



Erciyes University Journal of the Institute of Science and Technology  
Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi  
ISSN 1012-2354



Cilt (Volume): 28, Sayı (Issue): 1, Ocak/January-2012  
<http://fbe.erciyes.edu.tr/>

## Karga (*Corvus corone*) özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarındaki glikokonjugatların lektin histokimyası ile belirlenmesi

Kenan ÇINAR; \*Emel DEMİRBAĞ

Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 32260 Isparta

### ÖZET

Bu çalışmada karga (*Corvus corone*) özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarındaki glikokonjugatların belirlenmesi amacıyla *Triticum vulgare* (WGA), *Bandeiraea simplicifolia* (BSA I-B<sub>4</sub>), *Arachis hypogaea* (PNA) ve *Ulex europaeus* (UEA I) lektinleri kullanıldı. Uygulamalar sonucunda özofagus ve mide (proventrikulus ve gizzard) mukozalarındaki glikokonjugat yoğunluklarının önemli derecede farklılık gösterdiği tespit edildi. Özofagus epitelinin yassı hücre tabakasının  $\alpha$ -D-galactosyl, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosaminyl, özofagal bezlerin ise  $\beta$ -Galactoz, N-acetylgalactosamine içeriğinin yoğun olduğu saptandı. Proventrikulus epiteli ve basit bezlerin çok yoğun olarak bileşik bezlerin ise yoğun olarak  $\alpha$ -D-galactosyl, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosaminyl içerdiği belirlendi. Bileşik bezlerin aynı zamanda az oranda  $\alpha$ -L-Fucose içerdiği dikkati çekti.  $\alpha$ -L-Fucose'un gizzardın bazı bez hücrelerinde çok az bulunduğu tespit edildi. Hem proventrikulus hem de gizzardın epitel ve bez hücrelerinde N-acetyl- $\beta$ -D glucosamine, N-acetylneuraminic acid (siyalik asit),  $\alpha$ -D-galactosyl, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosaminyl içeriklerinin diğer glikokonjugatlara kıyasla daha yoğun miktarda bulunduğu belirlendi.

### Anahtar Kelimeler:

Gizzard,  
glikokonjugat,  
karga,  
lektin  
histokimyası,  
özofagus,  
proventrikulus

## Determination of glycoconjugates in esophagus, proventriculus and gizzard mucosa of crow (*Corvus corone*) by lectin histochemistry

### ABSTRACT

In this study, lectins of *Triticum vulgare* (WGA), *Bandeiraea simplicifolia* (BSA I-B<sub>4</sub>), *Arachis hypogaea* (PNA) and *Ulex europaeus* (UEA I) were used to determine the glycoconjugates in the esophagus, proventriculus and gizzard mucosa of crow (*Corvus corone*). As a result of applications the density of glycoconjugate in the mucosa of esophagus and stomach (proventriculus and gizzard) was found to differ significantly. The  $\alpha$ -D-galactosyl, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosaminyl content of squamous cell layer of esophagus epithelium, and  $\beta$ -Galactoz, N-acetylgalactosamine content of the esophageal glands were found to be intense. It was determined that the  $\alpha$ -D-galactosyl, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosaminyl were included as very intense in the epithelium and simple glands and as intense in compound glands in proventriculus. It was noted that the compound glands also included the  $\alpha$ -L-Fucose in small amounts. The  $\alpha$ -L-Fucose was slightly in some gland cells of gizzard. It was detected that N-acetyl- $\beta$ -D glucosamine, N-acetylneuraminic acid (sialic acid),  $\alpha$ -D-galactosyl, N-acetyl- $\alpha$ -D-galactosaminyl contents were more intense than the other glycoconjugates in the epithelial and gland cells of both proventriculus and gizzard.

### Keywords:

Crow,  
esophagus,  
gizzard,  
glycoconjugate,  
lectin  
histochemistry,  
proventriculus

## 1. Giriş

Dış ortamla ilişkili gastrointestinal, respiratorik, üreme ve üriner kanal gibi mukozal dokular virüsler, bakteriler, maya, protozoonlar ve multisellüler parazitler için erişim yollarıdır [1]. Mukus bu kısımlarda nesnelere geçişi için kayganlaştırmada, patojenler ve zehirli maddeler için pre-epitelial bariyer olarak mukozal korumada önemli bir rol oynar [2-4]. Musinler, mukus tabakasının önemli bileşenini oluşturan yüksek moleküler ağırlıktaki glikoproteinlerdir ve merkezi bir peptit çekirdeğe ağırlıklı olarak O-glikanlar ile sınırlı miktarda N-glikanların eklenmesiyle oluşurlar [5] ve omurgalılarıdaki pek çok epitel doku tarafından üretilirler [5-8].

