

Morphology and Volume Measurement of Bursa Fabricius by Stereology in Merlin (*Falco Columbarius*)

İsmail TÜRKMEÑOĞLU^{1*}, İbrahim DEMİRKAN², Aysun ÇEVİK DEMİRKAN¹,
Murat Sırrı AKOSMAN¹, Mehmet Aydın AKALAN¹

¹Afyon Kocatepe University, Ahmet Necdet Sezer Campus, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, 03200, Afyonkarabısar

²Afyon Kocatepe University, Ahmet Necdet Sezer Campus, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, 03200, Afyonkarabısar

ABSTRACT

Bursa fabricius (Bursa cloacalis or Bursa fabricii) is a lymphoepithelial organ of poultry and serves as the primary lymphoid organ. In addition to the development and differentiation of Bursa Fabricius B lymphocytes, immunoglobulin is also responsible for isotype change. Bursa fabricius is also seen as a secondary lymphoid organ due to the presence of a small T-lymphocyte cluster in the channel opening to cloaca, but early development of the organ is delayed. In this study, morphological and stereological examinations were performed on bursa fabricius obtained from 5 adult Merlin (*Falco columbarius*). Our morphological studies have shown that the bursa fabricius of merlin is located on the cloaca and that it is opened to proctodeum through a canal. We saw that it was oval shaped and had plums made by the mucosa layer in the lumen. The size of these structures was found to be $15,62 \pm 1,41$ mm, $10,14 \pm 0,66$ mm in the widest area and $0,98 \pm 0,07$ mm in the shortest area. The volume we calculated by the stereological methods was $0,190 \pm 0,008$ cm³. The morphological structure of bursa fabricius in merlin was determined and the volume was calculated by stereological method and it was thought that it might be the source of future studies in the species differentiation in poultry.

Keywords: bursa fabricius, *Falco columbarius*, merlin, morphology, stereology

Boz Doğanda (*Falco Columbarius*) Bursa Fabricius'un Morfolojisi ve Stereolojik Metod ile Hacminin Hesaplanması

ÖZ

Bursa fabricius (Bursa cloacalis veya Bursa fabricii) kanatlıların lenfoepitelial bir organı olup kanatlıların primer lenfoid organı olarak görev yapmaktadır. B lenfositlerinin gelişim ve farklılaşmasının yanında immunoglobulin izotip değişiminden de sorumludur. Bursa fabricius cloaca'ya açılan kanalında küçük bir T lenfosit kümesi bulunduğundan dolayı aynı zamanda sekonder lenfoid organ olarak da görülmektedir ancak erken dönemde organın gelişimi gerilemektedir. Bu çalışmada 5 adet ergin bozdoğan (*Falco columbarius*) elde edilen bursa fabricius'lar üzerinde morfolojik ve stereolojik incelemeler yapıldı. Morfolojik incelemeler sonucunda bozdoğan'larda bursa fabricius'un cloaca üzerinde bulunduğu, bir kanal vasıtasıyla proctodeum'a açıldığı, şeklinin oval olduğu ve lümeninde mukoza katmanı tarafından yapılmış plikalar bulunduğu gözlemlendi. Bu yapıların boyu $15,62 \pm 1,41$ mm, eni en uzun bölgede $10,14 \pm 0,66$ mm en kısa bölgede ise $0,98 \pm 0,07$ mm olarak saptandı. Stereolojik yöntemle yapılan hesaplamalarda hacmi $0,190 \pm 0,008$ cm³ olarak tespit edildi. Bozdoğan'da bursa fabricius'un morfolojik yapısı ortaya konarak stereolojik metotla hacmi hesaplanmış olup, kanatlılarda tür ayrımında ileride yapılacak çalışmalara kaynak olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: bozdoğan, bursa fabricius, *Falco columbarius*, morfoloji, stereoloji

To cite this article: Türkmenoğlu İ. Demirkan İ. Demirkan Çevik A. Akosman M.S. Akalan M.A. Morphology and Volume Measurement of Bursa Fabricius by Stereology in Merlin (*Falco Columbarius*). Kocatepe Vet J. (2019) 12(1):27-32

