı arayışına girilmesi, dekapodların besin zincirindeki yerleri ve sulardaki kirleticilere duyarlı oluşundan dolayı dekapod hepatopankreası ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (Türel ve diğ., 2002).

Bu çalışmada, *Maja squinado*'nun hepatopankreası histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmiştir. Tezin “Genel Kısımlar” bölümünde dekapod hepatopankreası olan sindirim bezi ayrıntılı bir biçimde tanımlanmış, dekapod türleri arasındaki benzerlik ve farklılıklar belirtilmiştir.

Tezin “Malzeme ve Yöntem” bölümünde laboratuarda uygulanan işlemler ayrıntılı şekilde anlatılmıştır. Yapılan bu işlemler sonucunda elde edilen histolojik preparatlardan alınan veriler ve biyokimyasal yöntemlerden elde edilen sonuçlar, tezin “Bulgular” bölümünde anlatılmıştır.

Tezin “Tartışma ve Sonuç” bölümünde ise, elde edilen veriler değerlendirilmiş ve bu veriler mevcut literatür bilgisi ile yorumlanarak sonuca varılmıştır.

Bu çalışma, ülkemizde bulunan yengeç türü olan *Maja squinado*'nun hepatopankresındaki fonksiyonel hücrelerin yapısının ışık mikroskobu düzeyinde ortaya çıkarılması ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak üreme döneminde total protein miktarının, membran lipid peroksidasyonun, hidroksil radikalının, hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazın profilini açığa çıkarmak amacıyla yapılmıştır.



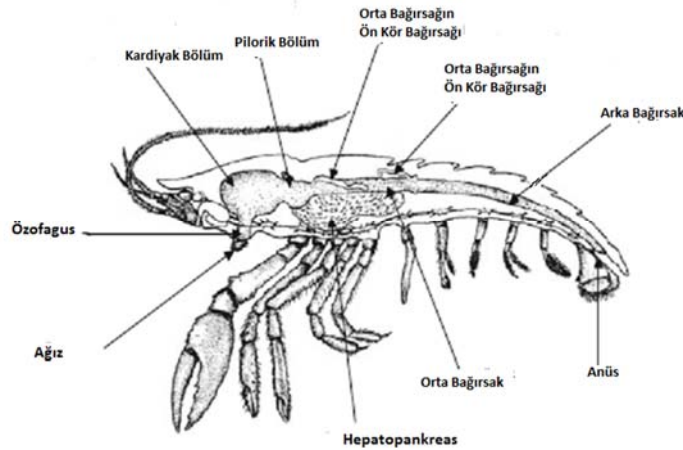
## 2. GENEL KISIMLAR

Dekapodların birçoğu yırtıcıdır; omnivor, karnivor ve leşçi olanlar da vardır. Balıklara ve amfibilere saldırırlar. Kelipetleri (Chelipet) ve kıskaçlı ayakları ile avlarını yakalar ve ağızdaki kesici plaklara iletilerek orada uygun parçalara bölünür. Avlarını antenleri ile saptarlar. Bu antenler, avı yakalamada da kullanılabilir. Kelipetlerin kıskacının alt parçası hareketli, üst kısmı ise hareketsizdir. İç tarafındaki dikenler etkinliği artırır. Bu hayvanların birçoğu da makro algler ve bitkisel maddelerle beslenirler. Bazılarında süzme ile beslenme görülür ve toplanan besinler, maksillipetler üzerinden ağıza iletilir (Demirsoy,2005).

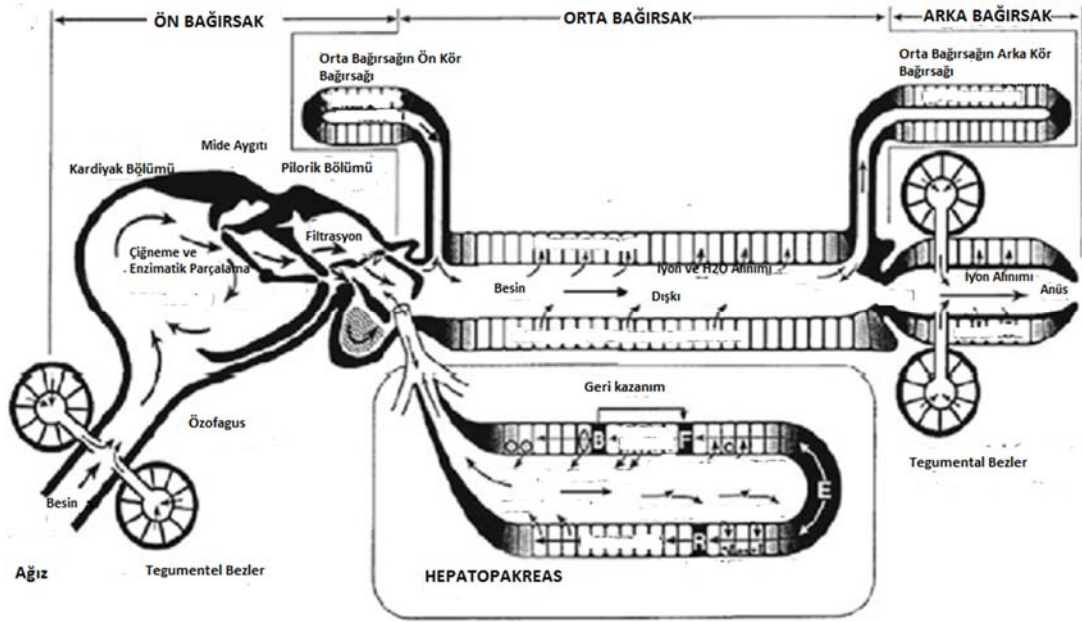
Dekapodlarda sindirim sistemi; ağız, özofagus, ön bağırsak, orta bağırsak ve arka bağırsaktan oluşur(Smith,1978; Icely ve Nott,1992). Ağız kısa özofagusa açılır ve duvarı tegumental bezlerle kaplıdır. Bu bezler mukus salgılar ve böylelikle besinlerin muskular hareketi kolaylaşır. Ağız üstten ve alttan enine plaklar (üst ve alt dudak) ve karapaksla çevrilmiştir. Bunların dizilişi kesme ve öğütmeye uygun şekildedir. Özofagus kısa olup ve dikey olarak yukarı uzanır (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2).

Ön bağırsak kutikula ile kaplıdır. Ön tarafında kardiyak ve arka tarafında ise pilorik olmak üzere iki bölümden meydana gelmektedir (Barker ve Gibson 1977,1978; Icely ve Nott,1992; Heeren ve Mitchell,1997). Kardiyak bölümü besinlerin parçalanması ve depo edilmesi görevlerini yerine getirebilecek şekilde büyük esneyebilir bir kese şeklindedir. Kardiyak bölümün duvarında filtre olukları bulunur ve bu bölümün arka kısmı mide görevi görür. Kardiyak bölümün içyapısı türe göre değişir. Çoğu dekapodda bu bölge mekaniksel sindirimde görevli olan kalsifik kemikçiklerle (Gastrik mill) döşelidir. Besin kardiyak duvarındaki filtre oluklarından mide görevi gören arka bölüme geçer (Felgenhauer ve Abele, 1983,1989). Mide büyük çoğunluğu besinlerin çiğnenmesine yarayan kemikleşmiş dişlerden oluşur. Dekapodların tümünün midesi bu kalsikleşmiş dişlere sahip değildir ve bazı aşağı dekapodlarda bu dişler yoktur. Bu dişlerin yerine katlanmış kalsifikleşmemiş kemikçikler bulunur (Felgenhauer ve Abele,

1983,1989; Brosing,2010). Bu türlerin ağız kısımları midenin görevi yerine getirmek üzere değişmiştir. (Icely ve Nott,1992; Allardyce ve Linton,2010). Türe özgü dişlerin düzenlenmesine göre besinlerin kesilmesi, öğütülmesi ve/veya sindirim enzimleriyle karıştırılmasını mide yapar. Bu süreçte besin mide kaslarının kasılma hareketi ile midenin bulunduğu ön bağırsağın kardiyak bölümünden pilorik bölüme geçer (Heinzel,1988). Kardiyak bölümü ile kendisinden sonra gelen pilorik bölüme birleştiği yerde kardiyopilorik kapakçıklar bulunur ve bu kapakçıklarında üzerinde setalar bulunur. Bu iki bölümün birleşimindeki kardiyopilorik kapakçık ve üzerindeki setalar besinlerin kardiyak bölümü ile pilorik bölümü arasındaki hareketini düzenler. Eğer burada herhangi işlenmemiş bir madde yakalanırsa kardiyak bölümüne itilir ve burada mideyle mekaniksel sindirimi yapılır. Ön bağırsağın pilorik bölümü kardiyak bölümüne göre daha küçük, arka ve ventral konumdadır. Pilorik bölümde bez filtreler bulunur ve pilorik bölümün sonunda sarmal bir boru bulunur. Bu bölümün esas görevi kendinden sonra gelen orta bağırsak için besinleri sınıflandırarak taşımaktır (Heinzel,1988; Heinzel ve diğerleri,1993). Pilorik bölümündeki bez filtreler partikül dışıklarını filtre eder ve böylelikle hepatopankreasa sindirilmiş besinlerin sadece sıvı formu ulaşır. Pilorik bölümün ritmik hareketi besinlerin sadece orta bağırsağa iletilmesinde itici bir rolü vardır (Hopkin ve Nott,1980; Icely ve Nott,1992) (Şekil2.1).



**Şekil 2.1:** Dekapodların sindirim sisteminin anatomisi; ön, orta ve arka bağırsağın gösterimi (Wallace ve Taylor tarafından 1922’de uyarlanmıştır) (McGaw ve Daniel, 2013).



**Şekil 2.2:** Dekapodların bağırsak sisteminin şematik gösterimi (Conclin tarafından 1995'te uyarlanmıştır) (McGaw ve Daniel, 2013).

Orta bağırsak, karapaks ve abdomenin arasındaki birleşiminde bulunan orta bağırsağın ön kör bağırsağı ile pilorik bölümün sonunda bulunan sarmal borunun birleşmesiyle başlar (Smith,1978). Ön bağırsak ve arka bağırsak kitinle kaplı olmasına rağmen orta bağırsağın duvarı silindirik epitel ile döşelidir (Icely ve Nott,1992; Johnstonve Yellow,1998). Orta bağırsağın genişliği türlere bağlı olarak değişir. Örneğin tatlı su istakozunun bazı türlerinde kısadır (Smith,1978; Lovett ve Felder,1989).

Hepatopankreas sefalatoraksın arka bölümünün geniş bir kısmını işgal eden bir organdır ve abdomenin içine doğru genişler (Gibson ve Barker,1979). Çoğu dekapodda hepatopankreas, ön bağırsağın pilorik bölümü ile orta bağırsağın birleşiminde başlayan primer kanal diye adlandırılan sindirim kanalına açılır ve tek tarafı kapalı olarak sonlanır. Primer kanal ise hepatopankreatik kanallar diye adlandırılan sekonder ve tersiyer kanallara ayrılarak bez doku birikimi olan küçük tübüllerle sonlanır (Factor,1981b). Hepatopankreasın farklı türlerde lob sayılarının farklı olmasına rağmen, morfolojisi çoğu dekapodlarda benzerdir (Gibson ve Barker,1979).

Amerika istakozu *Homarus americanus*'un hepatopankreası iki yarıma ayıran orta hattan meydana gelmektedir. Her yarının 3 lobu vardır ve pilorik bölüm ile orta bağırsağın bağlanma noktasından bağımsız olarak primer kanal tarafından bağlanır.

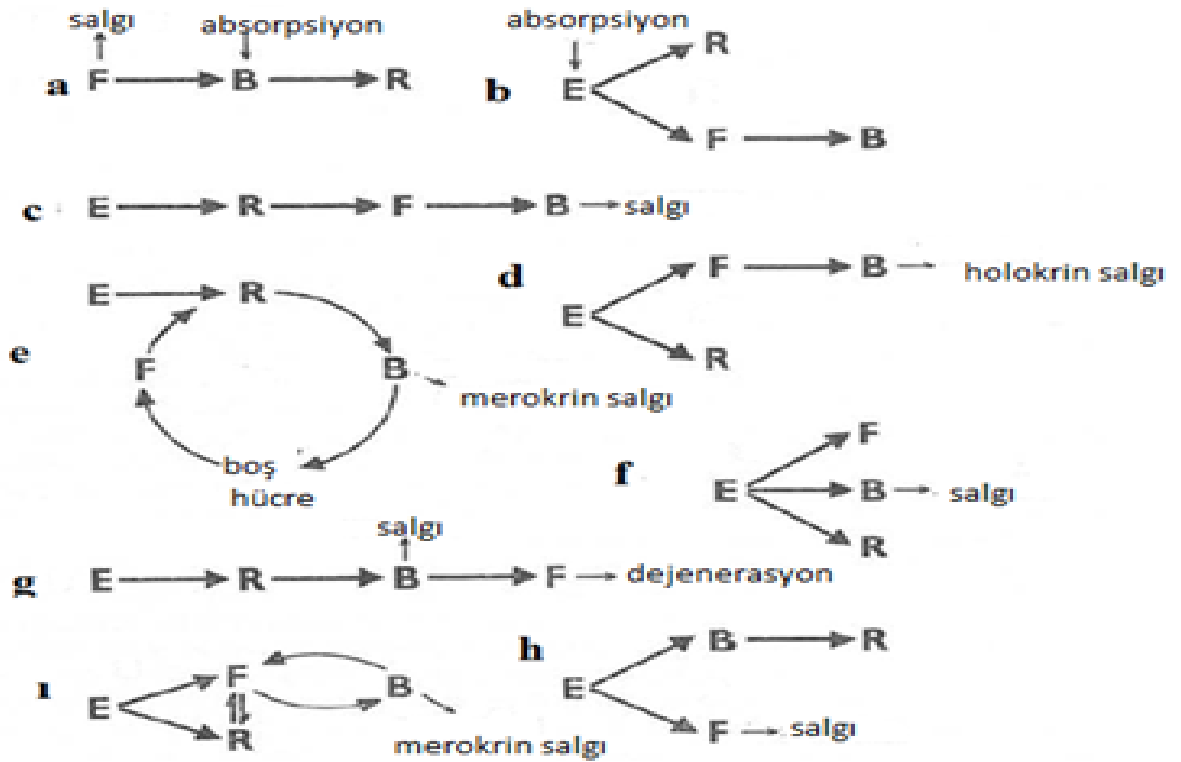
Sekonder kanal geniş dallanma göstererek kanalcıklara ayrılır ve bunların her biri körelmiş tübül sonlarıyla karmaşıklaşmıştır (Factor,1981a). Örneğin *Penaeus* sp.' nin hepatopankreasının her yarımı sadece bir lobdan meydana gelir (Vogt ve diğ.,1985; Lovett ve Felder,1989). *Macrobrachium amazonicum*' da hepatopankreasın ön bağırsağın pilorik bölümü ile birleştiği yer ve primer kanal yalancı çok katlı epitelyum ile döşelidir. Hepatopankreası iki yarımından meydana gelir. Bu sağ ve sol yarımın bir laminar bağ doku kapsülü ile birbirine yakınken aynı zamanda ince bir lifli bölme ile birbirlerinden ayrılır. Sağ ve sol yarım birbiri ile bağlantılı değilken ikisinde primer kanala bağlıdır (Franceschini ve diğerleri,2009). *Astacus astacus*'un hepatopankreatik tübüllerin körelmiş sonlarında küçük hücreler bulunmaktadır. Bu hücreler tübüllerin kanalcıklarından ve kanallarından farklılaşarak kalın bazal lamina tarafından desteklenen basit silindirik epitele şekillenmişlerdir. Doku bağlantılarının devam eden ağı hepatopankreasın dış yüzünü, kanalları ve tübüleri destekler (Factor ve Naar,1985). Tübüllerin bazal laminasının etrafında kasılma dokusunun bir ağı olarak dairesel vezunlamasına kas hücreleri bulunur. Kerevitlerde nörosektretör hücreleri bu kas hücreleriyle ilişkilidir (Loizzi, 1971). Kansinüsleri tübüller arası alanın çoğunu kaplar. Bu sinüslerin lümeninden hemositlerin dolaşımıyla beraber endotelyal hücreler kaplar. Fagositler bazal membran endotel hücrelerine yapışıktrlar ve tübüllerin bazal laminasıyla doğrudan bağlantılıdır (Factor ve Naar,1990).

Hepatopankreatik kanallar besinlerin hepatopankreasa doğru hareket etmesine kasılmalarıyla yardım eden kas sistemini içermektedir (Dall,1967; Johnston ve Yellowless,1998). Çözünmeyen parçacıklar kanalın başlangıcının dışında yani pilorik bölümdeki bez filtrelerde filtre edilerek sadece sıvı ve 100 nm çapından küçük parçacıklar hepatopankreasa geçer (Smith,1978; Hopkin ve Nott,1980). Hepatopankreas tübüllerinin sekonder kanala yakın ucuna proksimal, en uzak ucuna distal; distal ve proksimal bölümlerin arasına mediyal bölüm denir.

Dekapodlarda hepatopankreasın epitelinde dört tip hücre tanımlanmıştır (Momin ve Rangneker,1975a; Gibson ve Barker,1979; Hopkin ve Nott,1980; Icely ve Nott,1992).

1. E (Embriyonik) Hücreleri
2. R (Geri emilim) Hücreleri
3. F (Fibrillar) Hücreleri
4. B (Vezikül) Hücreleri

Bu hücre tiplerinin lokasyonu tübül boyunca çeşitlenmiştir. *Astacus leptodactylus*'un hepatopankreasında bu hücre tiplerinin yerleşimi tübül boyunca farklılık gösterir. E hücreleri distal ucunun sonunda bulunur ve R hücreleri tübüle boydan boya bakıldığında çoğu yerinde görülür. F hücreleri daha çok distal ve mediyal bölümde yer alır. B hücreleri daha çok media ve proksimal bölüm olmak üzere hepatopankreasın sekonder kanalında bulunur. Sadece R hücreleri kanalcıklarda ve sekonder kanalda normal olarak sıralanmıştır (Jacobs ,1928). Bu hücre tiplerine ek olarak aşağı dekapodlarda M (mini) hücreleri tanımlanmıştır. M hücreleri hepatopankreatik tübüller boyunca yayılmış halde bulunur (Al-Mohanna ve diğ.,1985a; Vogt, 1994). E, B, R ve F hücrelerinden oluşan hepatopankreatik tübüllerin epiteli basit silindirik epitel özelliği gösterirken, M hücrelerinin bulunması durumunda yalancı çok katlı epitel özelliğindedir (Al-Mohanna ve diğ., 1985a; Vogt,1994).



