

## Kınalı keklikte palpebral konjunktivanın histokimyasal yapısı

Funda PEKMEZCİ, Kenan ÇINAR\*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 32260 Isparta

### ÖZET

**Anahtar Kelimeler:**  
Konjunktiva,  
kadeh hücreleri,  
histokimya,  
keklik,  
müsin.

Bu çalışmada kınalı keklik'te palpebral konjunktivanın histokimyasal yapısının belirlenmesi amaçlandı. Araştırma materyali olarak 4 adet erişkin kınalı kekliğe ait alt ve üst göz kapakları kullanıldı. Yapılan histokimyasal boyamalarla alt ve üst göz kapağının orbital ve tarsal bölgelerinde bulunan kadeh hücrelerinin çoğunun nötral ve asidik müsinleri içerdiği saptandı. Alt ve üst göz kapağının marjinal bölge epitelinin yüzeyinde karboksilli müsinler için zayıf reaksiyon gözlenirken, orbital ve tarsal bölgelerde yoğun olarak karboksilli müsin içeren kadeh hücreleri bulunduğu tespit edildi. Alt ve üst göz kapağı marjinal bölge epitelinin yüzeyinde sülfatlı müsin rastlanmadı.

## Histochemical structure of palpebral conjunctiva in red-legged partridge

### ABSTRACT

**Key Words:**  
Conjunctiva,  
goblet cells,  
histochemistry,  
partridge,  
mucin

In this study, it was aimed to determine the histochemical structure of palpebral conjunctiva in red-legged partridge. Lower and upper eyelids of 4 adult red-legged partridge were used as research material. It was detected that most of the goblet cells in the tarsal and orbital regions of upper and lower eyelids contained neutral and acidic mucins by histochemical stainings. While the weak reaction was observed in the surface epithelium of marginal region of lower and upper eyelids for carboxylated mucins, the goblet cells containing intensively carboxylated mucins were determined in the orbital and tarsal regions. The sulphated mucin was not found in surface epithelium of marginal region in the lower and upper eyelids.

\*Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-posta:

## 1. Giriş

Gözün biyolojik zırhı olarak kabul edebilecek bir yapı olan konjunktiva, gözün korneaya kadar olan bölümünü ve göz kapaklarının iç yüzeyini kaplayan ince, saydam bir zarıdır.

Bu kaygan özel zar; gözün hareketi esnasında gözkapaklarının göz küresine zarar vermemesini, gözün iç kısmının dış ortamdaki ayrılmasını ve izole olmasını sağlar. Aynı zamanda fiziksel bariyer görevi yaparak tozların, yabancı cisimlerin, mikroorganizmaların göz küresinin arka kısımlarına ulaşarak yangı oluşturmasını engeller (1). Konjunktiva sadece gözyaşı filminin sekresyonuna katılmaz, aynı zamanda immunolojik savunma reaksiyonlarında rol oynar, rezorbsiyon yeteneği de vardır (2).

Konjunktiva, epitel ve stroma (lamina propria) olmak üzere iki kattan oluşur (3). Epitel içerisinde bol miktarda müsin salgılayan kadeh hücrelerine rastlanır (4). Epitelin yüzeyinde bulunan mikrovilli ve mikropili adı verilen yapıların üzerini glikokaliks ve hidrofilik özellikteki müsin tabakası örtmektedir (2).

Müsinler, mukus tabakasının önemli bileşenini oluşturan yüksek moleküler ağırlıktaki glikoproteinlerdir ve merkezi birpeptit çekirdeğe ağırlıklı olarak O-glikanlar ile sınırlı miktarda N-glikanların eklenmesiyle oluşurlar (5) ve omurgalılarıdaki pek çok epitel doku tarafından üretilirler (5-6). Kadeh hücrelerinden salgılanan müsin, kornea epitelindeki mikrovilluslar arasına girerek yüzeyin düzgünlüğünü sağlarken, su tutucu etkisinden dolayı da gözyaşının korneada durmasını sağlar (2-7). Kadeh hücreleri müsinin yanı sıra, bakteri hücre duvarlarını sindirmek için yüksek düzeyde lizozim içerir. Lizozim çoğu hayvansal dokular ve salgılarda mevcuttur ancak lökositler, burun salgıları ve gözyaşı içinde daha yüksek konsantrasyonda bulunur (7).

