



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

**ETLİK PİLİÇ İNCE BAĞIRSAKLARININ FARKLI
AÇILARDA KESİLEREK GOBLET HÜCRELERİNİN
GÖRSEL OLARAK BELİRLENMESİ**

Kübra SACIHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2021



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

**ETLİK PİLİÇ İNCE BAĞIRSAĞININ FARKLI
AÇILARDA KESİLEREK GOBLET HÜCRELERİNİN
GÖRSEL OLARAK BELİRLENMESİ**

Kübra SACIHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANISMAN
Doç. Dr. İsa ÇOŞKUN

KIRŞEHİR / 2021

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri biriminin ZRT-A4-19.021 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Kübra SACIHAN

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.



ÖNSÖZ

Yüksek lisansa başlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde, kendisini tanıdığım ilk günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra, bilgi ve birikimiyle her zaman yakın desteğini gördüğüm ve bu çalışmanın sonuna kadar fikirleriyle yoluma ışık tutan, yardımlarını esirgemeyen değerli danışmanım Doç. Dr. İsa COŞKUN'a, ve yüksek lisans hayatım boyunca bilgi, deneyim ve tecrübesiyle yardımlarına her zaman ihtiyaç duyduğum değerli hocam ve bölüm başkanım Prof. Dr. Ahmet ŞAHİN'e büyük bir içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen biricik aileme teşekkür ederim. Hayatım her anında bir çınar misali güçlü duruşuyla yanımda olan ve beni her konuda sonsuz destekleyen canım halama da teşekkürü bir borç bilirim. Tez Çalışmamı kıymetli halam Demet SACIHAN'a ithaf ediyorum.

Şubat, 2021

Kübra SACIHAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER.....Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	iv
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ	1
2. KANATLI HAYVANLARDA SİNDİRİM SİSTEMİ	3
3. KANATLI HAYVANLARDA İNCE BAĞIRSAK MORFOLOJİSİ.....	4
4. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	5
5. MATERYAL VE METOT	11
5.1. Bağırsak Dokuları ve Histolojik İnceleme.....	11
6. İSTATİSTİK ANALİZ.....	12
7. BULGULAR.....	13
8. TARTIŞMA.....	17
9. SONUÇ	19
KAYNAKLAR.....	20
ÖZGEÇMİŞ	22

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 1. Klasik Kesimlerle İşlenen Bağırsak Dokusunun Görüntüsü	2
Şekil 2. Yatay Kesilen Bağırsak İçerisindeki Villilerin Konumu	2
Şekil 3. 45° Açılı İle Kesilen Bağırsak Dokusunun Görüntüsü	4
Şekil 4. Kanatlı Hayvanların Sindirim Sistemleri	5
Şekil 5. 45° Açılı İle Kesilen İleum Görüntüsü (4xPAS Boyama)	13
Şekil 6. 45° Açılı İle Kesilen İleum Görüntüsü (10xPAS Boyama)	13
Şekil 7. 45° Açılı İle Kesilen İleum Görüntüsü (40xPAS Boyama)	13
Şekil 8. Klasik Yöntem Kesilen İleum Görüntüsü (4x PAS Boyama).....	14
Şekil 9. Klasik Yöntem İle Kesilen İleum Görüntüsü (10x PAS Boyama).....	14
Şekil 10. Klasik Yöntem İle Kesilen İleum Görüntüsü (40x PAS Boyama).....	14

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Goblet Hücre Tespiti İle İlgili Yapılan Çalışmalardan Örnek Görüntüler	8
Tablo 2. Pas Boyama Prosedürü... ..	11
Tablo 3. Farklı Kesim Açıları ile Slaytlarda Goblet Hücrelerinin Sayılabilirliği.....	15
Tablo 4. Farklı Kesim Açılarının Villi Boyu ve Villi Kalınlığı Üzerindeki Değişimleri ...	15



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

H&E Hematoksin ve Eozin

PAS Periodic Acid Solution

VB Villi Boyu

VK Villi Kalınlığı



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ ETLİK PİLİÇ İNCE BAĞIRSAĞININ FARKLI AÇILARDA KESİLEREK GOBLET HÜCRELERİNİN GÖRSEL OLARAK BELİRLENMESİ

Kübra SACIHAN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsa ÇOŞKUN

Bu çalışmanın amacı, ticari etlik piliç kesimhanesinden temin edilen etlik piliçlerin ileumlarının 2 farklı (klasik kesim ve 45 derece açı ile kesim) kesim açısıyla kesilerek elde edilen histolojik slaytların mikroskopta incelenerek, hangi kesim açısından daha görünebilir goblet hücrelerinin tespitinin yapıldığının belirlenmesidir. İleumlardan alınan örnekler %10'luk formaldehit içerisinde konulmuştur. Hayvanlardan alınan örnekler Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvan Besleme laboratuvarına getirilmiş ve analizleri yapılmıştır. Çalışmanın histoloji analizinde parafin bloklar hazırlanıp örnekler 5 mikron kalınlığında kesilmiş ve parafin içerisinde yerleştirilip, parafinin dokulara işlemesi için bekletilmiştir. Sonrasında dokular Algian blue ve PAS (Periodic acid and Schiff reagent) ile boyanmış ve uygun görüntüleme için dijital kameralı mikroskop (ZEISS Primo Star, Almanya) ile fotoğrafları çekilmiştir. Çalışma sonunda 45 derece ile kesilen örneklerin klasik açıyla kesilen örneklere göre daha görüntülenebilir örneklerin elde edilebildiği belirlenmiştir.

