

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BILDIRCINLARDA POSTNATAL DÖNEMDE TRAKEYA
EPİTELİNİN KANTİTATİF HİSTOMORFOLOJİK GELİŞİMİ
VE HİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Emel BABÜR**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr. Narin LİMAN**

**Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2005
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BILDIRCINLARDA POSTNATAL DÖNEMDE TRAKEYA
EPİTELİNİN KANTİTATİF HİSTOMORFOLOJİK GELİŞİMİ
VE HİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Emel BABÜR**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr. Narin LİMAN**

**Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı
tarafından SBY-04-01 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Temmuz 2005
KAYSERİ**

TEŐEKKÖR YAZISI

Bu çalışmanın her aőamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danıőman hocam Sayın Prof. Dr. Narin LİMAN'a, öneri ve katkıları ile beni yönlendiren değerli hocalarım Sayın Yard. Doç. Dr. Melek KOÇAK HAREM ve Sayın Yard. Doç. Dr. Feyzullah BEYAZ'a, tez süresince her konuda desteklerini esirgemeyen aileme ve değerli arkadaşım Veteriner Hekim Hakan SAĞSÖZ ile bu araőtırmanın projelendirilmesini sağlayan ve maddi destekte bulunan Erciyes Üniversitesi Projeleri Komisyon Başkanlığı'na teőekkürlerimi sunarım.

BILDIRCINLARDA POSTNATAL DÖNEMDE TRAKEYA EPİTELİNİN KANTİTATİF HİSTOMORFOLOJİK GELİŞİMİ VE HİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

ÖZET

Bu çalışmada, bildircinlerde trakeya epitelinin postnatal gelişiminin kantitatif histomorfolojik olarak, bu epitelin salgısı olan mûsinlerin bileşimi ile lokalizasyonlarının ise histokimyasal olarak belirlenmesi ve bu bağlamda postnatal fonksiyonel değişime bağlı yapısal farklılaşmanın ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmada bir, 7, 14, 21, 28, 35, 42 ve 60 günlük olmak üzere her bir yaş grubundan 10 adet ve toplam 80 adet sağlıklı erkek bildircin kullanılmıştır. Total olarak çıkarılan trakeya rutin histolojik işlemleri takiben bloklanmıştır. Trakeyanın genel yapısını belirlemek için Crossman'ın üçlü boyama yöntemi, bezlerdeki mûsinlerin tipleri ve yerleşimleri için ise Best Carmin, PAS, PAS-diyastaz, Alcian Blue (pH.2.5), Alcian Blue (pH.2.5)-PAS, Alcian Blue (pH.2.5)-Aldehyde Fuchsin, Phenylhyrazine-PAS boyama yöntemleri uygulanmıştır. İncelenen tüm yaş gruplarında yalancı çok katlı prizmatik özellik gösteren trakeya epitelinin, silyumlu hücreler, kadeh hücreleri ve bazal hücreler olmak üzere üç hücre tipini içerdiği saptanmıştır. Epitel içerisinde müköz kadeh hücrelerinin tek tek dizilerek unisellüler veya gruplar oluşturarak multisellüler özellikteki intraepitelyal yerleşimli bezleri meydana getirdiği görülmüştür. Bir günlük bildircinlerde unisellüler bezlerin multisellüler özelliktekilere kıyasla daha fazla olduğu, yaşın ilerlemesiyle multisellüler bezlerin arttığı tespit edilmiştir. İntraepitelyal multisellüler bezlerin kıkırdaklar arası bölgede çoğunlukta olduğu, yumurtadan çıkışın 7. gününden itibaren kıkırdaklar arası epitel kalınlığı farklılıklarının önemli olmadığı saptanmıştır.

Trakeyal müköz hücrelerin çoğunlukta olmak üzere kuvvetli sülfatlı epitelyal mûsinleri, nötral mûsinleri ve daha az oranda da sialomûsinleri içerdiği, silomûsinlerin yaşın ilerlemesine paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Yumurtadan çıkışın birinci gününden itibaren kuvvetli sülfatlı epitelyal mûsinlerin trakeyal müköz hücrelerde bulunması ve mûsin içeriklerinin yaşa bağlı olarak farklılık göstermesinin, yumurtadan çıkış sonrası büyüme periyodunda, trakeya epitelinin infeksiyöz ve noninfeksiyöz ajanlardan, salgıladıkları mûsinlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek korunmaya çalışmalarıyla yani fonksiyonlarıyla ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Bildircin, Histokimya, Kantitatif histomorfoloji, Trakeya epiteli

THE QUANTITATIVE HISTOMORPHOLOGICAL DEVELOPMENT AND HISTOCHEMICAL PROPERTIES OF TRACHEAL EPITHELIUM IN QUAILS (COTURNIX COTURNIX JAPONICA) DURING POST-HATCHING PERIOD

ABSTRACT

This study is aimed to determinate the posthatching development of tracheal epithelium as a quantitative histomorphologically, the localization and compound of mucins which is secretion of this epithelium as histochemically and to manifest the structural differentiation related postnatal functional alteration in this context. In this study, in each age groups 10 and as total 80 healthy male quails being of 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42 and 60 days old were used as a material. The trachea was removed totally and than embedded following routine histological process. The slides which are cut were stained for Crossman's triple stain in order to determine the general structures and stained for Best Carmin, PAS with/without diastase, Alcian Blue (pH 2,5), Alcian Blue (pH 2,5)-PAS, Alcian Blue (pH 2,5)-Aldehyde Fuchsin, Phenylhydrazine-PAS in order to types and localization in mucins of glands. The examination of all age groups revealed the tracheal epithelium demonstrated the properties of pseudostratified columnar was composed of three types of cells as ciliated cells, goblet cells and basal cells. It is seen that mucous goblet cells sorted in epithelium produced the glands located intraepitellially one by one as a unicellular or making groups as a multicellular. The unicellular glands were determined to be more abundant than multicellular glands in one day quails and with advencing age the multicellular glands were increased. As from 7th days of posthatching multicellular glands were found to be a majority intercartilage area and the differences of epithelial thickness in intercartilage were not important.

With advencing age the tracheal mucous cells were determined to be contained the strongly sulphated epithelial mucins and neutral mucins by a majority, those contained sialomucins were in less proportion and the sialomucins were increased. It was concluded that as from first day of posthatching the strongly sulphated epithelial mucins is present in tracheal mucous cells and the disparity was seen in mucin contents related age prevent from infectious and noninfectious agents changing physical and chemical properties of its secreted mucins, namely it would be related its functions in period of growth after posthatch.

Keywords: Quail, Histochemistry, Quantitative histomorphology, Tracheal epithelium

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	I
KABUL ONAY SAYFASI.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
KISALTMALAR.....	VII
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII-IX

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Trakeyanın Anatomik Özellikleri.....	4
2.2. Trakeyanın Histolojisi.....	5
2.2.1. Tunika mukoza.....	5
2.2.1.1. Lamina epitelialis.....	5
2.2.1.1.1. Silyumlu hücreler.....	6
2.2.1.1.2. Kadeh hücreleri.....	6
2.2.1.1.3. Bazal hücreler.....	7
2.2.1.2. Lamina propriya mukoza.....	7
2.2.1.3. Submukoza.....	8
2.2.2. Kıkırdaklar.....	8
2.3. Trakeyal Bezler.....	8
2.4. Respiratorik Mukozanın Fonksiyonel Özellikleri.....	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	13
4. BULGULAR.....	15
4.1. Trakeyanın Yapısal özellikleri.....	15
4.2. Trakeya epiteli ile bezlerinin histokimyasal özellikleri.....	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	39
6. KAYNAKLAR.....	47

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR

AB : Alcian Blue

AF : Aldehyde Fuchsin

FH : Phenylhydrazine

PAS : Periodic Acid Schiff

TABLOLAR VE ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1. Kıkırdak üzeri ve kıkırdaklar arası bölgeyi örten epitelin yaşlara göre kalınlık ortalamaları.....	39
Şekil 4.1. Bir günlük bıldırcınların trakeyasının boyuna kesitteki görünümü, lamina epitelialis (e), kadeh hücresi (g), lamina propriya (p), kıkırdak halkalar (k), adventisya tabakası (a), m. trachealateralis (t), boyuna kesit, triple X 33.....	15
Şekil 4.2. Bir günlük bıldırcınlarda trakeyanın epiteli, silyumlu hücreler (s), kadeh hücresi (g), lamina propriya (p), kıkırdak halkalar (k), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.....	16
Şekil 4.3. Bir günlük bıldırcınlarda trakeya epiteli, silyumlu hücreler (s), kadeh hücresi (g), bazal hücreler (b), kıkırdak halkalar (k), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.....	17
Şekil 4.4. Bir günlük bıldırcınlarda trakeya epitelinde kadeh hücreleri, silyumlu hücreler (s), olgunlaşmamış kadeh hücresi (g1), olgun kadeh hücresi (g2), lamina propriya (p), bazal hücreler (b), kıkırdak halkalar (k), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.....	18
Şekil 4.5. Bir günlük bıldırcınlarda trakeya epitelinde kadeh hücreleri, silyumlu hücreler (s), olgunlaşmamış kadeh hücresi (g1), olgun kadeh hücresi (g2), lamina propriya (p), kıkırdak halkalar (K), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.....	18
Şekil 4.6. 14 günlük bıldırcınlarda kadeh hücrelerin görünümü, lamina epitelialis (e), intraepitelial alveolar bez (ok), kıkırdak halkalar (K), boyuna kesit, triple X 33.....	19
Şekil 4.7. 7 günlük bıldırcınlarda intraepitelial alveolar bezler (oklar), lamina epitelialis (e), kıkırdak halkalar (k), m. trachealateralis (t), adventisya (a), boyuna kesit, triple X 33.....	20
Şekil 4.8. 60 günlük bıldırcınlarda trakeyal kıkırdakların eklemleştigi bölgeleri örten epitelde intraepitelial alveolar bezlerin (oklar) yerleşimi, lamina epitelialis (e), kıkırdak halkalar (K), adventisya (a), boyuna kesit, triple X 33.....	21
Şekil 4.9. 35 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde unisellüler ve multisellüler bezlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB-PAS X 33.....	22
Şekil 4.10. 60 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde unisellüler ve multisellüler bezlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB-PAS X 33.....	22
Şekil 4.11. 28 günlük bıldırcınların trakeyasında lenf folikülleri, lenf folikülü (F), intraepitelial alveolar bez (oklar), kıkırdak halkalar (K), boyuna kesit, triple X 33.....	23
Şekil 4.12. 28 günlük bıldırcınlarda trakeya epiteli ve kıkırdaklar, lamina propriya (p), intraepitelial alveolar bez (oklar), kıkırdak halkalar (K), boyuna kesit, triple X 33.....	24
Şekil 4.13. 35 günlük bıldırcınlarda trakeyanın boyuna kesitteki görünümü, sinir pleksusları (P), lamina propriya (p), adventisya (a), unisellüler kadeh hücresi (u), kılcak damarlar (oklar), boyuna kesit, triple X 33.....	25

Şekil 4.14. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde PAS reaktivitesi, unisellüler bezler (u), multisellüler bezler (oklar), kıkırdak halkalar (k), m. trachealateralis (t), boyuna kesit, PAS X 33.....	26
Şekil 4.15. 14 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde PAS reaktivitesi, multisellüler bezler (oklar), boyuna kesit, PAS X 33.....	26
Şekil 4.16. 28 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde PAS reaktivitesi, unisellüler bezler (u), multisellüler bezler (oklar), kıkırdak halkalar (k), m. trachealateralis (t), boyuna kesit, PAS X 33.....	27
Şekil 4.17. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) Best karmin reaktivitesi, boyuna kesit, Best Carmine X 33.....	28
Şekil 4.18. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) ve kıkırdaklarında (K) asit münlerin yerleşimi, sinir pleksusları (P), kıkırdaklar arası bölge (parantez), boyuna kesit, AB X 33.....	29
Şekil 4.19. 14 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) ve kıkırdaklarında (K) asit münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB X 33.....	29
Şekil 4.20. 60 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) ve kıkırdaklarında (K) asit münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB X 33.....	30
Şekil 4.21. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) nötral ve asit münlerin yerleşimi, boyuna kesit, PAS-AB X 33.....	31
Şekil 4.22. 7 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b, ok mikst münleri göstermekte) nötral ve asit münlerin yerleşimi, boyuna kesit, PAS-AB X 33.....	32
Şekil 4.23. 35 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b, oklar mikst münleri göstermekte) nötral ve asit münlerin yerleşimi, boyuna kesit, PAS-AB X 33.....	33
Şekil 4.24. 1 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde periodat reaktif asit münlerin (oklar) yerleşimi, boyuna kesit, Fenilhidrazin-PAS X 33.....	34
Şekil 4.25. 7 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde periodat reaktif asit münlerin (oklar) yerleşimi, boyuna kesit, Fenilhidrazin-PAS X 33.....	34
Şekil 4.26. 35 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde periodat reaktif asit münlerin (oklar) yerleşimi, boyuna kesit, Fenilhidrazin-PAS X 33.....	35
Şekil 4.27. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.....	36
Şekil 4.28. 7 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (ok, sialo münleri göstermekte) sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.....	36
Şekil 4.29. 21 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.....	37
Şekil 4.30. 28 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.....	38

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan, memeli ve kanatlı hayvanlarda solunum sistemi, çevresel kirlenmeler ve enfeksiyöz ajanlara karşı akciğeri koruma fonksiyonuna sahip olan respiratorik epitelle örtülüdür. Solunum sisteminin savunma mekanizmaları ilk olarak, öksürme, aksırma ve bronkokonstriksiyon gibi solunum yolu reflekslerini kapsar. İkinci temel bariyer mukosiliar temizleme, laktoferrin, Ig A sekresyonu ve lizozim içeren sekresyonlar ile hava-hücre yüzeyi arasındaki mukus filtresidir. Mukus, mukosiliar temizleme ve hava akımı ile alt solunum yollarından larinkse taşınır. Mukosiliar temizlemenin ya da normal sekresyonun bozulması akciğer fonksiyonları ile savunma sisteminin bozulmasına ve enfeksiyon riskinin artmasına neden olur. Üçüncü mekanizma hücresel immün yanıttır.

Solunum yolu mukusu, kadeh hücreleri ve mukozal bezlerin salgı ürünü olup su, karbonhidrat, protein ve lipitten oluşan non-homojen, adheziv, viskoelastik jeldir. Mukus filtresi, kinosilyumun gevşeme ve vurma hareketlerinin olduğu perisiliar tabaka olarak bilinen sulu sol tabaka, hipofaz (7-10 μm) ve kinosilyumun uç kısımlarının üzerinde uzanan daha yüzeysel jel tabaka, epifaz (0.5-2 μm) olmak üzere iki fazlı bir yapıdan oluşur. Sol tabaka, aerokontaminantları jel tabakaya taşıyan kinosilyumun, koordineli hareketine yardımcı olan bir kayganlaştırıcı olarak işlev görür. Epiteliyal sekresyon perisiliar sıvı veya sol tabakayı, bezler ise daha visköz jel tabakayı oluşturur.

Respiratorik epitelde kadeh hücrelerinin apikal yüzeyleri inhale edilen solunum yolu irritanlarına hızlı bir yanıt vermek üzere lumene doğru çıkıntı yapar. Bezler ise kadeh hücreleri ile birlikte mukusun temel bileşeni olan, yüksek moleküler ağırlıklı müsinleri salgılar ve onları solunum yolu yüzey sıvısına verir. Müsinler, inhale edilen irritanların, partiküllerin ve mikroorganizmaların taşınması için gerekli biyofiziksel ve biyokimyasal özelliklere sahiptir. Solunum yolu müsinlerinin glikosilasyonunun çeşitliliği mukosiliar temizlemeden önce mukusa mikroorganizmaların yapışmasını kolaylaştırmada önemli olabilir. Lipidleri ve küçük glikoproteinleri kapsayan diğer salgı ürünleri de kadeh hücreleri tarafından üretilir. Kadeh hücrelerinin bezlerden farkı belirli derecede çok daha fazla mukusu üretme potansiyeline sahip olması olasıdır. Müsinler, kadeh hücrelerinin intrasellüler granüllerinde paketlenmiştir. Bu granüllerin morfolojisi fizyasyon teknikleri ile değişir. Müsinlerin serbest bırakılması merokrin ve apokrin sekresyonunun kombinasyonu ile olabilir. Türlerine bağlı olarak kadeh hücreleri, proteinazlar, irritan gazlar, yangı mediatörleri, reaktif oksijen türleri, sinir aktivasyonu ve biyofiziksel çevrenin değişimini kapsayan çeşitli sitomullara yanıtta mukusu boşaltır. Akut solunum yolu savunmasına katılmaya ek olarak kadeh hücreleri kronik solunum yolu hastalıklarına yanıtta sayıca artar ve mukus üretiminde de artış meydana gelir.

Son yıllarda ülkemizde giderek artan protein gereksiminin ucuz, sağlıklı ve kısa sürede sağlanabilmesi amacıyla kümes hayvanları yetiştiriciliği büyük ekonomik önem kazanmıştır. Bu gelişim, bıldırcın yetiştiriciliği yapılan barınakların besleme ve bakım koşullarının iyi bir şekilde düzenlenmesini de beraberinde getirmiştir. Bu koşulların gerektiği şekilde sağlanamamasına bağlı çeşitli sistemik bozukluklar gözlenebilmektedir. Bunlardan solunum sistemine ait enfeksiyonlar ve yangısal hastalıklar, diğer enfeksiyonlar gibi ekonomik açıdan kayıplar oluşturabilmektedir. Bu nedenle kanatlılarda solunum sisteminin yapısal özelliklerinin bilinmesi önem taşımaktadır.

Memelilerde solunum sistemi epiteli ve submukozal bezler üzerinde kantitatif ve histokimyasal çalışmalar çok sayıdadır. Ancak kanatlılarda, memelilerdekinden farklı yapısal özellikler gösteren trakeyanın postnatal döneme ilişkin gelişimi, epitelin ve intraepiteliyal müköz bezlerin histokimyasal özellikleri ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Gerek IgA içermesi nedeniyle respiratorik sistemin lokal korunmasında ve gerekse mukosiliar temizleme sisteminde önemli rol üstlenmesine rağmen kadeh hücreleri ve bezler tarafından üretilen mukusun, kanatlı trakeyasında histokimyasal özellikleri sadece tavuklar ve kazlarda incelenmiştir.

Bu araştırmada, yumurtadan çıkıştan erişkin oluncaya kadarki dönemde, bıldırcınlarda trakeya epitelinin postnatal gelişiminin kantitatif histomorfolojik, intraepitelyal bezler ile kadeh hücrelerinin salgılarının kompozisyonu ve msinlerin lokalizasyonunun ise histokimyasal olarak belirlenmesi ve bu bağlamda postnatal fonksiyonel değişim ile yapısal farklılaşma arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TRAKEYANIN ANATOMİK ÖZELLİKLERİ

Kanatlı solunum sistemi omurgalı hayvanlar arasında en kompleks yapıya sahip bir sistemdir. Anatomik olarak üst ve alt solunum yollarına ayrılır. Üst solunum yolları burun delikleri, burun boşluğu, infraorbital sinus divertikülleri, konkha ve servikosefalik hava keselerinden oluşur. Alt solunum yolları ise laringeal yarık, glottis, trakeya, sirinks, bronşlar (primer, sekonder ve tersiyer), akciğer parenşimi ve hava keselerinden ibarettir (1).

Kanatlılarda solunum sistemi, uçuş yeteneklerine bağlı olarak, memelilerdekinden belirgin bazı morfolojik farklılıklar taşır. Bunlar trakeyal halkaların tam halka şeklinde olması, sirinks ve hava keselerinin bulunması, akciğerlerin lobsuz ve küçük olması, vokal kordların bulunmaması şeklinde sıralanabilir. Kanatlılarda, solunum sisteminin üç ana fonksiyonu vardır; gaz değişimi, termoregülasyon ve vokalizasyon (2-4).

Kanatlı solunum sistemi, havadaki oksijeni dokulara verir ve dokulardaki birikmiş karbondioksiti alır. Ayrıca termoregülasyonda da önemli bir rol oynar. Hava keseleri akciğerlere indirekt yoldan hava geçişini sağlar. Indirekt hava akışının anlamı kuşların akciğerlerine taşınan havanın büyük oranda taze ve daha fazla oksijen içeriğine sahip olmasıdır. Bunun tam tersine hava akışı geri ve ileri hareket halinde olmak üzere memelilerde iki yönlüdür. Sonuç olarak memeli akciğerlerine giren hava “eski”, hava ile karışır. Bu karışık hava daha az oksijene sahiptir. Kuşlarda kana diffuz eden oksijen ise daha fazladır. Kuşlar ağız ve burunları ile nefes alırlar. İspirasyon boyunca giren hava önce farinkse daha sonra trakeyaya geçer (5).