Konjunktiva histokimyasına yönelik çalışmalar sınırlı olup, yapılan literatür taraması sonucunda herhangi bir kuş türünde böyle bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada kınalı keklik (*Alectoris chukar*) palpebral konjunktivasının histokimyasal karakterinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Gereç Ve Yöntem

Bu çalışmada araştırma materyali olarak 4 adet erişkin keklik (*Alectoris chukar*) kullanıldı. Çalışmada kullanılan keklikler SDÜ Ziraat Fakültesi Çiftçi Eğitim Tarımsal Uygulama Merkezi tavuk kümesinden temin edildi. Servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi uygulanan kekliklerin alt ve üst göz kapakları alındı. Alınan göz kapakları Bouin solüsyonunda 18 saat süreyle tespit edildi.

Tespit işleminden sonra, Bouin solüsyonundaki örnekler yıkanmadan rutin doku takibi aşamalarından geçirilerek parafinde bloklandı. Bloklardan 5-6 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitlere göz kapağının genel histolojik yapısının belirlenmesi amacıyla hematoksilin-eozin boyama metodu (8), alt ve üst göz kapaklarının palpebral bölgesinin histokimyasal karakterinin belirlenmesi amacıyla da Tablo 1’de belirtilen boyama yöntemleri uygulandı. Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı

Boyama Yöntemi	Belirlenen Müsinler
Alcian Blue (AB) pH 0.5 (9)	Güçlü sülfatlı
AB pH 1.0 (9)	O-sülfat esterli
AB pH 2.5 (9)	Karboksilli
Aldehid Fuksin (AF) (10)	Sülfatlı
AF/AB (pH 2.5) (11)	Sülfatlı ve/veya karboksilli
Periyodik Asit-Schiff (PAS)(12)	Nötral
PAS/AB (pH 2.5) (13)	Nötral ve/veya güçlü asidik
PAS/AB (pH 1.0) (13)	Nötral ve/veya O-sülfat esterli

AB: Alcian Blue; AF/AB: Aldehit Fuksin/Alcian Blue; PAS/AB: Periyodik Asit-Schiff/Alcian Blue

**Tablo 1.** Uygulanan boyama yöntemi ve belirlenen müsinler

## 3. Bulgular

Palpebral konjunktivanın kendi içerisinde epitel özelliklerine göre sırasıyla marjinal, tarsal ve orbital bölgelerden oluştuğu tespit edildi lamina proprianın sıkı bağ dokusu özelliğinde olduğu belirlendi (Şekil-1). Çalışılan bölgelerde bez görülmedi. Palpebral konjunktivanın göz kapakları içeri döndüğünde karşılaşılan ilk bölgesi olan marjinal konjunktivanın çok katlı yassı non-keratinize örtü epiteli ile örtülü olduğu saptandı. Tarsal konjunktivanın 3-4 sıra poligonal hücrelerden oluşan, içerisinde kadeh hücreleri bulunan, çok katlı bir epitele sahip olduğu tespit edildi. Ayrıca tarsal konjunktivanın fazla derin olmayan, kript şeklindeki çukurlar içerdiği saptandı. Orbital konjunktivada ise çok katlı prizmatik epitel görülürken apikaldeki hücrelerde mikrovillus benzeri yapılar tespit edildi (Şekil-1c).