Şubat 2021, 34 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Etlik piliç, ileum, goblet hücresi

ABSTRACT

MSC THESIS

THE VISUAL DETERMINATION OF GOBLET CELLS WITH CUTTING DIFFERENT ANGLES OF BROILER SMALL INTESTINE

Kübra SACIHAN

Kırşehir Ahi Evran University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Animal Science

Supervisor: Doç. Dr. İsa ÇOŞKUN

The aim of this study is to examine the histological slides obtained by cutting the ileums of broiler chickens from the commercial broiler slaughterhouse with 2 different cutting angles (classical cut and cut with 45 degrees angle) under the microscope, and to determine the more visible goblet cell in which section. Samples taken from ileums were put in 10% formaldehyde. The samples taken from the animals were brought to the Animal Nutrition Laboratory of Kırşehir Ahi Evran University Faculty of Agriculture, Department of Animal Science and analyzed. In the histology analysis of the study, paraffin blocks were prepared; samples were cut in 5 micron thickness, placed in paraffin and kept for the paraffin to penetrate the tissues. Afterwards, the tissues were stained with Algian blue and PAS (Periodic acid and Schiff reagent) and photographs were taken with a digital camera microscope (ZEISS Primo Star, Germany) for appropriate imaging. At the end of the study, it was determined that samples cut at 45 degrees could be obtained with more viewable samples compared to samples cut with classical angle.

February 2021, 34 Pages

Keywords: Broiler, ileum, goblet cells

1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun artışına paralel olarak artan gıda ve hayvansal protein ihtiyacının karşılanması için üretim miktarları arttırılmaktadır. Özellikle nüfus artışına paralel olarak ucuz protein ihtiyacını karşılamak için etlik piliç yetiştiriciliği ülkemizde ve dünyada büyük ölçekli işletmelerde artarak devam etmektedir. Üretim miktarlarının artışına paralel olarak hayvanlarda verimliliği arttırmak için farklı yem katkı maddeleri veya yetiştirme sistemleri kullanılarak birim yemden daha fazla et elde edebilmek için dünya çapında bilimsel çalışmalar yapılmaktadır.

Yapılan bilimsel çalışmalarda yem katkı maddelerinin veya farklı yetiştirme sistemlerin hayvanların verimlerinin arttırılması ve aynı zamanda hayvanların sağlıklarının korunarak sindirim sistemi içerisine daha fazla sindirim işleminin gerçekleşmesi amaçlanmaktadır. Kanatlı hayvanlarda sindirim fizyolojisinin incelendiği bilimsel çalışmalarda bağırsak içerisine sindirime yardımcı yararlı bakterilerin artışının sağlanmasının yanı sıra sindirim işleminin gerçekleştiği bağırsak içerisindeki villilerin morfolojik özelliklerinde arttırılması, daha fazla sindirim işleminin gerçekleştiğinin en önemli göstergesi olarak kullanılmaktadır.

Bağırsağın içerisindeki villilerin yüzeylerinin iç kısmında goblet hücreleri bulunmaktadır. Goblet hücreleri musin salgılayarak hem bağırsağın iç kısmının kayganlaşmasını ve içeriğin kolayca sindirim sisteminde ilerlemesini hem de musinin glikoprotein yapısından dolayı villilerin yüzeylerinde laktik asit bakterilerinin gelişimini sağlamaktadır. Bağırsak içerisinde artan laktik asit bakteri patojen bakterileri baskılar ve villilerin gelişimini arttırır.

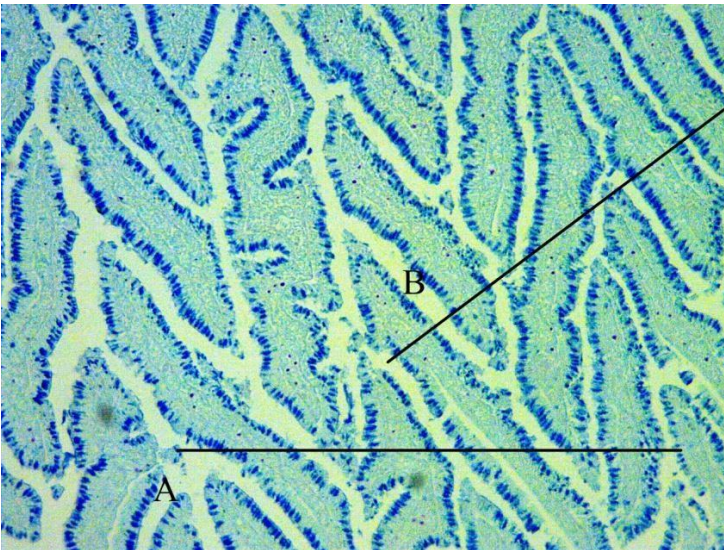
Dolayısıyla bağırsak içerisinde villilerin yüzeyindeki goblet hücrelerinin tespitinin yapılması, sayılabilirliğinin belirlenmesi bağırsak sağlığının belirlenmesi açısından çok önemlidir. Etlik piliçlerde bağırsak histolojisinin belirlendiği çalışmalarda bağırsak dokusu Şekil 1. de verildiği gibi klasik yöntemle kesilmektedir. Bunun amacı bağırsağın kolay işlenebilir pozisyonda olmasından kaynaklıdır.



Şekil 1. Klasik kesimle işlenen bağırsak dokusunun görüntüsü

Klasik kesim yöntemi ile işlenen ve kesilen bağırsak dokularından goblet hücrelerinin sayılması çok zordur. Tablo 1. de goblet hücre tespiti ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen örnek görüntüler incelendiğinde bu kolaylıkla anlaşılabilir.