Lektinler dokularda lokalize olan glikoprotein veya glikolipitlerdeki karbonhidrat zincirlerine en az iki yerden bağlanarak biyolojik rollerini oynarlar [9]. Spesifik karbonhidrat bağlama özelliğinden dolayı lektinler, kompleks hücre ekstraktlarından glikoproteinlerin [10] ve enzimlerin saflaştırılması [11], glikoprotein ve polisakaritlerin izolasyonu [12] ve kanser araştırmaları [13,14] gibi yaygın alanlarda güçlü araçlar olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda [15,16] lektinlerin, immün sistem hücrelerini uyarak hücre sayısını ve aktivitelerini artırdıkları bildirilmiştir. Bu etkileriyle lektinlerin kanser tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür [14,17]. Aynı zamanda lektinler oligosakaritlerin karbonhidrat dizilerinin spesifik terminal uçlarını belirlemek için kullanılan histokimyasal problemlerdir [18]. Lektin histokimyası glikoproteinlerin arasındaki farklılıkları belirlemeye yarayan araçlardan biridir [19].

Farklı balık [20,21], kuş [22, 23] ve memeli [24,25] türlerinin özofagus mukozasındaki ve bazı kuş türlerinin mide mukozasındaki glikokonjugatlara yönelik

çalışmalar [26-29] bulunmasına rağmen, glikokonjugatların karga (*Corvus corone*) özofagus ve midesindeki yerleşimleri ve kompozisyonlarına ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada WGA, BSA I-B<sub>4</sub>, PNA ve UEA I lektinleri ile glikokonjugatların karga (*Corvus corone*) özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarındaki yerleşimlerinin ve kompozisyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada 5 adet erişkin karga (*Corvus corone*)'nın özofagus, proventrikulus ve gizzardından alınan doku örnekleri materyal olarak kullanıldı. Dokular %10'luk formalin solusyonunda 24 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik doku takibi aşamasından geçirilerek parafinde bloklandılar. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitlere lektin histokimya yöntemi uygulandı. Bu yöntemle göre kesitler 10 dakika %0,3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile muamele edildi ve daha sonra distile su ile çalkalandı. Ardından kesitler 0,1 M ve pH 7,2'lik PBS (phosphate buffer saline) içeren %1'lik Bovine Serum Albumine (BSA) ile yıkandı ve PBS içinde çözülmüş Tablo 1' de belirtilen Horseradish Peroksidaz-bağlı (HRP) lektinlerle 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kesitler PBS ile yıkandı. HRP lektinlerle bağlantı içeren bölgelerin tespit edilmesi için kesitler DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)'da 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra alkol ve ksilollerden geçirilip entellan ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus CX 41 tipi ışık mikroskobu ile incelendi ve ilgili kısımlardan fotoğraf çekimi yapıldı.