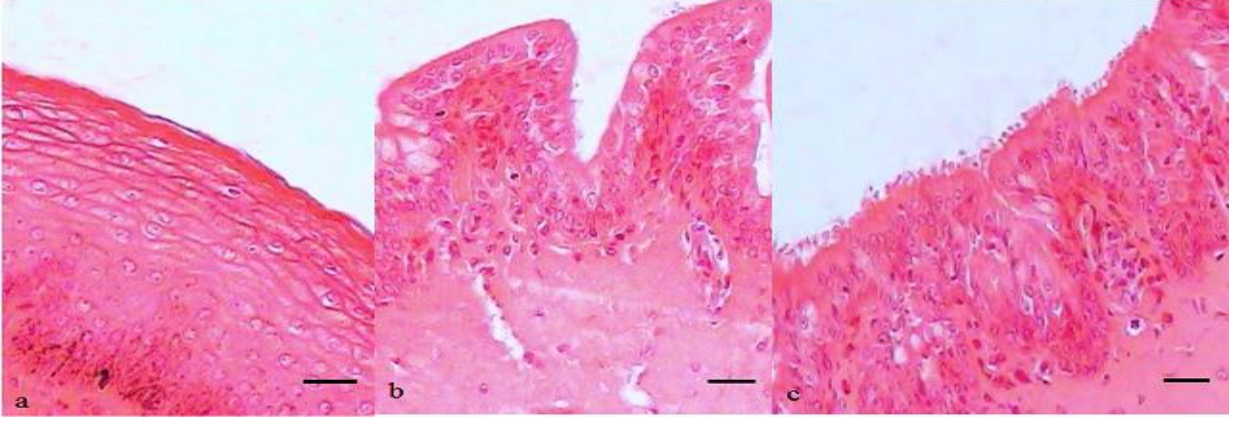
Tarsal ve orbital konjunktiva içerisinde yer alan kadeh hücrelerinin daha çok topluluk halinde bulunduğu saptandı.

Çalışılan palpebral konjunktiva bölgelerinin boyama yöntemlerine karşı gösterdikleri reaksiyonlar Tablo 2’de verilmiştir.

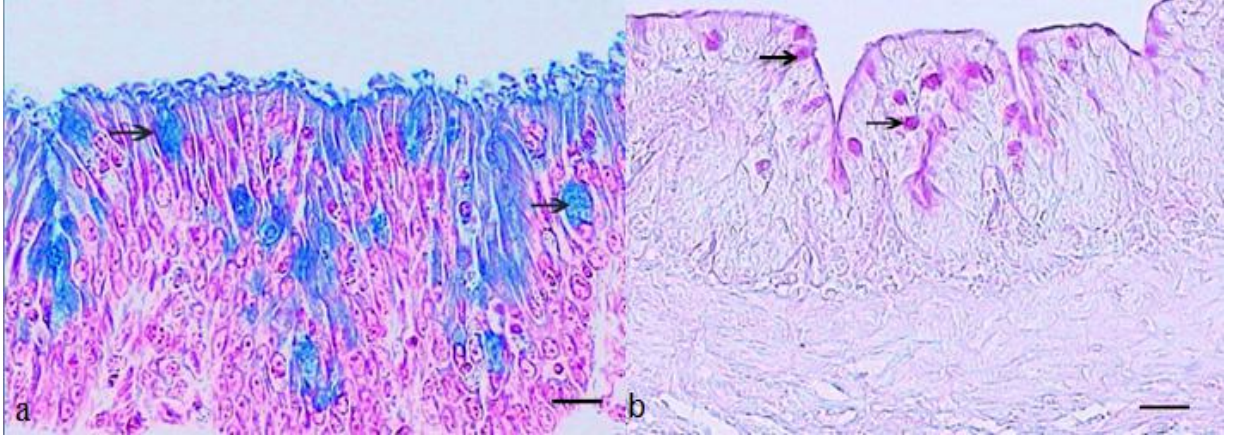
Alcian Blue (AB) pH 0.5 boyama tekniğinde alt göz kapağı marjinal bölge yüzey epitelinde çok zayıf reaksiyon görülürken, tarsal ve orbital bölgelerdeki kadeh hücrelerinde orta ve güçlü düzeyde reaksiyon tespit edildi. Üst göz kapağının marjinal bölge yüzey epitelinde reaksiyon görülmezken tarsal ve orbital bölgelerdeki kadeh hücrelerinde zayıf ve orta şiddette reaksiyon tespit edildi.

Hem alt hem üst göz kapağı marjinal bölge yüzey epitelinde zayıf AB (pH 1.0) reaksiyonu olduğu tespit edildi. Ayrıca her iki göz kapağının tarsal bölgelerinde çok zayıftan orta dereceye kadar reaksiyon gösteren kadeh hücreleri görülmesine karşın, reaksiyonun olmadığı hücrelere de rastlandı. Alt göz kapağı orbital bölge kadeh hücrelerinde orta ve güçlü, üst göz kapağı orbital bölge kadeh hücrelerinde ise zayıf ve orta düzeyde reaksiyon olduğu tespit edildi.