Kanatlılarda trakeya; boynun ventralinde, derinin hemen altında, larinks'ten sirinks'e kadar uzanır, dorsalinde özofagus bulunur (6). Kanatlı hayvanların fonksiyonel zorunluluk

nedeniyle boyunlarının uzun olması sonucu, trakeya memelilere göre daha uzun şekillenmiştir. Genelde bir kuşun trakeyası aynı büyüklükteki memelilerden 2.7 kat daha uzun ve 1.29 kat daha geniştir. Turna kuşu gibi bazı kuşlar, göğüs kemiğinin omurga çukurunda halka şeklinde kıvrılmış uzun (1,5 m) bir trakeyaya sahiptir. Bu düzen onlara ek rezonans verir (5).

Trakeyanın uzunluğuna bağlı olarak, trakeya'da hava akımı memelilere göre daha fazla bir dirençle karşılaşır. Ancak trakeya'nın çapının geniş olmasıyla bu olumsuzluk giderilmiş olur. Ayrıca trakeya'daki hava akım hızının memelilere göre dört kat yavaş olması, akciğerlerde gaz değişim hızının dört kat fazla olmasıyla telafi edilir. Hava akışına trakeyal direnç memelilerinkine benzerdir, fakat trakeyal ölü alanın hacmi yaklaşık 4.5 kat büyüktür. Kuşlar da nispeten daha büyük tidal volüm ve daha düşük solunum frekansına sahip olmasıyla büyük olan trakeyal ölü alan kompanse edilir ve yaklaşık memelilerdekinin üçte biridir. Bu iki faktör ventilasyonda büyük trakeyal ölü alan hacminin etkisini azaltır. Böylece, önemsiz trakeyal ventilasyon memelilerdekinin sadece yaklaşık 1.5-1.9 katıdır (5).

2.2. TRAKEYANIN HİSTOLOJİSİ

Trakeya'nın duvarı içten dışa doğru mukoza, kıkırdaklar ve adventisya katmanlarından oluşur (2, 7, 8).

2.2.1. Tunika Mukoza

Tunika mukoza lamina epiteliyalis, lamina propriya ve submukoza alt katmanlarına sahiptir.

2.2.1.1. Lamina Epiteliyalis

Kanatlılarda trakeya'nın mukozal tabakası, kinosilyumlu yalancı çok katlı prizmatik epitel (respiratorik epitel) ile örtülüdür. Memelilerden farklı olarak epitelin içerisinde çok sayıda basit alveolar müköz bezler bulunur (3). Trakeyada mukozal epitelin bileşiminde türler arası büyük farklılıklar vardır. Kadeh hücreleri evcil memelilerde (at, inek, koyun, domuz, keçi, köpek ve kedilerde) baskın hücre tipi iken, diğer türlerde seröz hücreler çoğunlukta (2).

Evcil memelilerden kediler ile evcil kanatlılardan kazların solunum yolu epitelleri karşılaştırıldığında, kedilerin solunum yollarında şimdiye kadar tanımlanan 11 hücre tipinin hepsi görüldüğü halde, kazlarda bulunmadığı bildirilmektedir (9). Tavuğun trakeyal epitelinde scanning elektron mikroskopunda mikrovilluslu silyumsuz ve silyumlu olmak üzere iki tip hücrenin, transmission elektron mikroskopunda ise silyumlu hücreler, kadeh ve bazal hücreleri olmak üzere üç hücre tipinin görüldüğü belirtilmektedir (10).

2.2.1.1.1. Silyumlu Hücreler

Lai ve İbrahim (1984), tavukların trakeya epitelinde silyumlu hücrelerin çoğunlukta olduğunu ve bu silyumlu hücrelerin insan ve rattaki hücrelerinkine benzer ultrastrüktürel özellikler

taşıdığını belirtmektedirler (10). Silyumlu hücreler, tavukta 20 µm uzunluğunda, 5-7 µm genişliğinde olan, genellikle bazal yarımaları bazal membrana doğru incelen düzensiz prizmatik şekilli hücrelerdir. Silyumlu hücrelerin etrafında düzensiz bir intersellüler boşluk bulunur ve silyumlu hücreler bu boşlukta bulunan bazal hücrelere bitişiktir. Her bir hücrenin luminal yüzeyinde 5 µm uzunluğunda ve 0.2 µm çapında 100 ile 150 kinosilyum vardır. Silyumlar arasında, yaklaşık 0.1 µm çapında ve 0.5 ile 1.5 µm uzunluğunda dallanma eğiliminde olan mikrovilluslar bulunur. Silyumlu hücreler, silyumsuz hücrelerden daha elektron şeffaf bir sitoplazmaya sahiptir. Bu hücrelerin apikal sitoplazması, çok sayıda mitokondri, endoplazmik retikulum, serbest ribozom, veziküller, multiveziküler cisimcikler, Golgi kompleksi ve tonofilamanlar içerir. Oval şekilli çekirdeğin ekseni hücreninine paralel olup, bazen küçük çekirdekçiklere sahiptir. Kromatin, çekirdek içerisinde genelde homojen dağılım göstermekle birlikte perikromatin dağılımına da rastlanır (10).

2.2.1.1.2. Kadeh Hücreleri

Respiratorik epitelde kadeh hücreleri ya tek tek ya da gruplar halinde silyumlu hücreler arasında bulunurlar (8, 10). Bazal membrandan trakeyanın lümenine kadar uzanan bu hücrelerin büyüklükleri değişebilir (10). Kadeh hücreleri adını karakteristik şekillerinden alırlar. Mukus granülleri ile yüklü geniş bir apikal kısma ve çekirdek içeren dar bir bazal kısma sahip olması nedeniyle hücrenin şekli kadehe benzer. Çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi gibi organellerin hücrenin bazalinde olması ve hücrenin geri kalan kısmının mukus ile dolu, membranla çevrili salgı granülleri içermesi kadeh hücrelerinin polarlanmış bir morfolojiye sahip olduğunu gösterir (8, 11). Kadeh hücreleri çok sayıda müköz granül taşıdıklarından apikal yüzeyleri lumene doğru çıkıntı yapar, bu nedenle silyumlu hücrelerden kolaylıkla ayrılırlar (8). Tavukta kadeh hücreleri diğer hücrelerdekinden daha elektron yoğun, seyrek ve kısa mikrovilluslara sahiptirler. Bu tipik görünüşü taşımayan olgunlaşmamış veya salgısını boşaltmış kadeh hücreleri, daha ince ve prizmatik olup daha fazla mikrovillusa ve aynı zamanda fırçamsı (brush) hücrelerininkine benzer bir yüzeye sahiptir. Kadeh hücrelerinin sitoplazması müköz granüller ve ribozomun varlığından dolayı elektron yoğundur. Müköz granüllerin sayısı ve büyüklüğü değişken olup içerikleri ya ipliksi ya da homojendir. Her bir granül kopuntulu, ince bir membran ile sarılmıştır ve bazen granüller hücrenin yüzeyinde çukurlar ve krater benzeri porlar aracılığıyla trakeyanın lümenine boşaltılır. Kadeh hücreleri, granüller arasında yerleşen çok sayıda mitokondri, Golgi kompleksi, granüllü endoplazmik retikulum, ribozom ve tonofilamanlara sahiptir. Genellikle hücrenin bazalinde bulunan çekirdek, silyumlu hücrelerinkinden daha küçük ve düzensiz olup yumurta biçimindedir, bazen çekirdekçik içerir (10).

Kadeh hücreleri diğer hücre tiplerine farklılaşma özelliğinde olup silyumlu epitel hücreleri için bir progenitor hücre niteliği taşırlar (11).

2.2.1.1.3. Bazal Hücreler

Bazal hücreler bazal mebranın üzerinde bir sıra halinde dizilmiş oval şekilli, trakeyal epitelin yalancı katmanlı görünüşünden sorumlu olan hücrelerdir. Bu hücreler dezmozomlar aracılığıyla silyumlu hücrelerin bazal bölgesine bağlanırlar. Genellikle her bir bazal hücrenin etrafında düzensiz, geniş bir intersellüler boşluk bulunur. Uzun sitoplazmik uzantıları bazal hücrelere uydu görüntüsünü verir. Bazal hücrelerin girinti veya çentik taşıyan çekirdeği büyüktür ve hücrenin tamamını kaplar. Kromatin, yoğun kümeler halinde olup iç çekirdek membranına bitişiktir. Küçük yoğun çekirdekçikler bazen bulunabilir. Bazal hücrelerin sitoplazması çok sayıda ribozom, birkaç mitokondri, granüllü endoplazmik retikulumu, Golgi kompleksi, birkaç lizozom ve tonofilamanlar içerir (10).

2.2.1.2. Lamina Propriya Mukoza

Trakeyanın lamina propriyası, çok sayıda kan damarı ve lenfoid hücreleri içeren yoğun düzensiz bir bağ dokudan oluşur. Bu ince tabakanın altında bol miktarda elastik iplikleri içeren submukoza bulunur. Bu tabaka bir veya iki halka gibi görülen kıkırdak halkalarının perikondriyumlarıyla devam eder (3).

2.2.1.3. Submukoza

Memelilerde, kanatlılardan farklı olarak, submukoza trakeyal bezler içerir (12).

2.2.2. Kıkırdaklar

Trakeya'nın çatısını oluşturan kıkırdak halkaların sağ ve sol yarımları geniş olup, medianlarında birer çentik bulunur. Kıkırdak halkaların geniş kısımları mediadaki çentik aracılığıyla birbiri üzerine geçtiğinden ligamentum anulare'den söz etmek mümkün değildir. Tamamen kapalı bir halka şeklinde olduğu için m. trachealis de bulunmaz (6). Trakeyanın hiyalin kıkırdak özelliğindeki kıkırdak halkaları özellikle yaşla birlikte ventral olarak kemikleşme eğilimindedir. Her bir kıkırdak halka dorsal ve ventralde yalancı daralmalar yaparak kum saati şeklini alır. Her bir kıkırdak biri diğerinden dar olmak üzere ya sağında ya da solunda alternatif halkalara sahiptir. Bir halkanın dar olan kısmı bitişik halkanın geniş olan kısmının içerisine girer (3).

Memelilerde ise kıkırdak uçlar düz kaslardan yapılmış m. trachealis ile kapatılır. Bu nedenle trakeya'nın kıkırdaktan yoksun olan üst duvarına paries membranaceus adı verilir. Kontraksiyonu ile kıkırdak halkanın şeklini değiştiren m. trachealis, etçillerde halkanın uçları

üzerinde, diğer hayvanlarda ise altında yer alır. Trakeyal kasın kontraksiyonu, lumenin çapını azaltır ve daha hızlı hava akışını sağlar. Aynı zamanda öksürük yoluyla larinks'ten yabancı materyalin, mukus veya diğer iritanların atılmasına yardımcı olur (7).

2.3. TRAKEYAL BEZLER

Memelilerde tubuloasiner serömüköz özellikte olan ve submukozada yerleşen trakeyal bezlerin solunum yollarındaki dağılımı ve toplam hacimleri türlere özgü farklılık gösterir. Tavşanda trakeyal bez bulunmazken, farede bezler sadece trakeya ve larinks arasındaki sınırdaki görülürler. Ratta bezler trakeya'nın 3. boyun omuru bölgesinde en yaygındırlar, ancak büyük hayvanlardakinden çok daha seyrekler (13). Kanatlılarda ise bezler intraepitelial konumlu olup basit alveolar özellik taşırlar (3).

Genel olarak, bezlerin yerleşimi trakeyal kasın kıkırdak halkaya bağlanma durumuna göre farklılık gösterir. Çoğu türde bezler, trakeya'nın ventral yüzünde kıkırdak halkalar arasında toplanmıştır. Kası kıkırdak halkaların dış yüzeyine bağlanan karnivorlarda (kedi ve köpek) bezler kasın iç tarafındadır (13). Kedi trakeyasında bezler kıkırdak halkaların merkezinin iç kısmında ya birkaç tane bulunur ya da hiç bulunmaz ve bez asinuslarının çoğu kas tabakasının içindedir. Ancak birkaç bez hem kasın, hem de kıkırdağın dış kısmında bulunabilir. Kedilerde bez hacmi trakeyanın ventral yüzünde dorsal yüzünden daha fazladır (13).

İnsan, keçi ve sığırlarda trakeyalis kası kıkırdak halkaların iç yüzeyine bağlıdır. Kas, halkanın iç tarafına bağlandığı zaman asinusların çoğu kasın dışında bulunur. Ancak, öküzde bezler kas ve epitel arasında uzanır. Bezler kas tabakasının içerisine ya hiç girmemiştir ya da çok az girmiştir. İnsan ve keçide bez asinusları kas tabakasının dışında bulunur (13). Keçide, ventral duvarda bezler, kıkırdak halkalar arasındaki bölgede toplanmıştır. Keçi trakeyasının ilginç bir özelliği bezin dokulardaki yağ hücrelerinin içerisine gömülmüş olmasıdır. Koyunda bezlerin kıkırdak halkalar arasında daha az bulunması ve yağ dokusuyla daha az ilişkili olması dışında bütün yönleriyle keçiye benzemektedir (13).

Farelerin trakeyalarında bez kanalları olmadığı, hamsterlerde ise az miktarda bulunduğu bildirilmektedir (14). Hem ratlarda, hem de kobaylarda trakeyal bezler ventral yüzde, kıkırdak halkalar arasına yerleşmiştir ve dorsal membranöz kısımda bulunmazlar. Sıçanın trakeyasında bez kanalları kıkırdak halkalar arasında ventral yönde tek olarak bulunur. Bezler uzun eksene longitudinal olarak yerleşmiş olup yaklaşık 20 µm derinliğinde yarık şeklindeki oluklara açılır. Kobayların trakeyasında bez kanalları sirküler, yaklaşık 50 µm çapında olup, ratlarda görülen oluktan yoksundur. Kobaylarda bezler trakeyanın üst yarımında kıkırdak halkalar arasında bulunur. Trakeyanın ventral yüzü boyunca alınan kesitler kaudal yönde bez sayısında ve bez büyüklüğünde azalma olduğunu gösterir. Hamsterlerdeki geniş bez

kitlelerine larinks ve trakeya sınırında rastlanır. Fakat küçük bez toplulukları trakeyanın uzunluğu boyunca kıkırdaklar arasında da görülebilir (14).

Öküz, keçi, köpek ve koyunda trakeya'nın yüzey birim alanına düşen bez hacimleri, trakeya'nın ventralinde dorsalinden daha büyüktür. Domuzda bunun tersi durum geçerlidir. Bez akıtıcı kanallarının sıklığı, koyun trakeya'sının dorsal parçasında mm² de % 3, öküz trakeya'sının ventral parçasında % 1.5 olarak bildirilmektedir (13). İnsanlarda bez yoğunluğu trakeyanın dorsal ve ventral duvarında eşittir. Bez yoğunlukları (luminal birim alandaki bezler) trakeyanın büyüklüğü ile artar (13).

Trakeyal bezlerin, trakeya'nın silyumlu yüzeyinde bulunan mukusun büyük bir çoğunluğunu salgıladığı düşünülür. Bu bezler hemen hemen bütün evcil memeli türlerinde trakeya'nın proximal kısmında bol miktarda bulunur (2). Kanatlılarda ise trakeyanın en posterior kısmında ve sirinkste müköz bezlerin yerini müköz kadeh hücreleri almıştır (3). Kedilerde hem kadeh hücreleri, hem de submukozal bezler boldur, kazlarda ise intraepiteliyal konumlu bezler trakeyanın son kısmında azdır. Bunun yerine bol miktarda kadeh hücrelerinin intraepiteliyal bez formu bulunur (9).

Memelilerde submukozadaki bezlerin epitel ile ilişkisini sağlayan akıtıcı kanallarında primer hücre tipleri silyumlu hücreler, mukus salgılayan hücreler ve çeşitli intermediyer hücrelerdir. Bezin tubullerden oluşan proximal bölümü mukus salgılayan hücreleri, asinuslardan oluşan distal bölümü ise seröz salgı hücrelerini içerir. Tubul hücreleri genellikle sülfatlı asit müsinleri salgılar. Seröz hücreler, pek çok hayvan türünde bezlerin başlıca salgı hücreleridir ve salgı ürünleri bazen sülfatlı olmak üzere nötral müsinlerdir (2).

Seröz hücrelerin sulu salgıları, müköz hücreleri yıkar ve lumene verilmeden önce akıtıcı kanallarda müsinler ile karışır. Seröz hücrelerin bu salgıları submukozal savunmanın önemli bileşenleri olan antioksidanlar ve antimikrobiyeller bakımından zengindir. Seröz hücreler, lizozim ve laktoferrin gibi çok sayıda bakterisidal protein salgılar (15). Bu proteinleri üreten seröz hücreler, küçük, yoğun göze çarpan granüllere ve çok sayıda granüllü ER içeren sitoplazmaya sahiptirler. Oysa müköz hücreler primer olarak müsin salgırlar. Asinuslar ve tubuller miyoepitel hücreleri tarafından kuşatılmıştır. Miyelinsiz sinir telleri ve sinir sonlanmaları genellikle submukozal bezlerin salgı ünitelerine bitişiktir. Bezlerin etrafında lenfositler, plazmositler, granüllü lökositler ve mastositler bulunabilir (2).

Memelilerde submukozal bezlerin gelişimi prenatal dönemde başlar ve ilk olarak kıkırdak üzerinde şekillenir. Postnatal dönemde gelişim devam eder ve önce müköz hücreler farklılaşır (16).

Tavuklarda intraepitelial alveoler müköz bezler, ilk olarak 17 günlük embriyolarda solunum sisteminin bütün bölgelerinde gözlenir. Müköz hücreler de 17 günlük embriyolarda farklılaşmaya başlar. Kuluçkanın 18. ve 19. gününde hücrenin bazal ve lateral yüzlerine paralel uzanan granüllü endoplazmik retikulumun sisternalarının sayısında da artış görülür. 19. güne kadar müköz hücrelerin sentral ve apikal bölgeleri veziküller ile doludur ve bu aşamada müköz hücreler erişkinlerdekine benzerdir. Müköz bezlerin hücreleri tipik mukus salgılayan hücreler olup, çok sayıda yuvarlak vakuol ile dolu köpüklü bir sitoplazmaya ve bazalde yerleşmiş birer çekirdeğe sahiptirler (17, 18).

2.4. RESPIRATORİK MUKOZANIN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Solunum yolu epitelinin en önemli fonksiyonu mukosilyer temizlemedir. Bu önemli fonksiyon hem solunum yolu mukusunun fizikokimyasal özelliklerine, hem de kinosilyumların aktivitesine bağlıdır. Mukus, solunum yolu epitelinin kadeh hücreleri ve mukozal bezlerin müköz hücreleri tarafından salgılanır (19-21). Kadeh hücreleri ve intraepitelial veya submukozal bezler omurgalıların solunum sisteminin tamamında bulunur. Mukus, yaklaşık % 95'i su ve % 5'i protein, karbonhidrat, lipid ve inorganik maddelerden oluşan visköz bir sıvıdır (22). Solunum sistemini kimyasal zararlılara karşı koruma, küçük mikroorganizmaların yakalanması ve eliminasyonu gibi birçok fonksiyona hizmet eder. Mukus, kinosilyumun gevşeme ve vurma hareketlerinin olduğu perisiliar tabaka olarak bilinen sulu sol tabaka, hipofaz (7-10 µm) ve kinosilyumun uç kısımlarının üzerinde uzanan daha yüzeysel jel tabaka, epifaz (0.5-2 µm) olmak üzere iki fazlı bir yapıdan oluşur (19, 23). Mukus jel, bakteriler için bir bariyer olarak işlev görür. Bakteriler ona yapışır ve daha sonra çoğalır (22).

Mukusun temel bileşeni olan müsinler (20, 22, 24) veya O-glikosilatlı moleküller, disülfid bağlı alt ünitelerin ya da bir kaç mikron uzunluğundaki polimerik yapıların birleşmesiyle oluşurlar (22). Tipik müsin monomeri çubuk şekillidir ve amino asitlerin homojen olmayan bir kompozisyonuna sahiptir. Birçok tipte O-bağlı oligosakkaridler, şeker zincirini oluşturan ve dolayısıyla ihtiyaç duyulan özellikte protein veren serin, threonin ve prolin gibi amino asitlere bağlanır. Müsinler önemli ölçüde su tutar ve böylelikle mukus elastik, visköz özellik kazanır. Ayrıca şeker tabakası, proteini proteolizise dirençli hale getirir (22).