**Şekil 2.3:** Dekapod hepatopankreas hücrelerinin hücresel farklılaşmalarına ait fikirlerin yıllara göre şeması (Gibson ve Barker, 1979). a- Guieysse (1904) b- Apathy ve Farkas (1908) c- Jacobs (1928) d- Hirsch ve Jacobs (1930) e- Van Weel (1955) f- Ogura (1959) g- Davis ve Burnett (1964) h- Bunt (1968) i- Stanier, Woodhouse ve Griffin (1968).

Guieysse (1904), dekapod hepatopankreas hücrelerinin üç hücre tipinin fonksiyonlarına göre birbirlerinden kökenlendiğini savunmuştur. Morfolojik açıdan bakılmadığı için E hücrelerindeki mitotik aktivite baz alınmamıştır (Şekil 2.3.a). Daha sonraki yıllarda Apathy ve Farkas (1908) yapmış olduğu çalışmalarda hepatopankreasın morfolojik ve fonksiyonel incelemeleri sonucu dört tip hücrenin var olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda hepatopankreatik hücrelerin nereden kökenlendiğini salgı vakuollerinin ürünlerine göre değerlendirilmiştir (Şekil 2.3.b). 1920'li yıllara gelindiğinde araştırmalar daha çok hayvanın beslendikten sonra belirli aralıklarla incelenmesi sonucunda çıkarımlar yapılmıştır (Gibson ve Barker, 1979). Jacobs (1928) yaptığı çalışmada dekapod hepatopankreasının hücre tiplerinin nereden kökenlendiğine ait değerlendirme beslenmeden sonraki tübülün morfolojik ve histolojik durumuna göre yapılmıştır. Bu çalışmada değerlendirme tübülün distal bölümünün en ucundaki hücrelerin bulunma sıklığına ve mesafesine göre yapılmıştır (Şekil 2.3.c). Daha sonraki yıllarda Hirsch ve Jacobs (1930) beraber yaptıkları çalışmaların sonucunda; E hücrelerinin mitotik aktivite hızının mediyal bölümdeki B hücrelerini veremeyeceği savunulup, mediyal bölümdeki F hücrelerinin genç B hücreleri olduğu tezi ortaya atılmıştır (Şekil 2.3.d) (Gibson ve Barker, 1979).

1955 yılında Van Weel yaptığı bir çalışmada dekapodları besledikten 0-5, 12 ve 30 saat sonraki hepatopankreasın histolojik incelemesi sonucunda hücrelerin salgılarını salgıladıktan sonra periyodik olarak eski hallerine geldiği fikri ortaya atılmıştır (Şekil 2.3.e) (Gibson ve Barker, 1979). Ogura ise F hücrelerinin demir, R hücrelerinin bakır absorbe ettiğini bulmuştur. Bu çalışmada E hücrelerinin; demir depolayan F hücrelerini, bakır depolayan R hücrelerini ve salgı yapan B hücrelerini birbirlerinden bağımsız olarak verdiği savunulmuştur (Şekil 2.3.f). Ogura'nın tezi yeterli kanıt olmadığından kabul görmemiş ve bu konudaki çalışmalar devam etmiştir (Gibson ve Barker, 1979). Davis ve Burnett 1964 yılında hepatopankreatik hücrelerin kökenlerini nereden aldıklarını açıklamaya dair çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmalarda R hücrelerinin E hücrelerinden kökenlendiğini ve absorpsiyon yaptıktan sonra salgılayıcı B hücrelerine dönüştüğünü; B hücrelerinin de salgılama yaptıktan sonra protein sentezi yapan F hücrelerine dönüştüğü savunulmuştur (Şekil 2.3.g). Bununla birlikte, F hücrelerinin protein sentezinden sonra neden atrofiye uğradığı açıklanmamıştır. 1968'de Bunt'un yaptığı çalışmada hepatopankreatik hücrelerinin nereden kökenlendiğine dair

açıklamalar protein sentezi ile ilişkilendirilmiştir. Protein sentezi yapan F hücresi E hücresinden protein sentezi yapmayan R ve B hücrelerinden bağımsız olarak kökenlendiğini ve ayrıca R hücrelerinde hücre kalıntıları gözlemlendiği için R hücrelerini B hücrelerinin yaşlanmış hali olarak kabul edilmiştir (Şekil 2.3.h). Stanier, Woodhouse ve Griffin'in yaptığı çalışmada tamamen farklı bir bakış açısıyla F hücrelerinin ihtiyaç olan B hücrelerini vermekte yetersiz olduğu savunulmuştur (Şekil 2.3.1). Buna karşın R hücrelerinin bu durumda F hücrelerini verdiği ve bunlarında B hücrelerine dönüştüğü; F hücrelerinin fazla olması durumunda R hücrelerine dönüştüğü savunulmuştur. R ve F hücrelerinin bu ilişkisini; F hücrelerinin erken gelişim fazında bulunan vakuoller gösterilerek savunulduğundan yetersiz kanıt sunulmuştur (Gibson ve Barker,1979).

En son 1990 yılında Vogt'un yaptığı çalışmada kendinden önce Loizzi(1971), Caceci ve diğ. (1988) ve Al-Mohanna ve Nott (1989)'nun elektron mikroskobu ile yaptığı çalışmaları geliştirerek dekapod hepatopankreas hücrelerinin nereden kökenlendiğine dair tezlere son nokta konulmuştur. Vogt'tan önceki yapılan çalışmalar B hücrelerinin F hücrelerinden, F ve R hücrelerinin birbirinden bağımsız olarak E hücrelerinden kökenlendiği savunulmuştur. Vogt'un çalışması gelişimin erken gelişim evrelerinde B ve F hücrelerindeki merkezi vakuol ve bazofilik sitoplazmaya bağlanmasının yanlış olduğunu; rER ve bazal sER, mitokondrinin erken ve geç gelişim evrelerini gösterilerek B, F ve R hücrelerinin birbirlerinden bağımsız olarak E hücrelerinden kökenlendiği kanıtlanmıştır (Vogt,1990). Bunun dışında 1994 yılında Vogt'un çalışması bazı dekapod türlerinin hepatopankreasında bulunan beşinci hücre tipi olan M hücrelerinde hepatopankreatik olmayan hücrelerden kökenlendiği savunularak buna kanıt olarak M hücrelerinin orta bağırsak epitelinde de bulunması gösterilmiştir. Bununla beraber tübüllerdeki konumlarına göre yani tübül lümenleri ile bağlantılarının olmayışı hemolenf ya da kas hücrelerine yakın bulunmasından dolayı endokrin hücre gibi regülatör görevi gördüğü savunulmuştur (Vogt,1994).

Hepatopankreasın epitelinde bulunan hücreler hepatopankreasın morfolojisinden ve ince yapısından, sindirim enzimlerinin histokimyasal yerleşiminden ve besinlerin sindirilmesinden çıkarılır (Jacobs, 1928; Travis, 1960; Miyawaki ve diğ., 1961; Davis ve Burnett, 1964; Loizzi ve Peterson, 1971; Momin ve Rangneker, 1975a,b; Storch ve

Welsch, 1977; Barker ve Gibson, 1977,1978; van Herp, 1970; Hopkin ve Nott, 1980; Vogt,1990,1994).

Birçok dekapod türünde E hücreleri hepatopankreatik tübüllerin distal bölümlerinin sonunda gözlenmiştir (Al-Mohanna ve Nott, 1989; Diaz ve diğ., 2010 ; Sousa ve Petriella, 2000; Franceschini ve diğ., 2009;). R, F ve B hücrelerinin E hücrelerinden kökenlendiğinden dolayı E hücrelerinin dekapodların çeşitli türlerinin hepatopankreasındaki yerleşimi mitotik aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. E hücreleri hücrelerin hacimsel çoğunluğunu oluşturan bir nükleusa ve düz nükleer zara sahip olan özelleşmemiş hücrelerdir. E hücrelerinde fırça kenar yoktur (Sousa ve diğ.,2005; Ceccaldi,1989; Franceschini ve diğ.,2009). Vogt 1994 yılında *Astacus astacus* türü ile yaptığı çalışmada E hücrelerinin fırça kenara sahip olduğu tespit edilmiştir. Sitoplazma; kısa düz ve dalgalı endoplazmik retikuluma (DER), mitokondriye, tek membran-bağlı veziküllere ve çok sayıda Golgi aygıtına sahiptir (Gibson ve Barker,1979; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990,1994).

F hücreleri, *M. amazonicum*'un hepatopankreatik tübüllerin uzunluğu boyunca bulunmuştur ve E hücrelerinin yanında distal bölümde gözlenmesi kolaydır (Franceschini ve diğ.,2009). Buna karşın *Penaeus semisulcatus* ( Al-Mohanna ve Nott, 1989) ve *Penaeus vannamei* ( Caceci ve diğ., 1988)' de hepatopankreatik tübülün proksimal ve mediyal bölümünde gözlenmiştir. F hücreleri *Palaemonetes argentinus*' ta yüksek RNA miktarından dolayı bazofilik sitoplazmaya sahip olduğu tanımlanmıştır ( Sousa ve Petriella,2000). Bu hücre tipinde protein sentezi çok fazladır ve sindirim enzimlerinin sentezleri sadece burada gerçekleşir ( Al-Mohanna ve Nott, 1989; Vogt ve diğ., 1989). F hücrelerinin nükleusu hücrenin bazal bölümüne doğru konumlanmıştır. Yaşlı hücrelerde nüklear zar düzensiz hatlara sahiptir. Hücrede granüllü endoplazmik retikulum (GER) çok sayıda bağımsız ve membran-bağımlı ribozomlarla birlikte geniştir ve çok sayıda mitokondri hücre boyunca dağılmıştır. Genişleyen ve sıvı keselerine (sisterna) sahip olan genel ve yaygın Golgi aygıtları görülmektedir.(Gibson ve Barker,1979; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990,1994). *Astacus astacus*'ta Golgi aygıtı beslenme döngüsünde enzim vakuolleri üretir. Nükleusun üstünde bulunan vakuoller yaşlı hücrelerde görülür ve bazı dekapodlarda demir depolar (Miyawaki ve diğ.,1961).



B hücreleri *M. amazonicum*'nin hepatopankreatik tübüllerin başlıca mediyal ve distal bölümünde gözlenmiştir (Franceschini ve diğerleri,2009). Ama B hücreleri *P. semisulcatus*'un hepatopankreatik tübüllerinin proksimal bölümünde bulunmaktadır (Al-Mohanna ve Nott, 1989). B hücreleri hepatopankreasta en yaygın bulunan hücre tipidir ve bu hücrede asidik sitoplazmanın ince tabakası tarafından çevrelenmiş geniş vakuol egemendir. *P. semisulcatus* (Al-Mohanna ve Nott,1989) ve *Bothryllus schlosseri* (Burighel ve Milanese, 1973)'nin B hücreleri hücre içi sindirim yapar, besinlerin hemolenf içerisine emilmesini sağlarlar ve hepatopankreatik tübüllerin lümeninde bulunan sindirim ürünlerinin fazlasını ayırırlar. B hücrelerinin nukleus hücrenin bazal bölümünde sınırlanmıştır. Yaşlı hücrelerde nuklear zar düzensiz hatlarla oval ya da orak şeklini almıştır. Genç B hücreleri apikal sitoplazma da sayıca çok pinositik veziküller içerir. Bu veziküller sindirim maddelerinin birleşimiyle genişler. Loizzi (1971) tarafından bu bölge apikal kompleks olarak adlandırılmıştır. Granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri ve Golgi aygıtı daha çok bazal bölümde yer alır. B hücreleri F hücreleriyle karşılaştırılınca, B hücrelerinin Golgi aygıtının su keseleri elektron-şeffaf vezikül olmakla birlikte düzdür. B hücrelerinin gelişimi karakteristik vakuollerin genişlemesi ve diğer sitoplazmik özelliklerin azalması ile hücrenin dış sınırının sitoplazmik ince tabakaya sınırlandırılmış olmasıdır. Hücre gelişimi esnasında enterik katmanın kalınlığı ve mikrovillusların sayısı dereceli olarak azalır.(Gibson ve Barker,1979; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990,1994).

R hücreleri *P.semisulcatus* (Al-Mohanna ve Nott,1989) ve *P. vannamei* (Caceci ve diğ.,1988)'de hepatopankreatik tübüllerin proksimal ve mediyal bölümünde gözlenmiştir. R hücreleri hepatopankreasta sayıca en fazla olan hücre tipidir. R hücrelerinin nukleusu bazal bölümde yer alır ve R hücreleri karakteristik subapikal vakuollere ve asidik sitoplazmaya sahiptir. Diğer tipler gibi, R hücrelerinin nukleus hücrenin bazal bölümüne doğru uzanır. Granülsüz endoplazmik retikulum bazal membranın iç içe geçmesiyle ilişkilidir. Granülsüz endoplazmik retikulum ayrıca sindirim döngüsünde spesifik bölümde apikal sitoplazmada meydana gelir. F hücreleriyle karşılaştırılırsa; granülsüz endoplazmik retikulum ve ribozomlar daha az bulunur, fakat apikal sitoplazmaya yerleşmiş sayıca fazla mitokondri bulunur. Golgi aygıtı hücrenin orta bölümünde aktiftir ve hücrenin bazal bölümündeki granülsüz endoplazmik retikulum ile ilişkilidir. F hücrelerinin Golgi aygıtıyla karşılaştırılırsa, R

hücrelerinin Golgi aygıtının su kesesi düzdür ve elektro-yoğun veziküller üretirler. Bu veziküller çoklu veziküller madde içerir ve supranükleer vakuollerle kaynaşır. Bu vakuoller bakır ve diğer metalleri depolar. Ek olarak sindirilmiş besin ürünlerini R hücrelerinin mikrovilluslar üzerinden lümeninden R hücrelerine geçer (Sousa ve Petriella,2000). R hücreleri lipit ve glikojen için depo görevi görür. R hücrelerinin yoğun mikrovili diğer hücre tiplerine göre daha kalın enterik katmanda sıralanmıştır.(Gibson ve Barker,1979; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990,1994).

M hücrelerin hepatopankreatik tübüller boyunca yayılmış halde bulunur. M hücreleri büyük karideslerin birçok türü de dahil esas olarak aşağı dekapodlarda bulunur (Al-Mohanna ve diğ., 1985b; Vogt,1985). Bununla beraber *Astacus leptodactylus* (Jacobs,1928) ve *Spirathelphusa hydrodromus* (Reddy,1938) dahil olmak üzere yüksek dekapodlarda da tanımlanmıştır. M hücreleri diğer sindirim kanallarında da bulunmasından dolayı hepatopankreatik olmayan hücrelerden kökenlendiği ve hemolenflerle ilişkili olmalarından dolayı bağışıklık sisteminde görevli oldukları düşünülmektedir (Vogt,1994). M hücreleri en az bulunan hepatopankreatik hücre tipidir. Gelişimin erken safhasında hücrenin büyük bölümünde düzensiz nükleer membranla beraber yuvarlak nükleus vardır. Gelişmiş hücrede nükleus orak şeklini alır ve çok fazla yoğunlukta maddelerin oluşumu tarafından hücrenin bir tarafında sınırlanmıştır. Bunlar Golgi aygıtı tarafından üretilen yoğun granüllerin ilerlemiş birikimi tarafından şekillenmiş maddeler olabilir. Sitoplazmanın ince tabakasında granüllü endoplazmik retikulum, bağlı olmayan ribozomlar, mitokondri ve glikojen bulunur. Bu çok yoğun madde periferde ilerleyen sindirimin başlangıcında görülebilir. Sindirimin süresince atık materyaller yoğun alanlar içerir. Bunlar sitoplazmanın arda kalanlarıyla doğrudan ilişkilidir. Bu hücrelerin lümenle doğrudan kontak kuracak mikrovillusları yoktur.(Gibson ve Barker,1979; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990,1994).

F hücrelerinde üretilen enzimler türe ve beslenme durumlarına bağlı olarak besinlerin mideye girmesinden sonra apokrin, merokrin ya da holokrin salgılama yöntemleriyle periyodik olarak salınırlar. Bazı besinler ve sıvılar B ve F hücrelerine pinositoz ile alınır ve diğer ilişkili R hücrelerinin içerisine mikrovilluslar üzerinden temas etmesiyle hücre içerisine moleküler taşıma ile alınır. Barker ve Gibson (1977,1978) bu ilerleyen sindirimin R hücrelerinde meydana geldiğini savunmuşlardır. Sindirimin son

ürünleri hemosöle aktarılır ya da R hücrelerinde lipit ve glikojen gibi depo edilir (Miyawaki ve diğ.,1961; Loizzi,1971; Gibson ve Barker, 1975, 1978, 1979; Vogt, 1994).

Hepatopankreas ön bağırsakta başlamış olan besin maddelerinin sindirimini tamamlanmasını, ön bağırsak için sindirim enzimlerini üretilmesini, besin absorpsiyonunu ve sindirilen ürünlerin kana transferini ya da lipit, glikojen ve metallerin depolanmasını sağlayan organdır. Aynı zamanda hepatopankreas iç savunma mekanizmasında, detoksifikasyon işleminde de önemli rol oynar (Loizzi, 1971; Gibson ve Barker, 1979; Dall ve Moriarty,1983; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990,1994).

Hepatopankreasın bu fonksiyonlarını açığa çıkarılması ve aynı zamanda bu organın ekotoksikolojideki önemini açıklamakta yararlı oluşu nedeniyle, hepatopankreasta bulunan enzimler de çok sayıdaki araştırmaya konu olmuştur. Dekapodların hepatopankreasında bulunan enzimlerin neler olduğu konusunda yapılan çalışmalar 1930 yıllarına dayanmaktadır. İlk başlarda daha çok sindirim enzimleri üzerinde durularak amilaz, dipeptidaz, kollagenaz, proteaz ve karbonpeptidaz gibi birçok enzime bakılmıştır (Mansour-Bek,1932; Loizzi, 1971; Trelly ve Cecaldi,1977; Barker ve Gibson, 1977,1978). *Maja squinado*'nun hepatopankreasında kasein-proteaz, amilaz, aminopeptidaz, glukosidaz, fruktofuranosidaz ve kitinaz gibi enzimler bulunmuştur (Mansour-Bek, 1932). Dekapodlarda kirleticilerin en fazla biriktiği organlardan biri hepatopankreastır. Hepatopankreas hücrelerinin peroksizomları ve lizozomları, çeşitli kirleticilerin etkisiyle morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere uğrayabilir. Bu durum kirlilik boyutunun ve ajanının miktarını belirlemede biyoindikatör olarak kullanılır (Barim ve diğ., 2009; Sousa ve diğ., 2005).

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Nisan-Mayıs 2014 tarihleri arasında, Çanakkale Boğazı'ndan trol avcılığıyla toplanan 8 erkek 2 dişi toplam 10 ergin bireyle yapılmıştır. Üreme dönemindeli bireylerin kabuklarının antero-posteriyör uzunluğu 8,5-17 cm arasında değişmektedir. Doğal koşullardan alınan yengeçler canlı halde laboratuara getirildikten hemen sonra, buz içerisinde 20 dk bekletildi ve ardından önce anteriyör, daha sonra posterior kapama kasları kesilerek kabukları açıldı. Hepatopankreas ışık mikroskobu incelemeleri ve biyokimyasal yöntemler için hızlı biçimde alındı.