Coşkun ve Bat (2016) da yaptıkları çalışmada bağırsağı yatay pozisyonda histolojik prosedürle işledikten sonra kestiklerinde Şekil 2’de olduğu gibi bağırsak içerisindeki villilerin 45° açıyla bağırsak içerisine konumlandıkları belirlenmiştir.



Şekil 2. Yatay kesilen bağırsak içerisinde villilerin konumu

Dolayısıyla Şekil 2’de A çizgisi incelendiğinde villiler orta bölgelerinden değil de eğik pozisyonda kesildiklerinden goblet hücrelerinin resimlendirilmeleri mümkün olamamaktadır. Şekil 2’de B çizgisi incelendiğinde villiler tam orta bölgelerinde işaretlenmekte ve bu şekildeki kesim ile düzgün görüntüleme yapılabileceği umulmaktadır.

Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı bağırsak dokusunun klasik yöntemle ve 45 derecelik açı (Şekil 3.) ile kesilerek işlenmesi sonrasında villi üzerindeki goblet hücrelerinin düzgün şekilde görüntülenebilirliğinin ve villi boylarının bu kesim açılarından etkilenip etkilenmediğinin belirlenmesidir.

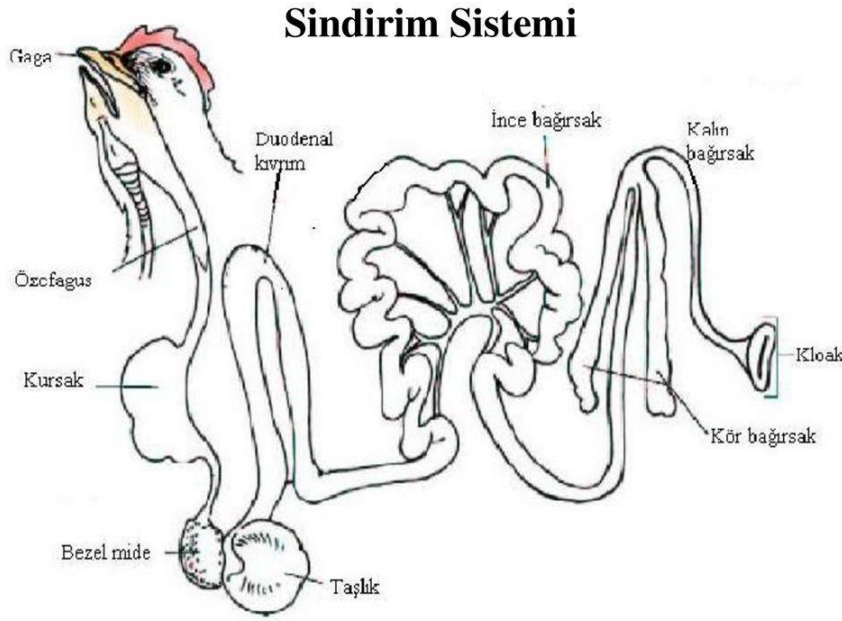


Şekil 3. 45° açı ile kesilen bağırsak dokusunun görüntüsü

2. KANATLI HAYVANLARDA SİNDİRİM SİSTEMİ

Kanatlı hayvanların sindirim sisteminin ruminantlardan farklı olduğu bilinmektedir. Ruminantların iškembesinde veya Rumenlerinde hem enzimik sindirim hem de mikrobiyal sindirim gerçekleşirken, kanatlılarda pankreas ve karaciğerden sağlanan enzimler yardımı ile enzimik sindirim gerçekleşmektedir. Bu yüzden kanatlılar besin maddelerini yeterince sindirememektedirler. Ayrıca bağırsaklarının uzunluğu örneğin küçükbaş hayvanlarda vücut uzunluğunun 25-30 katı iken, kanatlılarda vücut uzunluğunun 4-6 katı kadardır (Erener, 2013).

Kanatlı hayvanlarda sindirim gaga ve ağızda başlamakta ve bunu takiben yemek borusu, kursak, ön veya bezel mide, taşlık veya kaslı mide, on iki parmak bağırsağı, ince bağırsak, kalın bağırsak ve kör bağırsak ile devam ederek kloakta son bulmaktadır (Ayyıldız, 2012). Ayrıca karaciğer, pankreas ve safra kesesi sindirime yardımcı olan organlar olarak rol oynamaktadır. Kanatlı sindirim sistemindeki organlar Şekil 3’de gösterilmiştir.



Şekil 4. Kanatlı hayvanların sindirim sistemleri

3. KANATLI HAYVANLARDA İNCE BAĞIRSAK MORFOLOJİSİ

Midede ve duodenumda yem hammaddelerinin asidik ve enzimik sindirimlerinin gerçekleşmesinden sonra ortaya çıkan besin maddelerinin sindirimi jejunum ve çoğunlukla ileumdan gerçekleşmektedir.

Yemlerin sindirimi ve emiliminin gerçekleştiği duodenum, jejunum ve ileumda yem partiküllerinin durumu (sindirilme derecesi), sağlık ve bütünlük durumları ve yemden yararlanmayı etkileyen faktörlerin başında gelmektedir (Kara ve ark., 2013). İnce

bağırsaklardan sindirilmiş besin maddelerinin emilimi sindirim yüzey alanının artışına bağlı olarak değişim göstermektedir. Buna bağlı olarak ince bağırsağı morfolojik özelliklerinin (sindirim yüzey alanının) beslenme, sağlık ve stres gibi farklı etmenlere göre değişim gösterdiği bildirilmiştir (Sunar ve Özüdoğru, 2009). İnce bağırsağın iç yüzeyinde mukoz tabakayı oluşturan ve çıkıntılar halinde sıralı olan yerleşik haldeki yapılara villi denilmektedir (Kaya ve diğ., 2014).