Submission: 15.05.2018

Accepted: 05.12.2018

Published Online: 07.01.2019

ORCID ID; İT: 0000-0002-0775-2622, İD: 0000-0002-0908-8331, AÇD: 0000-0002-5824-5831,

MSA: 0000-0001-6675-8840, MAA: 0000-0001-9924-2920

*Corresponding author e-mail: turkmen@aku.edu.tr

GİRİŞ

Doğangiller (Falconidae) familyasının en küçük kuş türü bozdoğanlardır. Bozdoğanlar Amerika, Avrupa ve Asya'nın kuzey bölgelerinde, Ortadoğu ve Orta Asya'da yaşarlar. Bu avcı kuş türü, 27-32 cm uzunluğundadır (Gooders 1995).

Bursa fabricius (Bursa cloacalis veya Bursa fabricii) kanatlıların lenfoepitelial bir organı olup ilk kez Hieronymus Fabricius tarafından açıklanmıştır. Bursa fabricius ve timus kanatlıların primer lenfoid organıdır. Bununla birlikte cloaca'nın dorsalinde yer almasından ötürü "cloacal bursa" olarak da adlandırılır (Glick 1979, Sayegh ve ark. 2000, Ratchlife 2002). Bursa fabricius cloaca'nın dorsaline kör bir kese şekillendirir ve aynı zamanda kısa bir kanal ile cloaca'nın proctodeum'una açılır (Hodges 1974, Glick 1979).

Bursa fabricius'un duvarı histolojik olarak tunica mucosa, tunica muscularis ve tunica serosa olmak üzere üç tabakadan oluşur. Tunica mucosa katmanı da lamina epitelyalis, lamina propria ve lamina submucosa katmanlarını içerir (Tanyolaç 1993, Hodges 1974, Hassa 1961, Karadağ ve ark. 2007). Tavuklarda oval bir yapıya sahip olan bursa fabricius'un tunica mucosa katmanı bursa lümenine doğru sayıları 12 ile 15 arası değişen kıvrımları yapar. Bu kıvrımların yüzeyleri follikülle alakalı epitelyum hücreleri, lenfositler, makrofajlar ve plazma hücrelerinden oluşan bursal follikülleri içerir (King ve McLelland 1984, Nickel ve ark. 1977, Glick 1979).

Bursa fabricius B lenfositlerinin gelişim ve farklılaşmasının yanında immunoglobulin izotip değişiminden de sorumludur (Glick 1979, Schat ve Mayers 1991, Ratchlife 2002). Bursa fabricius epitelyumunda B hücre farklılaşma faktörleri de yer aldığından B hücre gelişiminde etkisi olduğu da bildirilmiştir (Olah ve Glick 1995, Glick 1991). Bunun yanında cloaca'ya açılan kanalında küçük bir T lenfosit kümesi bulunduğundan dolayı aynı zamanda sekonder lenfoid organ olarak da görülmektedir ancak erken dönemde organın gelişimi gerilemektedir (Sayegh ve ark. 2000, Pike ve ark. 2004, Ciriaco ve ark. 2003).

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada 2003 ile 2009 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine tedavi amacıyla getirilen, fakat kötü prognoz nedeniyle Cerrahi Anabilim Dalı tarafından ketamin (60 mg/kg) ve xylazine (6 mg/kg) kombinasyonu ile ötenazi edilerek %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde tespit işlemine tabi tutulmuş beş adet ergin bozdoğan kullanıldı. Kadavralar diseke edilerek bursa fabricius'lar

çıkarıldı ve Mitotoyo marka dijital kumpas ile ölçümler yapıldı. Elde edilen bulgular digital fotoğraf makinesi (Sony DSC F 717 Japon) ile fotoğraflandı. Anatomi terimlerin isimlendirmesinde Nomina Anatomica Avium (1993) referans alındı.