**Şekil 3.1:** *Maja squinado*.

#### 3.1 HİSTOLOJİK YÖNTEMLER

Işık mikroskobu incelemeleri için alınan hepatopankreas parçalara ayrıldı ve parçaları, Bouin eriyiğinde 12 saat tespit edildi. Tespit işleminden sonra parçalar, % 70 alkole alındı ve tespit materyalinin dokudan çıkarılması için 1-2 hafta % 70 alkolde yıkandılar. Bunu takiben yükselen alkol serilerinden geçirilen parçalar, ksilolde saydamlaştırıldıktan sonra parafine gömülerek bloklandılar. Hazırlanan parafin bloklardan Leitz 1212 mikrotomu ile 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Lamlara yapıştırılan kesitler, Hematoksilin + Eosin (H+E), Masson'un üçlü boyası (Drury ve diğ., 1967'den değiştirilerek), Periyodik asit-Schiff + Hematoksilin (PAS+H),

Bromfenol Mavisi (Brf B) (Mazia ve diğ., 1953) ve Alcian Mavisi (AB- pH:2.5) ile boyandılar. Hazırlanan tüm preparatlar, Nikon Eclipse E200 marka mikroskopta incelenerek, Nikon Coolpix4500 marka dijital fotoğraf makinası aracılığıyla fotoğraflandı.

### 3.2 BİYOKİMYASAL YÖNTEMLER

Biyokimyasal yöntemler için alınan hepatopankreas Tris- HCl ( pH 7,4) tamponu ile sulandırılıp, IKA RW20 digital marka homojenizatör ile homejenize edildi. Homejenize edildikten sonra ultra sonikatörle hücre zarları parçalandı. Homojenatlar +4°C' de 13020 rpm'de 10 dk süre ile Nüve markalı soğutmalı santrifüje konuldu. Elde edilen süpernatantlarda membran lipit peroksidasyon, hidroksil radikali, hidrojen peroksit, total protein, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz tayinleri yapılmıştır.

#### 3.2.1 Membran Lipit Peroksidasyon Tayini

Lipit peroksidasyonunun miktarı Devasagayam ve Tarachand (1987)'in yönteminde olduğu gibi örnekteki malondialdehit içeriğine göre ölçülmüştür. Deneyin prensibi poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan son ürünlerden biri olan malonadialdehit (MDA)'in sıcak ortamda Tiyobarbütirik asit (TBA) ile oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

##### 3.2.1.1 Kullanılan Çözeltiler

- %10 Triklorasetik asit (TCA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.
- %0.375 Tiyobarbütirik asit (TBA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.
- 0.25 N Hidroklorik asit

##### Deney Karışımı:

0.5 ml 0.15 M Tris-HCl tamponu (pH 7,4)

0.15 ml 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

##### 3.2.1.2 Uygulama

Örnek ve tüpler aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                       | ÖRNEK(ml) | KÖR (ml) |
|-----------------------|-----------|----------|
| <b>Hücre Ekstresi</b> | 0,1 ml    | -----    |
| <b>Tris Tamponu</b>   | -----     | 0,1 ml   |
| <b>Deney Karışımı</b> | 0,65 ml   | 0,65 ml  |
| <b>TCA</b>            | 0,5 ml    | 0,5 ml   |
| <b>TBA</b>            | 0,75 ml   | 0,75 ml  |

Örnek ve kör tüplerine deney karışımı konup 37°C çalkalayıcı su banyosunda 20 dk inkübe edildi. Daha sonra reaksiyon TCA eklenerek durduruldu. Tüpler iyice çalkalanarak TBA eklendi 20 dk kaynar su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra soğutulan tüpler 10 dk 2000 g'de santrifüj edilip, süpernatantın absorbanansı 532 nm'de köre karşı okundu.

### 3.2.1.3 Hesaplama

$$TBARS(nmol/ml) = \frac{V_{\text{toplam}} \times A_{\text{örnek}} \times df \times 10^6}{V_{\text{örnek}} \times LP \times \epsilon_{\mu M}}$$

TBARS için molar ekstinksiyon katsayısı:  $\epsilon_{mM} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$V_{\text{toplam}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{örnek}}$ : Kullanılan örnek hacmi

$A_{\text{örnek}}$ : Örnek absorbanansı

df: Sulandırma katsayısı LP: Işık yolu

### 3.2.2 Hidroksil Radikalinin Tayini

Hidroksil radikali üretimi Puntarulo ve Cederbaum (1988)' un yöntemine göre yapıldı. Bu yöntem demir komplekslerinin varlığında üretilen hidroksil radikalinin NADPH ve DMSO varlığında formaldehit oluşturulması ve oluşan formaldehitin TCA ile reaksiyona girerek 570 nm dalga boyunda absorbands vermesi esasına dayanır.

#### 3.2.2.1 Kullanılan Çözeltiler

1 M Sodyum Fosfat Tamponu ( pH 7)

0,1 M MgCl<sub>2</sub>      10 mM Sodyum azid

4 mM DMSO      4 mM NADPH

%10 Triklorasetik asit (TCA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.

#### 3.2.2.2 Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                              | ÖRNEK(ml) | KÖR(ml) |
|------------------------------|-----------|---------|
| <b>Hücre Ekstresi</b>        | 0,25 ml   | -----   |
| <b>Tris Tamponu</b>          | -----     | 0,25 ml |
| <b>Sodyum Fosfat Tamponu</b> | 0,1 ml    | 0,1 ml  |
| <b>Sodyum azid</b>           | 0,05 ml   | 0,05 ml |
| <b>DMSO</b>                  | 0,05 ml   | 0,05 ml |
| <b>NADPH</b>                 | 0,05 ml   | 0,05 ml |
| <b>MgCl<sub>2</sub></b>      | 0,05 ml   | 0,05 ml |
| <b>TCA</b>                   | 0,15 ml   | 0,15 ml |

Örnek ve kör tüplerine sodyum fosfat tamponu, MgCl<sub>2</sub>, sodyum azid, DMSO ve NADPH ve hücre süspansiyonu konduktan sonra tüpler hafifçe çalkalandı ve 10 dk 37°C' de inkübe edildi. Daha sonra reaksiyon TCA eklenerek durduruldu ve tüpler 30 dk kaynayan su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler soğutularak 570 nm dalga boyunda köre karşı okunur.

### 3.2.2.3 Hesaplama

$$\text{Dakikada oluşan } \mu\text{mol Hidroksil radikali} = \frac{A_{\text{örnek}} \times V_{\text{toplam}} \times df}{LP \times V_{\text{örnek}} \times \epsilon_{mM}}$$

$$\epsilon_{mM} = 6,22 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$$

$V_{\text{toplam}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{örnek}}$ : Kullanılan örnek hacmi

$A_{\text{örnek}}$ : Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı LP: Işık yolu

### 3.2.3 Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Tayini

Hidrojen Peroksit tayini Holland ve Storey (1981)'in yöntemine göre yapıldı. Bu yöntem asitlenmiş ferrocycytochrome c'nin oksidasyonu sonucu artan sapmanın 550 nm dalga boyunda absorbans vermesi esasına dayanır.

#### 3.2.3.1 Kullanılan Çözeltiler

20mM Tris-HCl

113 mM KCl

0,4 mM EDTA

15 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

98 µM Ferrocycytochrome c

#### 3.2.3.2 Uygulama



Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                       | <b>ÖRNEK(ml)</b> | <b>KÖR(ml)</b> |
|-----------------------|------------------|----------------|
| <b>Hücre Ekstresi</b> | 0,02 ml          | -----          |
| <b>Tris Tamponu</b>   | -----            | 0,02 ml        |
| <b>Deney Karışımı</b> | 0,1 ml           | 0,1 ml         |

Örnek ve kör tüplerine Tris-HCl, KCl, EDTA, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ferrocyclochrome c'den oluşan deney karışımı ve hücre süspansiyonu konduktan sonra hemen 550 nm dalga boyunda köre karşı okunur.

### 3.2.3.3 Hesaplama

$$\mu\text{mol/ml H}_2\text{O}_2 = \frac{A_{\text{örnek}} \times V_{\text{toplam}} \times df}{LP \times V_{\text{örnek}} \times \epsilon_{mM}}$$

$$\epsilon_{mM} = 19,1 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$V_{\text{toplam}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{örnek}}$ : Kullanılan örnek hacmi

$A_{\text{örnek}}$ : Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı LP: Işık yolu

### 3.2.4 Total Protein Tayini

Total protein tayini Lowry ve diğ., 1951 yöntemine göre yapıldı. Deneyin prensibi fosfomolibdotungustik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteu belirteci) tirozin bakiyeleri ile reaksiyona girerek mavi bir renk oluşturması esasına dayanır. Bu mavi renk 660 nm dalga boyunda absorbans verir.

### 3.2.4.1 Kullanılan Çözeltiler

**A Reaktifi:** 0,1 N NaOH içinde %2 (w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

**B Reaktifi:** %1 (w/v) Na-K Tartarat içinde %5 (w/v) CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O

**C Reaktifi:** 50 ml A reaktifine 1 ml B reaktifi eklenerek C belirteci hazırlanır. Bu bileşik taze hazırlanır.

**D Reaktifi:** Folin belirteci 1: 2 oranında sulandırılarak hazırlanır. Bu belirteç taze olarak hazırlanır ve ışıktan korunur.

### 3.2.4.2 Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                       | ÖRNEK (ml) | KÖR(ml) |
|-----------------------|------------|---------|
| <b>Hücre Ekstresi</b> | 0,1 ml     | -----   |
| <b>Tris Tamponu</b>   | -----      | 0,1 ml  |
| <b>C Reaktif</b>      | 1 ml       | 1 ml    |
| <b>D Reaktif</b>      | 0,1 ml     | 0,1 ml  |

Örnek ve kör tüplerine C reaktifi konup 10 dk oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra karanlıkta karışımın homojen olarak karışması sağlanarak D reaktif eklendi. Tüpler oda ısısı ve karanlıkta 30 dk inkübe edildi. Bu süre sonunda absorbanslar 660 nm dalga boyunda spektrofotometrede köre karşı okundu.

### 3.2.4.3 Hesaplama

Total protein miktarını belirlemek için Sığır Serum Albumini (BSA) Standart Grafik kullanılarak okunan absorbanslara denk düşen protein miktarı hesaplanmıştır.

### 3.2.5 Süperoksit dismutaz (SOD) Tayini

Süperoksit dismutaz enzimi gösterilmesi için Marklund ve Marklund (1974)'un yöntemi kullanıldı. Deneyin prensibi pyrogallolün otooksidasyonunun SOD enzimi tarafından inhibe edilmesi esasına dayanır.

#### 3.2.5.1 Kullanılan Çözeltiler

0,05 M Tris Tamponu (pH 8,5)

20 mM Pyrogallol

#### 3.2.5.2 Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                       | ÖRNEK(ml) | KÖR(ml) |
|-----------------------|-----------|---------|
| <b>Hücre Ekstresi</b> | 0,05 ml   | -----   |
| <b>Tris Tamponu</b>   | 1,4 ml    | 1,45 ml |
| <b>Pyrogallol</b>     | 0,05 ml   | 0,05 ml |

Örnek ve kör tüplerindeki absorbans değişimi çözeltiler konduktan sonra 3 dk boyunca 30 sn aralıklarla 420 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

#### 3.2.5.3 Hesaplama

Körün absorbans değişimi:  $\Delta A$

Örneğin absorbans değişimi:  $\Delta B$

$$\Delta A = \frac{A_{\text{son}} - A_{\text{ilk}}}{T_{\text{son}} - T_{\text{ilk}}} \quad \Delta B = \frac{B_{\text{son}} - B_{\text{ilk}}}{T_{\text{son}} - T_{\text{ilk}}}$$

$$\text{SOD'un \%50 inhibisyon miktarı} = \frac{(\Delta A - \Delta B) \times 100}{\Delta A \times 50}$$

### 3.2.6 Katalaz Tayini

Katalaz gösterilmesi için Sinha (1972)'nin yöntemi kullanıldı. Katalaz enzimi hücre için çok zararlı olan hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) su ve moleküler oksijene dönüştürür. Deney prensibi  $H_2O_2$ 'nin dikromat/asetik asit belirteci ile oluşturduğu koyu mavi-mor çökeltinin kaynatılarak açık yeşil renge dönüştürülmesi esasına dayanır. Bu açık yeşil renk 570 nm dalga boyunda absorbans verir.

#### 3.2.6.1 Kullanılan Çözeltiler

0,01 M Sodyum Fosfat Tamponu (pH 7)

2 M  $H_2O_2$

Dikromat/asetik asit belirteci: 5 gr potasyum dikromat 100 ml ultra saf suda çözülür. Bu karışıma yavaşça 300 ml glasiyal asetik asit eklenir.

#### 3.2.6.2 Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                                       | ÖRNEK(ml) | KÖR(ml) |
|---------------------------------------|-----------|---------|
| <b>Hücre Ekstresi</b>                 | 0,1 ml    | -----   |
| <b>Tris Tamponu</b>                   | -----     | 0,1 ml  |
| <b>Sodyum Fosfat Tamponu</b>          | 0,5 ml    | 0,5 ml  |
| <b><math>H_2O_2</math></b>            | 0,4 ml    | 0,4 ml  |
| <b>Dikromat/Asetik Asit Belirteci</b> | 0,2 ml    | 0,2 ml  |

Örnek ve kör tüplerine sodyum fosfat tamponu,  $H_2O_2$  ve hücre süspansiyonu konduktan sonra tüpler hafifçe çalkalandı. Daha sonra dikromat/asetik asit belirteci eklenir ve tüpler 10 dk kyanayan su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler soğutulularak 570 nm dalga boyunda köre karşı okundu.

### 3.2.6.3 Hesaplama

$$\text{Tüketilen } H_2O_2 = \frac{A_{\text{örnek}} \times df \times V_{\text{toplam}}}{\epsilon_{mM} \times LP \times V_{\text{örnek}}}$$

$H_2O_2$  için molar ekstinksiyon katsayısı:  $1.88 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$V_{\text{toplam}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{örnek}}$ : Kullanılan örnek hacmi

$A_{\text{örnek}}$ : Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı

LP: Işık yolu

### 3.2.7 Glutasyon Peroksidaz (GP<sub>x</sub>) Tayini

Glutasyon peroksidaz gösterilmesi için Hafeman ve diğerlerinin (1974) yöntemi kullanıldı. Bu deney prensibi GP<sub>x</sub> enzimi tarafından tüketilen glutasyonun 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) belirteci ile 412 nm dalga boyunda ölçülebilir bir bileşik oluşturma esasına dayanır.

#### 3.2.7.1 Kullanılan Çözeltiler

0,4 M Sodyum Fosfat Tamponu (pH 7) (0,4 mM EDTA içerir)

2 mM Redükte glutasyon

10 mM Sodyum azid

1,25 mM  $H_2O_2$

DTNB belirteci: 40 mg DTNB 100 ml % 1 sodyum sitrat içinde çözülür. Bu belirteç ışıktan korunur.

% 10 Trikloraasetik asit (TCA): 0.25 N HCl içinde hazırlanır.

0,4 M Sodyum fosfat solüsyonu ( $Na_2HPO_4$ )

### 3.2.7.2 Uygulama

Örnek ve kör tüpleri aşağıdaki gibi hazırlandı.

|                              | ÖRNEK(ml) | KÖR(ml) |
|------------------------------|-----------|---------|
| <b>Hücre Ekstresi</b>        | 0,15 ml   | -----   |
| <b>Tris Tamponu</b>          | -----     | 0,15 ml |
| <b>Sodyum Fosfat Tamponu</b> | 0,5 ml    | 0,5 ml  |
| <b>Redükte glutatyon</b>     | 0,5 ml    | 0,5 ml  |
| <b>Sodyum azid</b>           | 0,25 ml   | 0,25 ml |
| <b>Ultra saf su</b>          | 0,6 ml    | 0,6 ml  |

Örnek ve kör tüplerine deney karışımı konduktan sonra tüpler 5 dk 37°C'de inkübe edildi. Daha sonra 0,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklendi ve 3 dk 37°C' de inkübe edildi. Bunun ardından 1 ml TCA eklenerek 1500 g'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatanttan 0,2 ml alındı ve buna 0,2 ml Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> solüsyonu ve 0,1 ml DTNB eklenerek köre karşı okundu.