Villiler bağırsağın iç yüzeyinde fırçamsı yapıda çıkıntılar yaptığından, ince bağırsağın iç yüzey alanını (sindirim yüzey alanı) çok büyük boyutlara çıkarmaktadırlar (Kutlu ve diğ., 2005). Bağırsağın iç yüzey alanı yada sindirim yüzey alanı villilerin boyutlarına göre farklılık gösterdiğinden farklı besleme ve stres koşulları sindirim yüzey alanını etkilemektedir.

Bağırsak içindeki villiler boyları 0.5-1 mm uzunluğunda ve 0.2 mm kalınlığında ince bağırsak lümenine doğru çıkıntı yapan oluşumlardır. Villiler duodenumda yapraksı şekil alırken, ileuma doğru parmak şeklini almaktadırlar (Sunar ve Özüdoğru, 2011). Bu yapılar villusların yüzeyindeki epitel ve goblet hücresi içeren tek katlı prizmatik epitelden meydana gelmiştir. Epitelin apikal yüzünde bol miktarda mikrovillus bulunmaktadır. Villilerin bağırsak içindeki konumları Şekil 3’de gösterilmiştir.

İnce bağırsakta mukus üreterek fonksiyon sağlayan hücreler goblet hücreleridir. Epitel hücrenin iç yüzeyinde sıralı halde dizilmiş olan goblet hücreleri epitel yüzeyi koruyan laktik asit bakterilerinin tutunmasını sağlayan glikoprotein karakterli musini salgılar. Musinin dehidrasyonu sonucunda ise mukus oluşur. Bunların sayıları ince bağırsağın diğer bölümlerine doğru azalma göstermektedir. Bu hücreler salgıladıkları mukus ile bağırsakların başlangıç kısımlarında yüzeyi koruma, son kısımlarında ise kayganlaştırma görevi üstlenmiştir (Şimşek ve diğ., 2011).

4. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Daha önce H&E boyama prosedürü ile boyanan ileum örneklerinin olduğu çalışmalarda goblet hücrelerinin tespitinin yapılamadığı birçok çalışmada mevcuttur. Bu çalışmalar incelendiğinde elde edilen sonuçlar özetlenmiştir.

Giannenas ve diğ. (2019) etlik piliç rasyonlarına farklı bitkisel katkıların ilavesinin bağırsak morfolojisine etkilerini inceledikleri çalışmada bitkisel katkıların ince bağırsak villi boyunu 600µ dan 800µ a çıkardığını bildirmişlerdir. Lakin yaptıkları çalışmada ileum örneklerinin boyanması sırasında H&E boyası kullandıklarından goblet hücresinin sayısını ve görüntülenmesini yapmamışlardır.

Santin ve diğ. (2001) etlik piliç rasyonlarına *saccaromices Cerevisiae* ilavesinin etlik piliçlerin bağırsaklarında ileum boyunun artışı sağladığını bildirmişler ve bu artışı görsel olarak belirlemişlerdir. Yine H&E boyası ile doku işlediklerinden dolayı goblet hücrelerinin görüntülenmesini sağlayamamışlardır.

Reisinger ve diğ. (2011) etlik piliç rasyonlarına esansiyel yağ karışımının ince bağırsaklarda villi boyunu kontrol grubuna göre %12 arttırdığını bildirmişler, fakat boyama yöntemi nedeni ile goblet hücrelerinin tespitini yapmamışlardır.

Tong ve diğ. (2020) etlik piliç rasyonlarına selenyumla zenginleştirilmiş maya ilavesinin etlik piliçlerin performansını ve ince bağırsakta villi boyunu arttırdığını bildirmişler aynı zamanda PAS boyaması yaparak bağırsaklarda selenyumca zenginleştirilmiş maya ilavesinin goblet sayısını arttırdığını bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada goblet hücresini nasıl tespit ettikleri ve nasıl saydıkları ile ilgili yeterince bilgi mevcut olmamakla beraber goblet hücrelerinin tespiti ile alakalı resim verilmemiştir.

Jahanian ve diğ. (2016) etlik piliç rasyonlarına aflatoksin ve mannanoligosaccharides ilavesinin aflatoksin ilavesine bağlı olarak canlı ağırlık artışı ve villi gelişimini, villi cript oranını, villi yüzey alanını ve görünür villi absorpsiyon alanını düşürdüğünü ve ayrıca goblet hücre sayısını arttırdığını bildirmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada goblet hücresinin hangi yöntemle ve hangi kesim açısıyla belirlendiği belirtilmemiş ve goblet hücrelerinin görüntüleri verilmemiştir.

Marković ve diğ. (2009) etlik piliç rasyonlarına manan oligosakkarit ilavesinin büyüme performansını arttırdığını, yemden yararlanma oranını iyileştirdiğini ve MOS ilavesinin ileumda villi boyunu arttırdığını bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada H&E boyama prosedürü uyguladıklarından goblet hücresinin tespitini yapmamışlardır.

Ghazanfari ve diğ. (2015) etlik piliç rasyonuna 300mg/kg esansiyel yağ (kişniş) ilavesinin büyüme performansını ve ileumda villi gelişimini arttırdığını bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada H&E boya prosedürü uyguladıklarından goblet hücre tespiti ve resimlemesi yapmamışlardır.