Müsinler, epitel hücreleri (epitelial müsinler), fibroblast ve mast hücreleri gibi bazı bağdoku hücrelerince de (bağdoku müsinleri) salgılanırlar (24). Epitelial müsinler hidrofobiktir ve çeşitli makromoleküller ile ilişkilidirler ki, bu makromoleküllerin kalite ve sayısı mukusun fizikokimyasal özelliklerini de etkileyebilir. Epitelial müsinlerin salgısı, birçok yangı

ajanlarını kapsayan çeşitli faktörler tarafından stimüle edilir (25). Solunum yolu müsinleri, salgı ve membran ile ilişkili form olmak üzere ikiye ayrılır. Salgı formları, salgı hücreleri tarafından sentezlenir, depolanır ve hücrenin apikal yüzeyinden eksositoz yoluyla dışarı atılır, böylece mukus jelin şekillenmesine yardım eder. Membran ile ilişkili formları ise plazma membranına bağlanır (26). İnsanlarda MUC 1, MUC 2, MUC 3, MUC 4, MUC 5AC, MUC 5B, MUC 6, MUC 7 ve MUC 8 olmak üzere dokuz ayrı müsin geni saptanmıştır (27). İnsan müsin genleri MUC, fare müsin genleri Muc ve rat müsin genleri ise rMuc ile gösterilir (28). Respiratorik epitelde, MUC 1, MUC 2, MUC 4, MUC 5AC, MUC 5B, MUC 7 ve MUC 8 müsin genleri bulunur (27). Bugüne kadar yapılan analizlerde epiteliyal müsinlerin, serin ve threonin gibi amino asitlerin birbiri ardı sıra dizilmesi sonucu oluşan bir glikoprotein olduğu saptanmıştır. MUC 1 sadece membran ile çevrilmiş bir epiteliyal müsinidir. MUC 2, MUC 5AC, MUC 5B ve MUC 6 gibi müsin genleri mukusun gel tabakasını oluşturur ve bunların amino- ve karboksil uçları sisteinden zengindir (28).

Respiratorik epitel, nötral, sialo ve sülfatlı müsinleri içerirler. Bu müsinlerin çeşitliliği hayvan türlerine göre farklılık gösterir (25). Müsinlerde anyonik (asidik) grupların bulunması mukusun fiziksel ve infeksiyöz ajanlara bağlama özelliklerini etkiler (23). Müsinlerin bileşiminde hastalıklara bağlı olan şekillenen değişiklikler hakkındaki bilgiler sınırlı olup bu değişikliklerin biyolojik rolleri tam olarak bilinmemektedir (29).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çiftliğinde üretilen yumurtalardan çıkıştan itibaren bir, 7, 14, 21, 28, 35, 42 ve 60 günlük, her bir yaş grubundan 10 adet olmak üzere toplam 80 adet sağlıklı erkek bıldırcın kullanıldı. Bıldırcınlar eter ile anestezi edildikten sonra trakeya total olarak çıkarıldı. Trakeyanın larinksten başlamak üzere sirinkse kadar olan bölümüne ait doku parçaları formol-alkol'de 24 saat tespit edildikten sonra sırasıyla % 96'lık alkol, % 100'lük alkol, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek paraplastta bloklandı. Hazırlanan bloklardan 6 µm kalınlığında seri kesitler alınarak, bu kesitlere aşağıdaki boyama yöntemleri uygulandı:

- 1. Üçlü boyama yöntemi:** Genel yapıyı belirlemek amacıyla kullanılan bu boyama yöntemiyle boyanan preparatlarda aynı zamanda oküler mikrometre ile epitelin kalınlığı ölçüldü.
- 2. Best's Carmin boyama yöntemi:** Trakeyal bezlerdeki glikojeni belirlemek için uygulandı.
- 3. PAS boyama yöntemi:** Glikojen ve diğer periodate reaktif karbonhidratları göstermek için uygulandı.
- 4. PAS-diyastaz boyama yöntemi:** Glikojenin varlığını saptamak için kullanıldı.
- 5. Alcian Blue (pH 2.5) boyama yöntemi:** Trakeyal bezlerdeki asit münisleri belirlemek amacıyla kullanıldı.
- 6. Alcian Blue (pH 2.5)-PAS boyama yöntemi:** Trakeyal bezlerdeki nötral ve asit münisleri ayırt etmek için kullanıldı.

7. Alcian Blue (pH 2.5)-Aldehyde Fuchsin boyama yöntemi : Trakeyal bezlerdeki karboksilli ve sülfatlı asit m sinleri saptamak için uygulandı.

8. Phenylhydrazine-PAS boyama yöntemi: Trakeyal bezlerdeki nötral müsinler ve periodate reaktif asit m sinleri ayırt etmek için kullanıldı (24).

Boyanmış preparatlarda Őu incelemeler yapıldı:

Kuluçkadan çıkıştan itibaren her bir yaş grubuna ait trakeya epitelinin ve intraepiteliyal bezlerin genel histolojik özellikleri, bezlerin trakayanın seyri sırasındaki yerleşimleri saptandı.

  l  boyama metodu ile boyanan preparatlarda epitelin kalınlığının  l lmesinde cetvel taksimatlı oküler mikrometre kullanıldı. Her objektif büyütmesi için mikrometrik lam yardımıyla, oküler mikrometredeki her bir çizgi arasının kaç mikron olduğu belirlenerek bir indeks çıkarıldı (30). Trakeya epitelinin ölümü 40 objektif büyütmesinde gerçekleŐtirildi.

Kanatlılarda trakeyal halkalar tamamen kapalı bir halka Şeklinde olup ve her bir kıkırdak, biri diğerinden dar olmak üzere ya sağında ya da solunda alternatif halkalara sahiptir. Bir halkanın dar olan kısmı bitişik halkanın geniş olan kısmının içerisine girer. Trakeyanın belirtilen anatomik yapısı gereği her yaş grubundaki her bir hayvanda hem kıkırdakların eklemleŐtiđi bölgelerde, hem de kıkırdaklar üzeri bölgede olmak üzere en az 10'ar farklı noktada ölümler gerçekleŐtirildi. Bunların ortalama değerleri alınarak her bir hayvan için tek değer elde edildi.

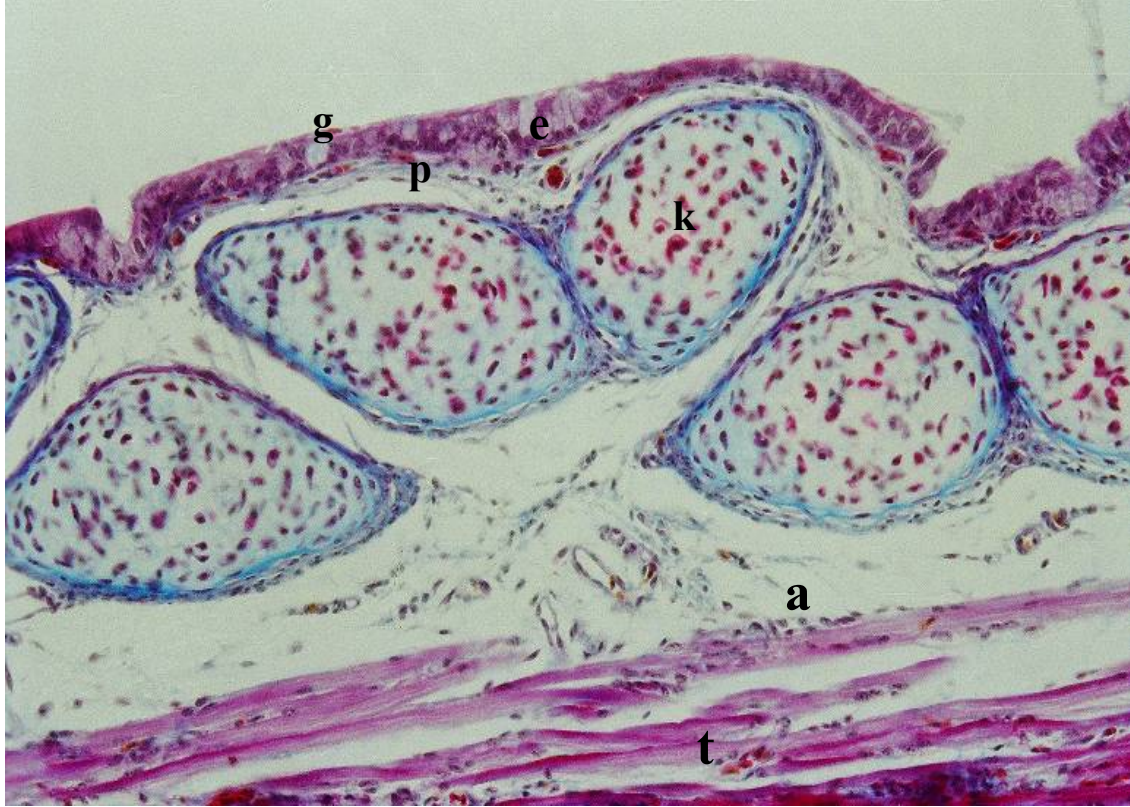
Bilgisayarda SPSS istatistik programında nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi uygulanarak kıkırdak üzeri ve kıkırdakların birbirine geçtiği bölgelerdeki epitel kalınlığının hem yaşa göre, hem de incelenen bu bölgelere göre farklı olup olmadığı analiz edildi. Ayrıca, Mann-Whitney U testi kullanılarak da ortalama değerler arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olup olmadığı araŐtırıldı.

M sinlerin tipleri ve bezlerdeki lokalizasyonları histokimyasal olarak belirlendi ve yaşlara göre m sin içeriğinde değişim olup olmadığı ortaya kondu.

4. BULGULAR

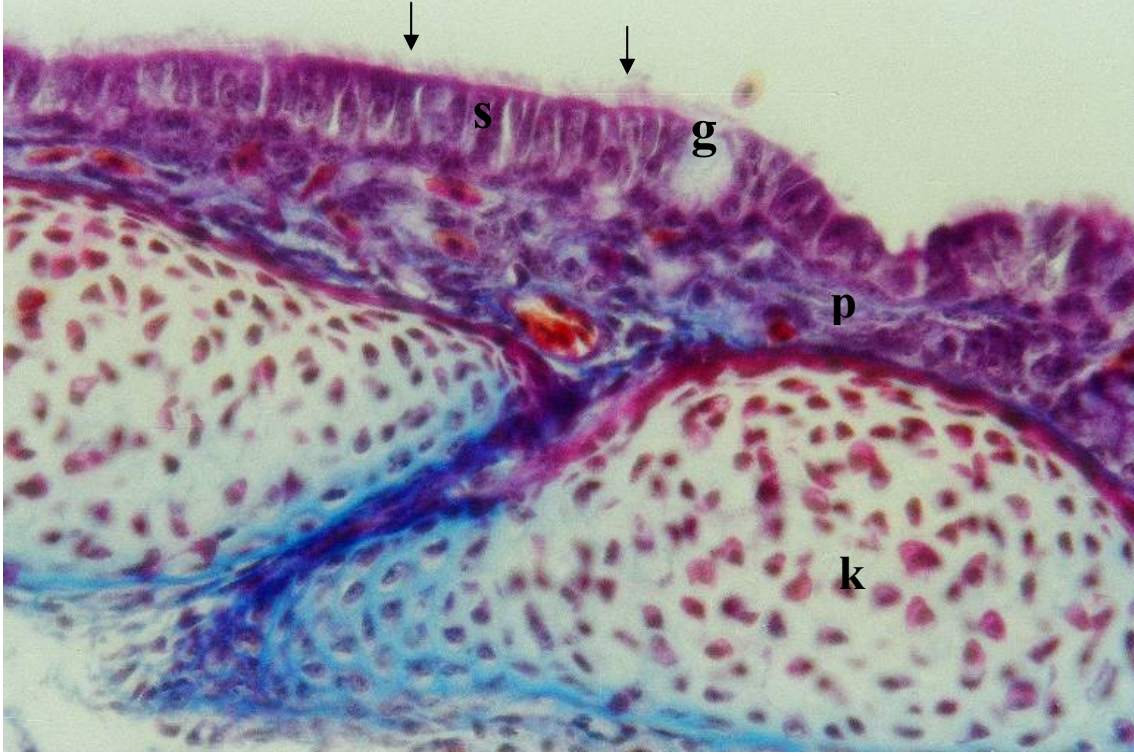
4.1. TRAKEYANIN YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Yumurtadan çıkışın birinci gününden 60. gününe kadar olan dönemde bıldırcınların trakeyaları incelendiğinde, duvarının mukoza, kıkırdaklar ve adventisya katmanlarından oluştuğu tespit edildi. Mukozanın lamina epiteliyalisi yalancı çok katlı prizmatik özellikte olup silyumlu hücreler, kadeh (silyumsuz) hücreleri ve bazal hücreleri içermekteydi (Şekil 1).



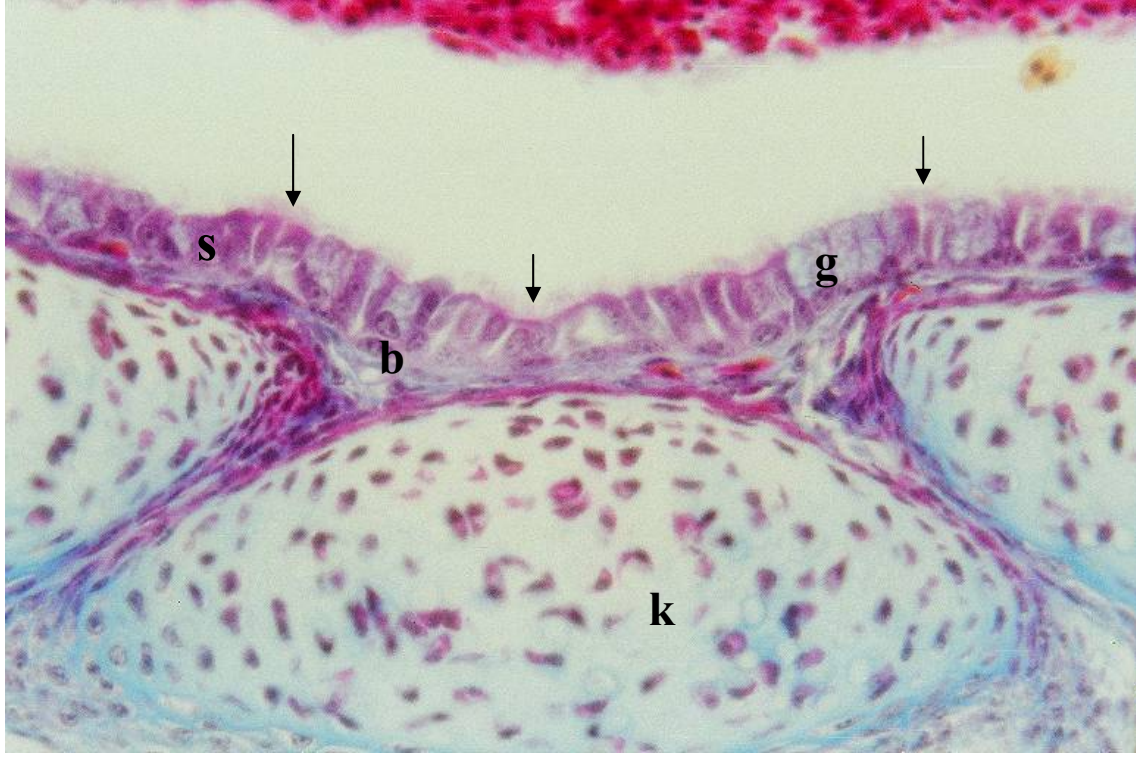
Şekil 4.1. Bir günlük bıldırcınların trakeyasının boyuna kesitteki görünümü, lamina epiteliyalis (e), kadeh hücresi (g), lamina propriya (p), kıkırdak halkalar (k), adventisya tabakası (a), m. trachealateralis (t), boyuna kesit, triple X 33.

Bir günlüklerden itibaren yaşın ilerlemesiyle kadeh hücresinin sayısının arttığı belirlendi. Asidofilik sitoplazmalı, prizmatik şekilli silyumlu hücrelerin bazal bölümlerinin apikal bölümlerinden daha ince olduğu ve apikal yüzeylerinde kinosilyum taşıdığı görüldü. Kinosilyumlar yaklaşık 4.8-6 mikron uzunluğa sahipti. Hücrenin genelde orta bölümünde yer alan ve bir ya da bazen iki çekirdekçik içeren, yuvarlak veya oval biçimli çekirdeği ökromatik özellikteydi (Şekil 2).



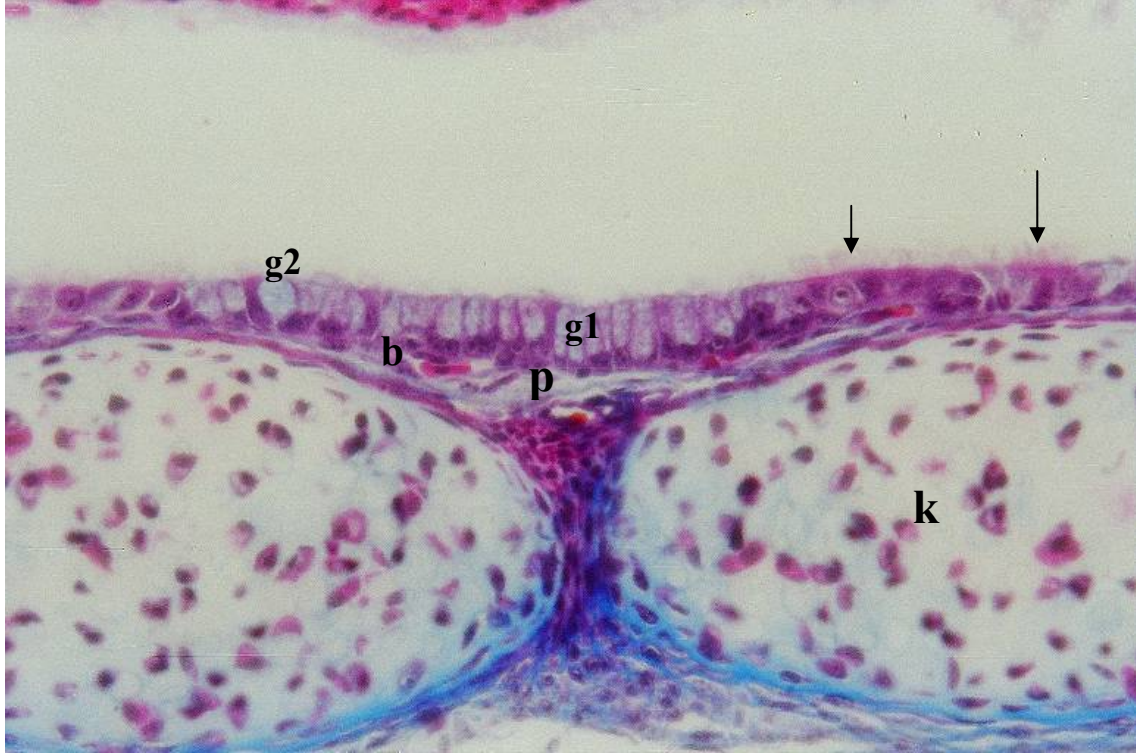
Şekil 4.2. Bir günlük bıldırcınlarda trakeyanın epiteli, silyumlu hücreler (s), kadeh hücresi (g), lamina propriya (p), kıkırdak halkalar (k), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.

Bazal hücreler, bazal membran üzerinde, silyumlu hücrelerin ince olan bazal bölümleri arasında yer alan oval biçimli ve az sitoplazmalı hücrelerdi. Ökromatik çekirdekleri oval veya yuvarlak olup bir çekirdekçik içermekteydi (Şekil 3).

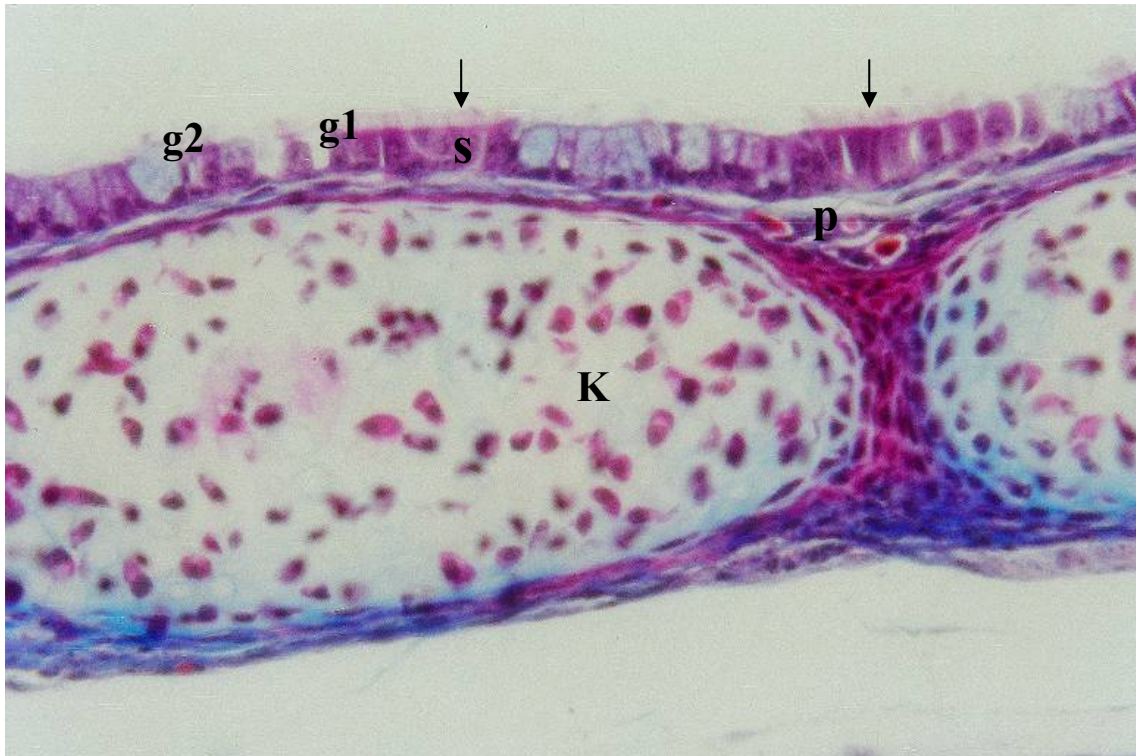


Şekil 4.3. Bir günlük bıldırcınlarda trakeya epiteli, silyumlu hücreler (s), kadeh hücresi (g), bazal hücreler (b), kıkırdak halkalar (k), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.