### 3.2.7.3 Hesaplama

$$\text{Tüketilen glutatyon} = \frac{A_{\text{örnek}} \times df \times V_{\text{toplam}}}{\epsilon_{mM} \times LP \times V_{\text{örnek}}}$$

DTNB için molar ekstinksiyon katsayısı:  $\epsilon_{mM}=13600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$V_{\text{toplam}}$ : Toplam hacim

$V_{\text{örnek}}$ : Kullanılan örnek hacmi

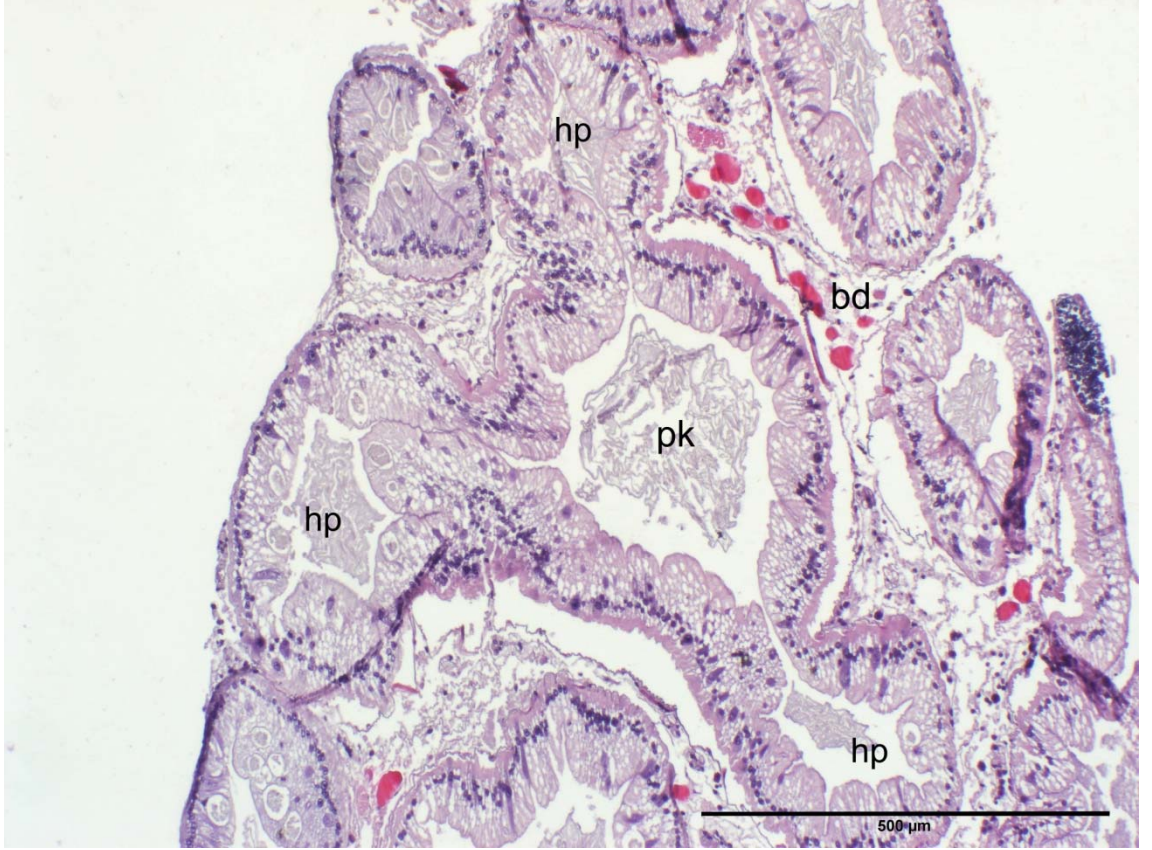
$A_{\text{örnek}}$ : Örnek absorbansı

df: Sulandırma katsayısı

## 4. BULGULAR

### 4.1 HİSTOLOJİK BULGULAR

*Maja squinado*'nun iki loba sahip hepatopankreası kahverengi-sarımsı büyük bir organdır. Hepatopankreas, ön bağırsağın pilorik bölümü ile orta bağırsağın birleşiminde başlayan sefalatoraksın arka bölümün geniş bir kısmına yerleşir. Hepatopankreasın sağ ve solda bulunan iki lobu birbirine çok yakındır ve bu loblar ince bir bağ doku ile birbirlerine bağlıdır. Sağ ve sol loblar primer kanallara bağlıdır. Primer kanallar dallanarak sekonder kanalları verir ve sekonder kanallarda birçok hepatopankreatik tübüllere dallanır. Hepatopankreatik tübüllerin sekonder kanala yakın ucuna proksimal, uzak ucuna distal, proksimal ve distal bölümleri arasına mediyal bölüm denir. Hepatopankreatik tübüllerin etrafında miyoepitel hücreler bulunur. Hepatopankreatik tübüllerin etrafında bulunan zemin bağ dokusu karbonhidratları boyayan PAS boyası ve proteinleri boyayan Brf B boyası ile pozitif reaksiyon vermektedir (Şekil4.1.1). *Maja squinado*'nun hepatopankreatik tübülleri yalancı çok katlı epitelden oluşur ve tübüllerde E (Embriyonik), F (Fibrillar), R (Geri emilim), B (Vezikül) ve M (Mini) hücreler olmak üzere beş tip hücre bulunur.

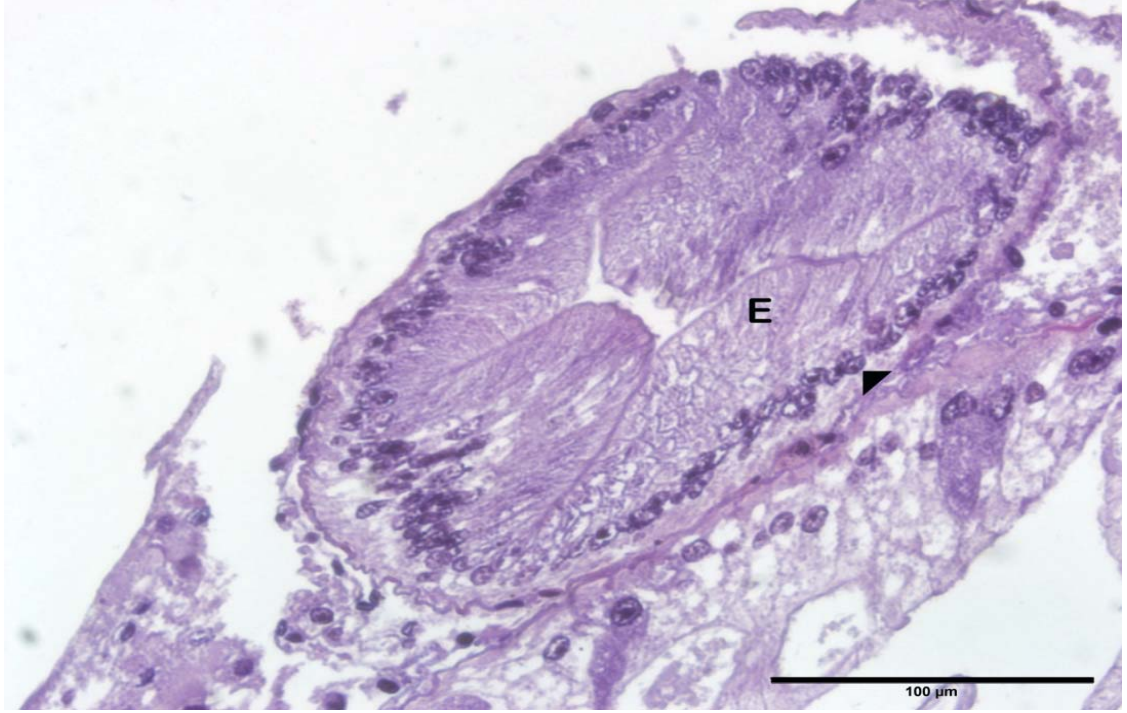


**Şekil 4.1.1:** Hepatopankreasın genel görünümü. Primer kanal (**pk**), hepatopankreatik tübüller (**hp**), bağ doku (**bd**). Boya: H+E.

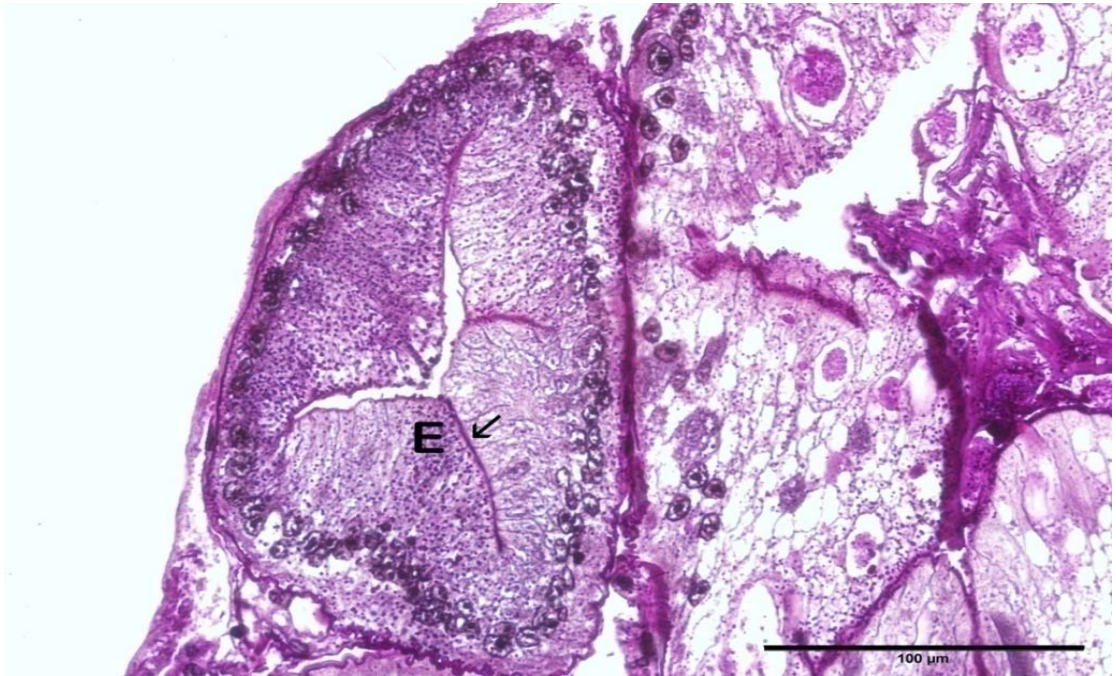
#### 4.1.1 E (Embriyonik) Hücreleri

E hücreleri kapalı uçlu hepatopankreatik tübüllerin distal bölümlerinin en uç noktasında bulunur. E hücreleri silindirik şekillidir ve bazale yakın konumlanmış yuvarlak nukleusa sahiptir. Bazofilik sitoplazması olan E hücreleri bazofilik özelliklerinden dolayı H+E boyamasında hematoksilin ile boyanarak tübüllerde koyu gözlenir (Şekil4.1.1.1). E hücreleri lipit granülleri içermezler, PAS ile negatif reaksiyon verirler (Şekil 4.1.1.2). Asit mukopolisakkarit içerikli fırça kenarların varlığı PAS, Brf B ve AB boyama ile gösterilmiştir (Şekil 4.1.1.2, Şekil 4.1.1.3 ve Şekil 4.1.1.4).



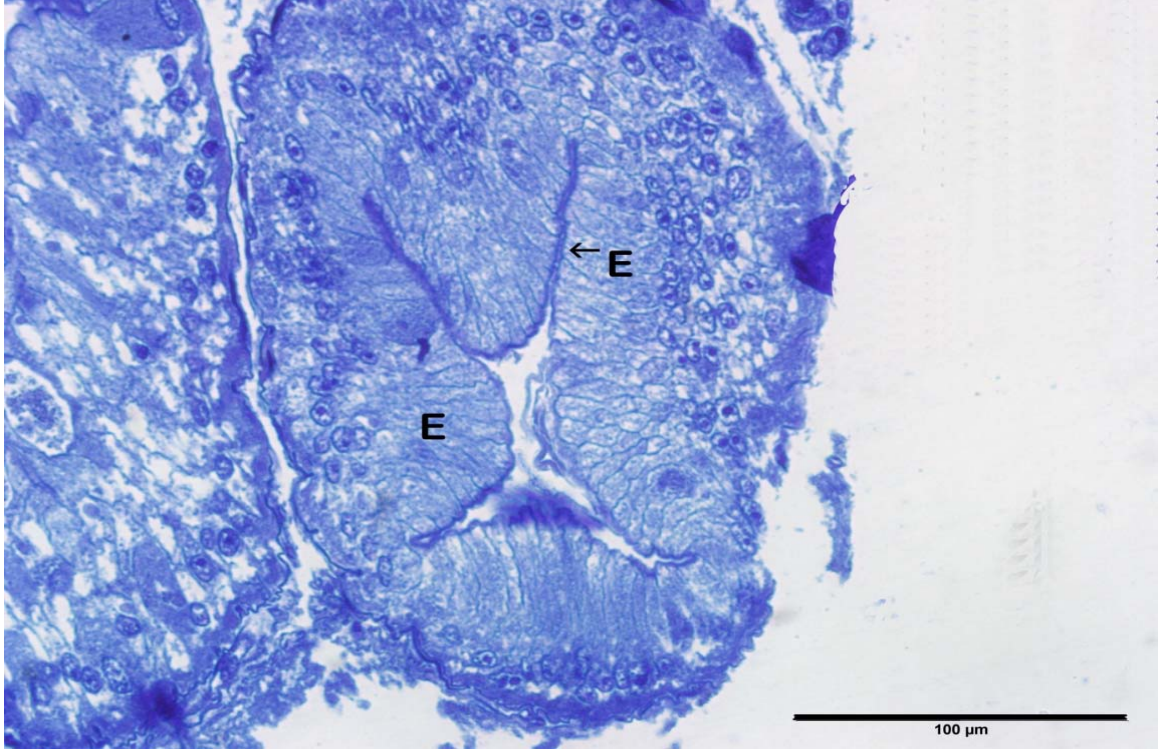


Şekil 4.1.1.1: Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü. E hücreleri (E), nukleus (▼). Boya: H+E.

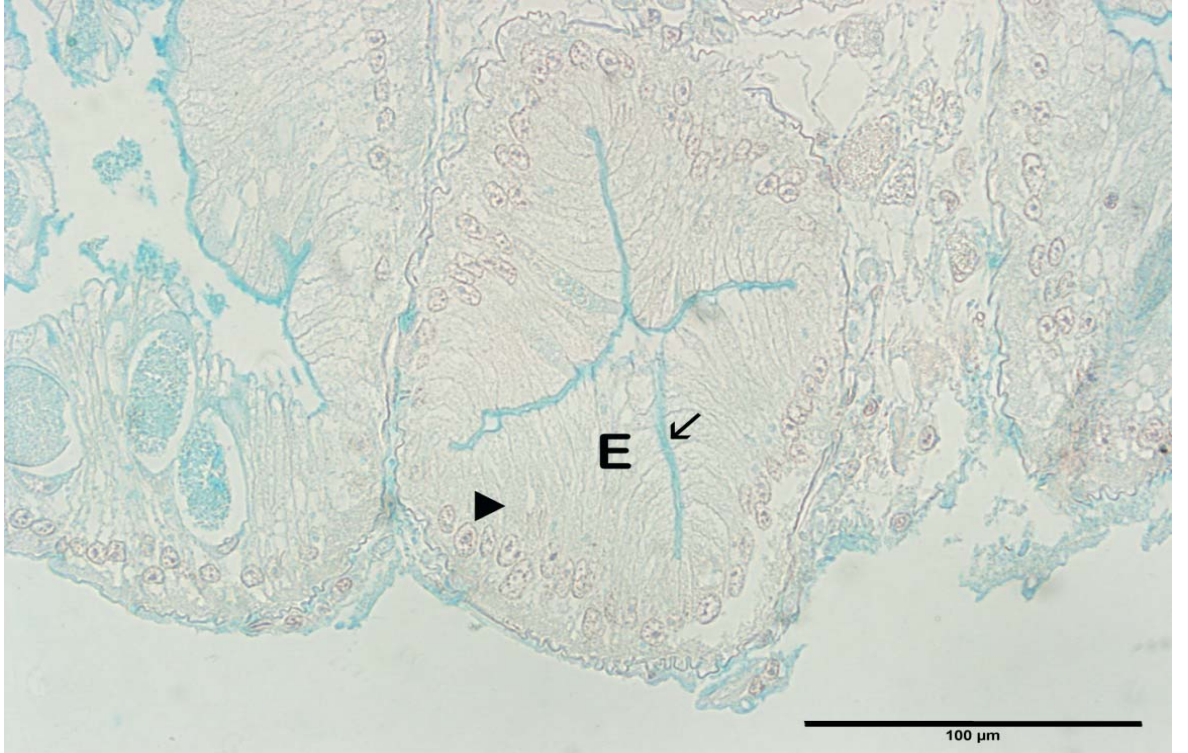


Şekil 4.1.1.2: Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü: E hücreleri (E), Fırça kenar (↙). Boya: PAS.





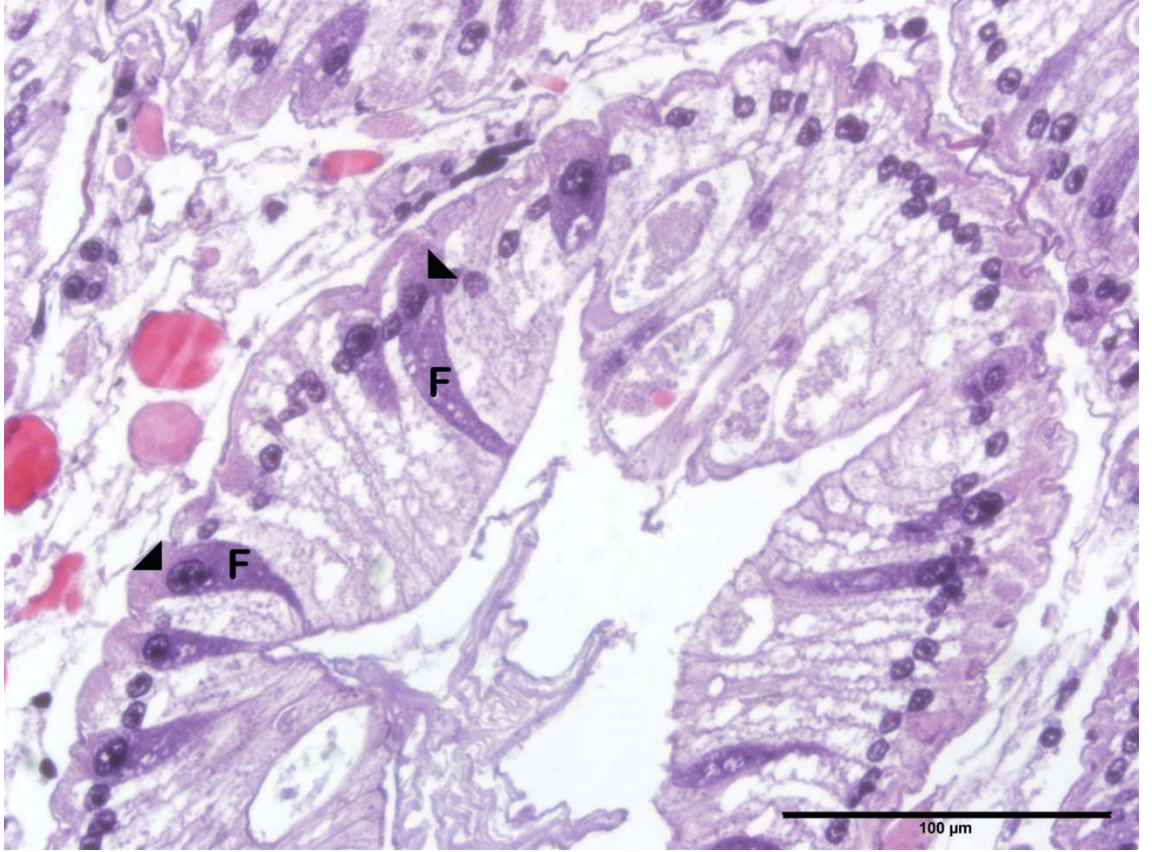
Şekil 4.1.1.3: Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü. E hücreleri (E), fırça kenar (←). Boya: Brf B.



Şekil 4.1.1.4: Hepatopankreatik tübüllerde E hücrelerinin görünümü. E hücreleri (E), fırça kenar (↙), nukleus (▼). Boya: AB.