Nourmohammad ve Afzali (2013) etlik piliç rasyonlarına sitrik asit ilavesinin ileumda villi boyunu arttırdığını bildirmişler yine H&E boyama prosedüründen dolayı goblet hücrelerini tespit etmemişlerdir.

Humer ve diğ. (2015) etlik piliç rasyonlarına bitkisel katkı maddesi ilavesinin performansı, villi boyunu ve goblet hücre sayısını etkilemediği fakat ileumda villi cript oranını arttırdığını bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada goblet hücrelerinin tespitine yönelik resim verilmemiştir.

Etlik piliçlerde yapılan farklı çalışmalarda goblet hücrelerinin tespitine yönelik analizlerde elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda sadece goblet hücrelerinin resimlendiği çalışmalar baz alınmış ve resimler tablo 1 'de verilmiştir.

Reynolds ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada etlik piliçlerin ileumlarından alınan örneklerde goblet hücre yoğunluğunu belirleyerek sonuçları resimlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonunda etlik piliçlerin ileumlarındaki goblet hücrelerinin sayılabilir özellikte olmadığı ve ileum boyunca düzgün konumlanmadıkları görülmektedir.

Theerawatanasirikul ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmada 3 farklı etlik piliç çeşidinde ileumdan alınan örneklerde goblet hücrelerini resimleyerek, goblet hücrelerinin yoğunluğunu incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada PAS boyaması ile goblet hücrelerinin görünürlüğünü sağlayarak elde ettikleri resimlerden goblet hücrelerinin sayımının zor olduğu görülmüştür.

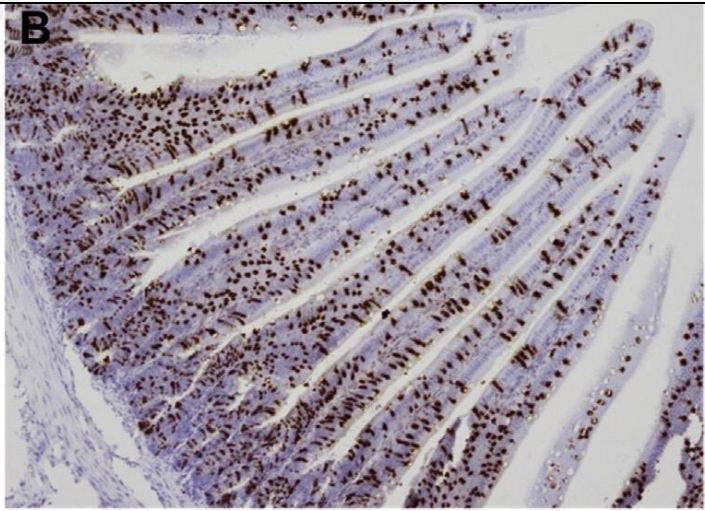
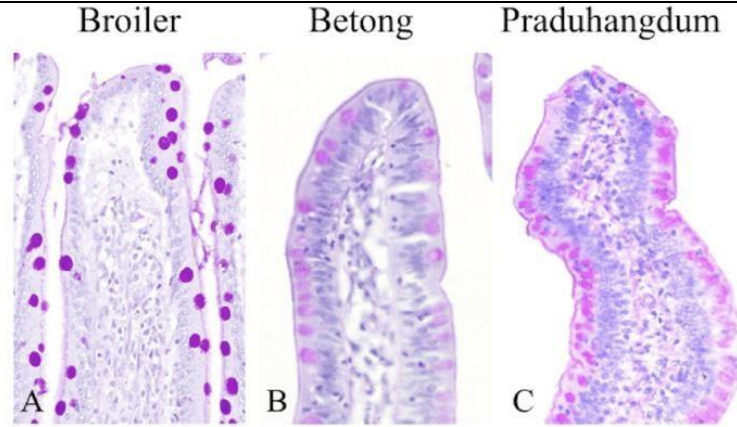
Wu ve diğ. (2018) etlik piliç rasyonlarına sodyum bütirat ilavesinin, bağırsak fonksiyonunu geliştirdiğini bildirdikleri çalışmalarına goblet hücrelerinin resimlerini çekmişlerdir. Resim incelendiğinde goblet hücrelerinin sayımının zor olduğu görülmektedir.

Belote ve diğ. (2019) etlik piliçlerin ileum örneklerinde goblet hücrelerinin görüntülerini verdikleri çalışmalarında, goblet hücrelerinin sayımının zor olduğu görülmüştür.

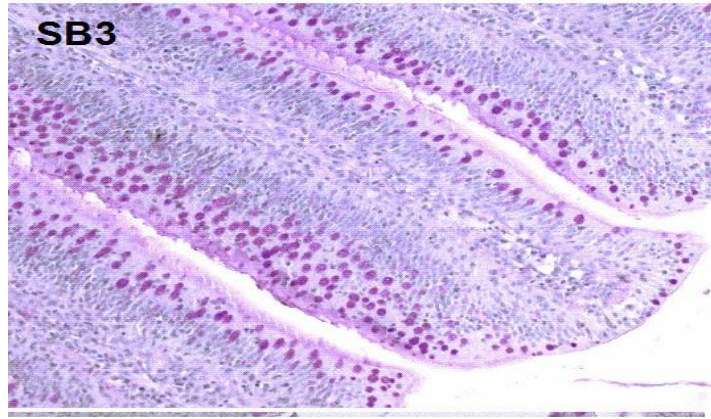
Wang ve diğ. (2018) etlik piliçlerin ileumlarından aldıkları örneklerde goblet hücrelerinin resimlerini verdikleri çalışmada goblet hücrelerinin sayımının zor olduğu görülmüştür.