**Tablo 1.** Kullanılan lektinlerin özellikleri ve optimal konsantrasyonları

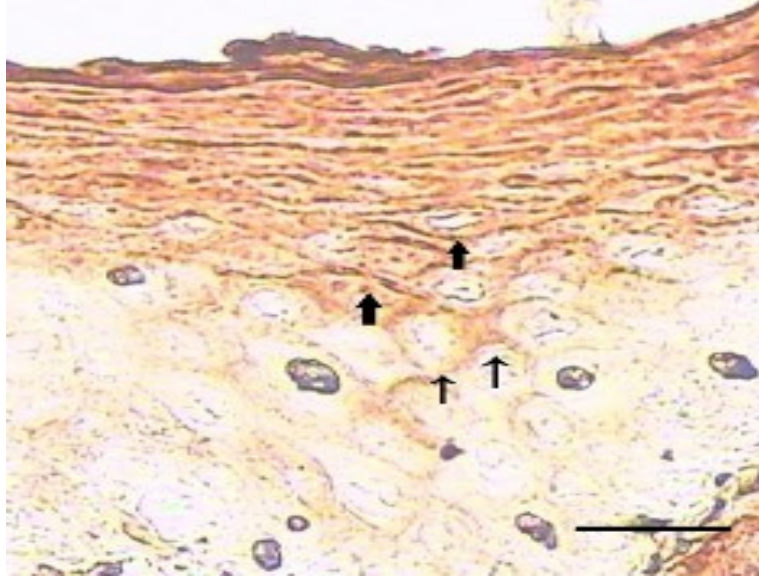
Lektin Adı	Tür Adı	Karbonhidrat spesifitesi	Optimal Konsantrasyon
<b>BSA I-B<sub>4</sub></b>	<i>Bandeiraea simplicifolia</i>	α-D-galactosyl, N-acetyl-α-D-galactosaminyl	25 µg/ml
<b>WGA</b>	<i>Triticum vulgare</i>	N-acetyl-β-D-glucosamine, N-acetylneuraminic acid (siyalik asit)	20 µg/ml
<b>PNA</b>	<i>Arachis hypogaea</i>	β-galactoz, N-acetylgalactosamine	25 µg/ml
<b>UEA I</b>	<i>Ulex europaeus</i>	α-L-Fucose	25 µg/ml

### 3. Bulgular

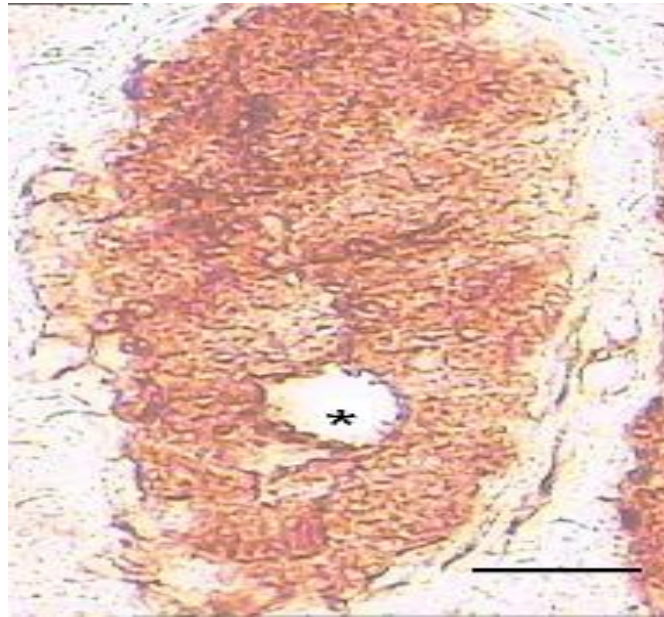
Özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarındaki glikokonjugatların uygulanan lektinlere karşı verdiği reaksiyon şiddetleri Tablo 2’de belirtildi.

Özofagusta yassı hücre tabakasının BSA I-B<sub>4</sub>’e karşı çok güçlü, PNA’ya karşı güçlü reaksiyon gösterdiği tespit edildi. Lümeneye komşu 2-3 sıra hücrenin WGA ve UEA I’e karşı güçlü reaksiyon gösterdiği ve bazı hücrelerin orta derecede UEA I reaksiyonuna sahip olduğu belirlendi. Poligonal hücre tabakasında WGA ve UEA I

uygulamalarına karşı reaksiyona rastlanmazken, PNA uygulamasında reaksiyonun çok zayıf olduğu tespit edildi. BSA I-B<sub>4</sub> uygulamasında ise poligonal hücrelerin bazılarında zayıf, yassı hücre tabakasına komşu olanlarda orta derecede reaksiyon belirlendi (Şekil 1). Prizmatik hücre tabakasında, uygulanan lektinlere karşı reaksiyona rastlanmadı. Özofagal bezlerde en güçlü reaksiyonun PNA lektinine karşı meydana geldiği (Şekil 2); BSA I-B<sub>4</sub> lektinine karşı güçlü, UEA I ve WGA lektinlerine karşı orta derecede reaksiyon bulunduğu tespit edildi. Ayrıca bazı bezlerde WGA reaksiyonunun zayıf olduğu belirlendi.



**Şekil 1.** Özofagus mukozasının poligonal hücre tabakasında zayıf (ince oklar) ve orta derecede (kalın oklar) reaksiyon gösteren hücreler, BSA I-B<sub>4</sub>, 20 µm.