Morfolojik inceleme sonrasında materyaller 2 mm'lik eşit aralıklarla dilimlendi (Şekil 1). Ardından histolojik doku takibi ile parafin bloklara gömülme işlemlerine tabi tutuldu. Parafin bloklara gömülen örneklerden stereolojik inceleme amaçlı 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Elde edilen kesitler lamlara alınarak Hematoksilen-Eozin boyama prosedürü ile boyandı ve entellan vasıtasıyla lamların üzerine lameller kapatıldı. Boyanan doku örneklerinden motorize tablaya (Lang MS 316) sahip Olympus MD2 ışık mikroskobuna entegre M-Shot MDX4 marka mikroskop kamerasında, M-Shot Digital Imaging System 9.3.3.1 ve Stereom I (Oğuz ve ark. 2007) yazılımları vasıtasıyla uzunluk ve hacim ölçümleri yapıldı.

Alan ölçümleri yaparken nokta uzaklığı 1 mm olan noktalı alan cetveli kullanıldı ve aşağıdaki formül kullanılarak bursa fabricius hacmi hesaplandı;

$$V = (t \cdot a/p \cdot \Sigma P) \text{ cm}^3$$

t : kesit kalınlığı (~ 1.7 mm),

a/p : noktalar arası alan (1 mm x 1 mm),

ΣP : Kesit yüzeyinde düğüme denk gelen noktaların sayısı

BULGULAR

Bozdoğanlarda bursa fabricius'un cloaca ve üreterin dorsalinde bulunduğu tespit edildi. Oval şekilli ve bezsel bir yapıda olduğu gözlenen bursa fabricius'un üreterin cloaca'ya açıldığı bölüm olan urodeum'dan sonra kese şeklinde bir kanal vasıtasıyla proctodeum'a açıldığı tespit edildi. Bursa fabricius'un lümenine bakan yüzünde mukoza tabakası üzerinde plikalar olduğu saptandı. Yapılan ölçümlerde bursa fabricius'un boyu $15,62 \pm 1,41$ mm, eni en uzun bölgede $10,14 \pm 0,66$ mm en kısa bölgede ise $0,98 \pm 0,07$ mm olarak tespit edildi.

Mikroskopik incelememizde bursa fabricius dokusunun içten dışa doğru tunica mucosa, tunica muscularis ve tunica serosa katmanlarına sahip olduğunu gözlemlendi (Şekil 2).

Tunica mucosa katmanı bir çok lenf follikülü içermekteydi (Şekil 3). Organın lümenine bakan duvarında mukoza katmanının oluşturduğu birçok kıvrım olduğu saptandı. Plikaların iç yüzünde iki tip epitel hücre olduğu tespit edildi. Bunlar plikaların lümenine bakan yüzlerini örten interfolliküler epitel (IFE) hücreleri ile her bir follikülün üzerini örtenleri

ise follikülle ilişkili epitel (FAE) hücreleriydi (Şekil 4). Lenf folikülleri incelendiğinde daha koyu görünen korteks ile daha açık renkte medulla olmak üzere iki kısımdan oluştuğu görüldü (Şekil 4). Korteks ve medulla'nın kortikomedullar sınır (corticomedullary border) vasıtasıyla birbirinden ayrıldığı tespit edildi (Şekil 4). Stereolojik olarak

yapılan ölçümler neticesinde 2 mm kesit aralığı ile alınan seri kesitler üzerinde noktalı alan cetveli yardımıyla yapılan ölçümlerde bozdoğanın bursa fabricius hacmi ortalama $0.190 \pm 0,008 \text{ cm}^3$ olarak hesaplandı.