Üçlü boyama yapıldığında, bir günlük bıldırcınlarda kadeh hücreleri veya silyumsuz hücrelerin yapısal özelliklerine göre iki tipi ayırt edildi. Bunlardan, silyumlu hücrelerden daha geniş olan, sitoplazmaları boya almayan, birer çekirdekçik içeren ökromatik ve oval çekirdekli prizmatik biçimli hücreler, olgunlaşmamış veya salgılarını boşaltmış kadeh hücreleri olarak tanımlandı. Vakuoler bir görünüm sergileyen, müköz özellikte olan, düzensiz oval biçimli, bazalde yerleşen heterokromatik çekirdeğe sahip hücreler ise salgı yapmakta olan olgun kadeh hücreleri olarak nitelendirildi (Şekil 4-5).

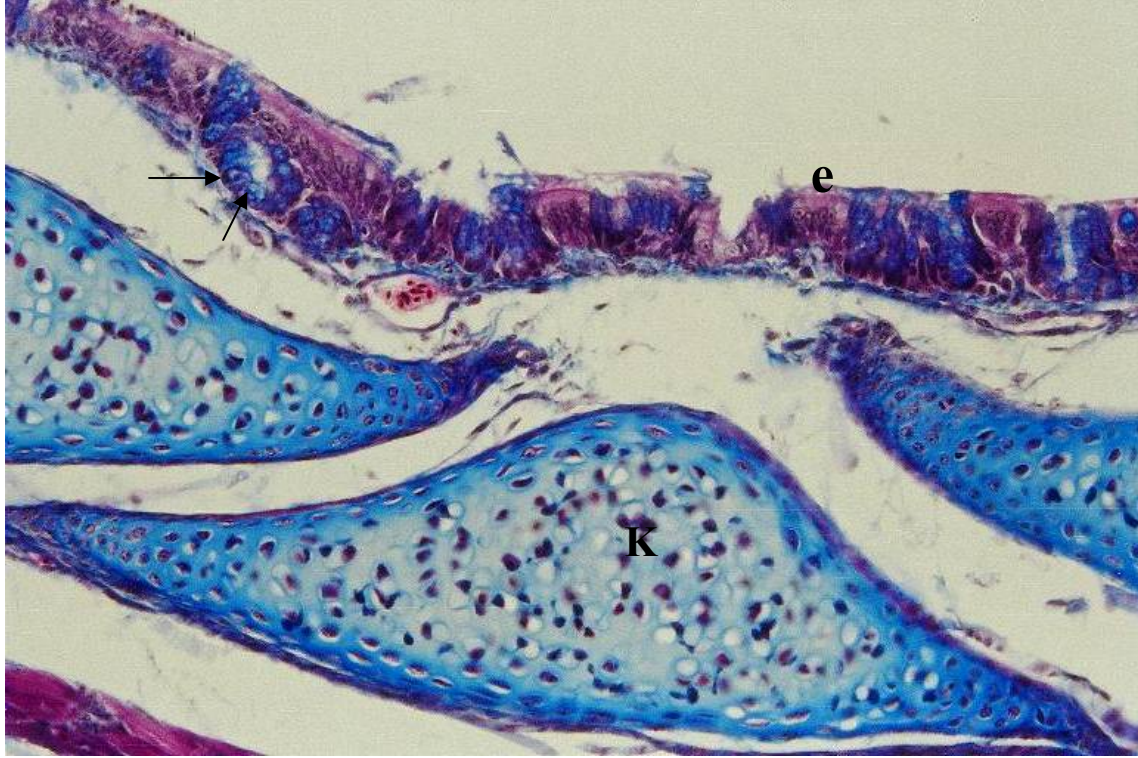


Şekil 4.4. Bir günlük bildircinlarda trakeya epitelinde kadeh hücreleri, silyumlu hücreler (s), olgunlaşmamış kadeh hücresi (g1), olgun kadeh hücresi (g2), lamina propriya (p), bazal hücreler (b), kıkırdak halkalar (k), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.



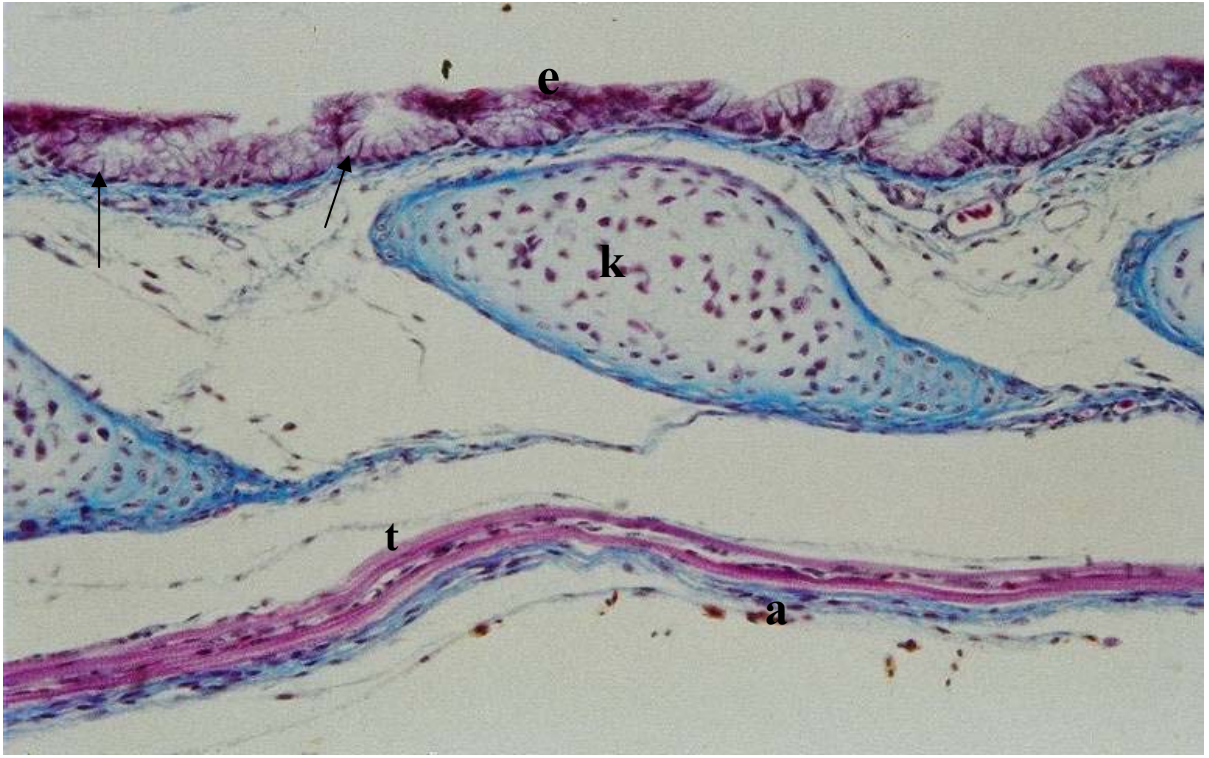
Şekil 4.5. Bir günlük bildircinlarda trakeya epitelinde kadeh hücreleri, silyumlu hücreler (s), olgunlaşmamış kadeh hücresi (g1), olgun kadeh hücresi (g2), lamina propriya (p), kıkırdak halkalar (K), kinosilyumlar (oklar), boyuna kesit, triple X 66.

Tüm yaş gruplarında epitelde, müköz özellikteki kadeh hücrelerinin tek tek dizilerek unisellüler veya gruplar yaparak multisellüler bezleri şekillendirdiği görüldü. Multisellüler özellikte olanların ya 3-5 adet hücreden oluşan gruplar halinde dizilmiş kadeh hücreleri şeklinde ya da lamina propriyaya doğru hafif çöküntü yapan intraepitelyal alveolar bez yapısında olduğu tespit edildi. Gruplar halindeki kadeh hücreleri genelde lumene paralel ve düz bir yüzey oluşturacak şekilde dizilmişti (Şekil 6).



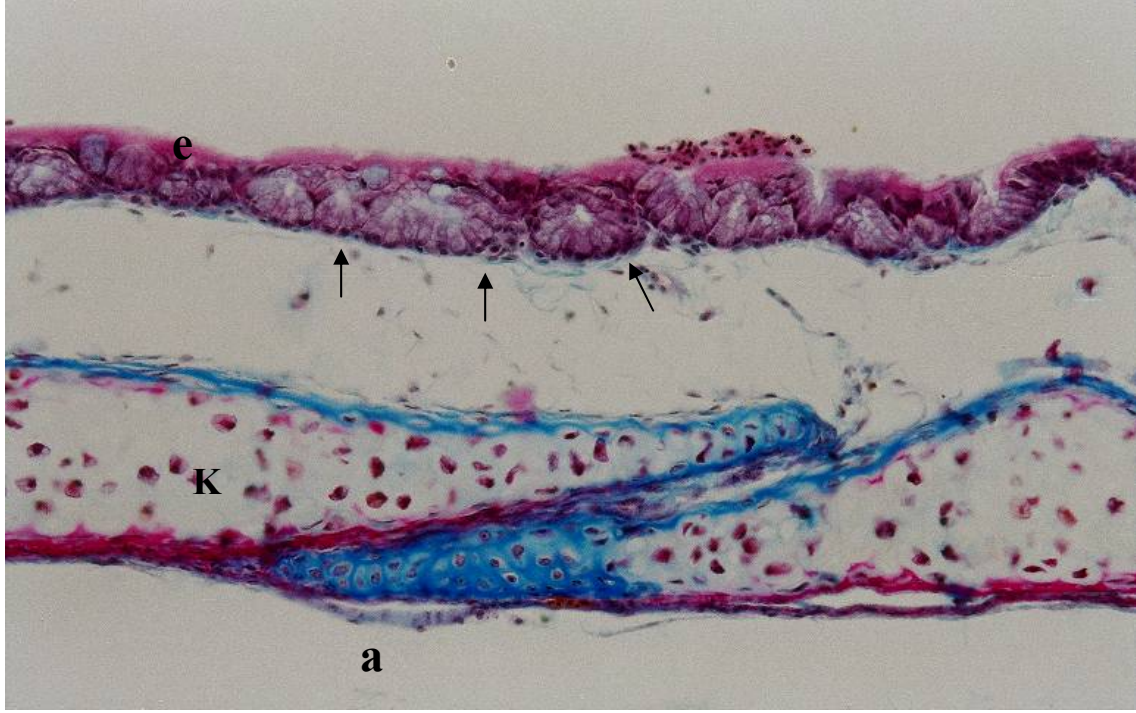
Şekil 4.6. 14 günlük bıldırcınlarda kadeh hücrelerin görünümü, lamina epitelyalis (e), intraepitelyal alveolar bez (ok), kıkırdak halkalar (K), boyuna kesit, triple X 33.

Bir günlük bıldırcınlarda unisellüler bez niteliğindeki kadeh hücrelerinin multisellüler özelliktekilere kıyasla daha fazla olduğu dikkati çekti. İntraepitelyal yerleşimli alveolar bezlerin, 7 günlükten itibaren yaşın ilerlemesine paralel olarak sayılarının arttığı tespit edildi. Bezleri oluşturan müköz karakterdeki hücrelerin, yassı oval ve ökromatik birer çekirdeğesahip oldukları gözlemlendi (Şekil 7).



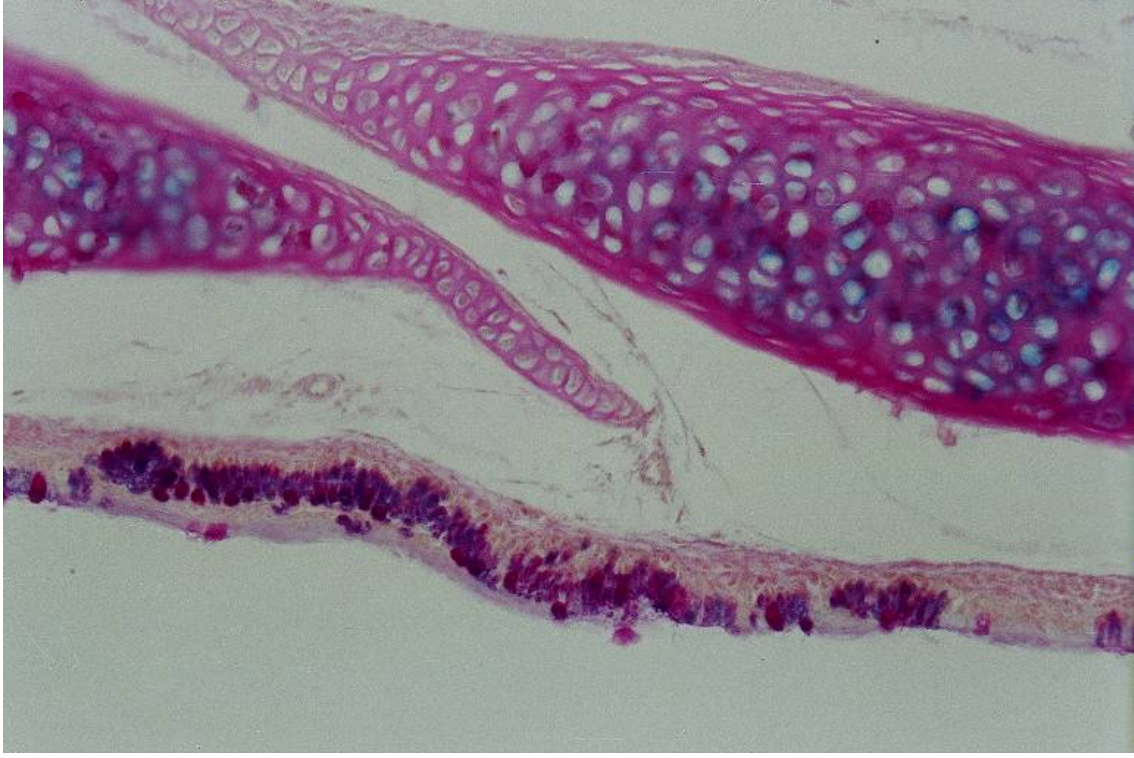
Şekil 4.7. 7 günlük bıldırcınlarda intraepitelyal alveolar bezler (oklar), lamina epitelyalis (e), kıkırdak halkalar (k), m. trachealateralis (t), adventisya (a), boyuna kesit, triple X 33.

28 günlükten itibaren epitelin özelliklerinin pek değişiklik göstermediği ve erişkindeki özelliğini kazandığı görüldü. Kıkırdakların üzerini örten epitelde unisellüler ve kadeh hyesi gruplarından oluşan multisellüler bezlerin, kıkırdakların eklemleştiği bölgelerde ise intraepitelyal alveolar bezlerin daha yoğun olduğu belirlendi (Şekil 8).



Şekil 4.8. 60 günlük bıldırcınlarda trakeyal kıkırdakların eklemleştığı bölgeleri örten epitelde intraepitelyal alveolar bezlerin (oklar) yerleşimi, lamina epitelyalis (e), kıkırdak halkalar (K), adventisya (a), boyuna kesit, triple X 33.

Tüm yaş gruplarında intraepitelyal bezlerin yerleşimleri incelendiğinde unisellüler ve multisellüler bezlerin homojen bir dağılım göstermediği (Şekil 9, Şekil 10), trakeyanın özofagusa komşu olan dorsal duvarında daha yoğun buldukları, ventral duvarında biraz daha az sayıda buldukları tespit edildi. Trakeyanın sağ ve sol lateral duvarlarında ise unisellüler ve kadeh hücresi gruplarından oluşan multisellüler özellikteki bezlerin bulunduğu gözlemlendi.



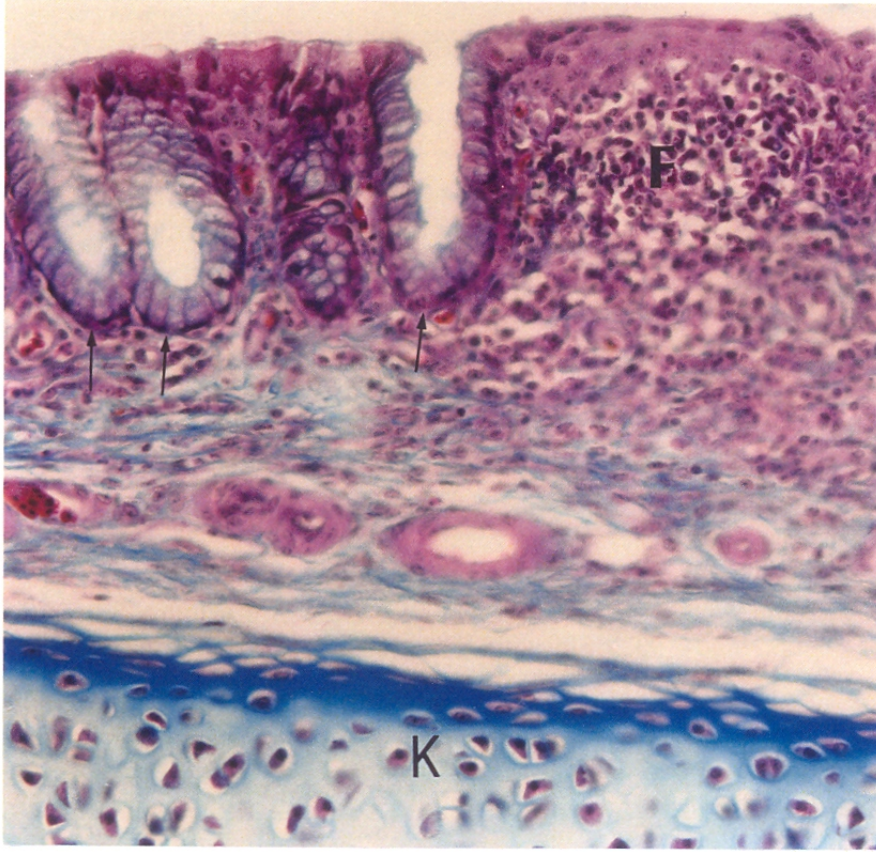
Şekil 4.9. 35 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde unisellüler ve multisellüler bezlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB-PAS X 33.



Şekil 4.10. 60 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde unisellüler ve multisellüler bezlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB-PAS X 33.