**Şekil 2.** Çok güçlü reaksiyon gösteren özofagal bez (yıldız), PNA, 20 µm.

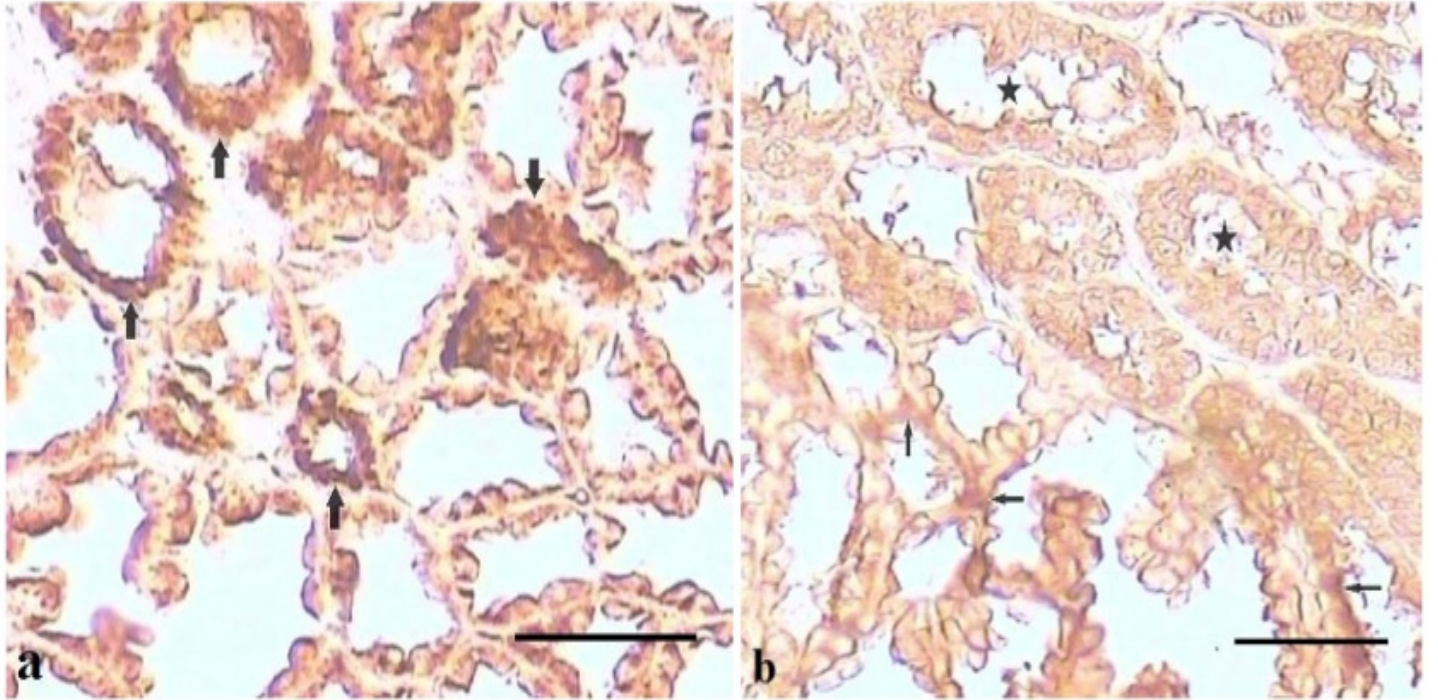
**Tablo 2.** Özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarındaki glikokonjugatların lektinlere karşı verdiği reaksiyon şiddetleri

Uygulanan Lektinler	Özofagus			Proventrikulus				Gizzard	
	Yassı Hücre Tabakası	Poligonal Hücre Tabakası	Prizmatik Hücre Tabakası	Bezler	Epitel	Basit bez	Bileşik bez	Epitel	Bez
PNA	++++	+	-	++++	++++	+++	++++	++++	+++
WGA	++++	-	-	+/+++	+/+++	+/+++	+++	++++	++++
BSA I-B <sub>4</sub>	++++	+/+++	-	++++	++++	++++	++++	+/+++	++++
UEA I	+++ /++++	-	-	+++	-/+	-/+	++	+	-/+

- : negatif; + : çok zayıf; ++ : zayıf; +++ : orta; ++++ : güçlü; +++++ : çok güçlü