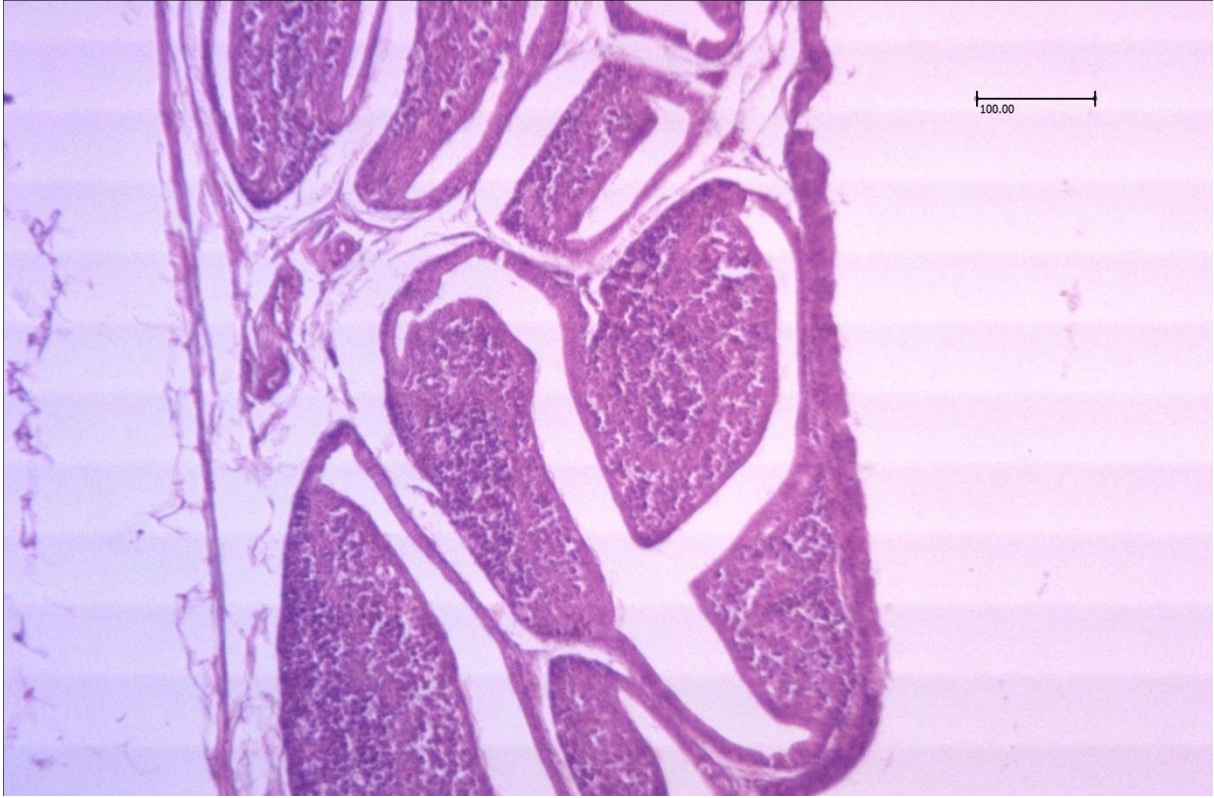
Şekil 1. Stereolojik inceleme amaçlı kesitleri alınmış bursa fabricius.

Figure 1. Bursa fabricius with cross sections for stereological examination.