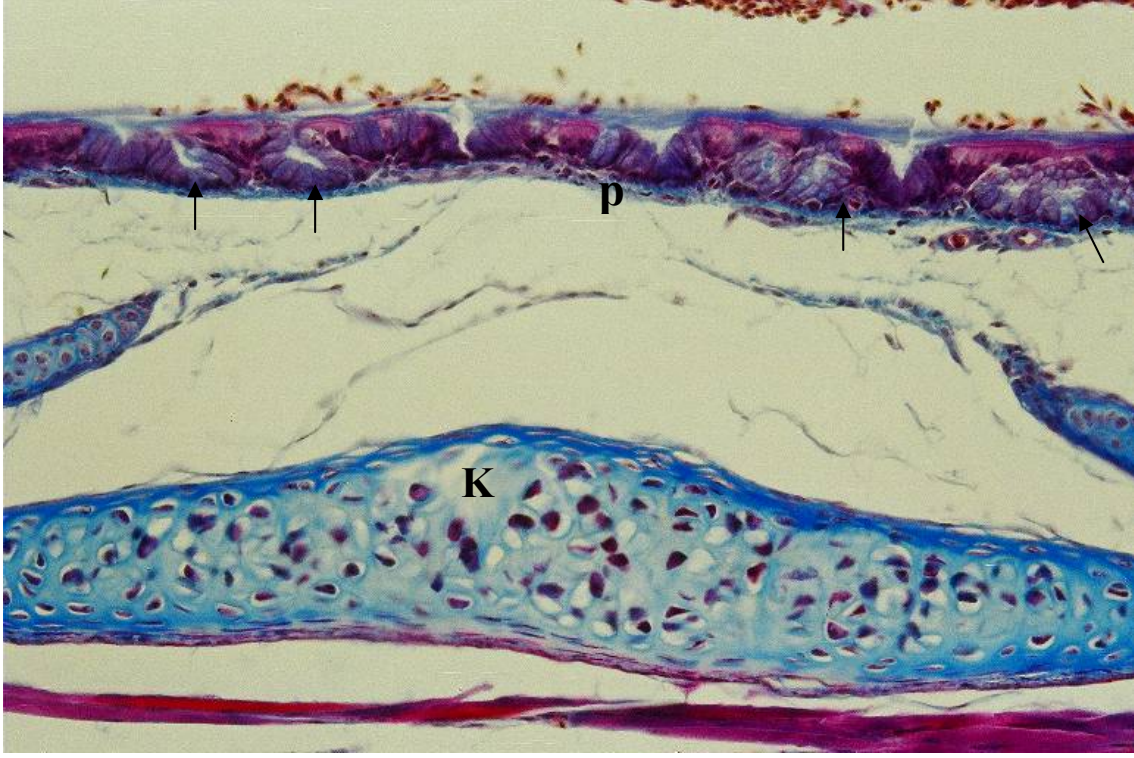
Yumurtadan çıkışın birinci gününde epitelin hemen altındaki lamina propriyanın çok ince kollagen iplikler ile kapillar içerdiği, yaşın ilerlemesine paralel olarak kollagen ipliklerin, bağ

dokusu hücrelerinin ve kan damarlarının arttığı belirlendi. 28 günlükten itibaren lamina propriya içerisinde lenf folikülleri göze çarptı (Şekil 11).



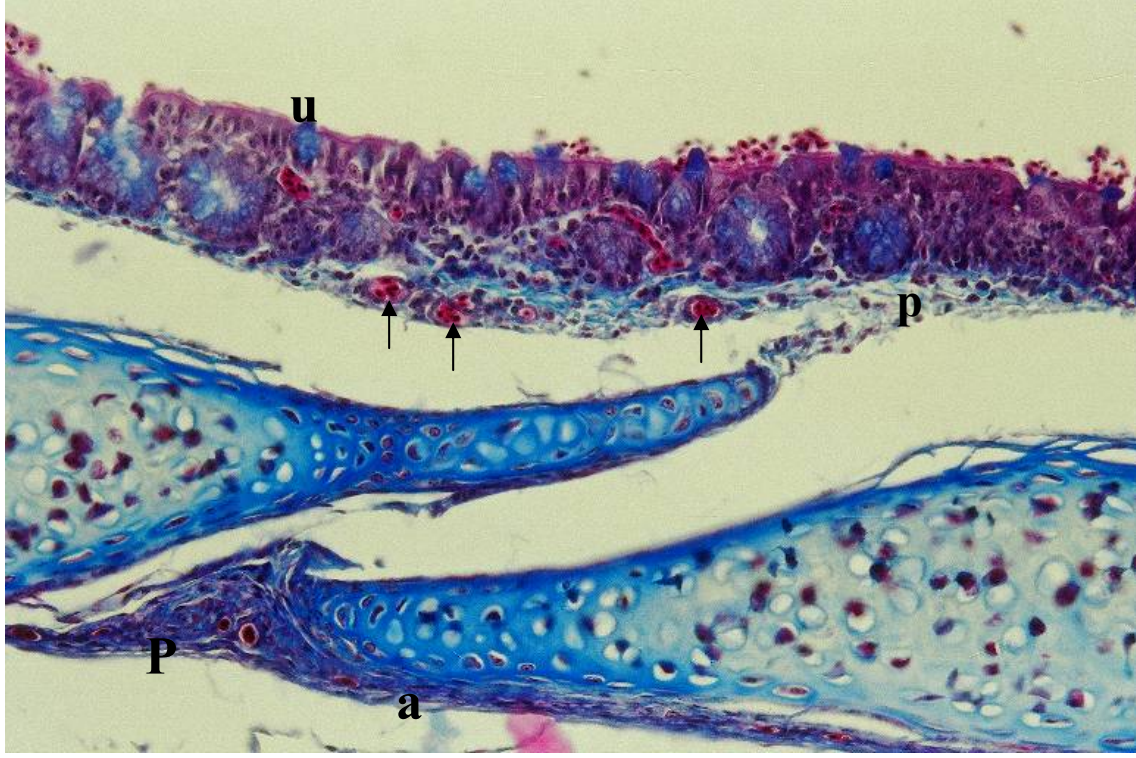
Şekil 4.11. 28 günlük bıldırcınların trakeyasında lenf folikülleri, lenf folikülü (F), intraepitelyal alveolar bezler (oklar), kıkırdak halkalar (K), boyuna kesit, triple X 33.

Trakeyal kıkırdakların perikondriyumlarının submukoza ile karışmış olduğu belirlendi. Trakeyanın uzunlamasına kesitlerinde kıkırdakların eklemleştigi ve birbirine bindigi görüldü. Kıkırdakların eklemleştigi bölgelerdeki submukoza bölümlerinde bol miktarda kan damarına rastlandı. Bir günlük bıldırcınlarda trakeyanın boyuna kesitlerinde kıkırdaklar tipik limon şeklinde iken (Şekil 1), 7 günlüklerden itibaren kıkırdakların kenar kısımlarının incelmeye başladığı ve 28 günlüklerde erişkindeki mekik biçimini aldığı tespit edildi (Şekil 12).



Şekil 4.12. 28 günlük bıldırcınlarda trakeya epiteli ve kıkırdaklar, lamina propriya (p), intraepiteliyal alveolar bezler (oklar), kıkırdak halkalar (K), boyuna kesit, triple X 33.

Kıkırdak halkaların dışındaki, gevşek bağdokudan oluşan adventisya tabakası bol miktarda kan ve lenf damarları ile sinir pleksusları ve yağ hücreleri içermekteydi (Şekil 13).



Şekil 4.13. 35 günlük bıldırcınlarda trakeyanın boyuna kesitteki görünümü, sinir pleksusları (P), lamina propriya (p), adventisya (a), unisellüler kadeh hücresi (u), kılcal damarlar (oklar), boyuna kesit, triple X 33. Adventisya katmanının dışında trakeyanın her iki yanında (lateralde), uzun eksenine paralel seyreden iskelet kası tellerinden oluşan bir kas katmanı (m. trachealateralis) bulunmaktaydı (Şekil 1,7 ve 12).

4.2. TRAKEYA EPİTELİ İLE BEZLERİNİN HİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

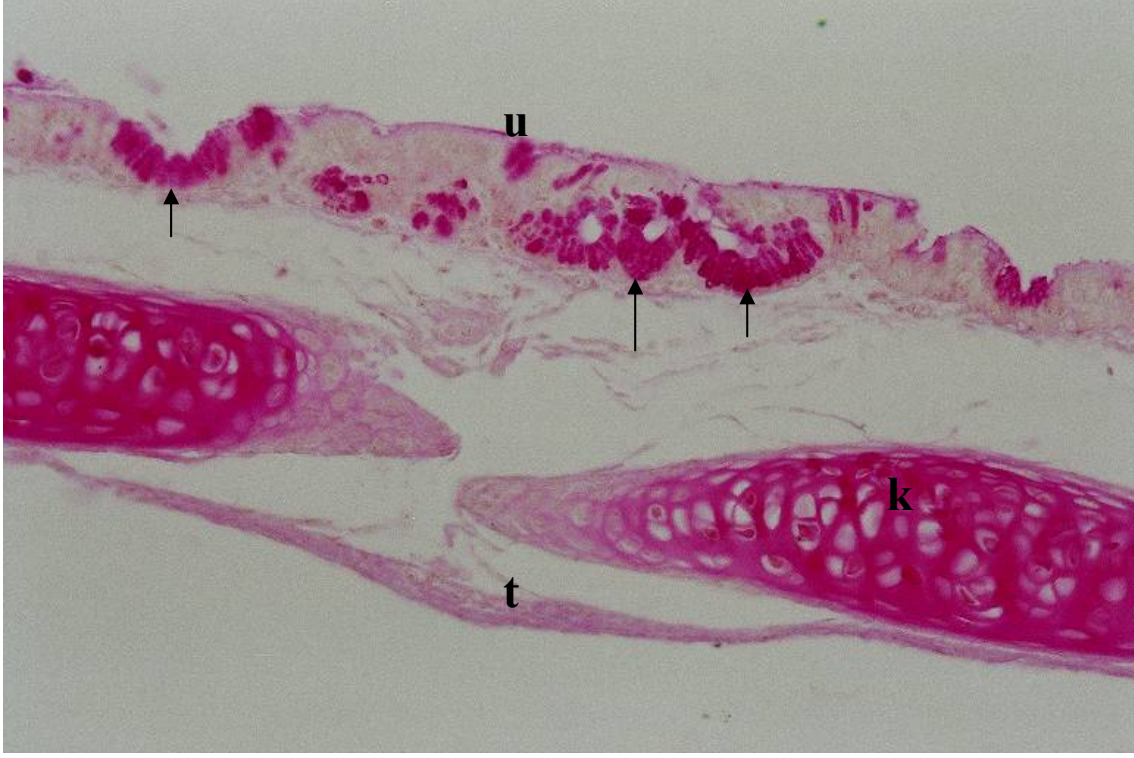
Bütün yaş gruplarında benzer boyanma yoğunluğunda olmak üzere, trakeya epitelinde yer alan üni- ve multisellüler bezleri oluşturan müköz hücreler ile kıkırdağın PAS (+) reaksiyon verdiği (Şekil 14-16), glikojenin varlığını saptamak için PAS-diyastaz boyama yöntemi uygulandığında reaksiyonda belirgin bir azalmanın olmadığı tespit edildi.



Şekil 4.14. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde PAS reaktivitesi, unisellüler bezler (u), multisellüler bezler (oklar), kıkırdak halkalar (k), m. trachealateralis (t), boyuna kesit, PAS X 33.

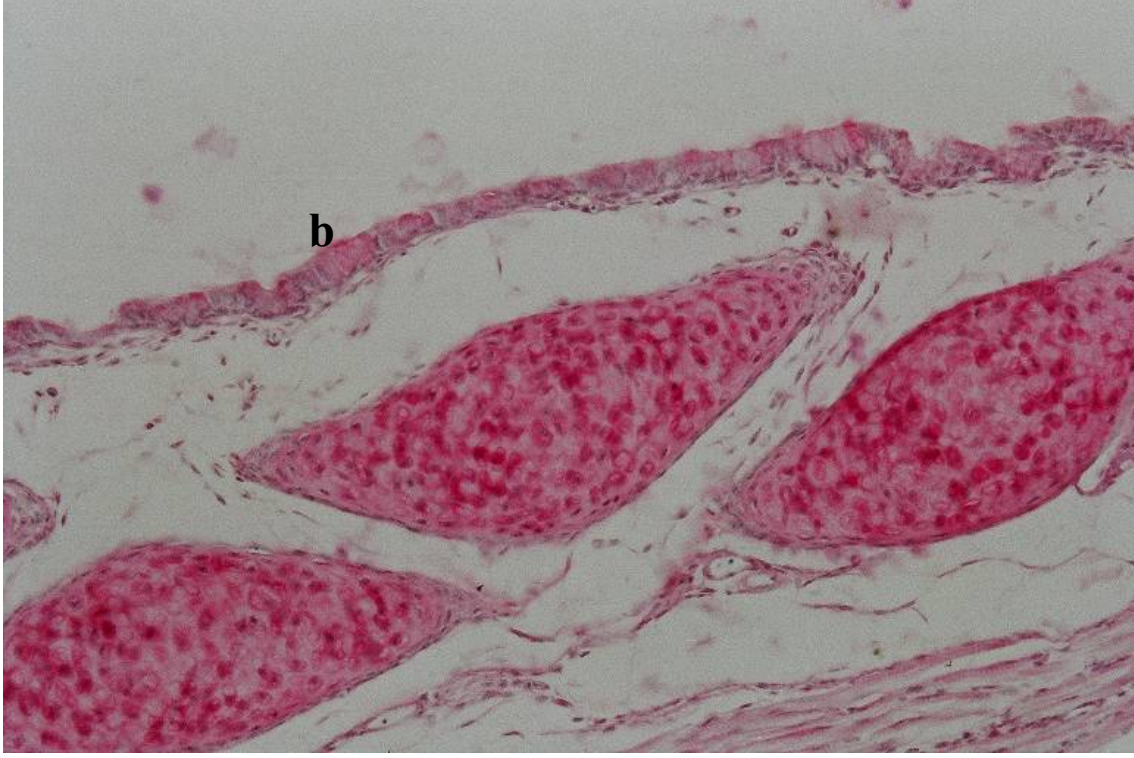


Şekil 4.15. 14 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde PAS reaktivitesi, multisellüler bezler (oklar), boyuna kesit, PAS X 33.



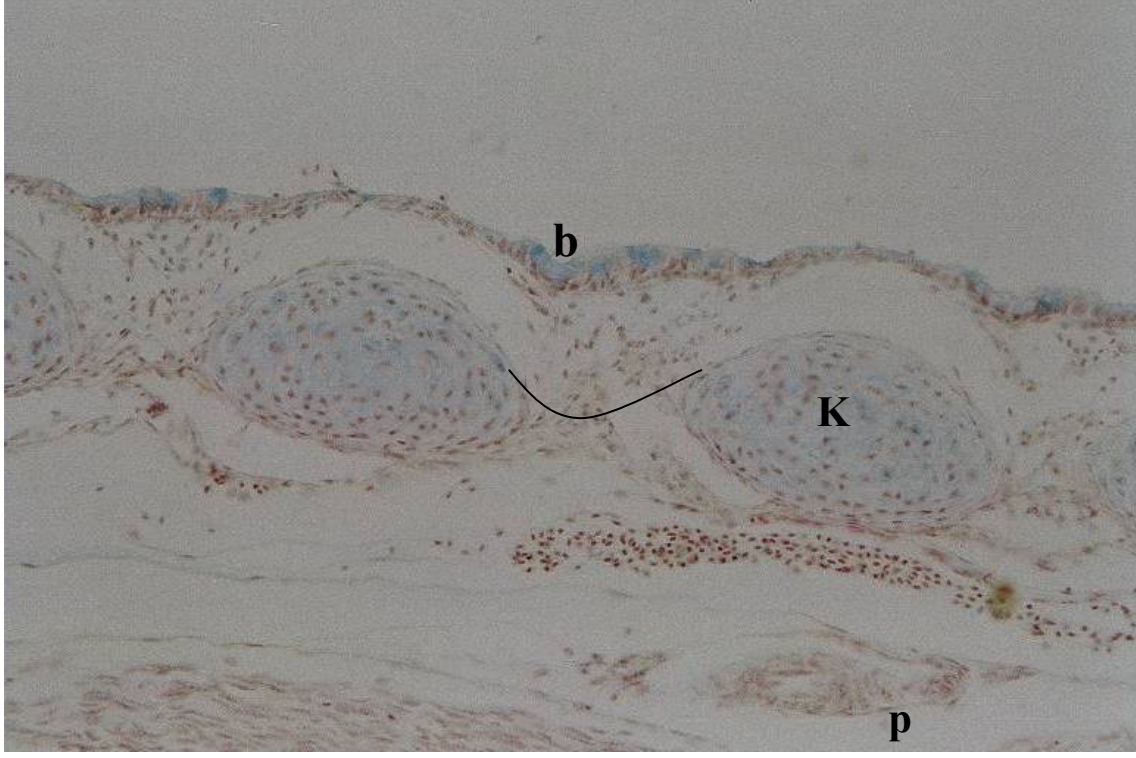
Şekil 4.16. 28 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde PAS reaktivitesi, unisellüler bezler (u), multisellüler bezler (oklar), kıkırdak halkalar (k), m. tracheolateralis (t), boyuna kesit, PAS X 33.

Glikojeni göstermek için ayrıca Best karmin boyama yöntemi uygulandığında, bezlerdeki az sayıda hücrenin reaksiyon verdiği görüldü (Şekil 17).

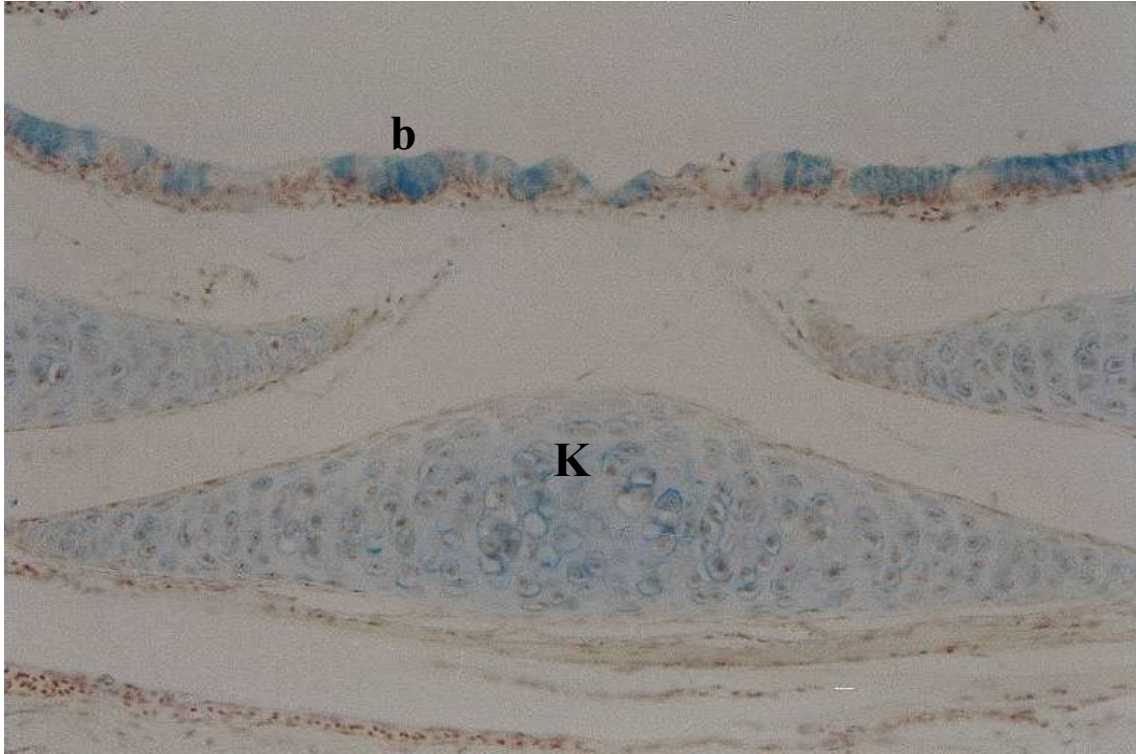


Şekil 4.17. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) Best karmin reaktivitesi, boyuna kesit, Best Carmine X 33.

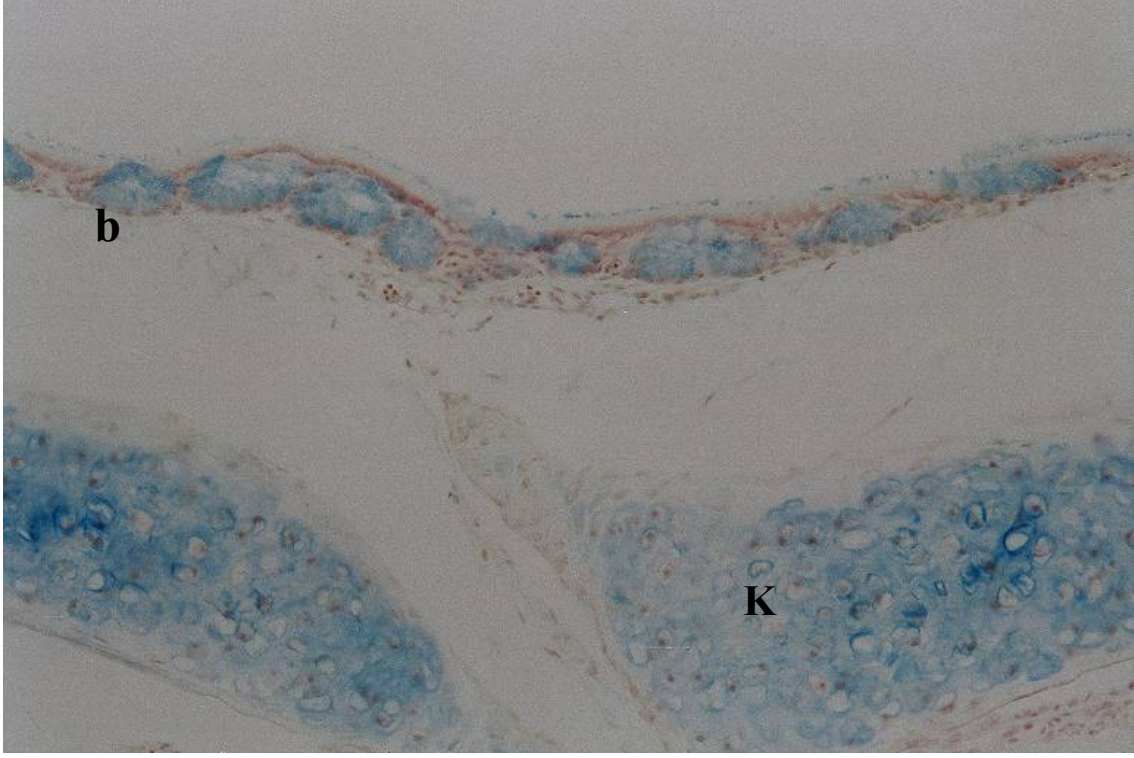
Asit müsinleri belirlemek amacıyla Alcian Blue (AB) (pH 2.5) ile boyama yapıldığında tüm yaş gruplarında üni- ve multisellüler bezleri oluşturan müköz hücrelerin AB (+) reaksiyon verdiği ve reaksiyonun bezlerin sayısındaki yaşa bağlı olarak arttığı görüldü (Şekil 18, 19 ve 20).