Proventrikulusta epitel yüzeyindeki mukus glikokonjugatlarının WGA lektini ile orta derecede, PNA lektini ile güçlü, BSA I-B<sub>4</sub> lektini ile çok güçlü, UEA I lektini ile zayıf reaksiyon verdiği belirlendi. PNA pozitif glikokonjugatın epitel hücrelerinin bazal ve basit ve

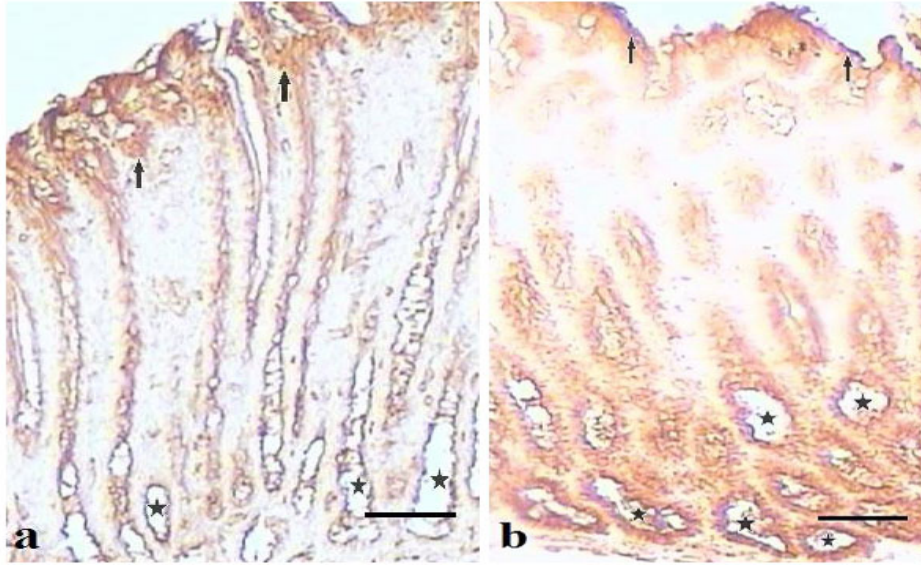
bileşik bez hücrelerinin apikalinde yoğunlaştığı (Şekil 3a); WGA pozitif materyalin ise epitel ve basit bez hücrelerinin apikalinde yoğunlaştığı ve bileşik bezlerdeki bazı hücrelerin orta derecede reaksiyon verdiği tespit edildi (Şekil 3b).



**Şekil 3. a)** Proventrikulus bileşik bezlerinde (oklar) güçlü reaksiyon, PNA, 50 µm. **b)** Proventrikulus basit (yıldızlar) ve bileşik (oklar) bezlerinde orta derecede reaksiyon, WGA, 50 µm.

Gizzardda epitel yüzeyindeki mukus glikokonjugatlarının WGA lektini ile çok güçlü (Şekil 4a), PNA lektini ile güçlü (Şekil 4b) ve BSA I-B<sub>4</sub> lektini ile orta derecede reaksiyon verdiği saptandı. BSA I-B<sub>4</sub> uygulamasında gizzard bezlerindeki reaksiyonun lamina muskularise komşu olan bezlerde daha yoğun olduğu belirlendi.

Gizzard bezlerindeki glikokonjugatın UEA I lektini uygulamasına karşı çok zayıf reaksiyon verdiği saptandı. Ayrıca proventrikulus epitel hücreleri ve basit bezlerinin bir kısmı ile bazı gizzard bezlerinde UEA I lektinine karşı spesifikite gösteren glikokonjugata rastlanmadı.