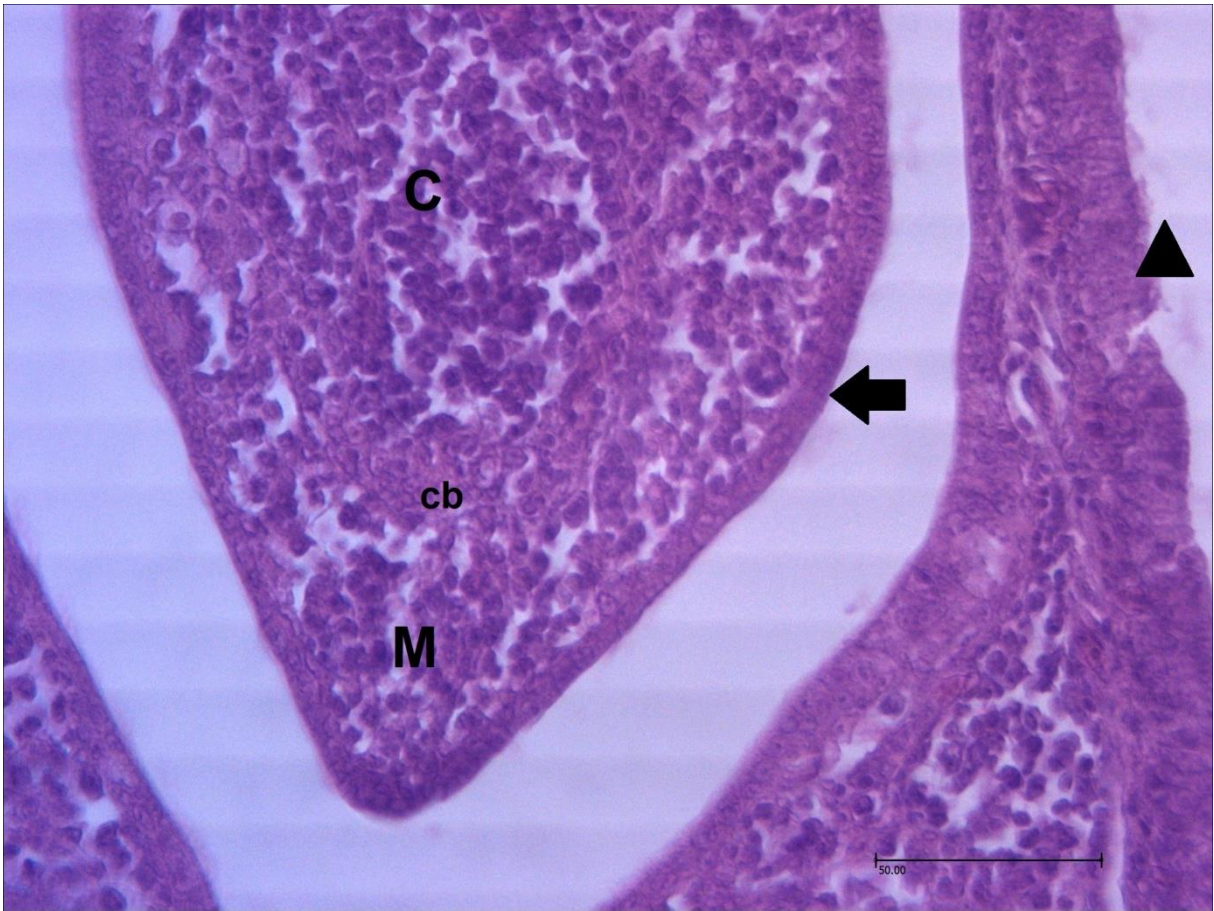


Şekil 2. Bozdoğan bursa fabricius dokusu (4X büyütme). M: tunica mucosa, *: tunica muscularis, S: tunica serosa.

Figure 2. Bursa fabricius texture of merlin (4X magnification) M: tunica mucosa, *: tunica muscularis, S: tunica serosa.



Şekil 3. Bozdoğan bursa fabricius dokusu ve lenf foliküllerinin genel görünümü (10X büyütme).
Figure 3. General view of bursa fabricius tissue and lymph follicles of merlin (10X magnification).



Şekil 4. Lenfoid dokuda kortikomedullar sınır (cb), korteks (C), medulla (M), FAE (ok) ve IFE (okbaşı) (40X büyütme).
Figure 4. Corticomedullary border (cb), cortex (C), medulla (M) FAE (arrow) and IFE (arrow head) in the lymphoid tissue (40X magnification).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bursa fabricius kanatlı türlerinde genellikle benzer lokalizasyona sahiptir. Bu organ cloaca ile sacrum arasında yer almakta olup bursal kanal vasıtasıyla proctodeum'a açılmaktadır (Gülmez ve Aslan 1999, Nickel ve ark. 1977, Onyeanusu ve ark. 1993, Nagy ve Olah 2010, Glick ve Olah 1993). Bu yapının bozdoğanlarda da benzer lokalizasyonda olduğunu tespit edildi. Kanatlılarda bursa fabricius morfolojik olarak farklılıklar gösteriyor olmasına rağmen Nickel ve ark. (1977) bursa fabricius'un tüm kanatlı türlerinde yuvarlak ya da armut şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Öte yandan bazı araştırmacılar bursa fabricius'un tavuklarda yuvarlak ya da oval, kazlarda silindirik, ördekte uzamış sekum benzeri, hindide ise yine yuvarlak fakat kranial ucu sivri şekilde olduğunu da belirtmiştir (Karadağ-Sarı ve Kurtdede 2007). Yapılan bu çalışmada bozdoğanlarda bursa fabricius'un tavuklarda bildirilenle (Nickel ve ark. 1977) benzer olarak oval şekilde olduğu tespit edildi. Kazlarda (Gülmez ve Aslan 1999), beç tavuklarında (Onyeanusu ve ark. 1993), tavuklarda (Davenport ve Allen, 1995, Olah ve ark. 1985) ve akbabada (Karadağ-Sarı ve ark. 2015) bursa fabricius'un lümenine bakan iç yüzünde plikalar bulunduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da bozdoğanlarda plikaların varlığı saptandı.