Şekil 4.18. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) ve kıkırdaklarında (K) asit münlerin yerleşimi, sinir pleksusları (P), kıkırdaklar arası bölge (parantez), boyuna kesit, AB X 33.

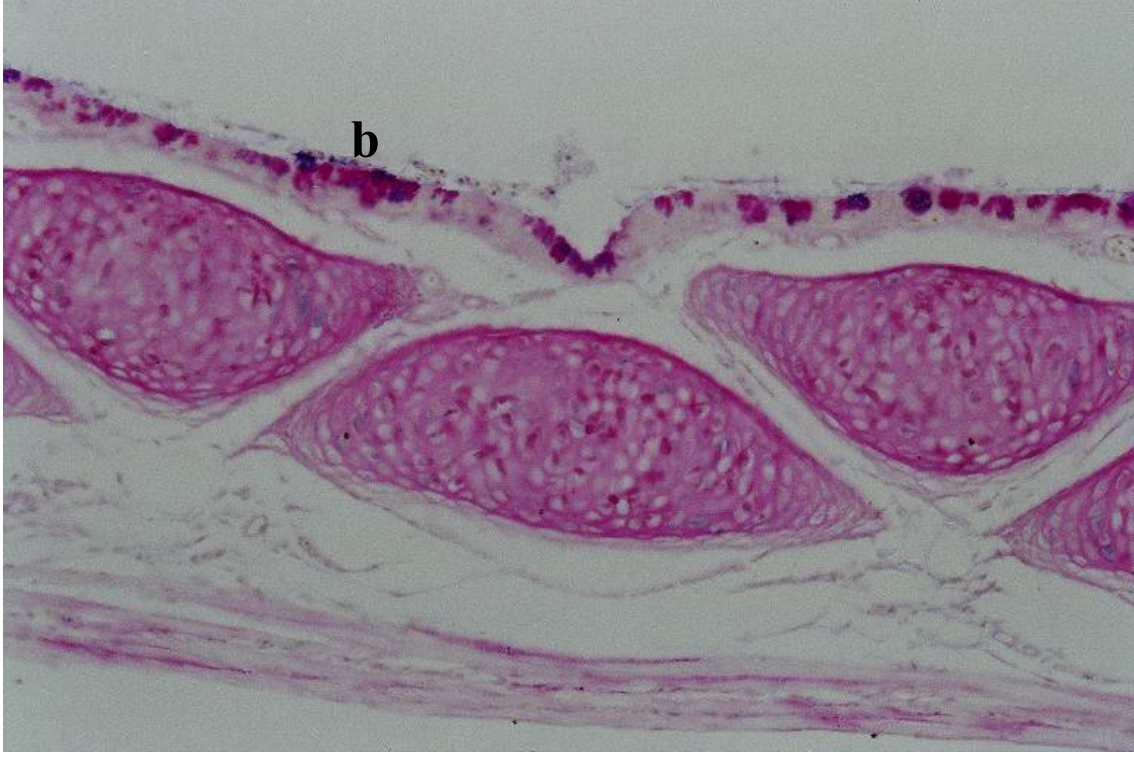


4.19. 14 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) ve kıkırdaklarında (K) asit münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB X 33.



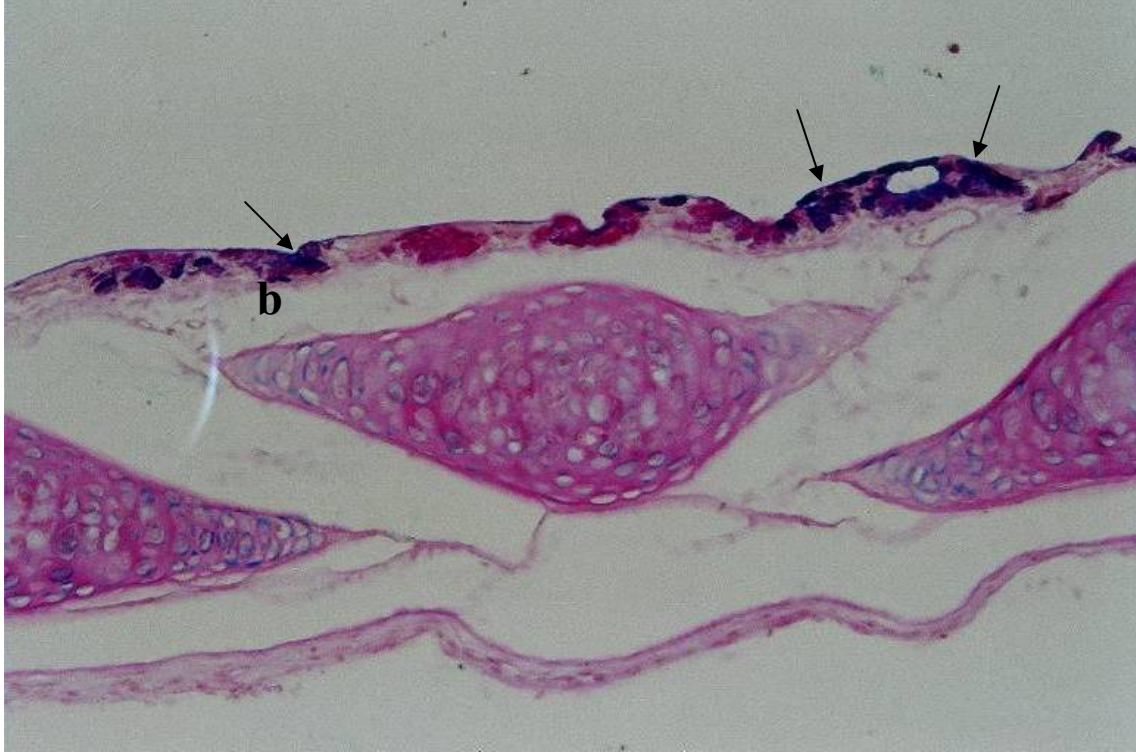
Şekil 4.20. 60 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) ve kıkırdaklarında (K) asit m \ddot{u} sinlerin yerleşimi, boyuna kesit, AB X 33.

Bezleri oluşturan hücrelerdeki asit ve nötral m \ddot{u} sinleri ayırt etmek üzere uygulanan Alcian Blue (pH 2.5)–PAS yönteminde, bir günlük bıldırcınlarda PAS (+) hücre sayısının fazla olduğu, sadece AB (+) reaksiyon veren asit m \ddot{u} sinleri içeren hücrelerin ender olarak gözleendiği belirlendi (Şekil 21).



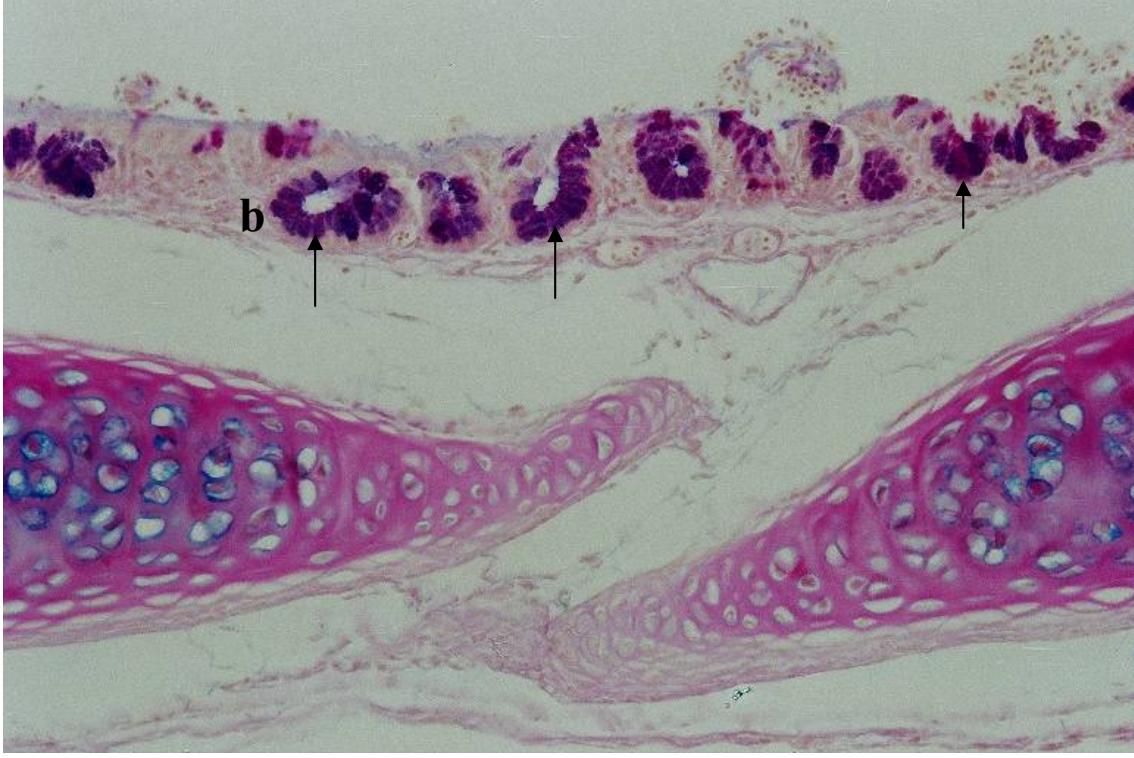
Şekil 4.21. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b) nötral ve asit müsünlerin yerleşimi, boyuna kesit, PAS-AB X 33.

7 günlükten itibaren mavi mor renkte boyanan mikst özellikteki hücrelerin çoğunluğu oluşturduğu ve AB (+) olan hücre sayısının da bir günlüklere göre arttığı gözlemlendi (Şekil 22).



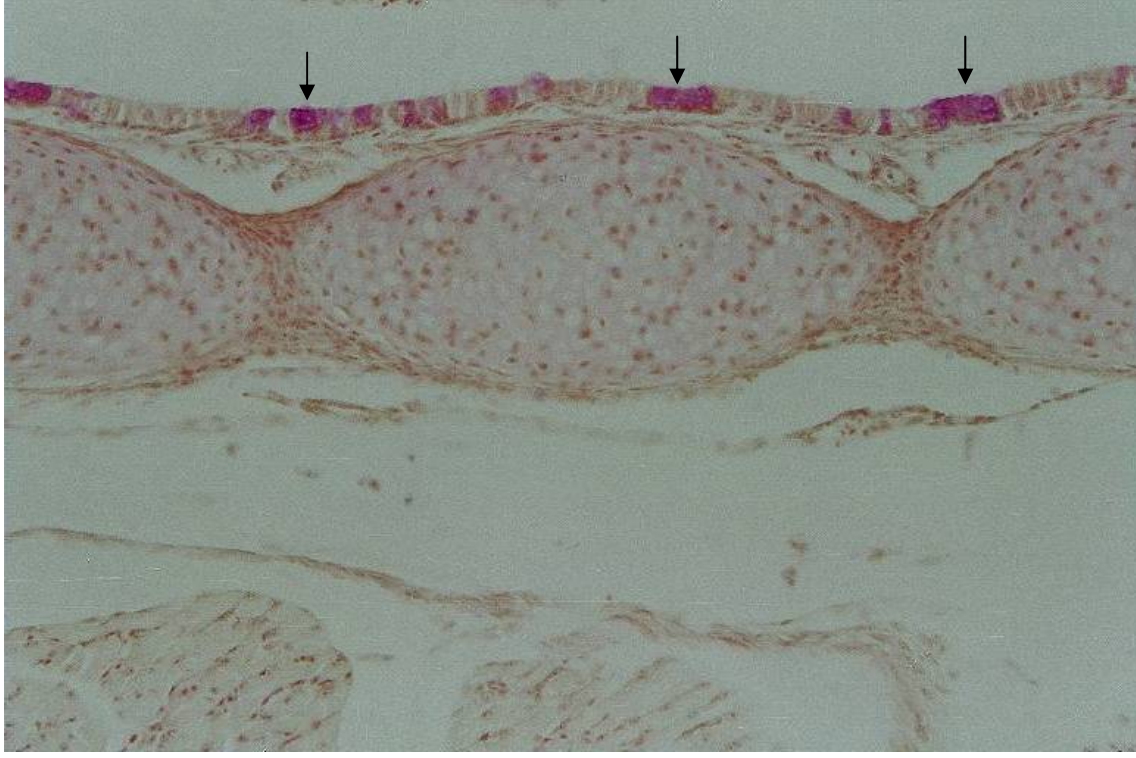
Şekil 4.22. 7 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b, ok mikst müsinleri göstermekte) nötral ve asit müsinlerin yerleşimi, boyuna kesit, PAS-AB X 33.

Multisellüler bezler her iki müsin tipini içeren hücrelerden oluşabildiği gibi, sadece PAS (+) veya AB (+) reaksiyon veren müsinleri içeren hücreleri de tek olarak bu bezlerde görmek mümkündür. Tüm yaş grupları incelendiğinde yaşa bağlı olarak AB (+) reaksiyon veren müsinleri içeren hücrelerin arttığı, ancak yine de mikst özellikteki hücrelerin çoğunlukta olduğu tespit edildi (Şekil 23).

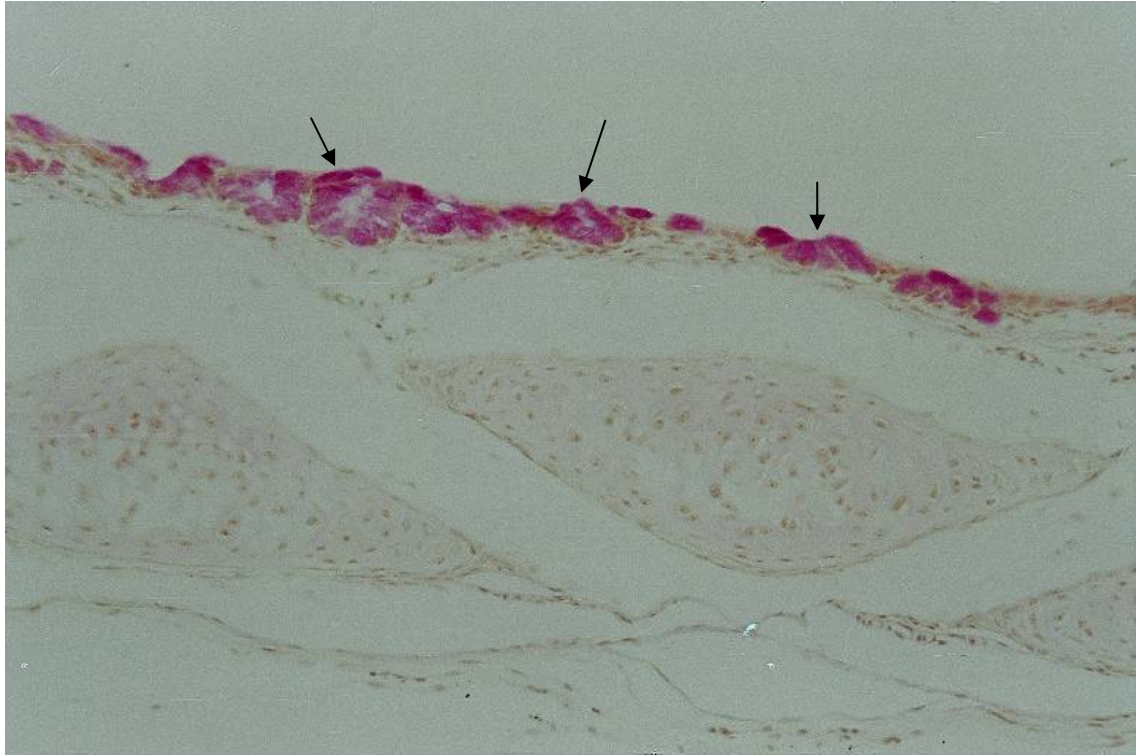


Şekil 4.23. 35 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (b, oklar mikst müsinleri göstermekte) nötral ve asit müsinlerin yerleşimi, boyuna kesit, PAS-AB X 33.

Trakeya epiteli içindeki üni- ve multisellüler bezleri oluşturan müköz hücrelerin fenilhidrazin (FH)-PAS ile soluk pembe ve pembe-mor renkte boyandıkları görüldü. Soluk pembe renkte boyananların schift ile daha zayıf bir şekilde reaksiyona girdikleri, koyu pembe-mor boyananların ise kuvvetli bir şekilde reaksiyona girdikleri belirlendi. Periodat reaktivitesinin yaşın ilerlemesine bağlı olarak arttığı ancak bezlerdeki müsinlerin periodat reaktivitesinin genelde zayıf olduğu tespit edildi (Şekil 24, 25 ve 26).



Şekil 4.24. 1 günlük bildircımların trakeya epitelinde periodat reaktif asit msinlerin (oklar) yerleşimi, boyuna kesit, Fenilhidrazin-PAS X 33.

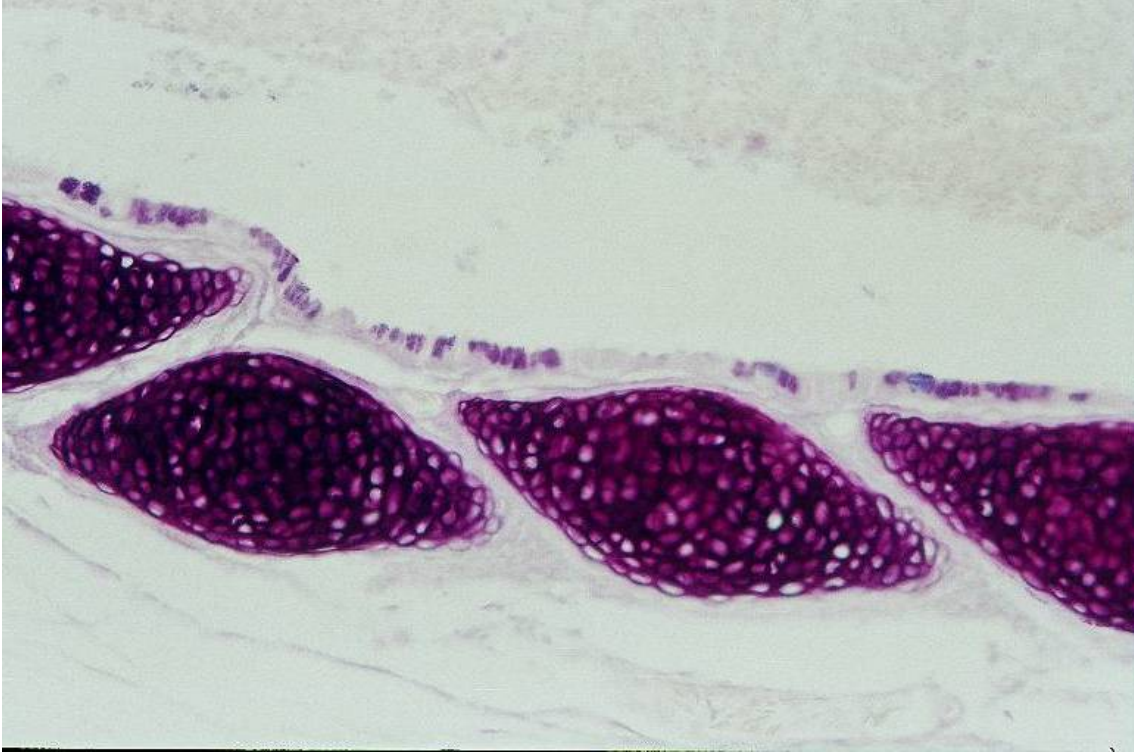


Şekil 4.25. 7 günlük bildircımların trakeya epitelinde periodat reaktif asit msinlerin (oklar) yerleşimi, boyuna kesit, Fenilhidrazin-PAS X 33.