AB pH 2.5 uygulamasında her iki göz kapağında da marjinal bölge yüzey epitelinde zayıf reaksiyon görüldü. Tarsal ve orbital bölgelerdeki goblet hücrelerinde güçlü ve çok güçlü AB pH 2.5 (+) reaksiyon gözlemlendi. (Şekil 2a),



**Şekil 1.** Palpebral konjunktivanın bölümleri. a) Marjinal bölge b) Tarsal bölge c) Orbital bölge. Hematoksilen-Eozin uygulaması. Barlar: 50 µm. X200



**Şekil 2.** a) Üst göz kapağında orbital bölgede karboksilli mukosubstans içeren kadeh hücreleri (oklar). AB (pH 2.5). Bar: 25µm. X400 b) Alt göz kapağında tarsal bölgede nötral mukosubstans içeren kadeh hücreleri (oklar) PAS uygulaması. Bar: 50 µm. X200.

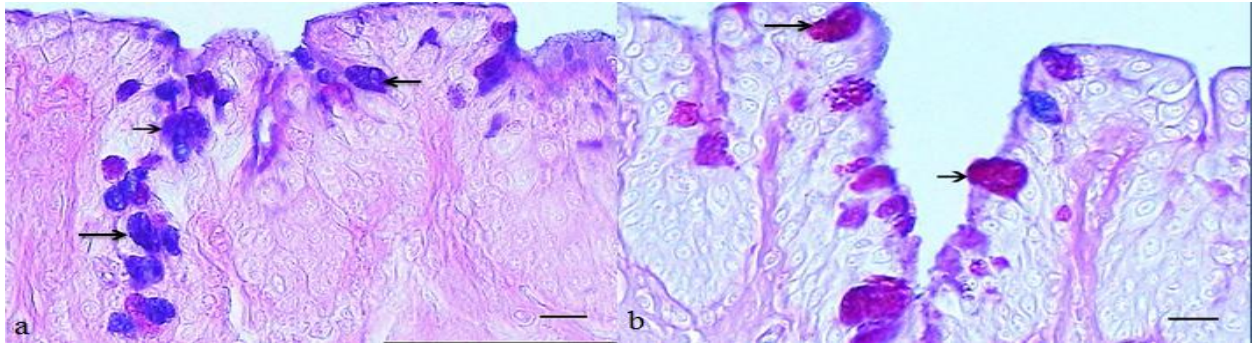
Periyodik Asit-Schiff (PAS) yöntemi uygulamasında alt göz kapağı marjinal bölge yüzey epitelinde reaksiyon görülmezken, tarsal ve orbital bölgelerde bulunan kadeh hücrelerinin orta yoğunluktan çok güçlüye kadar PAS(+) reaksiyon gösterdiği tespit edildi. (Şekil 2b). Üst göz kapağı marjinal bölge yüzey epitelinde PAS yöntemi için zayıf reaksiyon gözlenirken; tarsal bölgede zayıf ve orta yoğunlukta, orbital bölgede ise orta yoğunlukta olandan çok güçlüye kadar farklı PAS(+) reaksiyon gösteren kadeh hücrelerine rastlandı.

Her iki göz kapağı bölümünde de PAS/AB (pH 1.0) uygulamasında tarsal ve orbital bölgelerde kadeh hücrelerinin çoğunun O-sülfat esterli ve nötral müsinleri karışım halinde bulundurduğu ancak bu hücrelerde PAS (+) müsinlerin daha baskın olduğu görüldü. Az sayıdaki kadeh hücrelerinin ise PAS/AB (pH 1.0) (+) özellikte olduğu tespit edildi (Şekil 3a). Uygulanan PAS/AB (pH 2.5) boyama yöntemi sonucunda her iki göz kapağında da marjinal bölge yüzey epitelinin asidik müsin içerdiği görüldü. Tarsal ve orbital bölgedeki kadeh hücrelerinin çoğunluğunun asidik ve nötral müsinlerin her ikisini de içerdiği, az sayıdaki kadeh hücrelerinin ise sadece PAS (+) ya da AB (pH 2.5) (+) özellikte olup bu müsinlerden sadece bir tipini içerdiği belirlendi (Şekil 3b).