Bozkurt ve Sandıkçı (2009) yaptıkları çalışmada kadeh hücresi (goblet hücresi) sayısındaki değişimi inceleyerek goblet hücrelerini resimlemişlerdir. Resim incelendiğinde goblet hücrelerinin bir düzlemde sırayla dizili olması gereken görüntünün elde edilemediği ve bir hücrenin olması gereken noktada birden fazla hücre resimlendiği görülmüştür.

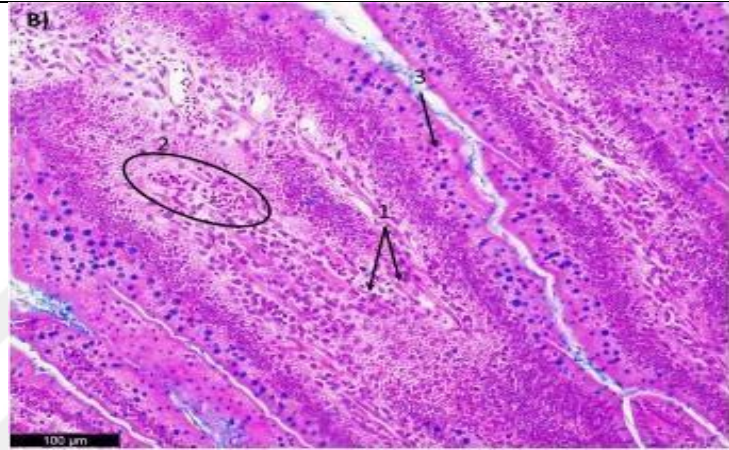
Tablo 1. Goblet hücre tespiti ile ilgili yapılan çalışmalardan örnek görüntüler

Literatür	Resimler
Reynolds ve diğ., 2020	
Theerawatanasirikul ve diğ., 2017	

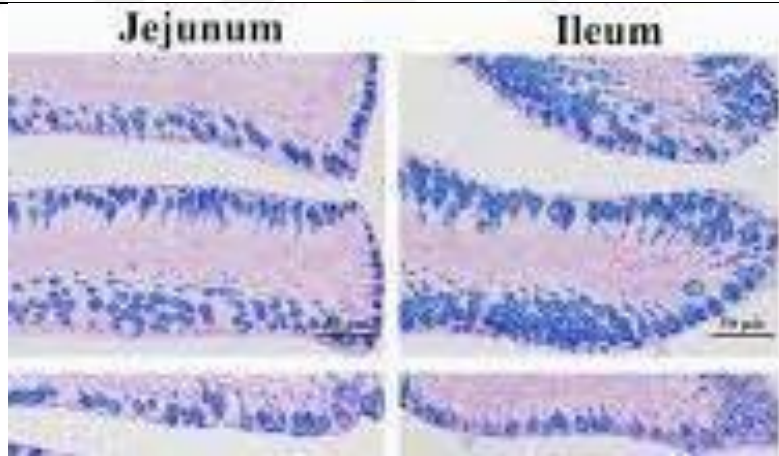
Wu ve diğ., 2018



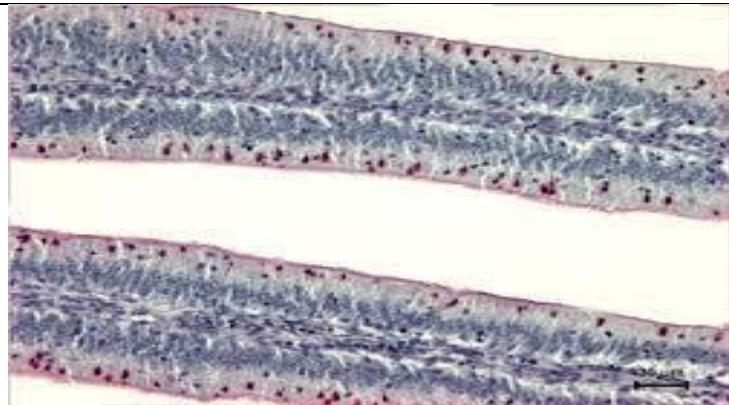
Belote ve diğ., 2019



Wang ve diğ., 2018



Bozkurt ve Sandıkçı, 2009



Etlik piliçlerde goblet hücrelerinin tespitinin yapıldığı çalışma sayısının az olması ve elde edilen resimlerden anlaşılacağı üzere goblet hücrelerinin resimlerinin çekildiğinde histolojik inceleme sırasında bağırsağın kesim aşamasında, villinin doğru kesilmediği görülmektedir.

Dolayısıyla bu çalışmanın amacı goblet hücrelerinin en iyi görüntülenebileceği kesim açısının belirlenmesi ve goblet hücrelerinin sayılabilir bir şekilde resimlerinin çekilerek etlik piliçlerde sindirim fizyolojisi içeren bilimsel çalışmalara yol gösterici olmaktır.



5. METARYAL VE METOT

5.1. Bağırsak Dokuları ve Histolojik İnceleme

Araştırmanın doku materyalini Samsun ili Kavak ilçesinde faaliyet gösteren ticari etlik piliç kesimhanesinden temin edilen 20 adet etlik piliç bağırsağı oluşturmaktadır. İleumlarından alınan örnekler %10'luk formaldehit içerisinde konulmuştur. Hayvanlardan alınan örnekler Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvan Besleme laboratuvarına getirilmiş ve analizleri yapılmıştır.