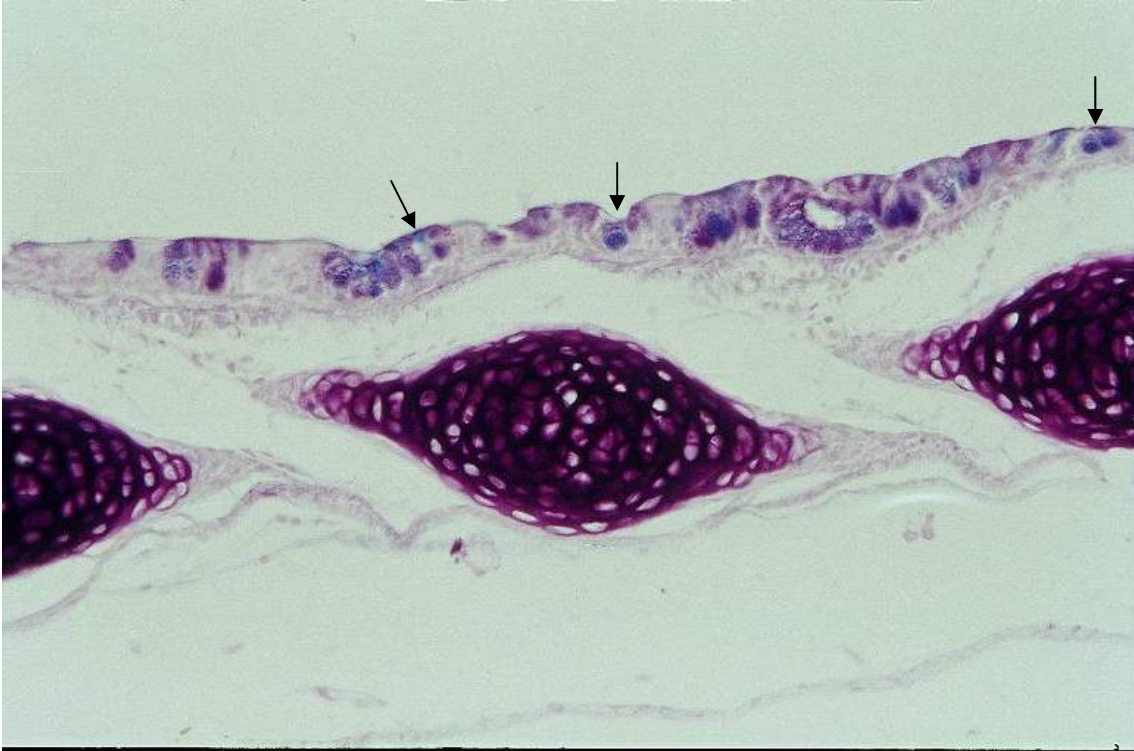
Şekil 4.26. 35 günlük bıldırcınların trakeya epitelinde periodat reaktif asit münlerin (oklar) yerleşimi, boyuna kesit, Fenilhidrazin-PAS X 33.

AF-AB boyamasında, bütün yaş gruplarında kıkırdakların özellikle matrikslerinin AF ile kuvvetli pozitif reaksiyon gösterdiği saptandı. Bir günlük bıldırcınlarda, AF ile kuvvetli reaksiyon veren hücrelerin çoğunlukta ve AB ile pozitif reaksiyon gösteren hücrelerin ise daha az sayıda olduğu belirlendi. Aynı zamanda AF ile zayıf reaksiyon veren hücrelerin ve AF-AB'nin her ikisi ile pozitif reaksiyon gösteren mikst özellikteki hücrelerin varlığı da dikkati çekti (Şekil 27).



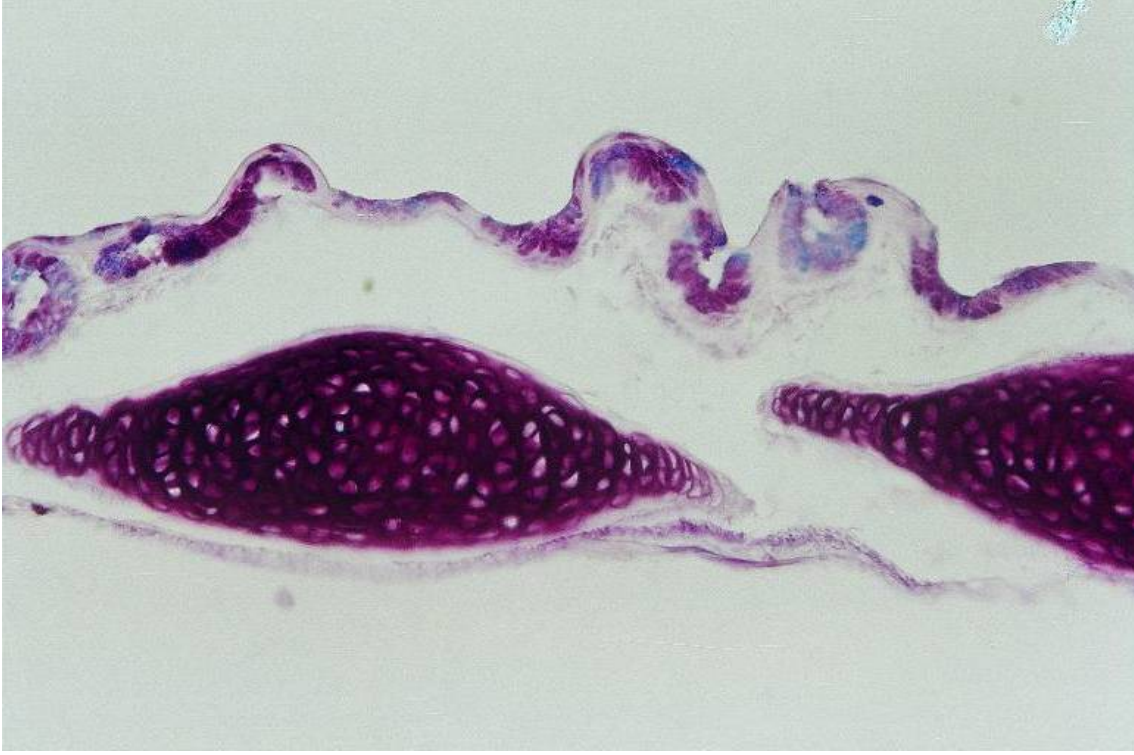
Şekil 4.27. 1 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.

7 günlüklerde sadece AB (+) reaksiyon gösteren hücrelerin sayısının da arttığı görüldü (Şekil 28).

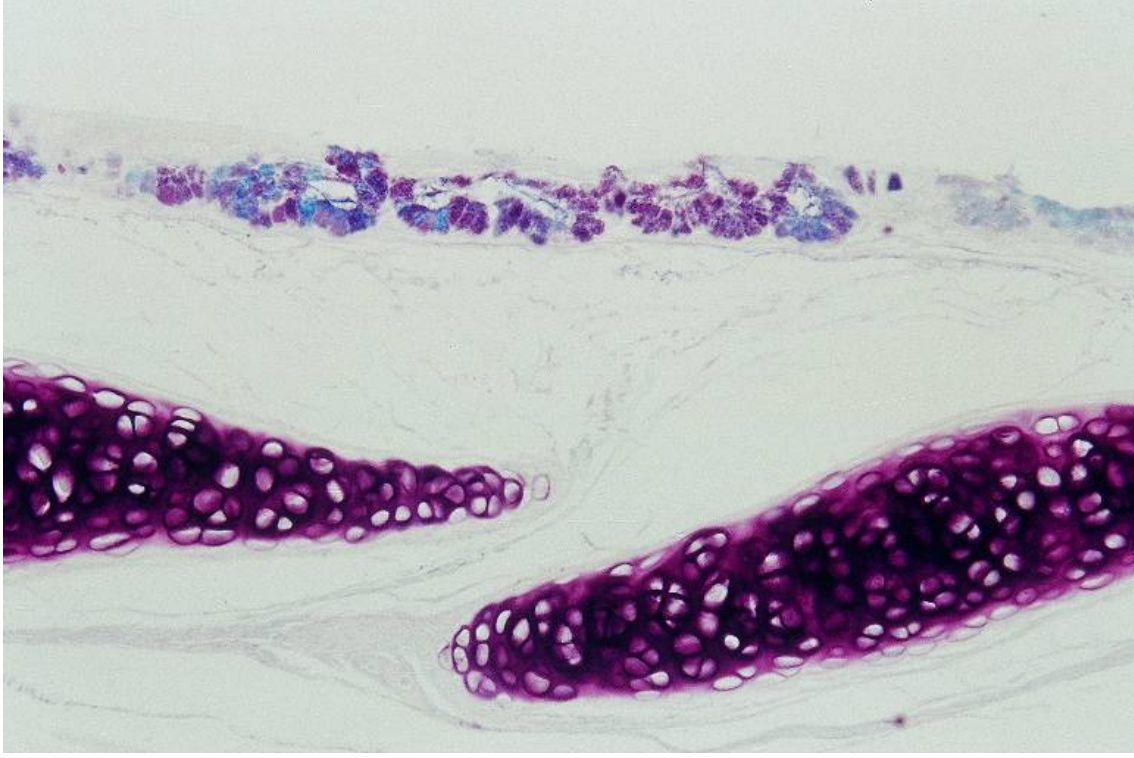


Şekil 4.28. 7 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde (ok, sialo münleri göstermekte) sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.

21 günlüklerden itibaren diğer yaş gruplarında da, bezlerde AF ile kuvvetli reaksiyon gösteren hücrelerin çoğunlukta olduğu, ancak AB (+) boyanan hücreler ile az sayıda AF ile zayıf reaksiyon veren ve mikst boyanan hücreler izlendi (Şekil 29).



Şekil 4.29. 21 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde sialo ve sülfatlı münlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.



Şekil 4.30. 28 günlük bıldırcınların trakeyal bezlerinde sialo ve sülfatlı müsinlerin yerleşimi, boyuna kesit, AF-AB X 33.

Yapılan kantitatif ölçümler sonucu, kıkırdak üzeri ve kıkırdakların eklemleştığı bölgelerdeki epitel kalınlığının hem yaşa göre, hem de incelenen bu bölgelere göre farklı olup olmadığı analiz edildi. Aynı yaş grubu içinde kıkırdak üzeri ve kıkırdakların eklemleştığı bölgelerdeki epitel kalınlıkları arasındaki fark, bir, 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 günlüklerde önemli ($p < 0.05$) iken, 60 günlüklerde bu farkın önem taşımadığı ($p > 0.05$) tespit edildi. Yaşa göre kıkırdak üzeri epitel kalınlıklarının farklı olup olmadığı incelendiğinde; bir günlükler ve aynı zamanda 7 günlükler ile diğer yaş grupları arasındaki farklılıkların önemli ($p < 0.05$) olduğu, 14 günlükler ile 21 günlükler arasında önemli fark bulunmadığı ($p > 0.05$), ancak bu iki grubun değerlerinin diğer yaş gruplarından farklı olduğu ve bu farklılıkların önem taşıdığı ($p < 0.05$) saptandı. 28, 35, 42 ve 60 günlükler arasında kıkırdak üzeri epitel kalınlığı açısından fark bulunmazken ($p > 0.05$), 28, 35, 42 ve 60 günlükler ile bir, 7, 14, 21 günlük yaş grupları arasındaki farkın önemli olduğu ($p < 0.05$) belirlendi.

Kıkırdaklar arası epitel kalınlıklarının yaşa göre değişimleri incelendiğinde, bir günlükler ile diğer gruplar arasında önemli farklılık ($p < 0.05$) gözlenirken 7 günden itibaren kıkırdaklar arası epitel kalınlığı farklılıklarının önemli olmadığı ($p > 0.05$) tespit edildi.

Tablo 4.1. Kıkırdak üzeri ve kıkırdaklar arası bölgeyi örten epitelin yaşlara göre kalınlık ortalamaları

YAŞ	EPİTEL KALINLIĞI	
	Kıkırdaklar üzeri X±Se	Kıkırdaklar arası X±Se
1 günlük	15,93±0,37	17,80±0,40
7 günlük	16,44±0,25	19,65±0,33
14 günlük	17,64±0,32	20,30±0,33
21 günlük	18,32±0,25	20,66±0,30
28 günlük	19,17±0,26	20,81±0,23
35 günlük	19,27±0,25	20,84±0,22
42 günlük	19,42±0,31	20,67±0,30
60 günlük	19,84±0,33	20,63±0,38
TOTAL	18,26±0,11	20,24±0,11

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanatlılarda özofagusun ventralinde, derinin hemen altında, larinks'ten sirinks'e kadar uzanan trakeya'nın (6) duvarı dıştan içe doğru adventisya, kıkırdaklar ve mukoza katmanlarından oluşur (2, 7, 8). Trakeya'da, sayıları 106-126 arasında değişen kıkırdak halkaların sağ ve sol yarımları geniş olup, medianlarında birer çentik bulunur (6, 31). Kıkırdak halkaların geniş kısımları mediandaki çentik aracılığıyla birbiri üzerine geçer. Bu nedenle ligamentum annulare bulunmaz (6, 31). Kanatlılarda trakeya memelilerden farklı olarak tamamen kapalı bir halka şeklinde olduğu için m. trachealis de bulunmaz (6).

Primer fonksiyonu havanın akciğerlere taşınımını sağlamak olan trakeyanın, anatomik özelliklerinin ve duvar yapısının, yumurtadan çıkıştan itibaren incelenen bıldırcınlarda da diğer kanatlılardakine (2, 6, 31) benzer özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. Çalışmada kıkırdak halkaları sayılmadığından karşılaştırma yapılamamıştır. Bugüne değin kaz ve ördekte kıkırdak halkaların kemikleşmiş olduğunun bildirilmesi (32) dışında kıkırdak halkaların gelişimine ilişkin herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Sunulan çalışmada, hiyalin kıkırdak özelliğinde olan kıkırdak halkaların bir günlük bıldırcınlarda tipik limon şeklinde olduğu, birbiri üzerine binmediği ve yan yana dizilim gösterdiği, 7 günlüklerden itibaren kıkırdakların kenar kısımlarının incelmeye başladığı ve 28 günlüklerde erişkindeki mekik biçimini aldığı tespit edilmiştir.

Gerek memelilerde ve gerekse kanatlılarda respiratorik mukoza ile örtülü olan trakeyada yalancı çok katlı prizmatik özellik gösteren lamina epiteliyalisi oluşturan hücre tipleri

türler arası büyük farklılıklar göstermektedir. Evcil memelilerde (at, inek, koyun, domuz, keçi, köpek ve kedilerde) kadeh hücreleri baskın hücre tipi iken, diğer türlerde seröz hücreler çoğunluktadır (2). Dellman (2) memelilerde trakeya epitelini oluşturan hücreleri, bazal hücreler, kadeh (veya müköz) hücreleri, silyumlu hücreler, fırçamsı hücreler, seröz hücreler, Clara hücreleri ve nöroendokrin hücreler olarak, Gartner (7) insanda kadeh hücreleri, silyumlu prizmatik hücreler, bazal hücreler, fırçamsı hücreler (küçük granüllü müköz hücreler), seröz hücreler ve diffuz nöroendokrin sistem (DNES) hücreleri olarak tanımlamaktadır (7). Kediler ile kazların solunum yolları epitellerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (9), kedilerin solunum yollarında şimdiye kadar tanımlanan 11 hücre tipinin hepsi görüldüğü halde, kazlarda bulunmadığı bildirilmektedir (9). Tavuğun trakeyal epitelinde scanning elektron mikroskopunda mikrovilluslu silyumsuz ve silyumlu olmak üzere iki tip hücrenin, transmission elektron mikroskopunda ise silyumlu hücreler, kadeh ve bazal hücreleri olmak üzere üç hücre tipinin görüldüğü belirtilmektedir (10). Walsh ve McLelland (33) ise evcil tavukta kuluçkadan çıkan civcivlerde yalancı katmanlı prizmatik epitelde tamamen farklılaşmış silyumlu hücreler, kadeh hücreleri, silyumsuz prizmatik hücreler, granüler hücreler ve bazal hücreler bulunduğunu (33) ifade etmektedirler.

Bıldırcınların trakeya epitelinde de tavuğunkine (10) benzer olarak silyumlu hücreler, kadeh hücreleri ve bazal hücreler olmak üzere üç hücre tipine rastlanmıştır. Silyumlu ve bazal hücrelerin tavuktakine (10) benzer morfolojik özellikler taşıdığı, silyumlu hücrelerin kinosilyumlarının tavuklardakine (5 mikron) yakın olarak 4.8-6 mikron uzunlukta olduğu belirlenmiştir. Kadeh hücrelerinin ise Lai ve İbrahim'in bildirdiği (10) gibi olgunlaşmamış ve olgun kadeh hücreleri olmak üzere iki tipinin bulunduğu tespit edilmiştir.

İnsanda, memeli hayvanlarda ve kanatlılarda trakeya epitelinin ışık ve elektron mikroskopik özellikleriyle ilgili olarak çeşitli araştırmalar (10, 17, 34-36) yapılmış olmasına karşılık, epitelin pre- ve postnatal dönemlerde kantitatif gelişimine ilişkin herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Sunulan çalışmada bıldırcınlarda trakeya epitelinin postnatal gelişimini kantitatif histomorfolojik olarak ortaya koymak amacıyla epitel kalınlıkları ölçülmüştür. Bu ölçümler trakeyal kıkırdakların anatomik özellikleri ve trakeyada yerleşimleri dikkate alınarak kıkırdak üzeri ve kıkırdakların birbirine geçtiği bölge olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Yapılan ölçümler sonucu epitel kalınlığının hem yaşa göre, hem de incelenen bu bölgelere göre farklı olup olmadığı analiz edilmiştir.

Aynı yaş grubu içinde kıkırdak üzeri ve kıkırdakların birbirine geçtiği bölgelerdeki epitel kalınlıkları arasındaki fark, bir, 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 günlüklerde önemli ($p < 0.05$) iken, 60 günlüklerde bu farkın önem taşımadığı ($p > 0.05$) tespit edilmiştir. Bu

durumda kıkırdak üzeri ile kıkırdakların eklemleşme bölgelerinde epitel kalınlıklarının önemli ölçüde farklı olduğu ve bu farklılığın kıkırdakların anatomik yapısından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Yaşa göre kıkırdak üzeri epitel kalınlıklarının farklı olup olmadığı incelendiğinde; bir günlükler ve 7 günlükler ile diğer yaş grupları arasındaki farklılıkların önemli ($p<0.05$) olduğu, 14 günlükler ile 21 günlükler arasında önemli fark bulunmadığı ($p>0.05$), ancak bu iki grubun değerlerinin diğer yaş gruplarından farklı olduğu ve bu farklılıkların önem taşıdığı ($p<0.05$) saptanmıştır. 28, 35, 42 ve 60 günlükler arasında kıkırdak üzeri epitel kalınlığı açısından fark bulunmazken ($p>0.05$), 28, 35, 42 ve 60 günlükler ile bir, 7, 14, 21 günlük yaş grupları arasındaki farkın önemli olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir. Kıkırdaklar arası epitel kalınlıklarının yaşa göre değişimleri incelendiğinde, bir günlükler ile diğer gruplar arasında önemli farklılık gözlenirken 7. günden itibaren kıkırdaklar arası epitel kalınlığı farklılıklarının önemli olmadığı tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında kıkırdaklar üzeri epitelin gelişiminin yumurtadan çıkışın 21-28. günleri arasında, kıkırdaklar arası bölgelerde ise 7. günde tamamlandığı söylenebilir.

Respiratorik mukusun salgılanmasından sorumlu olan trakeyal bezler, memelilerde submukozada yerleşen serömüköz özellikte ve tubuloasiner yapıda (12) olmasına karşılık, kanatlılarda intraepitelial yerleşimli, müköz özellikte ve alveoler yapıdadırlar. Sunulan çalışmada, bıldırcınların trakeyal bezlerinin, diğer kanatlı türlerinininkine (3, 9, 37) benzer şekilde, unisellüler (tek kadeh hücreleri şeklinde) ve multisellüler özellik gösterdikleri saptanmıştır. Multisellüler özellikteki bezlerin özellikle trakeyaların boyuna kesitlerinde daha belirgin olmak üzere kadeh hücresi dizileri halinde veya lamina propriyaya doğru hafif çöküntü yapan intraepitelial alveoler bezler halinde oldukları gözlenmiştir. Multisellüler trakeyal bezlerin kadeh hücre dizilerinden oluşan tipinin varlığına ilişkin herhangi bir bilgiyle karşılaşılmamıştır.