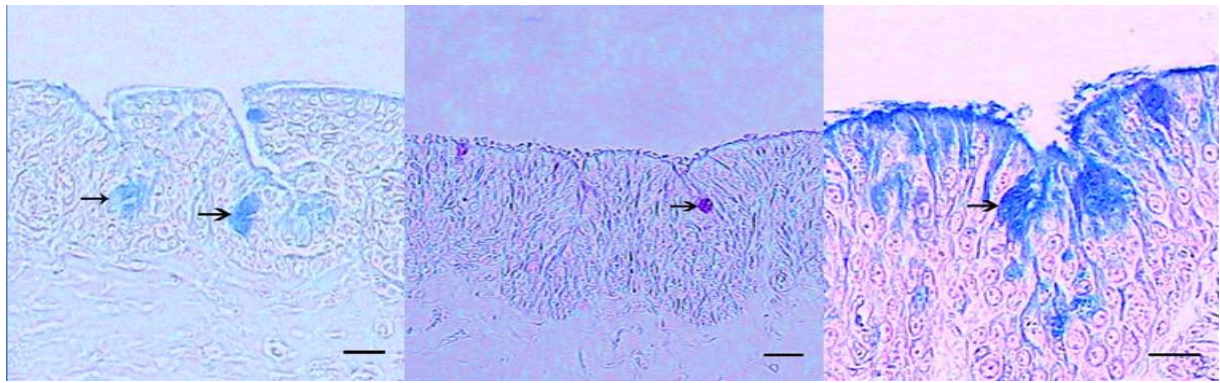
Sülfatlı müsinin belirlenmesi amacıyla uygulanan Aldehit Fuksin (AF) yöntemi sonucunda alt ve üst göz kapağı marjinal bölge yüzey epitelinde reaksiyon gözlenmezken tarsal bölgede bulunan kadeh hücrelerinin zayıf ve orta dereceli reaksiyon gösterdiği belirlendi. Alt göz kapağı orbital bölge kadeh hücrelerinin orta ve güçlü, üst göz kapağı kadeh hücrelerinin zayıf ve orta yoğunlukta AF (+) reaksiyon gösterdikleri tespit edildi.

AF/AB (pH 2.5) boyama yöntemi ile tarsal ve orbital bölgelerde sadece karboksilli müsinleri içeren kadeh hücrelerinin çoğunlukta olduğu belirlendi. Bu bölgedeki az sayıda kadeh hücrelerinin sülfatlı ve karboksilli müsinlerin her ikisini de içerdiği, daha az sayıdaki kadeh hücrelerinin ise sadece sülfatlı müsinleri içerir şekilde AF (+) boyandığı tespit edildi.

Üst göz kapağı **AF/AB (pH 2.5)** uygulamasında marjinal bölge yüzey epitelinde zayıf AB (pH 2.5) reaksiyonu görüldü. Tarsal ve orbital bölgelerde sadece AB (pH 2.5) (+) reaksiyon gösteren kadeh hücrelerinin çoğunlukta olduğu, az sayıda kadeh hücrelerinde ise sülfatlı ve karboksilli müsinlerin karışım halinde bulunduğu belirlendi. Sadece sülfatlı müsin içeren AF (+) kadeh hücrelerine rastlanmadı.



**Şekil 3.** a) Alt göz kapağında tarsal bölgede nötral ve asidik müninleri birlikte içeren kadeh hücreleri (oklar). PAS/AB (pH 1.0). Bar: 20  $\mu$ m. X400 b) Alt göz kapağında tarsal bölgede nötral müninleri daha yoğun içeren kadeh hücreleri (oklar).PAS/AB (pH 2.5). Bar: 20  $\mu$ m. X400



**Şekil 4.** a) Üst göz kapağı tarsal bölgesinde O-sülfat esterli münin içeren kadeh hücreleri (oklar). AB pH 1.0, Bar: 20  $\mu$ m. X200. b) Alt göz kapağı orbital bölgesinde yoğun sülfatlı münin içeren kadeh hücresi (ok). AF uygulaması. Bar: 20  $\mu$ m. X200. c) Alt göz kapağı orbital bölgesinde sülfatlı ve karboksilli münini birlikte içeren kadeh hücresi (ok). Bar: 30  $\mu$ m. X400.