Çalışmanın histoloji analizinde parafin bloklar hazırlanıp örnekler 5 mikron kalınlığında kesilmiş ve histolojik analizler yapılarak boyama prosedürüne hazır hale getirilmiştir. Sonrasında dokular Algian blue ve PAS (Periodic acid and Schiff reagent) ile boyanmış ve uygun görüntüleme için dijital kameralı mikroskop (ZEISS Primo Star, Almanya) ile fotoğrafları çekilmiştir. PAS boyama prosedürü tablo 2. de verilmiştir.

Tablo 2. PAS Boyama Prosedürü

Örneklerin slayt üzerinde işleme hazır halde olması	
Distile su	1 dk durulama
Algian Blue (Merck-1.01647.0500)	5 dk
Periodic acid solution (Merck 202.646/1)*	5 dk
Musluk suyu	3 dk
Distile su	1 dk durulama
Schiff's reagent (Merck 101.646/2)	15 dk
Musluk suyu	3 dk
Distile su	1 dk durulama
Musluk suyu	3 dk
Ethanol 70%	1 dk
Ethanol 70%	1 dk
Ethanol 96%	1 dk
Ethanol 100%	1 dk
Ethanol 100%	1 dk
Xylene or NEO-CLEAR®	5 dk
Xylene or NEO-CLEAR®	5 dk

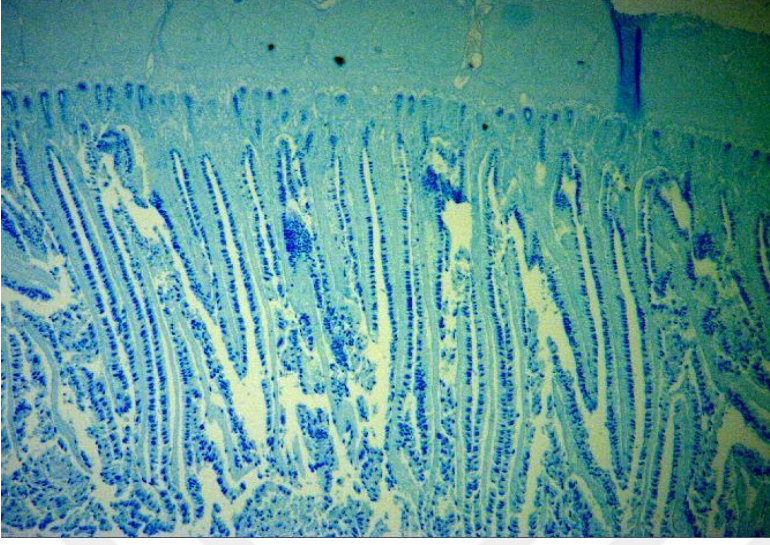
Bu işlemlerden geçirilen slayt örnekleri balsam veya entellan ile kaplanarak kapatılmıştır.

6. İSTATİSTİK ANALİZ

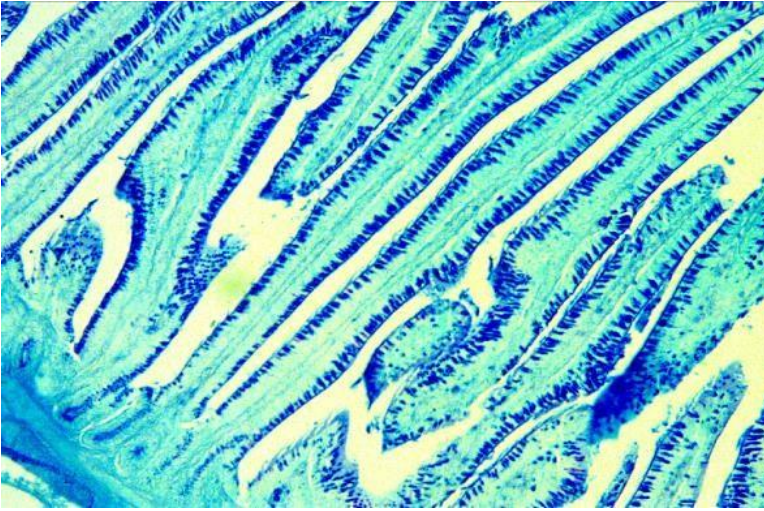
Araştırmada bağırsağın klasik kesim yöntemi ve 45 derece eğimli kesim yöntemi kullanılarak işlenilen dokulardan elde edilen slaytlar 4X, 10X ve 40X büyütmede her slayttan 1 resim olmak üzere her gruptan 10 resim çekilmiştir. Çekilen resimlerden elde edilen görüntülerden yüzde olarak ne kadarından goblet hücrelerinin sayılabilir olduğu belirlenmiştir. Kesim yönteminin villi boyu ve villi kalınlığı parametreleri SPSS 15 istatistik paket programında T testi ile yapılmıştır.