Trakeyal bezlerin gelişiminin memeli türlerine göre farklılıklar gösterdiği, koyunda (38) ve insanda (39) prenatal, sığanda ise postnatal dönemde gelişmeye başladığı (38) bildirilmektedir. Tavuklarda ise müköz özellikteki intraepitelial alveoler bezlerin ilk olarak 17 günlük embriyolarda gözlendiğinden (17) ve kuluçkanın 19. gününde müköz hücrelerin erişkindekilere benzer özellik kazandığından söz edilmektedir. Bu çalışmada bıldırcın trakeyalarının yumurtadan çıkıştan sonraki gelişimleri incelenmiş olup bir günlük bıldırcınlarda da intraepitelial bezlerin bulunduğu ve sayılarının yaşa bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, tavukta olduğu gibi (17) intraepitelial bezlerin

yumurtadan çıkıştan önce şekillendiğini ancak gelişimlerini yumurtadan çıktıktan sonra tamamladıklarını göstermiştir.

Trakeyal bezler, hemen hemen bütün evcil memeli türlerinde trakeya'nın proximal kısmında bol miktarda bulunurlar (2, 37). Kanatlılarda ise multisellüler özellikteki intraepitelyal bezler trakeyanın proksimal yarımında baskın durumdadırlar. Trakeyanın distal kısmında ve sirinkste ise müköz bezler yerine müköz kadeh hücreleri bulunur (3, 9, 37). Yapılan çalışmada bildircinlerde trakeyal bezlerin trakeyanın uzunluğu boyunca homojen bir dağılım göstermediği, incelenen bazı alanlarda unisellüler, bazı alanlarda ise multisellüler özellikteki bezlerin bulunduğu belirlenmiştir. Kaz (9), tavuk ve güvercinde (37) olduğu gibi, bildircinlerde da trakeyanın sirinkse yakın olan distal kısmında intraepitelyal alveolar bezlerden ziyade unisellüler veya gruplar halinde dizilen kadeh hücrelerinden oluşan multisellüler bezlerin bulunduğu görülmüştür.

Bu çalışmada bezlerin sayımı her bir hayvan için 10 değişik birim alanda yapıldı bunların her bir hayvan için ortalaması alındıktan sonra genel ortalamanın belirlenmesi ve gerekli istatistiksel analizin yapılması planlanmıştır. Ancak örneğin bir denek için yapılan sayımlarda elde edilen değerlerin değişik alanlarda homojen olması beklenirken böyle bir durumla karşılaşılma ve yapılan analizin sağlıklı olamayacağı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle tez önerisi sırasında çalışmanın materyal metot bölümünde yapılacağı bildirilen bez sayımı gerçekleştirilememiş ve çalışma dışı bırakılmıştır.

Memelilerde trakeyanın dorsal kısmındaki trakeyal kas (M. trachealis) ile bezlerin ilişkisi türlere göre farklılık göstermektedir. Karnivorlarda (kedi ve köpek) trakeyal kas kıkırdak halkaların dış yüzeyine bağlanır, bezler ise kasın iç tarafında yerleşirler (13). İnsan, keçi ve sığırlarda trakeyal kas kıkırdak halkaların iç yüzeyine bağlıdır. Kas, kıkırdak halkanın iç tarafına bağlandığı zaman asinusların çoğu kasın dışında bulunur. Ancak, öküzde bezler kas ve epitel arasında uzanır (13). Diğer kanatlı türlerinde olduğu (3, 4, 6, 8) gibi bildircinlerde da trakeyal kas bulunmadığından memelilerdeki bu submukozal bezler ile kas arasındaki ilişkiden söz etmek mümkün olmamıştır.

Bezlerin trakeyadaki yerleşimleri de türlere göre değişmektedir. Öküz, keçi, köpek ve koyunda trakeyal yüzeyin birim alanına düşen bezlerinin hacmi, trakeya'nın ventralinde dorsalinden daha büyüktür. Domuzda bunun tersi durum geçerlidir. İnsanlarda ise bez yoğunluğu trakeyanın dorsal ve ventral duvarında eşittir (13). Rat ve kobayda trakeyal bezler ventral duvarda bulunurken, dorsal duvarda bulunmazlar. Tavşanda ise trakeya bez içermez (13, 14). Keçilerde (13), rat ile kobayda (14) ve maymunda trakeyanın ventral duvarındaki bezler kıkırdaklar arası bölgede yerleşim gösterirler (13).

Sunulan çalışmada 7 günlükten itibaren yaşla birlikte arttığı görülen intraepitelial yerleşimli alveolar bezlerin özellikle kıkırdakların eklemleştigi bölgelerde daha yoğun bulunduğu saptanmıştır. Bu yönüyle bezlerin yerleşiminin keçi (13), rat ile kobay (14) ve maymununkine (40) benzediği tespit edilmiştir.

Bıldırıcılarda yumurtadan çıkıştan itibaren intraepitelial bezlerin trakeya duvarındaki yerleşimleri incelendiğinde ise özofagusa komşu olan dorsal duvarında, ventral duvarından biraz daha fazla oldukları görülmüş olup, domuzun trakeyal bezlerinin yerleşimine (13) paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

Solunum yolu epitelinin en önemli fonksiyonu mukosiliar temizlemedir. Bu önemli fonksiyon hem solunum yolu mukusunun fizikokimyasal özelliklerine, hem de kinosilyumların aktivitesine bağlıdır (19). Mukus, müsin glikoproteinleri ve inorganik tuzların sudaki süspansiyonundan oluşur (22). Mukusun temel bileşeni olan müsinlerin (20, 22, 24) histokimyasal özellikleri bir çok memeli türünde incelenmiş (37, 41, 42) ve memeli hava yollarındaki müköz hücrelerin müsin içeriklerinin belirgin farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Kanatlı türlerinde trakeyal epiteldeki müköz hücrelerin ve intraepitelial bezlerin müsin içerikleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya (17) rastlanmıştır.

Trakeyal müköz salgı hücrelerinin histokimyasal yapısı türler arasında farklılık göstermektedir. Maymunda submukozada yerleşmiş bulunan trakeyal bezlerdeki müköz hücrelerin morfolojik olarak benzer, ancak karbonhidrat içerikleri yönünden farklı oldukları bildirilmektedir (40). Makak maymununda trakeya epitelindeki müköz kadeh hücrelerinde sülfatlı müsinlerin çoğunlukta olduğu, submukozal bezlerde ise nötral müsinlerin yanı sıra asit müsinlerin de bulunduğu ve bu özelliklerinin insandakine benzer olduğu bildirilmektedir (34). Kedi (9) ve kır sansarında (43) da müsin tiplerinin yerleşiminin insan ve makak maymununkine benzer özellik gösterdiği, ancak sıçan (44) ve tavşanda (42) sülfatlı müsinlerin bezlerdeki müköz hücreler, nötral müsinlerin ise

epiteldeki kadeh hücreleri tarafından üretildiği belirtilmektedir. Sunulan çalışmada müsin tiplerinin üniseüller, gerekse multisellüler özellikteki bezlerde bez tipine özgü yerleşimlerinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bunun bıldırıcınların trakeyasında mukusu üretmekle görevli olan uniseüller ve multisellüler özellikteki bezlerin trakeya epiteli içerisinde yerleşmesinden yani intraepitelial konumlu olmasından kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır.

Sunulan çalışmada yumurtadan çıkıştan itibaren incelenen tüm yaş gruplarındaki bıldırıcılarda trakeya epiteli içinde yer alan üniseüller veya multisellüler özellikteki müköz hücrelerin ve kıkırdağın PAS (+) reaksiyon verdiği tespit edilmiştir. PAS (+) boyanmanın nötral, sülfatlı asit müsinler ile sialo müsinlerin ve visinal diol gruplarının (müsinlerdeki serin

veya treoninin amino asitlerinin hidroksil grupları) varlığının göstergesi olduğu (46) dikkate alındığında, bıldırcınların trakeyasındaki müköz hücrelerin diğer hayvan türlerinde olduğu gibi, nötral (34, 37, 41, 42) sülfatlı ve sialo asit müninler (9, 34, 37, 40-42, 45) ile visinal diol gruplarını içerdiği sonucu çıkarılmıştır.

Glikojenin varlığını saptamak için PAS-diastraz boyama yöntemi uygulandığında reaksiyonda belirgin bir azalma görülmediğinden ve Best karmin yönteminde de bezlerdeki az sayıda hücrenin reaksiyon verdiği saptandığından trakeyal müköz hücrelerin az miktarda glikojen içerdiği düşünülmüştür. Koyunların trakebronşiyal epitelinde heksozdan zengin nötral glikokonjugatların tespit edildiği (41), tavukta ve kertenkelede nötral müninlerin bulunduğu bildirilmesine karşılık glikojenin varlığına ilişkin herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Plopper ve arkadaşları (1984) tavşanların trakeyasında bulunan kadeh hücrelerinin müköz granüllerin büyük bir kısmının sülfatlı glikoprotein, çok az bir kısmının da nötral glikoprotein içerdiğini bildirmektedirler (42). Bu çalışmada gerek üniselüler ve gerekse mültisellüler özellikteki bezleri oluşturan kadeh hücrelerindeki asit ve nötral müninleri ayırt etmek üzere klasik bir yöntem olan Alcian Blue (pH:2.5)-PAS ile boyama yapıldığında bir günlük bıldırcınlarda nötral münin içeren hücre sayısının, asit müninleri içeren hücrelerden fazla olduğu ve yaşa bağlı olarak asit münin içeriğinin arttığı Plopper ve arkadaşlarının bildirdiğinin (42) aksine nötral münin içeriğinin çoğunlukta olduğu ve müköz hücrelerde asit müninlerle birlikte bulunduğu belirlenmiştir.

Bilindiği üzere N-asetil sialo münin gibi karboksilli asit müninler negatif yüklü polianyonlar olduklarından fenil hidrazin ile bloke olmadan PAS ile boyanırlar. Oysaki nötral müninler elektrostatik olarak nötr yüklü olduklarından fenil hidrazinle bloke olur ve PAS negatif özellik gösterirler (46). Sunulan çalışmada fenilhidrazin-PAS boyamasında bezlerdeki müninlerin periodat reaktivitesinin genelde zayıf olduğu, ancak bu reaktivitenin yaşın ilerlemesine bağlı olarak arttığı tespit edilmiş olup müköz hücrelerdeki sialomünin içeriğinin diğer türlerdeki (37) gibi az olduğu saptanmıştır.

AF-AB boyamasında, bir günlük bıldırcınların trakeyasında kuvvetli sülfatlı münin içeren hücrelerin daha çok, sadece sialomünin içeren hücreler ile hem sialo hem de sülfatlı münin içeren hücrelerin ise çok az sayıda olduğu belirlenmiştir. 7 günlüklerden itibaren sialomünin içeren hücrelerin sayısının arttığı ancak genelde sülfatlı münin taşıyan hücrelerin çoğunlukta olduğu, sialomünin içeren ve her iki münin tipini içeren hücrelerin de bulunduğu belirlenmiştir. Bıldırcınlarda da diğer hayvan türlerinde olduğu (9, 43, 44) gibi trakeyal

müköz bezlerin çoğunlukla sülfomüsin içermekle birlikte yaşın ilerlemesine paralel olarak artış gösteren sialomüsinleri de içerdiği tespit edilmiştir.

Sunulan çalışmada bıldırcınlarda trakeya epitelinin diğer kanatlı türlerinininkine (3, 6, 9, 10) benzer yapısal özellikler taşıdığı belirlenmesi, intraepitelyal bezlerin kıkırdaklar arası bölgede çoğunlukta bulunması, yumurtadan çıkışın 7. günden itibaren kıkırdaklar arası epitel kalınlığı farklılıklarının önemli olmaması gibi bulguların elde edilmesi, epitelin ve asıl fonksiyonel unsur olan bezlerin gelişiminin yumurtadan çıkışın 1-7. günleri arasında tamamlandığını ve bunun kıkırdak halkaların fonksiyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Trakeyal müsinlerin postnatal farklılaşmasına ilişkin bir çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte, bıldırcınlarda trakeyal müköz hücrelerin çoğunlukta olmak üzere kuvvetli sülfatlı epitelyal müsinleri, nötral müsinleri ve daha az oranda da sialomüsinleri içerdiği, bezlerdeki silaomüsin içeriğinin yaşın ilerlemesine paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Yumurtadan çıkışın birinci gününden itibaren kuvvetli sülfatlı epitelyal müsinlerin trakeyal müköz hücrelerde bulunması, trakeyal epitelin, katyonik yangısal proteinler ile bakteriyel enzimlerin proteolizisine karşı mukozayı koruyucu özelliklerinin prenatal dönemde geliştiğini, ancak yaşın ilerlemesi sonucu trakeyal epitelyal yüzeyin genişlemesine paralel olarak sülfatlı müsin içeriğinin artması ve ayrıca mukusun kaygan ve yapışkan olması sağlayan, sialomüsinlerin de eklenmesi postnatal dönemde de trakeyal epitelin müsin içeriğinin değiştiğini göstermiştir. Müsin içeriklerinin yaşa bağlı olarak farklılık göstermesinin, yumurtadan çıkış sonrası büyüme periyodunda, trakeya epitelinin infeksiyöz ve noninfeksiyöz ajanlardan, salgıladıkları müsinlerin fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek korunmaya çalışmalarıyla yani fonksiyonlarıyla ilgili olabileceği sonucuna varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- 1) Tell L. Avian Respiratory System and Diseases, Tufts Animal Expo Conference Proceedings, 2001 September 1.
- 2) Dellmann HD. Textbook of Veterinary Histology (4 th ed), Lea & Febiger Philadelphia, printed in the United States of America, 1987: 142-144.
- 3) Hodges RD. The Histology of the fowl. Academic press, London, New York, San Francisco, 1974: 126-128.
- 4) King AS, Mc Lelland J. BIRDS: their structure and function (2 nd ed), Bailliere Tindall, 1984: 115-116.
- 5) Ludders JM. Inhaled Anesthesia for Birds. In: Recent Advances in Veterinary Anesthesia and Analgesia: Companion Animals (R.D. Gleed and J.M. Ludders edi). International Veterinary Information Service, Ithaka, NY. 2001.
- 6) Dursun N. Evcil Kuşların Anatomisi (1. baskı), Medisan Yayınevi, ANKARA, 2002: 93-95.
- 7) Garthner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. W. B.Sounders. Company Philadelphia, Pennsylvania, 1997: 288-290.
- 8) Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histology: A text and atlas (3rd ed). Baltimore, Maryland, USA, 1995: 535-540.
- 9) Jeffery PK. Structure and function of mucus-secreting cells of cat and goose airway epithelium. Ciba Found Symp 1978;54:5-23.
- 10) Lai MC, Ibrahim AL. Scanning and Transmission electron microscopy of normal chicken tracheal epithelia. Poult Sci 1984;63:1425-31.

- 11) Rogers DF. Airway goblet cells: responsive and adaptable front-line defenders. *Eur Respir J* 1994; 7:1690-706.
- 12) Sasaki T, Shimura S, Sasaki H, Takishima T. Effect of epithelium on mucus secretions from feline tracheal submucosal glands. *J Appl Physiol*, 1989;66:764-70.
- 13) Choi HK, Finkbeiner WE, Widdicombe JH. A comparative study of mammalian tracheal mucous glands. *J Anat* 2000; 197 :361-72.
- 14) Widdicombe JH. et al. Distribution of tracheal and laryngeal mucous glands in some rodents and the rabbit. *J. Anat* 2001; 198: 207-221.
- 15) Joo NS, Wu JV, Krouse ME, Saenz Y and Jeffrey JW. Optical method for quantifying rates of mucus secretion from single submucosal glands. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281:L458-L468.
- 16) Tos M. Distribution of mucus producing elements in the respiratory tract. Differences between upper and lower airway. *Eur J Respir Dis Suppl* 1983; 128: 269-79.
- 17) Fauziah O, Purton MD, Solomon SE. Ultrastructural and Histochemistry of the Developing Mucous Apparatus in the Respiratory Epithelium of Chicks. The 15 th International Congress on Electron Microscopy. The Microscopy Society of Southern Africa in Dubai, South Africa 2002, September 1-6.
- 18) Plopper CG, Weir AJ, Nishio SJ, Craz DL, St George JA. Tracheal submucosal gland development in the rhesus monkey, *Macaca mulatta*: ultrastructure and histochemistry. *Anat Embryol (Berl)* 1986; 174:167-78.
- 19) Rubin BK. Physiology of airway mucus clearance. *Respir Care* 2002; 47: 761-8.
- 20) Kishioka C, Okamoto K, Kim J, Rubin BK. Regulation of secretion from mucous and serous cells in the excised ferret trachea. *Respir Physiol* 2001; 126:163-71.
- 21) Sherman JM, Cheng PW, Tandler B, Boat TF. Mucous glycoproteins from cat tracheal goblet cells and mucous glands separated with EDTA. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124:476-9.
- 22) Thornton DJ, Sheehan JK. From Mucins to Mucus. *Proc Am Thorac Soc.* 2004; 1:54-61.
- 23) Boat TF, Cheng PW. Biochemistry of airway mucus secretions. *Fed Proc* 1980; 39:3067-74.
- 24) Bancroft JD, Stevens A. *Theory and Practice of Histological Techniques* (3 Ed), Techniques Churchill Livingstone 1990: 177-186.
- 25) Kim KC. et al. Airway goblet cell mucin: its structure and regulation of secretion. *Eur respir J* 1997; 10:2644-2649.

- 26) Jeffery PK, Li D. Airway mucosa: secretory cells, mucus and mucin genes. *Eur Respir J* 1997; 10:1655-62.
- 27) Ferrer AL. et al. Mucins as Differentiation Markers in Bronchial Epithelium. *Am J Respir Cell Mol* 2001; 24: 22-29.
- 28) Kyle H, Robinson NP, Widdicombe JG. Mucus secretion by tracheas of ferret and dog. *Eur J Respir Dis* 1987; 70:14-22.
- 29) Shimizu T. et al. Differential properties of mucous glycoproteins in rat nasal epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1077-1082.
- 30) Romeis B. *Mikroskopische Technik*. R. Oldenbourg Verlag München-Wien. 1968; 223-228.
- 31) Bell DJ, Freeman BM. *Physiology and Biochemistry of the domestic fowl*. Printed in Great Britain by William Clowes & Sons. 1971; 93-181.
- 32) Banks WJ. *Applied Veterinary Histology (3 rd ed)*. By Mosby-year book, Inc., 1993; 392
- 33) Walsh C, McLelland J. The development of the epithelium and its innervation in the avian extrapulmonary respiratory tract. *J Anat* 1978; 125:171-82.
- 34) Heidsiek JG, Hyde DM, Plopper CG, George JA. Quantitative histochemistry of mucosubstance in tracheal epithelium of the macaque monkey. *J Histochem Cytochem* 1987; 35(4):435-42.
- 35) Gallagher JT. et al. Mucus-glycoproteins (mucins) of the cat trachea: characterisation and control of secretion. *Biochim Biophys Acta* 1986; 886:243-54.
- 36) Hovenberg HW, Carlstedt I, Davies JR. Mucus glycoproteins in bovine trachea: identification of the major mucin populations in respiratory secretions and investigation of their tissue origins. *Biochem J* 1997; 321:117-23.
- 37) Castells MT, Ballesta J, Pastor LM, Madrid JF. and Marin JA. Histochemical characterization of glycoconjugates in the epithelium of the extrapulmonary airways of several vertebrates. *Histochem J* 1990; 22: 24-35.
- 38) Smolich JJ, Stratford BF, Maloney JE, Ritchie BC. New features in the development of the submucosal gland of the respiratory tract. *J Anat* 1978; 127:223-38.
- 39) Moret S, Lallemand A, Gaillard D. Development and maturation of secretory cells in the trachea of human fetuses. *Rev Mal Respir* 1993; 10:531-6.
- 40) George JA, Nishio SJ, Cranz LD, Plopper CG. Carbohydrate cytochemistry of rhesus monkey tracheal submucosal glands. *Anat Rec* 1986; 216:60-67.

- 41) Mariassy TA, George JA, Nishio SJ, Plopper CG. Tracheobronchial epithelium of the sheep: III. Carbohydrate histochemical and cytochemical characterization of secretory epithelial cells. *Anat Rec* 1988; 221:540-549.
- 42) Plopper CG, George JA, Nishio SJ, Etchison JR, Nettesheim P. Carbohydrate cytochemistry of tracheobronchial airway epithelium of the rabbit. *J Histochem Cytochem* 1984; 32:209-218.
- 43) Jacob S, Poddar S. Mucous cells of the tracheobronchial tree in the ferret. *Histochem* 1982; 73:599-605.
- 44) Spicer SS, Setser ME, Mochizuki I, Simson JA. The histology and fine structure of glands in the rat respiratory tract. *Anat Rec* 1982; 202:33-43.
- 45) Svitacheva N, Davies JR. Mucin biosynthesis and secretion in tracheal epithelial cells in primary culture. *Biochem J* 2001; 353: 23-32.
- 46) Bancroft JD, Cook HC. *Manual of histological techniques* (1 st ed), Logman Group Limited, 1984; 102-123.