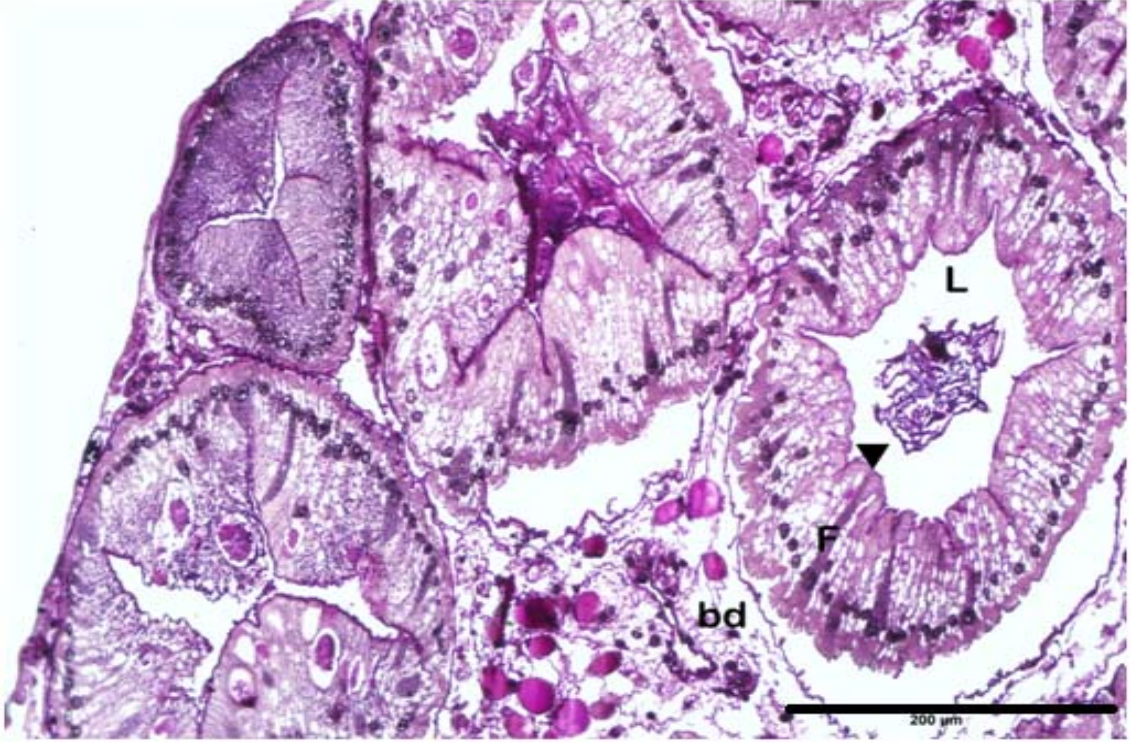
#### 4.1.2 F (Fibrillar) Hücreleri

F hücreleri tübül boyunca bulunmakla beraber daha çok tübülün mediyal ve distal bölümünde bulunur. F hücreleri tübül epitelinde silindirik ya da üçgenimsi şekli ve oldukça bazofilik sitoplazması ile kolayca ayırt edilir (Şekil 4.1.2.1). F hücreleri bazal konumlu yuvarlak belirgin bir nukleusa sahiptir. F hücreleri salgılayıcı hücreler olup, protein boyası olan Brf B ile kuvvetli pozitif reaksiyon verirler (Şekil 4.1.2.3). Ayrıca bu hücreler tübüldeki diğer hücreler gibi fırça kenara sahiptirler (Şekil 4.1.2.2).

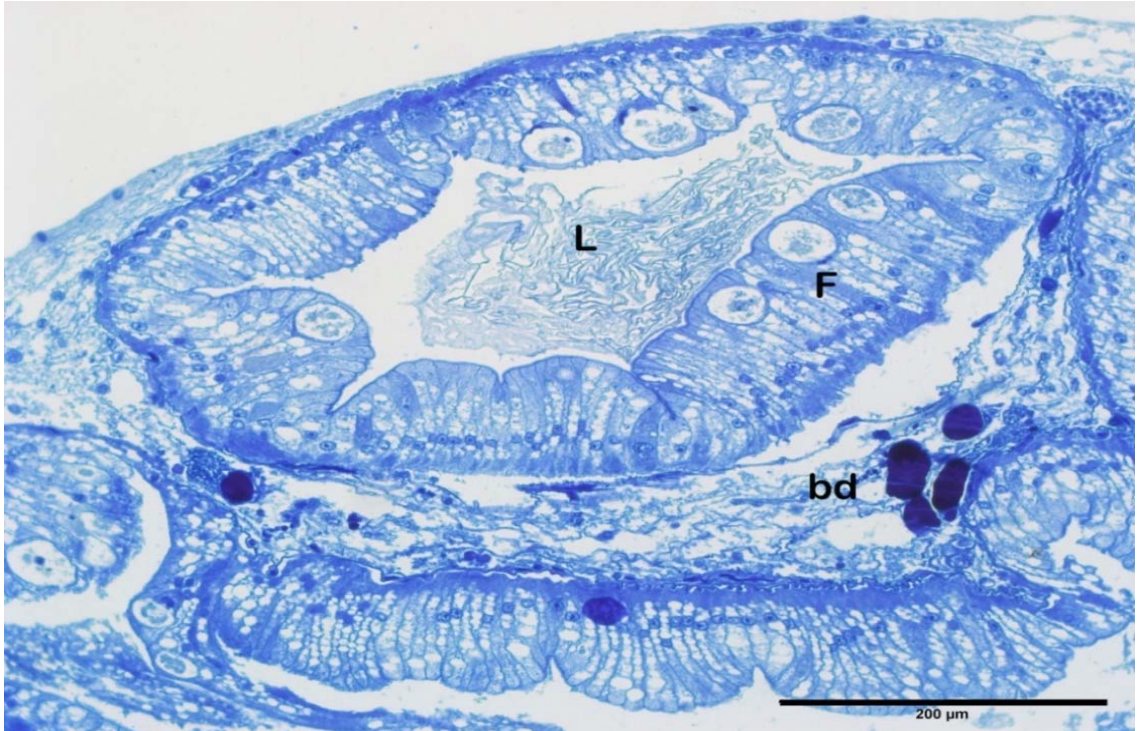


Şekil 4.1.2.1:Hepatopancreatik tübüllerde F hücrelerinin görünümü. F hücreleri (F), nukleus (▼). Boya: H+E.





Şekil 4.1.2.2: Hepatopankreatik tübüllerdeki F hücrelerinin görünümü. F hücreleri (F), lümen (L), bağ dokusu (bd), firça kenar (▼). Boya: PAS.

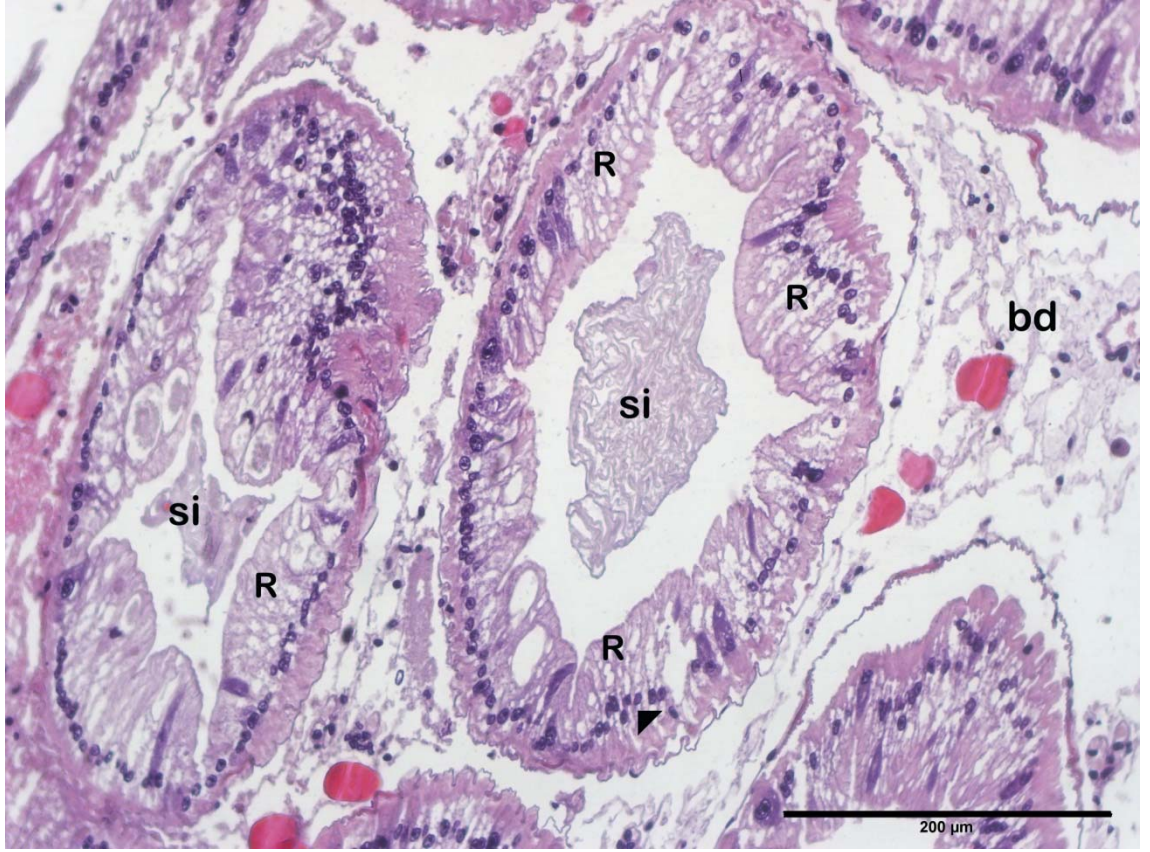


Şekil 4.1.2.3: Hepatopankreatik tübüllerdeki F hücrelerinin görünümü. F hücreleri (F), lümen (L), bağ dokusu (bd). Boya: Brf B.



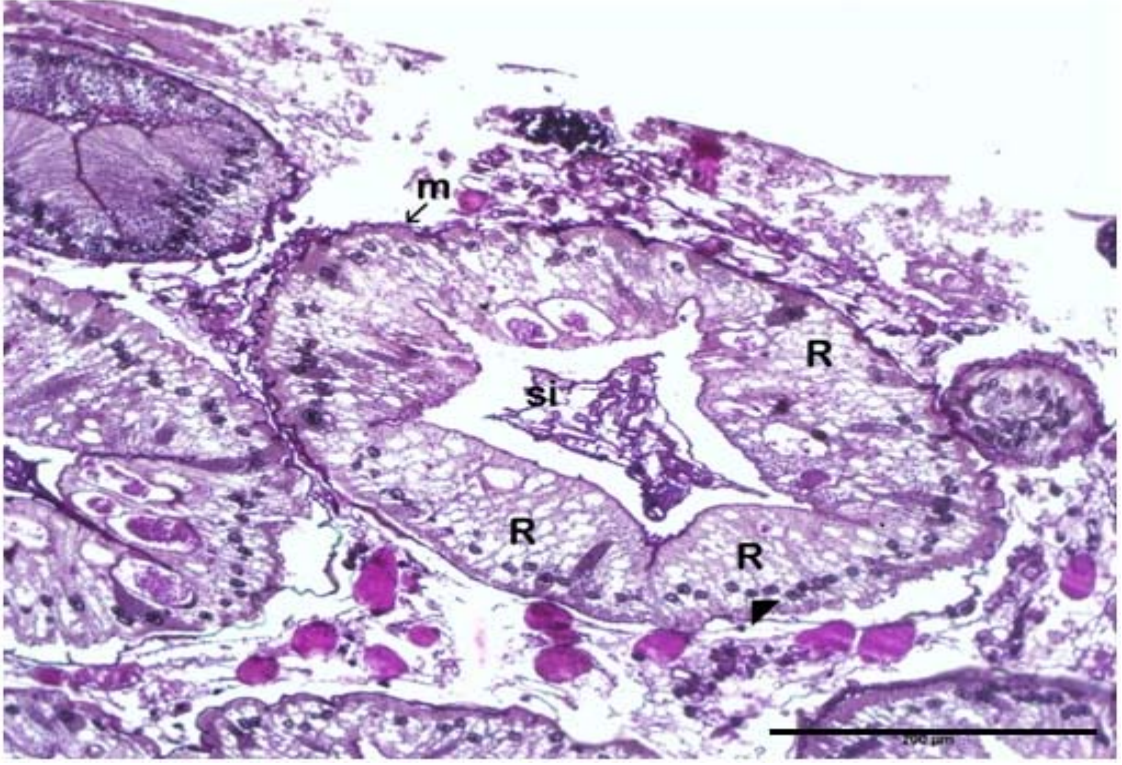
### 4.1.3 R (Geri Emilim) Hücreleri

R hücreleri hepatopankreatik tübüllerin mediyal ve proksimal bölümün çoğunu oluşturur ve hepatopankreatik tübüllerde en çok bulunan hücre tipidir. Silindirik yapıda olan R hücrelerinin yuvarlak şekilli nukleusları hücrenin bazalinde yer alır (Şekil 4.1.3.1). R hücreleri karakteristik subapikal vakuollere sahiptir ve bu vakuoller karbonhidratları boyayan PAS ve proteinleri boyayan Brf B boyama ile negatif reaksiyon verir (Şekil 4.1.3.2 ve Şekil 4.1.3.3). R hücrelerinin sadece fırça kenarları PAS ve AB ile reaksiyon verir (Şekil 4.1.3.2 ve Şekil 4.1.3.4). AB boyası ile boyanan R hücrelerinde az sayıda asit mukopolisakkarit içeriğine sahip vakuoller gözlemlendi (Şekil 4.1.3.4).

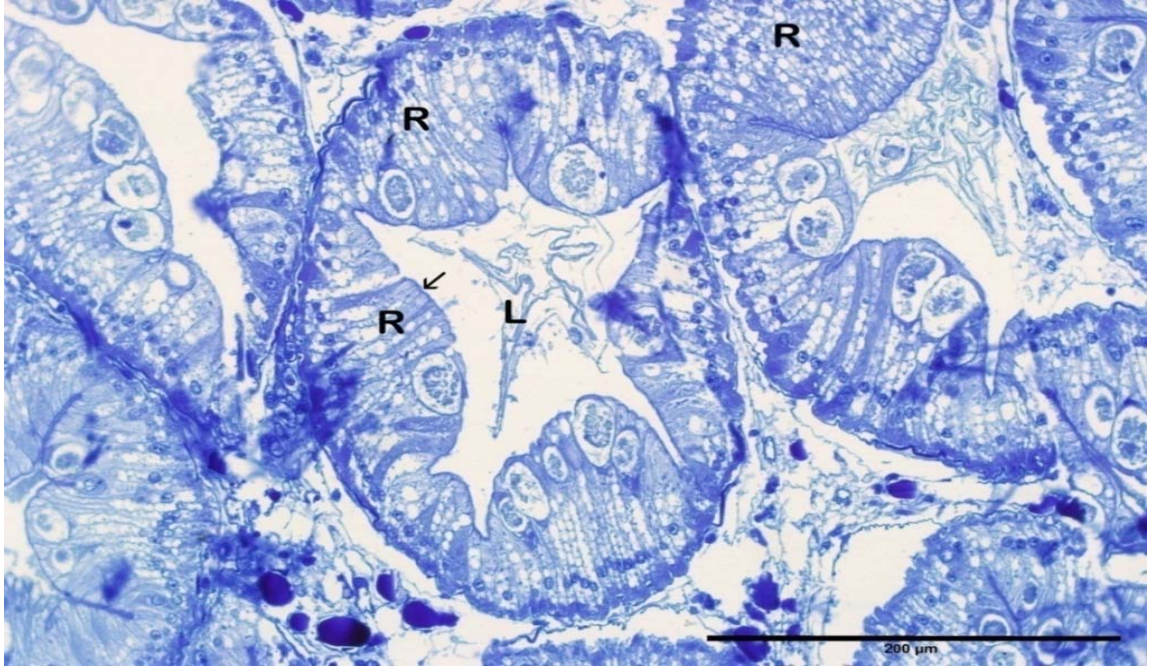


**Şekil 4.1.3.1:** Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri (**R**), bağ dokusu (**bd**), sindirim içeriği (**si**), nukleus (▼). Boya: H+E.

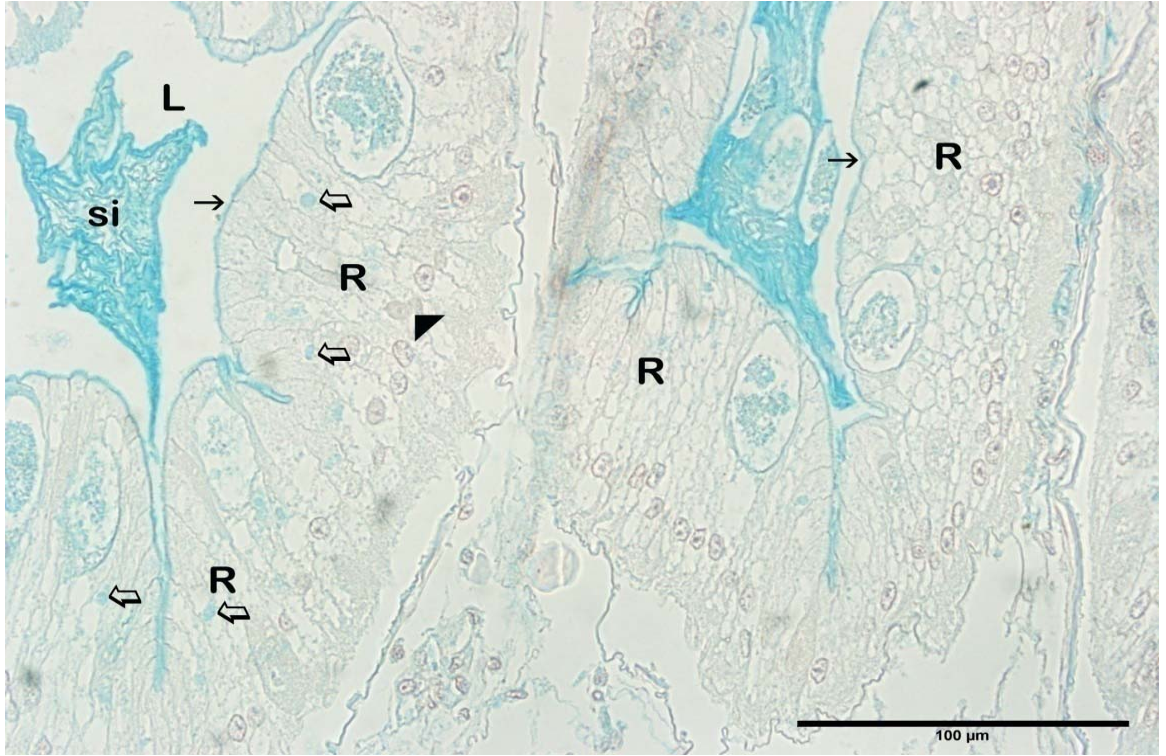




Şekil 4.1.3.2: Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri (R), sindirim içeriği (si), miyoepitel hücre (m), nukleus (▼). Boya: PAS.



Şekil 4.1.3.3: Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri (R), lümen (L), fırça kenar (✓). Boya: Brf B.