**Tablo 2.** Palpebral konjunktiva bölgelerinin uygulanan boyama yöntemlerine karşı verdikleri reaksiyon ve yoğunluğu

Boyama Yöntemleri Bölgeler	AB pH 0.5	AB pH 1.0	AB pH 2.5	PAS	PAS/AB pH 1.0	PAS/AB pH 2.5	AF	AF/AB pH 2.5	
ALTGÖZ KAPAĞI	MARGİNAL (yüzeý epiteli)	1	2	2	0	AB <sup>2</sup>	AB <sup>2</sup>	0	AB <sup>3</sup>
	TARSAL	3-4	0-3	4-5	3-5	K <sup>PAS</sup> PAS <sup>4</sup> AB <sup>3</sup>	K <sup>EB</sup> PAS <sup>3</sup> AB <sup>2</sup>	2-3	K <sup>AB</sup> AF <sup>3</sup> AB <sup>3</sup>
	ORBİTAL	3-4	3-4	4-5	3-5	K <sup>PAS</sup> PAS <sup>4</sup> AB <sup>3</sup>	K <sup>EB</sup> PAS <sup>3</sup> AB <sup>2</sup>	3-4	K <sup>AB</sup> AF <sup>3</sup> AB <sup>3</sup>
ÜST GÖZ KAPAĞI	MARGİNAL (yüzeý epiteli)	0	1	2	1	AB <sup>2</sup>	AB <sup>2</sup>	0	AB <sup>2</sup>
	TARSAL	2-3	0-3	4-5	2-3	K <sup>PAS</sup> PAS <sup>4</sup> AB <sup>3</sup>	K <sup>EB</sup> PAS <sup>3</sup> AB <sup>2</sup>	2-3	K <sup>AB</sup> AB <sup>3</sup>
	ORBİTAL	2-3	2-3	4-5	2-5	K <sup>PAS</sup> PAS <sup>4</sup> AB <sup>3</sup>	K <sup>EB</sup> PAS <sup>3</sup> AB <sup>2</sup>	2-3	K <sup>AB</sup> AB <sup>3</sup>

Periyodik asid-Schiff; AB pH 0,5, 1,0, 2,5, Alcian blue pH 0,5, 1,0, 2,5; PAS/AB pH 2,5, Periyodik asid-Schiff/Alcian blue pH 2,5; AF, Aldehit fuksin; AF/AB pH 2,5, Aldehit fuksin/Alcian blue pH 2,5 güçlü K<sup>EB</sup> (karışım eş baskın), K<sup>PAS</sup> (karışım PAS baskın), K<sup>AB</sup> (karışım AB baskın) Reaksiyon yoğunluğu; 0:negatif, 1:çok zayıf, 2:zayıf, 3:orta, 4:güçlü, 5:çok güçlü

#### 4. Tartışma Ve Sonuç

Konjunktiva; palpebral konjunktiva, fornix, bulber konjunktiva ve plica seminalis şeklinde dört bölümde incelenir. Palpebral konjunktiva marjinal, tarsal ve orbital parçalardan oluşur ve göz kapaklarının iç yüzünü kaplar. Marjinal konjunktiva deri gibi çok katlı ancak nonkeratinize epitele sahiptir. Tarsal konjunktiva altındaki tarsiya çok sıkı yapışıktır. Epitel burada silindirikdir. Tarsal konjunktiva çok damarlıdır. Orbital konjunktiva altında göz kapağının müller ve levator palpebra kasları vardır. Prizmatik yapı burada da devam eder. Yüzeyinde papiller oluşumlar vardır (14).

Kobayda (Guinea pig) (15) yapılan çalışmada bölge belirtilmeksizin, konjunktival kadeh hücrelerinde PAS(+) reaksiyon gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise PAS uygulamasında alt göz kapağı tarsal ve orbital bölge kadeh hücrelerinin orta yoğunluktan çok güçlüye kadar farklı reaksiyonlar gösterdikleri tespit edildi. Üst göz kapağında ise tarsal bölge kadeh hücrelerinin PAS uygulamasında zayıf ve orta reaksiyon gösterirken, orbital bölgedeki kadeh hücrelerinin orta şiddette olandan çok güçlüye kadar farklı reaksiyon gösterdikleri gözlemlendi.