**Şekil 4. a)** Gizzarda epitel hücreleri (oklar) ve bezlerde (yıldızlar) güçlü reaksiyon, WGA, 50 µm. **b)** Gizzarda epitel hücrelerinin yüzeyinde (oklar) ve bezlerde (yıldızlar) güçlü reaksiyon, PNA, 50 µm.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Kanatlılarda gastrointestinal kanalın farklı bölgelerindeki mukosubstansların karakterini belirlemeye yönelik yapılmış lektin histokimyasal çalışma sayısı [22,23,26-29] sınırlıdır. Bununla birlikte yapılan literatür taramasında karga özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarındaki glikokonjugatlara yönelik çalışmaya rastlanmamıştır. Suprasert ve Fujioka [22] civciv özofagal bezlerinin UEA I negatif olduklarını, PNA'ya karşı güçlü, WGA'ya karşı ise zayıf reaksiyon verdiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise özofagal bezlerde UEA I ve WGA'ya karşı orta derecede, PNA'ya karşı ise çok güçlü reaksiyon tespit edildi. Bu çalışmada civciv özofagusunda [23] elde edilen bulgular ile benzer olarak özofagal bezlerdeki glikokonjugatların UEA I, PNA ve WGA pozitif oldukları belirlendi. Ayrıca özofagal bezlerin BSA I-B<sub>4</sub> pozitif materyali yoğun oranda içerdikleri de tespit edildi. Diaz ve ark. [21] bir teleost olan *Cynoscion guatucupa* türü özofagus epitelinin yüzeyinde güçlü PNA ve UEA I, orta derecede WGA reaksiyonu bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise karga özofagus epitelinin lümenine yakın yassı hücrelerinde güçlü PNA ve WGA, güçlü/orta UEA I reaksiyonları tespit edildi. İlaveten BSA I-B<sub>4</sub>'e karşı çok güçlü reaksiyonun varlığı kaydedildi.

Poorkhalkali ve ark. [24] çeşitli memeli türleri üzerine yaptıkları çalışmada özofagus epitel yüzeyinin tavşan ve köpekte WGA ve UEA I pozitif; domuz, kedi ve gelincikte UEA I pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın domuz, kedi ve gelincikte PNA ve WGA negatif, tavşanda PNA negatif olduğu belirtilmiştir [24]. Bu çalışmada araştırmacıların [24] insanda elde ettikleri bulgularla benzer şekilde özofagusta lümen komşu yassı hücrelerin PNA, WGA ve UEA I pozitif oldukları tespit edildi. Aynı araştırmacılar [24] domuz, gelincik ve

köpekteki özofagal bezlerin UEA I pozitif, PNA ve WGA negatif olduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada araştırmacıların [24] bulgularının aksine özofagal bezlerin belirtilen üç lektin türüne ve aynı zamanda BSA I-B<sub>4</sub>'e karşı pozitif reaksiyon verdikleri saptandı.

İnsan [25] özofagus yüzey epitelinde WGA ve UEA I uygulamalarına karşı orta derecede reaksiyon bulunduğu, PNA uygulamasına karşı reaksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise epitelin yassı hücre tabakasında WGA uygulamasına karşı güçlü, UEA I uygulamasına karşı bazı hücrelerde güçlü bazı hücrelerde orta derecede reaksiyon tespit edildi. Aynı araştırmacılar [25] bazal epitelde WGA, UEA I ve PNA'ya karşı oluşan reaksiyonun zayıf olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada prizmatik hücre tabakasında reaksiyona rastlanmazken, poligonal hücre tabakasında belirtilen lektinlerden sadece PNA uygulamasında zayıf reaksiyon belirlendi. Gheri ve ark. [27] inkübasyonun 7. gününden itibaren civciv proventrikulus yüzey epitelinde PNA ve WGA lektinlerine karşı spesifite gösteren terminal uçlara sahip glikokonjugatların bulunduğunu fakat UEA I pozitif terminal uçlu glikokonjugatın bulunmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada benzer bulgular elde edilirken, proventrikulusta epitel yüzeyinin bazı bölgelerinde UEA I lektinine spesifite gösteren az miktarda glikokonjugatın varlığı tespit edildi. Aynı araştırmacılar [27] inkübasyonun 7. gününden itibaren proventrikulusta dip kısımlardaki bezlerde aynı şeker kalıntılarının bulunduğunu ve UEA I pozitif şekerlerin ise inkübasyonun daha sonraki günlerinde ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Ayrıca süperfisial bezlerde glikokonjugatların gelişmenin farklı zamanlarında ortaya çıktığını ve dip kısımlardaki bezlerin aksine PNA reaksiyonu bulunmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada benzer şekilde proventrikulus yüzey epiteli ile basit ve bileşik bezlerinde PNA, WGA ve UEA I'e karşı