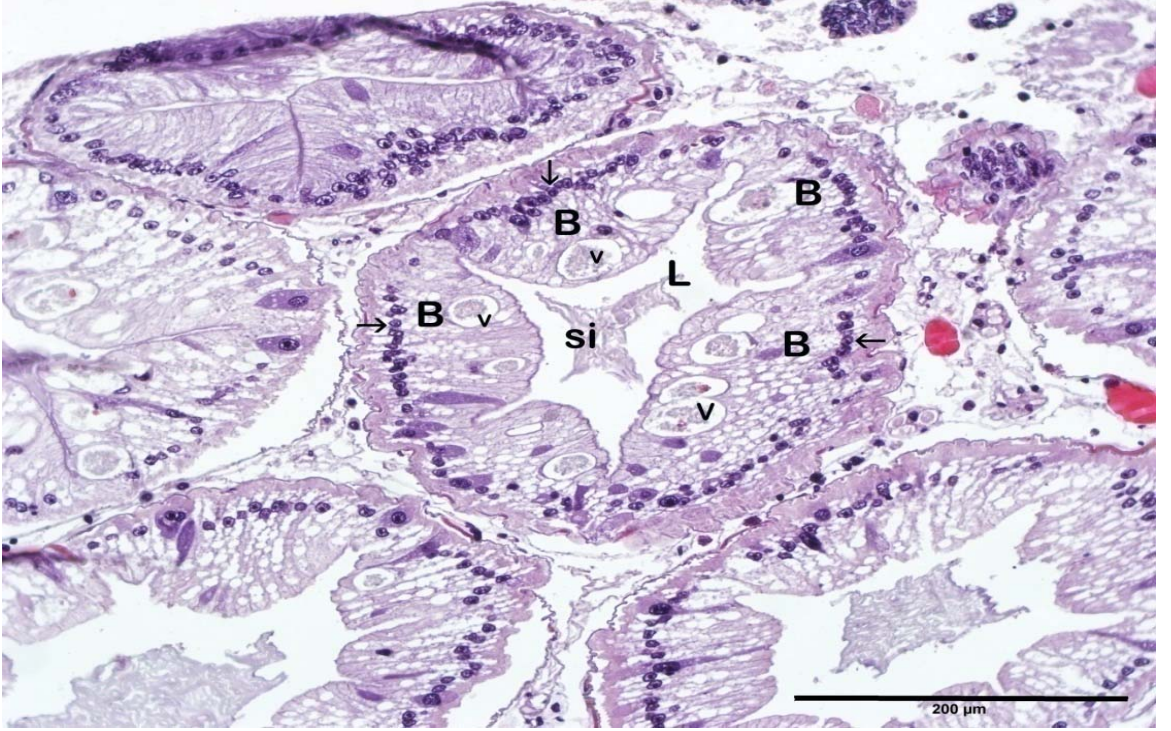


**Şekil 4.1.3.4:** Hepatopankreatik tübüllerdeki R hücrelerinin görünümü. R hücreleri(**R**), lümen (**L**), sindirim içeriği (**si**), fırça kenar (**→**), nukleus (**▼**), vakuol (**↔**). Boya: AB.

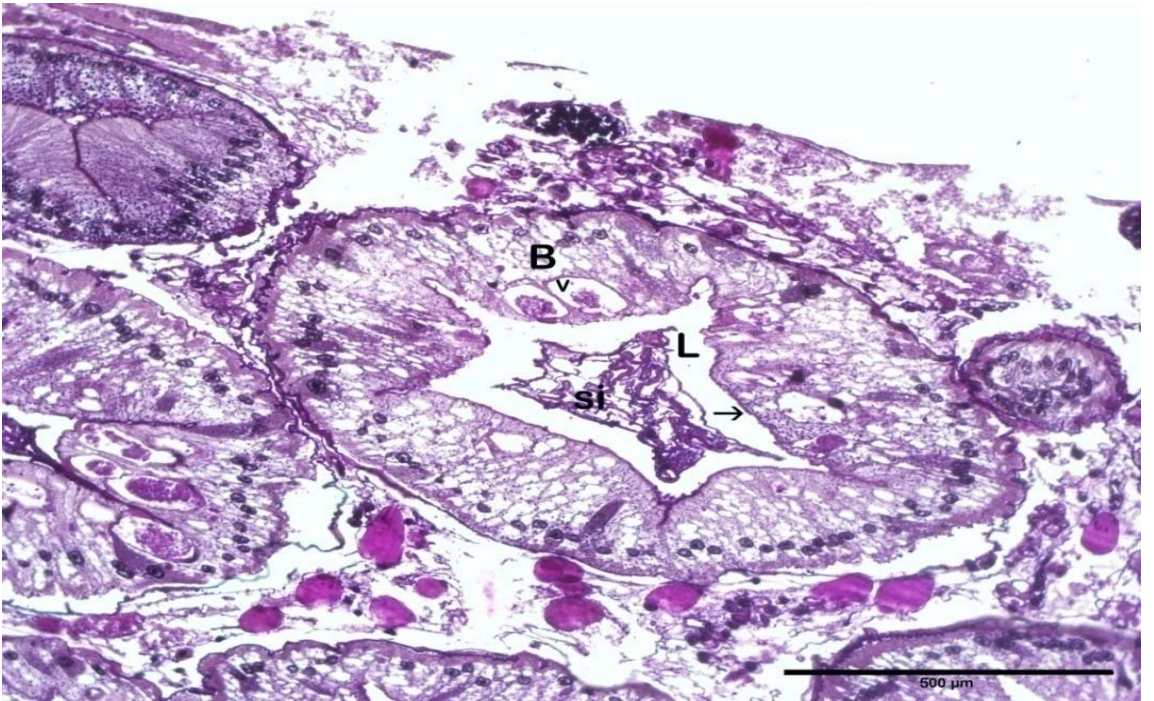
#### 4.1.4 B (Vezikül) Hücreleri

B hücreleri mediyal ve proksimal bölümde bulunurlar ve hepatopankreatik tübüllerdeki en büyük hücre tipidir. B hücreleri bazalde konumlanmış yuvarlak nukleusları ile silindirik hücrelerdir (Şekil4.1.4.1). B hücrelerini tübüldeki diğer hücrelerden ayıran en belirgin özelliği hücrenin apikalinde oldukça büyük bir sindirim vakuolü bulunmasıdır. B hücrelerinin apikalinde bulunan bu sindirim vakuolü PAS ile pozitif reaksiyon verir (Şekil 4.1.4.2). Masson'un üçlü boyasında Fast Green ile, protein boyası olan Brf B ile ve asit mukopolisakkaritleri boyayan AB boyası ile boyanmaktadır (Şekil 4.1.4.3, Şekil4.1.4.4 ve Şekil 4.1.4.5). B hücreleri ayrıca tübüldeki diğer hücreler gibi fırça kenara sahiptir (Şekil 4.1.4.2 ve Şekil 4.1.4.5).



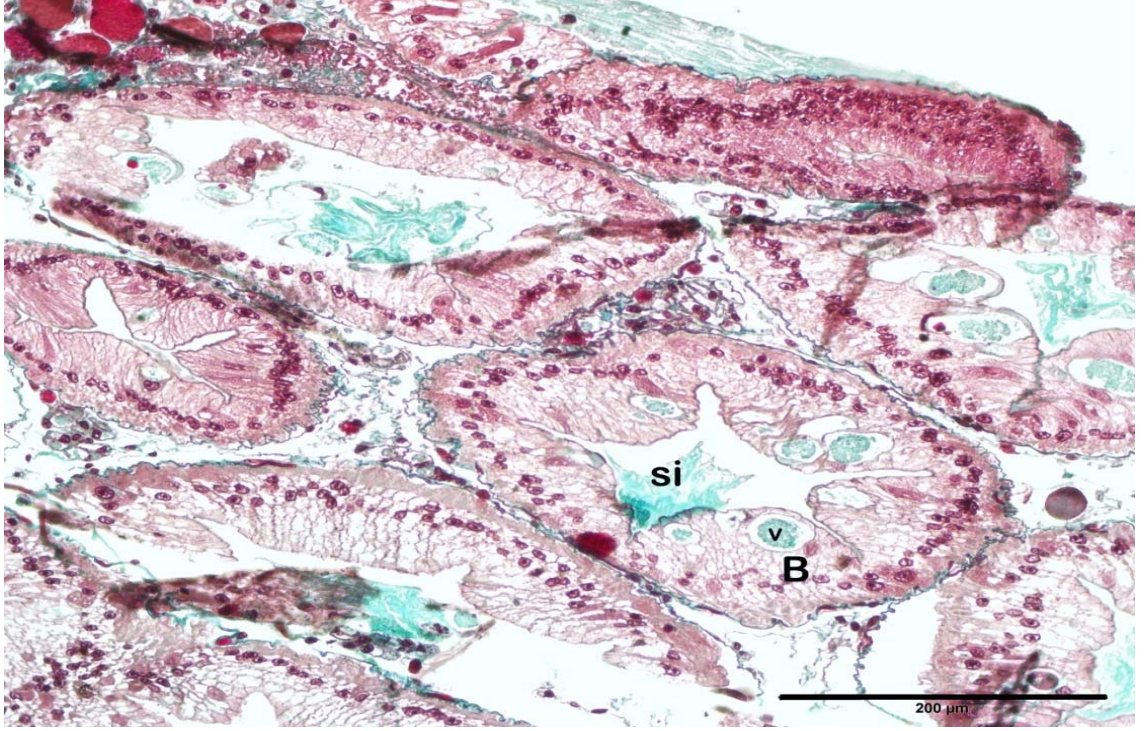


Şekil 4.1.4.1: Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), lümen (L), sindirim içeriği (si), vakuol (v), nukleus(←). Boya: H+E.

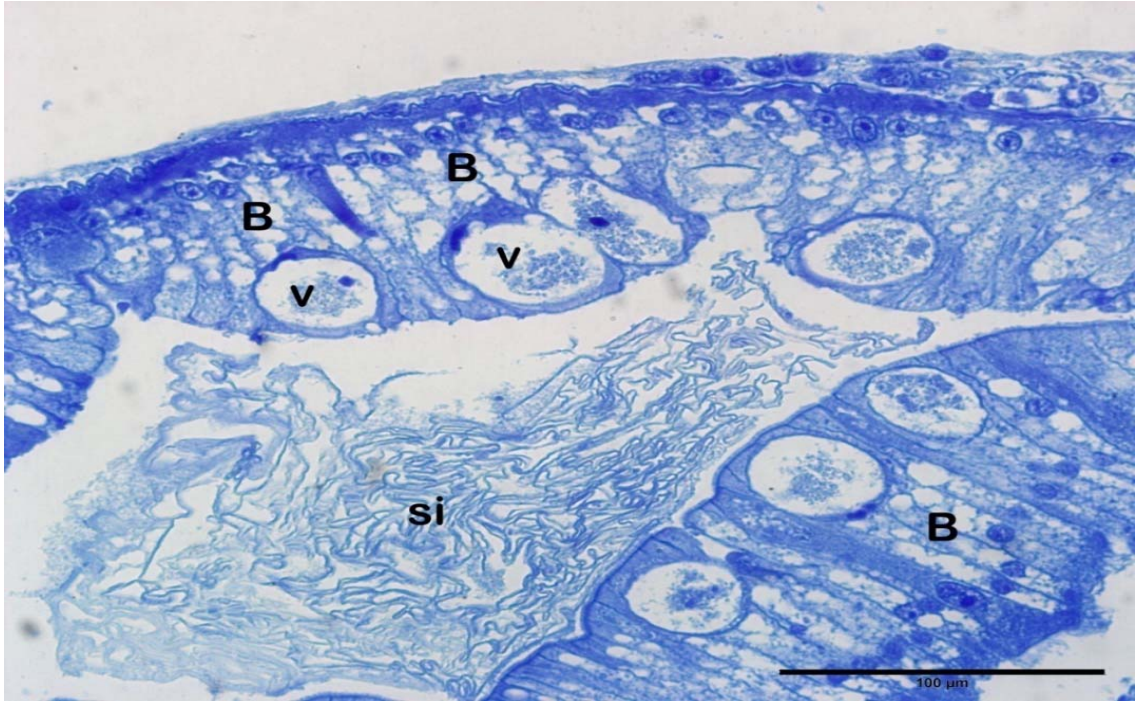


Şekil 4.1.4.2: Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), lümen (L), fırça kenar (→), vakuol (v). Boya: PAS.

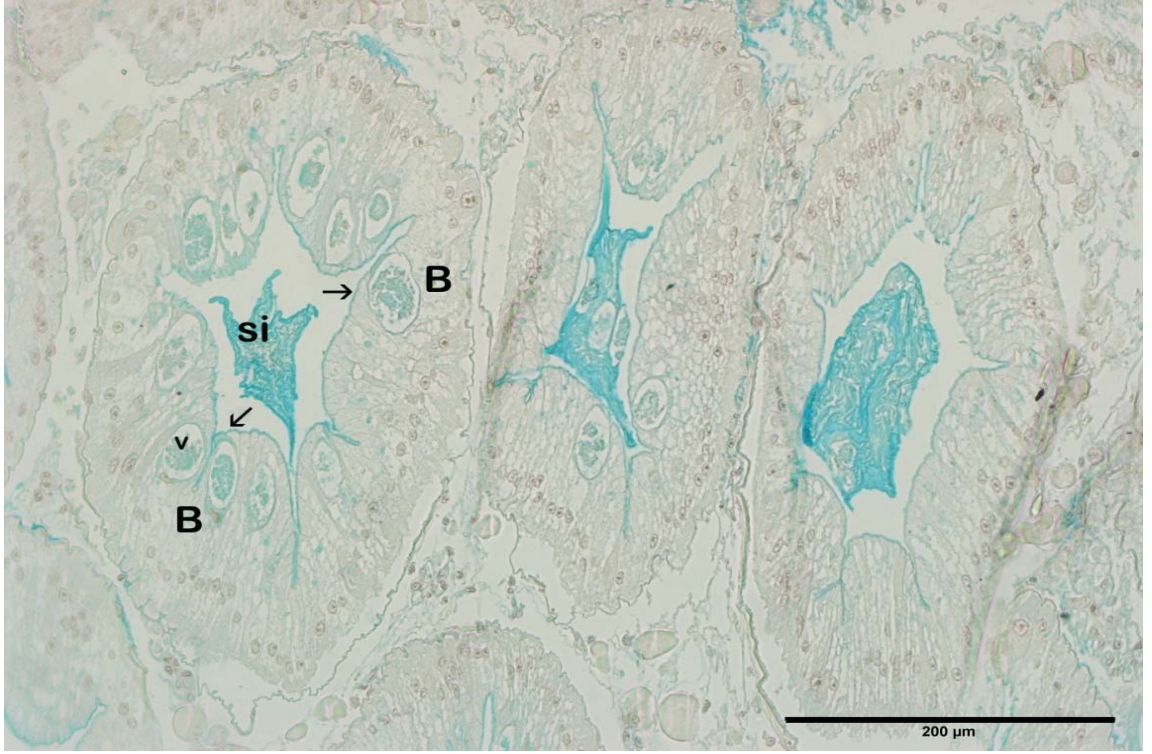




Şekil 4.1.4.3: Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), sindirim içeriği (si), vakuol (v). Boya: Masson'un üçlü boyası.



Şekil 4.1.4.4: Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (B), sindirim içeriği (si), vakuol (v). Boya: Brf B.

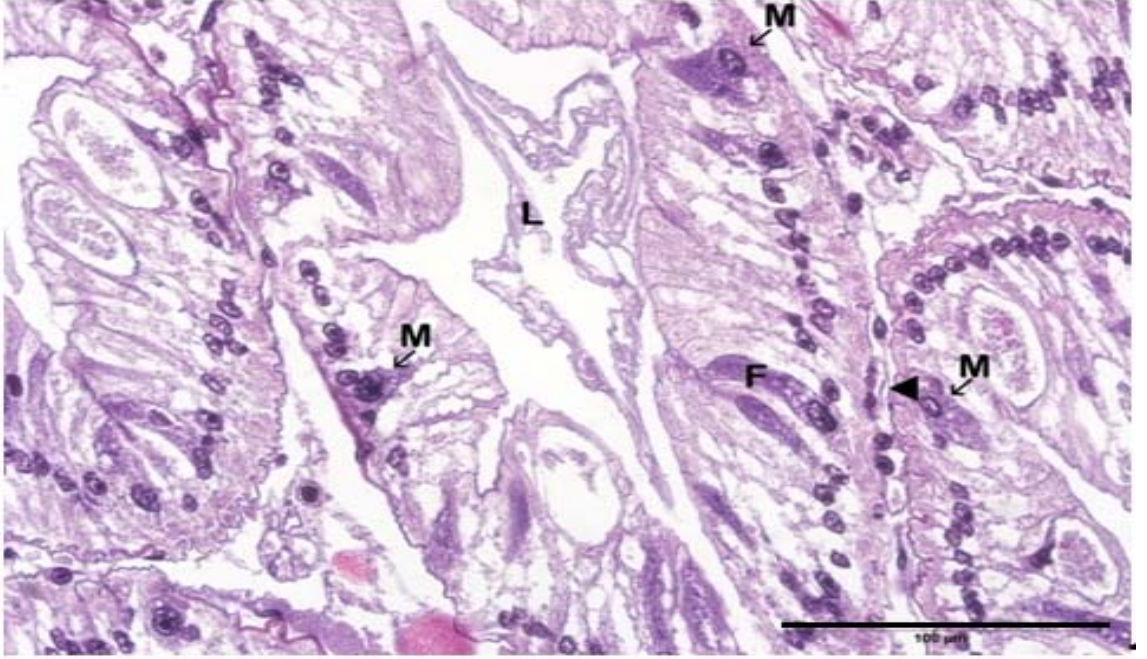


**Şekil 4.1.4.5:** Hepatopankreatik tübüllerdeki B hücrelerinin görünümü. B hücreleri (**B**), sindirim içeriği (**si**), fırça kenar (**←**), vakuol (**v**). Boya: AB.