Rat (Sprague-Dawley) (17) ve insan (16) konjunktival kadeh hücrelerinde yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin nötral ve asidik münlerin her ikisini de, benzer oranlarda içerdikleri belirtilmiştir. Sunulan çalışmada ise kekliğin alt ve üst göz kapağı tarsal ve orbital bölgelerinde bulunan kadeh hücrelerinin rat (17) ve insan (16)'nın kadeh hücrelerine benzer şekilde nötral ve asidik münlerin ikisini de içerdikleri belirlendi. Ancak keklikte az sayıda kadeh hücrelerinde sadece nötral ya da sadece karboksilli mün içerdiği de tespit edildi. Bu çalışmada PAS/AB pH 1.0 uygulamasında AB (pH 2.5) uygulamasından farklı olarak alt ve üst göz kapağı tarsal ve orbital bölgelerindeki kadeh hücrelerinin genelinde karışım halinde bulunan münlerde PAS baskınlığı olduğu görüldü.

Sonuç olarak sunulan çalışma ile kınalı keklik palpebral konjunktivasının histokimyasal karakteri belirlenmiştir. Hem alt hem üst göz kapağında marjinal bölge yüzey epitelinin asidik mün içermesinin gözün patojenlere karşı korunmasında, tarsal ve orbital bölgelerdeki mün karakterinin ise gözyaşının pH'ının ayarlanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.

#### 5. Kaynaklar

1. Akgöz, D., Köpeklerin Konjunktivasında Bulunan Mast Hücrelerinin Histokimyasal, Enzim Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2006.
2. Kocamış, Ö., Primer Pterijium Cerrahi Tedavisinde Serbest Konjunktival Otograft. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2005.
3. Konjunktiva, http 2 <http://www.ophso.net> Erişim Tarihi: 04/08/2012
4. Özer, A., Veteriner Özel Histoloji. s.328, Nobel Yayınevi, Ankara, 2010.
5. Carlstedt, I., Sheehan J.K., Corfield, A.P., Gallagher, J.T., Mucous glycoproteins: A gel of a problem. Essays Biochem, 20, 40-76, 1985.
6. Öztapak, K.Ö., Lektinler ve Viscum album aglutinin (VAA)'nın antikarsinojen etkileri, Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg, 2, 55-59, 2005.
7. Reece, W., Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals, s. 592, Wiley-Blackwell, 2009.
8. Luna, L.G., Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology, s.258, Blakiston Division, McGraw-Hill, New York, 1968.
9. Lev, R., Spicer, S.S., Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH, J. Histochem. Cytochem, 12, 309, 1964.
10. Gomari, G., Gomari.s Aldehyde Fuchsin stain. In: Cellular Pathology Technique (C.F.A. Culling, R.T. Allison, and W.T. Barr, eds), pp.238, Butterworths, London 1952.
11. Spicer, S.S., and Mayer, D.R. Aldehyde Fuchsin/Alcian Blue. In: Cellular Pathology Technique (C.F.A. Culling, R.T.Allison, and W.T. Barr, eds). pp.233, Butterworths, London 1960.
12. McManus, J.F.A., Histological and histochemical uses of periodic acid, Stain Technol, 23, 99-108, 1948.
13. Mowry, R.W., Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates, J. Histochem, Cytochem, 4, 407-408, 1956.
14. Konjunktiva, http 1: <http://www.ofthalmoskop.net/?p=493> Erişim Tarihi: 01/10/2012
15. Gasser, K., Fuchs-Baumgartinger, A., Tichy, A., Barbara, N., Investigations on the conjunctival goblet cells and on the characteristics of glands associated with the eye in the guinea pig, Veterinary Ophthalmology, 14(1), 26-40, 2011.
16. Shatos, A.M., Rios, J.D., Horikawa, Y., Hodges R.R., Chang, E.L., Bernardino, C.R., Rubin P., Dartt, A., Isolation and Characterization of Cultured Human Conjunctival Goblet Cells, IOVS., 44(6), 2477-2486, 2003.
17. Huang, A.J., Tseng, S., Kenyon, K.R., Morphogenesis of Rat Conjunctival Goblet Cells, Investigative IOVS., 29(6), 969-975. 1988.