pozitif glikokonjugat bulunduğu tespit edildi. Ayrıca epitel ve basit bezlerde çok güçlü, bileşik bezlerde güçlü oranda BSA I-B<sub>4</sub> yoğunluğu kaydedildi. Gheri ve ark. [26] civciv gizzardında inkübasyonun 7. gününden itibaren yüzey epitelinin iç kısımları ve inkübasyonun 9. gününden itibaren yüzey epitelinin dış kısımlarında PNA ve WGA pozitif granüllerin gözlemlendiğini, fakat granüllerin UEA I içermediğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar [26] yumurtadan çıkan embriyoların luminal gizzard sekresyonunda UEA I hariç diğer lektinlere karşı pozitifite saptandığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada benzer olarak gizzard epitel hücrelerindeki glikokonjugatın PNA ve WGA'ya ve aynı zamanda BSA I-B<sub>4</sub>'e karşı pozitif olduğu belirlenirken, araştırmacıların bulgularının aksine erişkin olan kargalarda UEA I pozitifitesine az da olsa rastlandı. Matsushita ve ark. [29] civciv gizzardındaki mukusta galaktoz-(β1-3)-N-asetilgalaktozamin affinitesi gösteren lektinlerden *Maclura pomifera* (MPA) reaksiyonunun tubular bezlerin üst kısımlarındaki hücrelerde, *Bauhinia purpurea* (BPA) reaksiyonunun ise hem epitelin apikal kısımları ve yüzeyinde hem de tubular bezlerin üst kısımlarındaki hücrelerde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada da gizzard mukozasında galaktoz-(β1-3)-N-asetilgalaktozamin affinitesi gösteren PNA lektinine karşı gizzard epitel hücreleri, epitelin yüzeyi ve bezlerde reaksiyon belirlendi. Aynı araştırmacılar [29] N-asetilglukozamin affinitesi gösteren lektinlerden *Solanum tuberosum* (STA) ve *Phytolacca americana* (PWM) pozitifitesinin sadece tubular bezlerin üst kısımlarındaki hücrelerde bulunduğunu ve bazı hücrelerin PWM'ye karşı reaksiyon göstermediklerini belirtirlerken, bu çalışmada gizzard epitel ve bez hücrelerinde N-asetilglukozamin affinitesi gösteren WGA lektinine karşı reaksiyon belirlendi.

Sonuç olarak sunulan çalışma ile erişkin kargaların özofagus, proventrikulus ve gizzard mukozalarında glikokonjugat kompozisyonları ve yoğunlukları belirlenmiştir. Özofagus ve mide mukozalarındaki glikokonjugat yerleşimleri ve kompozisyonlarının bölgeler ve türler arasında farklılık gösterebileceği ve bu glikokonjugatların mukus pH'sını düzenleyerek sindirime katkıda bulunabileceği kanısına varılmıştır.

## 5. Kaynaklar

1. Linden, S.K., Sutton, P., Karlsson, N.G., Korolik, V., McGuckin, M.A., Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunology*, 1, 183-197, 2008.
2. Allen, A., Structure and Function of Gastrointestinal Mucus. **In:** Johnson L (Ed): *Physiology of the Gastroenterology Tract*, 1st ed., pp. 617-639, Raven Pres, New York, 1981.
3. Neutra, M., Forstner, J., Gastrointestinal Mucus: Synthesis, Secretion, and Function. **In:** Johnson L