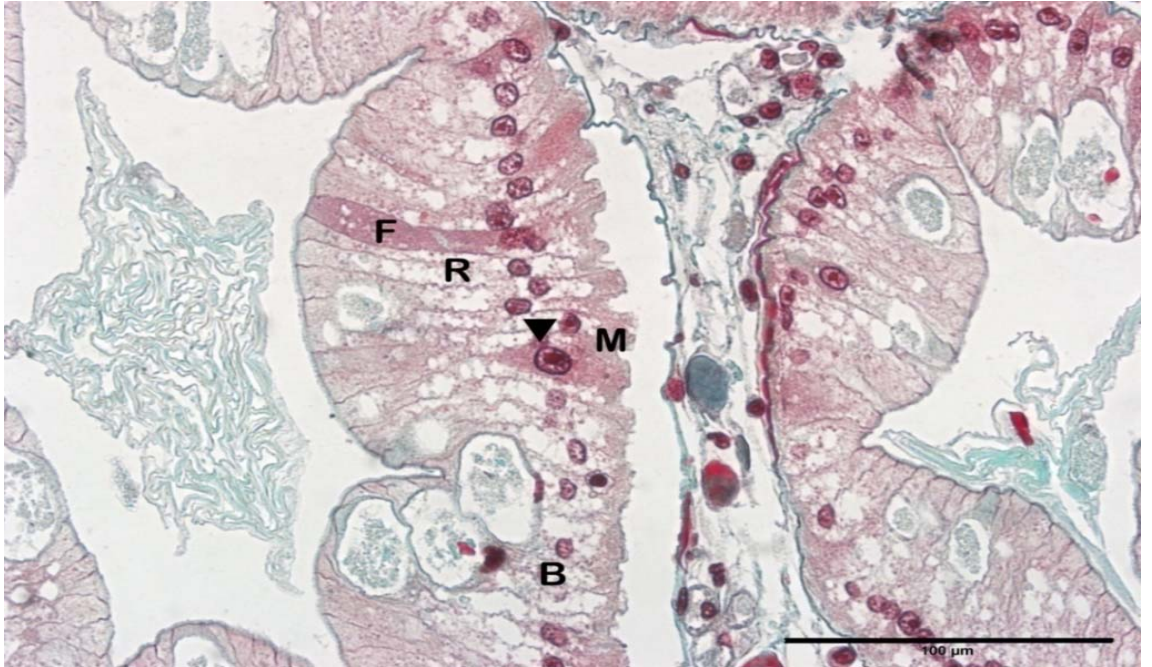
#### 4.1.5 M (Mini) Hücreleri

M hücreleri hepatopankreatik tübüllerin proksimal ve mediyal bölümlerinde bulunur ve en az bulunan hücre tipidir. M hücrelerinin apikal yüzeyleri lümene erişmezler. Hepatopankreatik tübülde tek fırça kenara sahip olmayan hücrelerdir. M hücreleri üçgenimsi bir yapıya sahiptir ve nukleusları yuvarlak ve merkezde bulunur (Şekil4.1.5.1, Şekil 4.1.5.2 ve Şekil 4.1.5.3) M hücreleri bazofillik sitoplazmaya sahip olduklarından dolayı H+E boyası ile boyandığında tübüllerde koyu gözlenir (Şekil4.1.5.1).

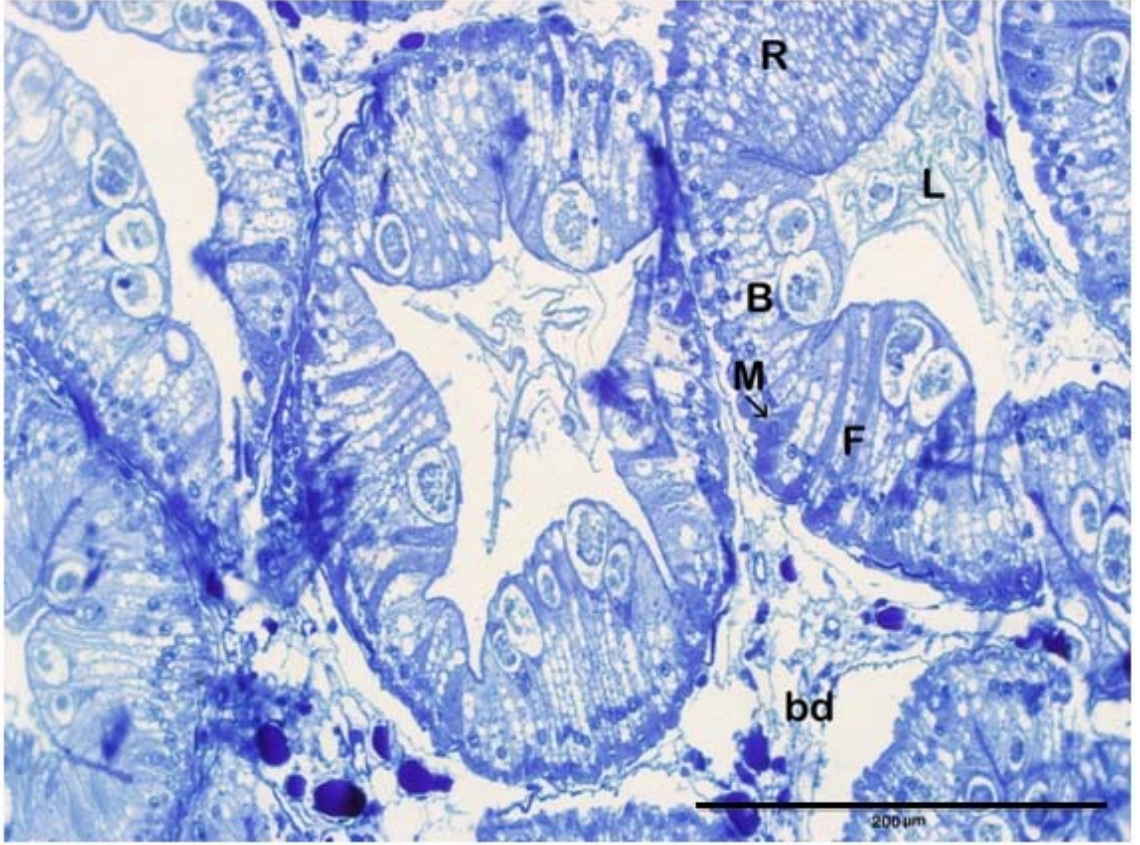




Şekil 4.1.5.1: Hepatopankreatik tübüllerde M hücrelerinin görünümü. M hücreleri (M), F hücreleri (F), lümen (L), nukleus (▼). Boya: H+E.



Şekil 4.1.5.2: Hepatopankreatik tübüllerde M hücrelerinin görünümü. M hücreleri (M), F hücreleri (F), R hücreleri (R), B hücreleri (B), nukleus (▼). Boya: Masson'un üçlü boyası.



**Şekil 4.1.5.3:**Hepatopankreatik tübüllerde M hücrelerinin görünümü. M hücreleri (**M**), F hücreleri (**F**), R hücreleri (**R**), B hücreleri (**B**), lümen (**L**), bağ doku (**bd**). Boya: Brf B.

#### 4.2 BİYOKİMYASAL BULGULAR

*Maja squinado*'nun hepatopankreasında oluşan lipit peroksidasyon miktarı, reaktif oksijen türlerinden hidroksil radikali ve hidrojen peroksit miktarı ile hepatopankreasta bulunan antioksidan enzimlerden Katalaz, SOD ve GP<sub>x</sub> enzimlerinin miktarları Tablo 4.2.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.2.1:** *Maja squinado*'nun hepatopankreasındaki total protein, lipit peroksidasyonu ve çeşitli enzimler

|                         | <i>Maja squinado</i> 'nun hepatopankreası  |
|-------------------------|--|
| Total Protein Miktarı   | 344,19 ± mg protein/ml   |
| Lipit Peroksidasyonu    | 0,0678 ± 0,0031 nmol/mg protein  |
| Reaktif Oksijen Türleri |  |
| Hidroksil Radikali      | 63,8293. 10 <sup>-5</sup> ± 8,37017. 10 <sup>-5</sup> µmol/mg protein  |
| Hidrojen Peroksit       | 0,0333 ± 0,0041 µmol/mg protein  |
| ENZİMLER                |  |
| Katalaz                 | 23,9362. 10 <sup>-8</sup> ± 7,44542. 10 <sup>-8</sup> Tüketilen H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> mM/ mg protein |
| Superoksit dismutaz     | 0,0016 ± 0,0003 Ünite/ mg protein  |
| Glutasyon peroksidaz    | 10,2194. 10 <sup>-7</sup> ± 1,11146. 10 <sup>-7</sup> Tüketilen glutasyon µM/mg protein                      |



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Dekapodlarda hepatopankreas ön bağırsakta başlamış olan besin maddelerinin sindirimini tamamlanmasını, ön bağırsak için sindirim enzimlerinin üretilmesini, besin absorpsiyonunu ve sindirilen ürünlerin kana transferini ya da lipit, glikojen ve metallerin depolanmasını sağlayan bir organdır (Loizzi, 1971; Gibson ve Barker, 1979; Dall ve Moriarty, 1983; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990, 1994). Dekapodlarda hepatopankreasın rengi çeşitlenmiştir, *Metapenareus benette* (Dall, 1967) ve *Scylla serrata* (Barker ve Gibson, 1978) kahverengi-sarımsı, *Homarus gammarus* (Barker ve Gibson, 1977) yeşil-sarımsı, *Palarmon malcolmsoni* (Patwardhan, 1937) turuncu-kırmızı olarak kaydedilmiştir. Çoğu dekapod türlerinde hepatopankreas, ön bağırsağın pilorik bölümü ile orta bağırsağın birleşiminde başlayan primer kanal diye adlandırılan sindirim kanalına açılır ve tek tarafı kapalı olarak sonlanır. Primer kanal, hepatopankreatik kanallar diye adlandırılan sekonder ve tersiyer kanallara ayrılır ve bez doku birikimi olan küçük tübüllerle sonlanır (Faktor ve Naar, 1985). Hepatopankreasın farklı türlerde lob sayısı farklı olmasına rağmen, morfolojisi çoğu dekapodlarda benzerdir (Gibson ve Barker, 1979). Dekapodlarda yapılan çalışmalar *Homarus americanus* (Faktor, 1981a) üç lobdan, *Penarus* spp. (Vogt ve diğ., 1985; Lovett ve Felder, 1989) bir lobdan, *Macrobrachium amazonicum* (Franceschini ve diğ., 2009) ve *Astacus astacus* (Vogt, 1994) iki lobdan oluşmaktadır.

Çalışmamızda, *Maja squinado*'nun hepatopankreasının iki loba sahip kahverengi-sarımsı büyük bir organ olduğu görüldü. Bu iki lob birbirine çok yakındır ve dokular arasında bulunan ince bir bağ doku ile ikiye ayrılır. Sağ ve sol loblar primer kanallara bağlıdır. Primer kanallar dallanarak birçok sekonder kanalları verir ve sekonder kanallarda birçok hepatopankreatik tübüllere dallanır. Hepatopankreatik tübüllerin etrafında miyoepitel hücreler bulunur. Hepatopankreatik tübüllerin etrafında bulunan zemin bağ dokusu karbonhidratları boyayan PAS boyama ile pozitif reaksiyon verirken proteinleri gösteren Brf B boyasıyla da boyandı. Bu sonuçlardan hepatopankreatik tübüllerin etrafında bulunan zemin bağ dokusunun glikoprotein yapıda olabileceğini düşünmekteyiz.

Dekapodlarda hepatopankreas tübüllerinin sekonder kanala yakın ucuna proksimal, en uzak ucuna distal; distal ve proksimal bölümlerin arasına mediyal bölüm denir. Dekapod hepatopankreas epitelinde E (Embriyonik), R(Geri emilim), F (Fibrillar) ve B (Vezikül) hücreleri olmak üzere dört tip hücre tanımlanmıştır ( Momin ve Rangneker, 1975a; Gibson ve Barker, 1979; Hopkin ve Nott, 1980; Icely ve Nott, 1992). Bu hücre tiplerinin lokasyonu tübül boyunca çeşitlenmiştir ve hücrelerin hepsi lümeneye erişmektedir. E, B, R ve F hücrelerinden oluşan hepatopankreatik tübüllerin epitel basit silindirik epitel özelliği gösterir (Jacobs ,1928; Momin ve Rangneker, 1975a; Gibson ve Barker, 1979; Hopkin ve Nott, 1980; Icely ve Nott, 1992; Sousa ve diğ., 2005; Soegianto ve diğ., 1999). Bu hücre tiplerine ek olarak aşağı dekapodlarda M (mini) hücreleri tanımlanmıştır (Al Mohanna ve diğ., 1985; Vogt ve diğ., 1985). Bununla beraber *Astacus leptadactylus* (Jacobs, 1928) ve *Spirathelphusa hydrodromus* (Reddy, 1938) dahil olmak üzere yüksek dekapodlarda da tanımlanmıştır. M hücreleri tübüllerde lümeneye ulaşamayan tek hücre olduğu için M hücrelerinin bulunması durumunda epitel yalancı çok katlıdır. *Maja squinado*'nun hepatopankreası ile yaptığımız çalışmada, hepatopankreatik tübüllerde E, R, B ve F hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelerin dışında yüksek dekapod olan *Majasquinado*'nun hepatopankreatik tübüllerinde genelde aşağı dekapodlarda bulunan M hücreleri de bulunmaktadır. *Maja squinado*'nun hepatopankreatik tübüllerinde bulunan bu beş hücre tipi yalancı çok katlı epitel verir.

Dekapodlarda E hücreleri hepatopankreatik tübüllerin distal bölümlerinin sonunda gözlenmiştir (Gibson ve Barker, 1979; Al-Mohanna ve Nott, 1989; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1994; Sousa ve diğ., 2005; Franceschini ve diğ., 2009; Sorgianto ve diğ., 2013). E hücreleri hacimsel çoğunluğunu oluşturan bir nukleusa ve bazofilik sitoplazmaya sahiptir ve fırça kenarları bulunmaktadır (Gibson ve Barker, 1979; Ceccaldi, 1989; Icely ve Nott, 1992; Sousa ve diğ., 2005; Franceschini ve diğ., 2009). Vogt 1994 yılında *Astacus astacus* türü ile yaptığı çalışmada E hücrelerinin fırça kenara sahip olduğunu tespit etmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada, *Maja squinado* hepatopankreasının E hücreleri diğer dekapodlarda olduğu gibi hepatopankreatik tübüllerin distal bölümlerinin sonunda bulunmaktadır. E hücreleri silindirik şekilli ve bazale yakın konumlanmış yuvarlak nukleusa sahiptir. H+E boyamasında hematoksilen ile boyanarak tübüllerde koyu

gözlenmesi, E hücrelerinin bazofilik sitoplazmaya sahip olduğunu göstermektedir. E hücreleri PAS ile negatif reaksiyon vermesi, bize karbonhidrat içermediğini göstermektedir. Vogt'un 1994 yılında yaptığı çalışması dışında şimdiye kadar yapılan çalışmalar E hücrelerinin fırça kenarlara sahip olmadığı yönündeydi. Çalışmamızda, *Maja squinado*'nun hepatopankreasındaki E hücrelerinin PAS ve AB boya ile asit mukopolisakkarit içerikli fırça kenarlarının bulunduğu gösterilmiştir.

F hücreleri, *M. amazonicum*'un hepatopankreatik tübüllerinin uzunluğu boyunca B ve R hücrelerine göre daha az bulunmaktadır, ama E hücrelerinin yanında distal bölümde gözlenmesi daha kolaydır (Franceschini ve diğ., 2009). *P. semisulcatus* (Al-Mohanna ve Nott, 1989) ve *P. vannamei* (Caceci ve diğ., 1988)'de hepatopankreatik tübülün sadece proksimal ve mediyal bölümünde gözlenmiştir. Bu hücreler *P. argentinus*'ta yüksek RNA miktarından dolayı bazofilik sitoplazmaya sahip olduğu tanımlanmıştır (Sousa ve Petriella, 2000). Bu hücre tipinde protein sentezi çok fazladır ve sindirim enzimlerinin sentezi sadece burada gerçekleşir (Al-Mohanna ve Nott, 1989; Vogt ve diğ., 1989). F hücrelerinin nükleusları hücrenin bazal bölümüne doğru konumlanmıştır. F hücreleri bazofilik sitoplazmaya ve fırça kenarlara sahiptir (Gibson ve Barker, 1979; Al-Mohanna ve Nott, 1989; Icelly ve Nott, 1992; Vogt, 1994; Sousa ve diğ., 2005; Franceschini ve diğ., 2009).

*Maja squinado*'nun hepatopankreası ile yaptığımız çalışmada F hücreleri tübül boyunca bulunmakla beraber daha çok tübülün mediyal ve distal bölümünde bulunmaktadır. H+E boyaması ile F hücreleri tübül epitelinde silindirik ya da üçgenimsi şekli ve bazofilik sitoplazması ile kolayca tübül epitelindeki diğer hücrelerden kolayca ayırt edilir. F hücreleri bazal konumlu yuvarlak bir nükleusa sahiptir. F hücrelerinin protein boyası olan Brf B ile kuvvetli boyanması, sindirim enzimlerinin sentezlendiğini ve gerekli olan protein içeriğinin varlığını doğrulamaktadır. F hücreleri ayrıca PAS ile boyanan fırça kenarlara sahiptir.

Dekapod hepatopankreatik tübüllerinde sayıca en fazla bulunan hücreler R hücreleridir. *P. semisulcatus* (Al-Mohanna ve Nott, 1989) ve *P. vannamei* (Caceci ve diğ., 1988)'de hepatopankreatik tübüllerin proksimal ve mediyal bölümünde gözlenirken, *Macrobranchium amazonicum* (Franceschini ve diğ., 2009) ve *Palaemonetes argentinus* (Sousa ve diğ., 2005)'da tübül boyunca bulunmakla beraber daha çok mediyal ve



proksimal bölümde gözlenmiştir. Diğer hücre tipleri gibi R hücreleri fırça kenarlara sahip silindirik yapıda olan hücrelerdir ve nukleusları hücrelerin bazal bölümüne doğru uzanır. R hücreleri karakteristik subapikal vakuollere ve asidik sitoplazmaya sahiptir. R hücrelerinin karakteristik subapikal vakuollerinde lipit, glikojen, bakır ve diğer metaller depolanır (Gibson ve Barker, 1979; Icely ve Nott, 1992; Vogt, 1990, 1994).

Çalışmamızda, *Maja squinado*'nun R hücreleri hepatopankreatik tübüllerin her bölümünde görülmekle beraber mediyal ve proksimal bölümün çoğunu oluşturduğu ve hepatopankreatik tübüllerde sayıca en çok bulunan hücre tipi olduğu görülmüştür. Yapılan boyamalarla silindirik yapıda olan R hücrelerinin yuvarlak şekilli olan nukleuslarının hücrenin bazalinde yer aldığını gördük. R hücreleri karakteristik subapikal vakuoller sahiptir ve bu vakuoller karbonhidratları boyayan PAS ve proteinleri boyayan Brf B boyama ile negatif reaksiyon verirken, asit mukopolisakkaritleri boyayan AB ile boyanmaktadır. R hücrelerinde fırça kenarların PAS ve AB boyanması, bu fırça kenarların asit mukopolisakkarit yapıda olduğunu gösterir.

B hücreleri *M. amazonicum* (Franceschini ve diğ., 2009)'un hepatopankreatik tübüllerinin başlıca mediyal ve distal bölümünde gözlenmesine rağmen. *P. semisulcatus* (Al-Mohanna ve Nott, 1989)'un hepatopankreatik tübüllerinin proksimal bölümünde gözlenmiştir. B hücreleri hepatopankreatik tübüllerde yer kaplayan en geniş hücre tipidir ve bu hücrede asidik sitoplazmanın ince tabakası tarafından çevrelenmiş geniş bir vakuol egemendir. Bununla beraber, hücrenin nukleusu bazalde konumlanmıştır ve B hücreleri fırça kenarlara sahiptir (Gibson ve Barker, 1979; Al-Mohanna ve Nott, 1989, Icely ve Nott, 1992; Sousa ve diğ., 2005; Franceschini ve diğ., 2009). *P. semisulcatus* (Al-Mohanna ve Nott, 1989) ve *Macrobranchium amazonicum* (Franceschini ve diğ., 2009)'unda B hücrelerinin hücre içi sindirim yaptıkları, besinlerin hemolenf içerisine emilmesini sağladıkları gösterilmiştir.