Çeşitli kanatlı türlerinde bursa fabricius üzerine gerek ışık mikroskobu gerekse elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda bu yapının tunica serosa, tunica muscularis ve tunica mucosa olmak üzere üç katmanı olduğu ve mukoza katmanının birçok lenf folikülü içerdiği bildirilmiştir (Aughey ve Fyre, 2001, Lupetti ve ark. 1983, Sanchez-Refusta ve ark. 1996). Çeşitli hayvan türlerinde (Bockman ve Cooper 1973, Bockman ve ark. 1983, Davenport ve Allen 1995, Nickel ve ark. 1977, Olah ve Glick 1995, Saifuddin ve ark. 1988), güvercinde (Ciriaco ve ark. 1985), kazda (Gülmez ve Aslan 1999); ördekte (Scala ve ark. 1989), beç tavuğunda (Onyeanusu ve ark. 1993), tavukta (Romano ve ark. 1996) plikaların lümenine bakan yüzlerini örten IFE hücrelerinden ve her bir folikülün üzerini örten FAE hücrelerinin varlığı bildirilmiştir. Bozdoğan bursa fabricius'unun histolojik yapısını incelediğimiz bu çalışmada da bahsi geçen hücre kısımlarının varlığı tespit edilmiştir. Bunun yanında Criaco ve ark. (2003) IFE hücrelerinin devamı niteliğinde epitelyum hücrelerinden oluşan ve korteks ile medulla kısımlarını birbirinden ayıran bir kortikomedullar sınır (corticomedullary border) olduğundan bahsetmiş ancak Nagy ve ark. (2004) bildicinlerde bu sınırın olmadığını bildirmiştir. Yapılan çalışmada da doku örneklerinde kortikomedullar sınırının olduğu ve korteks ile medulla ayrımı tespit edildi.

Bursa fabricius hacminin hesaplanması ile ilgili yapılan deneysel bir çalışmada Aktaş ve ark. (2017)

10 haftalık kontrol grubu civcivlerde bursa fabricius hacmini ortalama 1.437 cm³ olarak bulmuştur. Bu çalışmada ise stereolojik olarak yaptığımız ölçümlerde 5 adet bozdoğanın bursa fabricius hacmini ortalama 0.190 ± 0,008 cm³ olarak tespit edildi.

Sonuç olarak bozdoğanlarda bursa fabricius'un lokalizasyonu, morfolojisi, histolojik yapısı ve hacmi ilk kez ortaya konmuştur. Çalışma bulgularının diğer kanatlı türleri üzerinde yapılacak çalışmalar için referans olabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 17.KARİYER.77 proje numarası ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aktaş A, Esener OBB, Yiğit F, Bozkurt HH, Gündoğan Gİ, Akyazı İ, Eraslan E, Ulkay MB.** Effects of Different Doses of Boric Acid Injected into Chicken Egg on Bursa of Fabricius and Spleen: A Histological and Stereological Study. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2017; 23(2): 185-193.
- Anonim** Michigan Natural Features Inventory. PO.Box 30444-Lansing, MI 48909-7944. Erişim Tarihi 01.04.2017.
- Aughey E, Fyre FL.** Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates. London, Iowa State University Press, 2001, 258.
- Bockman DE, Cooper MD.** Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of Fabricius, appendix and Peyer's patches. An electron microscopic study. The American Journal of Anatomy, 1973; 136: 455-478.
- Bockman DE, Boydston WR, Beezhold DH.** The role of epithelial cells in gut-associated immune reactivity. Annals of the New York Academy of Sciences, 1983; 409; 129-144
- Ciriaco E, Pinera PP, Diaz-Esnal B, Laura R.** Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius). Micros Res Techn, 2003; 62; 251-253.
- Davenport WD, Allen ER.** Dome epithelium and follicle-associated basal lamina pores in the avian bursa of Fabricius. The Anatomical Record, 1995; 241; 155-162.
- Glick B.** The Avian Immune System, Avian Diseases, 1979; 23(2): 282-289.
- Glick B.** Historical perspective: The bursa of Fabricius and its influence on B-cell development, past and present. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1991; 30; 3-12.
- Glick B, Olah I.** A bursal secretory dendritic cell and its contributions to the microenvironment of the developing bursal follicle. Research in Immunology, 1993; 144: 446-447.
- Gooders J.** Field Guide to the Birds of Britain and Europe, London, UK. 1995.
- Gülmez N, Aslan Ş.** Histological and histometrical investigations on bursa of fabricius and thymus of native