- (Ed): *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 2nd ed, Chapter 34, Raven Pres, New York, 1987.
4. Sağsöz, H., Liman, N., Structure of the oesophagus and morphometric, histochemical-immunohistochemical profiles of the oesophageal gland during the post-hatching period of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Anat Histol Embryol*, 38, 330-340, 2009.
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. Krause, W.J. Biology of Duodenal (Brunner's) Glands. **In:** Motta PM, Fujita H (Eds): *Ultrastructure of the Digestive Tract*, pp 67-84, Martinus Nijhoff Publishing, Boston, 1988.
7. Liman, N., Alan, E., Küçük Bayram, G., The differences between the localizations of MUC1, MUC5AC, MUC6 and osteopontin in quail proventriculus and gizzard may be a reflection of functional differences of stomach parts. *J Anat*, 217, 57-66, 2010.
8. Öztapak, K.Ö., Lektinler ve *Viscum album* aglutinin (VAA)'nın antikarsinojen etkileri. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg*, 2, 55-59, 2005.
9. Seyrek, K., Bildik, A., Lektinler. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg*, 12, 96-100, 2001.
10. Iwase, H., Kato, Y., Hotta, K., Ovalbumin subfractionation and individual difference in ovalbumin microheterogeneity. *J Biol Chem*, 256, 5638-5642, 1981.
11. Dulaney, J.T., Binding interaction of glycoproteins with lectins. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 21, 43-63, 1979.
12. Fujita-Yamaguchi, Y., Choi, S., Sakamoto, Y., Itukara, K., Purification of insulin receptor with full binding activity. *J Biol Chem*, 258, 5045-5049, 1983.
13. Dennis, J.W., Partial reversion of the metastatic phenotype in a wheat germ agglutinin-resistant mutant of murine tumour cell line MDAV-D2 selected with *Bandeiraea simplicifolia* seed lectins. *JNCI*, 74, 1111-1120, 1985.
14. Gabius, H.J., Influence of type of linkage and spacer on the interaction of b-galactoside-binding proteins with immobilized affinity ligands. *Anal Biochem*, 189, 91-94, 1990.
15. Türkmen, G., Gürel, A., Öztapak, K.Ö., Mengi, A., Ratlarda tümör gelişimi üzerine lektinin etkisi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 23, 255-327, 1997.
16. Gatman, B., Wang, K., Han, J., Zhu, Z.Y., Huang, X., Wang, G.Q., Robinowich, H., Gorelik, E., A novel apoptotic pathway as defined by lectin cellular initiation. *Biochem Biophys Res Comm*, 316, 263-271, 2004.
17. Kunze, E., Schulz, H., Ahrens, H., Gabius, H.J., Lack of an antitumoral effect of immunomodulatory galactoside-specific mistletoe lectin on N-methyl-N-

- nitrosourea-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. *Exp Toxic Pathol*, 49, 1-10, 1997.
18. Schulte, B.A., Spicer, S.S., Light microscopic histochemical detection of terminal galactose and N-acetylgalactosamine residues in rodent complex carbohydrates using a galactose oxidase-Schiff sequence and peanut lectin-horseradish peroxidase conjugate. *J Histochem Cytochem*, 31, 19-24, 1983.
  19. Brooks, S.A., Carter, T.M., N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosamine and sialic acid expression in primary breast cancer. *Acta Histochem*, 103, 37-51, 2001.
  20. Domeneghini, C., Arrighi, S., Radaelli, G., Bosi, G., Veggetti, A., Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. *Acta Histochem*, 106, 477-487, 2005.
  21. Diaz, A.O., Garcia, A.M., Goldemberg, A.L., Glycoconjugates in the mucosa of digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. *Acta Histochem*, 110, 76-85, 2008.
  22. Suprasert, A., Fujioka, T., Lectin histochemistry of glycoconjugates in esophageal mucous gland of the chicken. *Nippon Juigaku Zasshi*, 49, 555-557, 1987.
  23. Gheri, G., Gheri Bryk, S., Sgambati, E., Gulisano, M., Characterization of the glycoconjugate sugar residues in developing chick esophageal epithelium. *Histol Histopathol*, 8, 351-358, 1993.
  24. Poorkhalkali, N., Jacobson, I., Helander, H.F., Lectin histochemistry of the esophagus in several mammalian species. *Anat Embryol*, 200, 541-549, 1999.
  25. Shimamoto, C., Weinstein, W.M., Boland, C.R., Glycoconjugate expression in normal, metaplastic and neoplastic human upper gastrointestinal mucosa. *J Clin Invest*, 80, 1670-1678, 1987.
  26. Gheri, G., Bryk, S.G., Sgambati, E., Identification of sugar residues in secretory glycoconjugates of the lining and glandular epithelium of the chick embryo gizzard using lectin histochemistry. *Acta Histochem*, 96, 387-397, 1994.
  27. Gheri, G., Gheri Bryk, S., Sgambati, E., Lectin histochemical study of glycoconjugates in the chick embryo proventriculus. *Eur J Morphol*, 33, 381-392, 1995.
  28. Gheri Bryk, S., Sgambati, E., Gheri, G., Lectin histochemistry of goblet cell sugar residues in the gut of the chick embryo and of the newborn. *Tissue and Cell*, 31, 170-175, 1999.
  29. Matsushita, S., Ishii, Y., Yasugi, S., Developmental changes in mucosubstances revealed by immunostaining with antimucus monoclonal antibodies and lectin staining in the epithelium lining the segment from gizzard to duodenum of chick embryo. *J Anat*, 193, 587-597, 1999.