*Maja squinado*'nun hepatopankreası ile yaptığımız çalışmada B hücreleri mediyal ve proksimal bölümünde bulunduğunu ve hepatopankreatik tübüllerdeki en büyük hücre tipi olduğunu gözlemledik. B hücreleri bazalde konumlanmış yuvarlak nukleusları ile silindirik yapıda ve AB boyama ile gösterilen asit mukopolisakkarit yapıda olan fırça kenarlara sahip olduğunu görüldü. B hücrelerini tübüldeki diğer hücrelerden ayıran en

belirgin özelliği hücrenin apikalinde oldukça büyük bir sindirim vakuolünün bulunmasıdır. B hücrelerinin apikalinde bulunan bu sindirim vakuolleri PAS ile pozitif reaksiyon verir; Masson'un üçlü boyasında Fast Green ile, protein boyası olan Brf B ile ve asit mukopolisakkaritleri boyayan AB boyası ile boyanmaktadır. Bu boyamalar sonucunda B hücrelerinde bulunan bu vakuoller ile tübül lümen içeriğinin aynı olması, B hücrelerinin hücre içi sindirimde rol aldığını düşündürmektedir.

M hücreleri en az bulunan hücre tipidir ve hepatopankreatik tübüller boyunca yayılmış halde bulunur. M hücreler büyük karideslerin birçok türü de dahil esas olarak aşağı dekapodlarda bulunur (Al-Mohanna ve diğ., 1985a; Vogt, 1985). Bununla beraber *Astacus leptodactylus* (Jacobs, 1928) ve *Parathelphusa hydromus* (Reddy, 1938) dahil olmak üzere yüksek dekapodlarda da tanımlanmıştır. M hücrelerini diğer hücrelerden ayıran en önemli özellik M hücrelerinin apikal yüzeyleri lümene erişmezler ve böylelikle hepatopankreatik tübülde fırça kenara sahip olmayan tek hücre tipidir. M hücreleri üçgenimsi bir yapıya ve bazofilik sitoplazmaya sahiptir, nukleusları yuvarlaktır ve hücrenin merkezinde konumlanmıştır (Franceschini ve diğ., 2009).

Çalışmamızda *Maja squinado*'nun M hücreleri hepatopankreatik tübüllerin proksimal ve mediyal bölümlerinde yer aldığını ve en az bulunan hücre tipi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca *Maja squinado*'nun M hücrelerinin *Macrobrachium amazonicum* (Franceschini ve diğ., 2009)'un M hücrelerinin özellikleri ile benzerlik göstermektedir. Genel yapıyı ortaya çıkaran Masson'un üçlü boyası ve H+E boyama ile M hücrelerinin apikal yüzeylerinin lümene erişmemektedir. Üçgen şekilli olan bu hücreler bazofilik bir sitoplazmaya sahiptir ve nukleuslarının yuvarlak ve hücrenin merkezinde bulunmaktadır.

*Maja squinado* ile ilgili yapılan biyokimyasal yöntemler sonucunda elde edilen bilgiler ışığında total protein miktarının fazlalığına karşın katalaz, SOD, GP<sub>x</sub> gibi antioksidan enzimlerin miktarının az bulunması, bunun yanı sıra hidroksil radikali, hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin ve lipid peroksidasyon ürünlerinin az bulunması, bize hepatopankreastaki protein kaynağının üreme döneminde bulunan *Maja squinado*'nun sperm ve yumurta üretilmesi için besin biriktirdiğini işaret etmektedir. Histolojik bulgulardan Brf B boyası ile yapılan incelemeler bu bulguyu desteklemektedir.

Elde edilen bulgular sonucunda varılan sonuçları özetlemek gerekirse; *Maja squinado* hepatopankreası primer, sekonder kanallar ve tübüllerden oluşmaktadır. Hepatopankreatik tübüllerde E, F, R, B ve M olmak üzere beş tip hücre bulunmaktadır. Diğer dekapod türlerinde E hücrelerinde fırça kenar bulunmamasına rağmen *Maja squinado*'nun hepatopankreatik tübüllerindeki E hücrelerinde fırça kenarın varlığı ortaya konulmuştur. M hücreleri yüksek dekapodlarda az sayıda türde bulunur ve bu türlerden biride *Maja squinado*'dur.

Bu çalışmamızın sonucunda *Maja squinado*'nun hepatopankreasında bulunan E, F, R, B ve M hücreleri histolojik olarak detaylı şekilde tanımlanmış ve üreme döneminde total protein miktarı, membran lipid peroksidasyonun, hidroksil radikalinin, hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazın profili ortaya çıkarılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Allardyce, B. J. and Linton, S.M., 2010, Funtional morphology of gastric mills of carnivorous, ömnivorous and harbivorous land crabs, *J. Morphol.* 271, 61-72.
- Al-Mohanna, S. Y., Nott J.A. and Lane D. J. W., 1985a, Mitotic E- and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda), *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 65:901-910
- Al-Mohanna, S. Y., Nott J.A. and Lane D. J. W., 1985b, M-“midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1844 (Decapoda: Natantia), *Crustaceana*, 48:260-268.
- Al-Mohanna, S. Y. and Nott J. A., 1989, Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* ( Crustacea: Decapoda) during the moult cycle, *Mar. Biol.*, 101:535-544.
- Bakir, A.K., Katağan, T., Aker, H.V., Özcan, T., Sezgin, M., Ateş, A.S., Kocak, C. and Kirkim, F., 2014. The marine arthropods of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38(6), pp.765-831.
- Barim Ö., Benzer F., Erişir M. and Dorucu M., 2009, Oxidant and antioxidant status of tissues of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) from different stations in the Keban Dam Lake, *Fresenius Environmental Bulletin*, 18(5).
- Barker, P. L. and Gibson R., 1977, Observations on the feding mechanism, structure of the gut and digestive physiology of the European lobster *Homarus gammarus* (L.) (Decapoda: Nephropidae), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 26:297-324.
- Barker, P. L. and Gibson R., 1978, Observations on the structure of the mounhtparts, histology of the mud crab *Scylla serrata* ( Forskal) ( Dekapoda: Portunidae), *J. Exp.Mar. Biol. Ecol.*, 32:177-196.
- Brosing., 2010, Recent developments on the morphology of the brachyuran foregut ossicles and gastric teeth, *Zootaxo* 2510:1-44.
- Bortolini J. L. and Alvarez F., 2008, Hepatopancreas alteration of the blue crab *Callinectes sapidus* by the rhizocophalan barnacle *Loxothylacus texanus*, *Journal of Invertebrate Pathology* Volume 99, 3:354-356.
- Burighel, P. and Milanesi, C., 1973, Fine structure of the gastric epithelium of the Ascidian *Bothryllus schlosseri* vacuolated and zymogenic cells, *Cell Tissue Res.* 145:541-555.

- Caceci., T. , Neck, K. F., Lewis D. H. and Sis R. F., 1988, Ultrastructure of the hepatopancreas of the Pasific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 68:323-337.
- Ceccaldi H. J., 1989, Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans Decapods reared in aquaculture, *Advances intropical aquaculture* 9:243-259.
- Dall W., 1967, The functional anatomy of the digestive tract of a shrimp *Metapenaeus bennettiae* Racek and Dall ( Crustacea: Decapoda: Penaeidae) *Aust. J. Zool.* 15:699-714.
- Dall, W. and Moriarty, D. J. W., 1983, Functional aspects of nutrition and digestion. In 1. 2. Mantel (ed.), *The Biology of Crustacea, vol. 5 Internal Anatomy and Physiological Regulation. New York: Academic Press* 215-261.
- Davis, L. E. and Burnett, A. L., 1964, A study of growth and cell differentiation in the hepatopancreas of the crayfish, *Dev. Biol.* 10:122-153.
- Demirsoy, A., 2005, Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar-Böcekler Dışında- Cilt-2/ Kısım 1, 901-910.
- Devasagayam, T.P. and Tarachand, U., 1987. Decreased lipid peroxidation in the rat kidney during gestation. *Biochemical and biophysical research communications*, 145(1), pp.134-138.
- Diaz, A. C., Sosua, L. G., and Petriella A. M., 2010, Functional cytology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* ( Crustacea : Decapoda, Caridae) under osmotic stres. *Braz. Arch. Biol. Tech.* 53:559-608.
- Drury, R. A. B.; Wallington, E. A. & Cameron, R., 1967, Connective tissue fibers. In: *Carleton's Histological Techniques*. 4th ed. New York, Oxford University Press,. pp.16681.
- Factor, J. R., 1981a, Development adn metamorphosis of the digestive system of larval lobsters, *Homarus americanus* ( Decapoda: Nephropidae) *J. Orphol.* 169:225-242.
- Factor, J. R., 1981b, Unusally complex basement membranes in the midgut of two decapod crustaceans, the stone crab ( *Menippe mercenaria*) and the lobster (*Homarus americanus*), *Anat. Rec.* 200: 253-258.
- Factor, F. J. and Naar, M., 1985, The digestive system of the lobster *Homarus americanus*: 1. Connective tissue of the digestive gland, *J. Morphol.* 184: 311-321.
- Factor, J. R. and Naar, M., 1990, The digestive system of the lobster *Homarus americanus*: 2. Terminal arterioles of the digestive gland, *J. Morphol.* 206:283-291.

- Felgenhauer, B. E. and Abele, L. G., 1983, Phylogenetic relationships among the shrimp-like decapods. In F.R. Schram (ed.): *Crustacean Phylogeny, Crustacean Issues/ Rotterdam: Balkema*, 291-311.
- Felgenhauer, B.E. and Abele, L. G., 1989, Evolution of the foregut in the lower Decapoda. In B. E. Felgenhauer, L. Watling and A. B. Thistle (eds.): *Functional Morphology of Feeding and Growing in Crustacea, Crustacean Issues 6. Potterdom. Netherlands: Balkema*, 205-219.
- Franceschini-Vicentini, I. B., Ribeiro, K., Papa, L. P., Marques Junior, J., Vicentini, C. A. and Moraes Valenti, P. M. C., 2009, Histoarchitectural features of hepatopancreas of the amazon river prawn *Macrobrachiu amazonicum*, *International Journal of Morphology*, 27(1): 121-128.
- Gibson, R. and Barker, P. L., 1979, The decapod hepatopancreas, *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 17: 285-346.
- Hafeman, D.G., Sunde, R.A. and Hoekstra, W.G., 1974. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *The Journal of nutrition*, 104(5), pp.580-587.
- Heeren, T. and Mitchell, B. D., 1997, Morphology of the mouthparts, gastric mill and digestive tract of the giant crab, *Pseudocarcinus gigas* (Milne Edwards) (Decapoda: Oziidae) *Mar. Freshwater Res.*, 48:7-18.
- Heinzel, H. G., 1988, Gastric mill activity in the lobster. 1. Spontaneous modes of the chewing, *J. Neurophysiol.* 59:528-550.
- Heinzel, H. G., Weimann, J. M. and Marder, E., 1993, The behavioral repertoire of the gastric mill in the crab, *Cancer pagurus*: an in situ endoscopic and electrophysiological examination, *J. Neurophysiol*, 13:1793-1803.
- Holland, M.K. and Storey, B.T., 1981. Oxygen metabolism of mammalian spermatozoa. Generation of hydrogen peroxide by rabbit epididymal spermatozoa. *Biochemical Journal*, 198(2), pp.273-280.
- Hopkin, S. P. and Nott J. A., 1980, Studies of the digestive cycle of the shore crab *Carcinus marnas* (L.) with special reference to the B cells in the hepatopancreas, *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 60:891-907.
- Icely, J. D. and Nott J. A., 1992, *Microscopic Anatomy of Invertebrates Volumes 10 : Decapod Crustacea*, pages:147- 201.
- Jacobs, W., 1928, Untersuchungen über die Cytologie der Sekretbildung in der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*, *Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 8:1-62.
- Johnston, D. J., and Yellowless D., 1998, Relationship between the dietary preferences and digestive enzyme complement of the slipper lobster *Thenus orientalis* (Decapoda: Scyllaridae), *J. Crustac. Biol.* 18:656-665.

- Loizzi, R. F., 1971, Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscles network. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 113:420-440.
- Loizzi, R. F., and Peterson, D. R., 1971, Lipolytic sites in crayfish hepatopancreas and correlation with fine structure. *Comp. Biochem. Physiol.* 39D: 227-236.
- Lovett, D. L., and Felder, D. L., 1989, Ontogeny of kinematics in the gut of the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). *J. Crust. Biol.* 10:53-68.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1), pp.265-275.
- Mansour-Bek, J. J., 1932, Die Proteolytischen Enzyme von *Maja squinado*, *Latr. Zeitschr. Vergl. Physiol.*, 17:154.
- McGaw, J. Iain · Curtis, Daniel L., 2013, A Review of gastric processing in decapod crustaceans. *Journal of Comparative Physiology B*, 183: 443-465
- Marklund, S. and Marklund, G., 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), pp.469-474.
- Mazia D, Brewer PA, Alfert M., 1953, The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromphenol blue. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole.* 1953;104:57-67.
- Miyawaki, M., Matsuzaki, M. and Sasaki N., 1961, Histochemical studies on the hepatopancreas of the crayfish, *Procambarus clarkii*, *Kumamoto J. Sci.* B5:161-169.
- Momin, M. A., and Rangneker, P. V., 1975a, Histochemical localization of acid and alkaline phosphatases and glucose-6-phosphatase of the hepatopancreas of the crab, *Scylla serrata* (Forsk.), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 4:1-16
- Momin, M. A., and Rangneker, P. V., 1975b, Histochemical localization of oxidative enzyme in the hepatopancreas of *Scylla serrata* (Forsk.) (Brachyura: Decapoda), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 20:249-264.
- Patwardhan, V. N., 1937, The occurrence of a phytin-splitting enzyme in the intestines of albino rats. *Biochemical Journal*, 31(4), 560.
- Puntarulo, S. and Cederbaum, A.I., 1988. Effect of oxygen concentration on microsomal oxidation of ethanol and generation of oxygen radicals. *Biochemical Journal*, 251(3), pp.787-794.

- Reddy, A. R. 1938. The physiology of digestion and absorption in the crab *Paratelphusa* (*Oziotelphusa*) *hydrodromous* (Herbst.). *Proc. Ind. Acad. Sci.*, 8: 171–181.
- Sharshar, K., and Azab, E. A., 2008, Studies on diseased freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* infected with *Vibro vulnificus*, *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 11(17):2092-2100.
- Sinha, A.K., 1972. Colorimetric assay of catalase. *Analytical biochemistry*, 47(2), pp.389-394.
- Smith, R. I., 1978, The midgut caeca and the limits of the hindgut of brachyura , A clarification, *Crustaceana* 35:195-205.
- Soegianto, A., Charmantier-Daures, M., Trilles, J. P., ve Charmantier, G., 1999, Impact of cadmium on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus* ( Crustacea: Decapoda): *Sediment-clam interactions*.
- Sousa, L. G., Cuartas, E. I., and Petriella, A. M., 2005, Fine structural analysis of the epithelial cells in the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* ( Crustacea: Decapoda: Caridea) in intermolt, *Biocell*, 29(1): 25-31.
- Sousa, L. G., and Petriella, A. M., 2000, Histology of the hepatopancreas of the fresh water prawn *Palaemonetes argentinus* ( Crustacea: Caridea), *Biocell; official journal of the Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica. et. al.* 24(3), 189-195.
- Storch, V., and Welsh, U., 1977, Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische untersuchungen der Mitteldermdrüse der landlebenden Decapoden *Coenobita rugosus* und *Ocypode ceratophthalma*, *Zool. Jb. ( Anat. Ontogenie Tiere)* 79: 25-39.
- Stentiford, G. D., and Shields, J. D., 2005, A review of the parasitic dinoflagellates *Hematodinium* species and *Hematodinium*-like infections in marine crustaceans, *Diseases of aquatic organisms*, 66(1): 47.
- Travis, D. F., 1960, The deposition of skeletal structures in the crustacea. 1. The histology of the gastrolith skeletal tissue complex and the gastrolith in the crayfish, *Orconectes (cambarus) virilis* Hagen- Decapod, *The Biological Bulletin*, 118(1):137-149.
- Trellu, J., and H. J. Ceccaldi. "Circadian variations of some enzymatic activities in *Palaemon squilla* Linné (1758)(Crustacea, Decapoda)." *Biological Rhythm Research* 8.3-4 (1977): 357-359.
- Türeli, C., Erdem, Ü. and Çelilik, M., 2002, Kuzeydoğu Akdeniz, İskenderun Körfezinde bulunan mavi yengeç (*Callinectes sapidus* RAHTBUN, 1896)'in et kompozisyonu ve mevsimsel değişimi, *Turkish Journal of Veterinay Animal Science*, 26:1435-1439.



- van Herp, F., 1970, Study of the influence of sinus gland extirpation on the alkaline phosphatase in the hepatopancreas of the crayfish, *Astacus leptodactylus*, *Comp. Biochem. Physiol.*34:439-445.
- Vogt, G.,1990, Pathology of midgut gland-cells of *Penaeus monodon* post larvae of the *Leucaena leucocophala* feeding, *Dis. Aquat. Org.*, 9:45-61.
- Vogt, G.,1994, Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* ( Crustacea, Decapoda), *Zoomorphology*, 114:83-101.
- Vogt, G., Storch, V., Qunito, E. T., and Pascual, F. P., 1985, Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda), *Aquaculture*, 48:1-12.
- Vogt, G., Stücker, W., Storch, V., and Zwilling, R., 1989, Biosynthesis of *Astacus astacus*protease a Digestive enzyme from crayfish, *Histochemistry*, 91(5):373-381.

## ÖZGEÇMİŞ



### Kişisel Bilgiler

|                    |                           |
|--------------------|---------------------------|
| Adı Soyadı         | SEZEN ERDOĞAN             |
| Uyruğu             | TC                        |
| Doğum tarihi, Yeri | 1984, ANKARA              |
| Telefon            | 0506 630 27 68            |
| E-mail             | erdogan-sezen@hotmail.com |

### Eğitim

| Derece        | Kurum/Anabilim Dalı/Programı  | Yılı |
|---------------|---|------|
| Yüksek Lisans | İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/ Biyoloji Anabilim Dalı / Zooloji Programı | 2015 |
| Lisans        | İstanbul Üniversitesi   | 2012 |
| Lise          | Ankara Anadolu Lisesi   | 2002 |