- geese. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 1999; 23: 163-171.
- Hassa O.** Tavukların Sindirim Sistemi Üzerinde Histolojik İncelemeler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1961; 132.
- Hodges RD.** The Histology of the Fowl. Academic Press. London, 1974; 205-221.
- Karadağ-Sarı E, Kurtdede N.** Light and electron microscopic studies of the bursa of Fabricius in turkeys. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 2007; 13; 177-184.
- King AS, McLelland J.** Birds Their Structure and Function. Second Ed. Bailliere Tindall. England.1984.
- Lupetti M, Dolfi A, Giannessi F, Michelucci S.** Ultrastructural aspects of the lymphoid follicle-associated cells of the cloacal bursa after treatment with silica or carrageenan. Journal of Anatomy, 1983; 136: 851-862.
- Nagy N, Nagyar A, Tath M, Olah I.** Quail as the chimeric counterpart of the chicken: Morphology and ontogeny of the bursa of Fabricius. Journal of Morphology, 2004; 259: 328-339.
- Nagy N, Magyar A, David C, Gumati MK, Olah I.** Development of the follicle-associated epithelium and the secretory dendritic cell in the bursa of Fabricius of the guinea fowl (*Numida meleagris*) studied by novel monoclonal antibodies. The Anatomical Record, 2001; 262: 279-292.
- Nagy N, Olah I.** Experimental evidence for the ectodermal origin of the epithelial anlage of the chicken bursa of Fabricius. Development, 2010; 137: 3019-3023.
- Nickel R, Schummer A, Seiferk E.** Anatomy of the Domestic Birds. Verlag Paul Parey. Berlin, Hamburg. 1977.
- Olah I, Glick B, Törö I.** Bursal development in normal and testosterone-treated chick embryos. Poultry Science, 1985; 65; 574-588.
- Olah I, Glick B.** Dendritic cells in the bursal follicles and germinal centers of the chicken's caecal tonsil express vimentin but not desmin. The Anatomical Record, 1995; 243: 384-389.
- Onyeausi BI, Ezeokoli CD, Onyeausi JC, Ema AN.** The anatomy of the cloacal bursa (bursa of fabricius) in the helmeted guinea fowl (*Numida meleagris galeata*). Anatomy Histology Embryology, 1993; 22: 212-221.
- Pike KA, Baig E, Ratcliffe MJH.** The avian B-cell receptor complex:distinct roles of Iga and Igb in B-cell development. Immunological Reviews, 2004; 197: 10-25.
- Ratcliffe MJH.** B cell development in gut associated lymphoid tissues. Vet Immunol, 2002; 87: 337-340.
- Romano N, Baldassini MR, Abelli L, Aita M, Mastrolia L.** Ultrastructural study on the plical epithelium of the bursa of Fabricius in chick embryos: influence of partial decerebration and hypophyseal allografts. Journal of Anatomy, 1996; 188: 29-41.
- Sanchez-Refusta F, Ciriaco E, Germana A, Germana G, Vega JA.** Age-related changes in the medulary reticular epithelial cells the pigeon bursa of Fabricius. The Anatomical Record, 1996; 246: 473-480.
- Sayegh CE, Demaries SL, Pike KA, Friedman JE, Ratcliffe MJH.** The chicken B-cell receptor complex and its role in avian B-cell development. Immunological Reviews, 2000; 75: 187-200.
- Schat KA, Myers TJ.** Avian intestinal immunity. Crit Rev Poult Biol, 1991; 3: 19-34.
- Tanyolaç A.** Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Sti. Ankara. 1993.