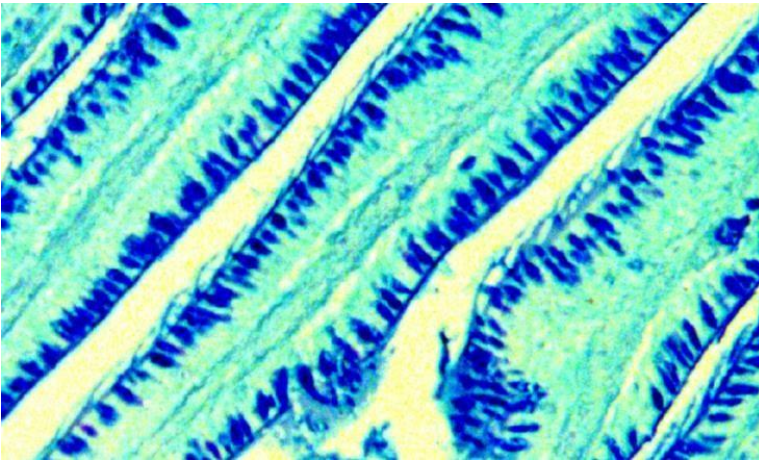
7. BULGULAR



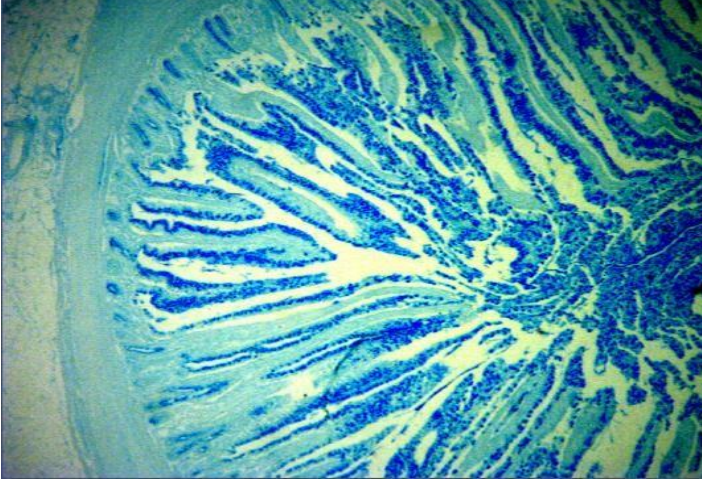
Şekil 5. 45° açı ile kesilen ileum görüntüsü (4x PAS boyaması)



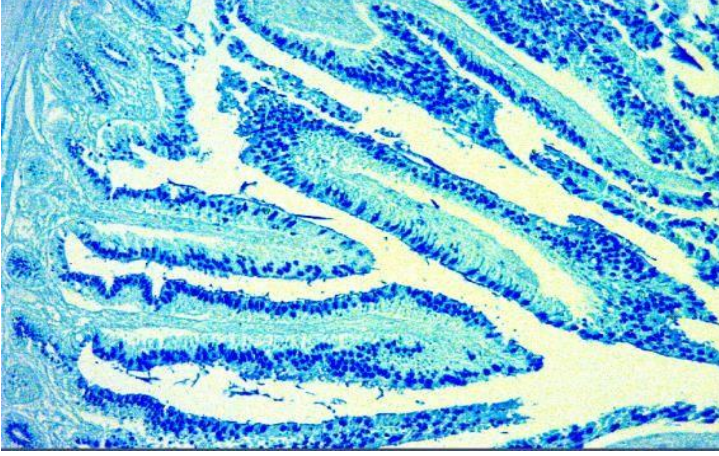
Şekil 6. 45° açı ile kesilen ileum görüntüsü (10x PAS boyaması)



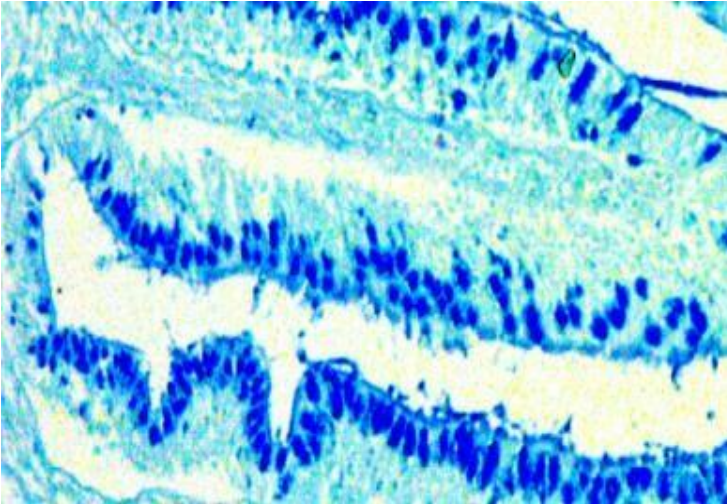
Şekil 7. 45° açı ile kesilen ileum görüntüsü (40x PAS boyaması)



Şekil 8. Klasik yöntemle kesilen ileum görüntüsü (4x PAS boyama)



Şekil 9. Klasik yöntemle kesilen ileum görüntüsü (10x PAS boyama)



Şekil 10. Klasik yöntemle kesilen ileum görüntüsü (40x PAS boyama)

Araştırma sonunda klasik kesim ve 45 derece eğim ile kesilen ileum örneklerinin resimleri çekilmiş, resimler üzerinde villi boyu ve villi kalınlığı belirlenmiş olup kesim açısı bakımında farklılık oluşup oluşmadığı belirlenmiştir. Araştırma sonunda çekilen resimlerden örnekler verilmiştir. Tablo 3'te farklı kesim açılarının slaytlarda villiler üzerindeki goblet hücrelerinin sayılabilirlikleri verilmiştir.

Resimler incelendiğinde çekilen resimlerden anlaşılacağı üzere, 45 derecelik açı ile kesilen dokulardan alınan resimlerden 10X ve 40X büyütme ile çekilen resimlerden goblet hücrelerinin sayılabilir nitelikte olduğu ve klasik yöntem ile kesilen dokularda ise 4X, 10X ve 40X büyütme ile çekilen resimlerde goblet hücrelerinin tespitinin mümkün olmadığı görülmektedir.

Tablo 3. Farklı kesim açıları ile slaytlarda goblet hücrelerinin sayılabilirlikleri

Gruplar	4X büyütme	10X büyütme	40X büyütme
Klasik kesim	0/10	0/10	0/10
45 derece kesim	0/10	10/10	10/10

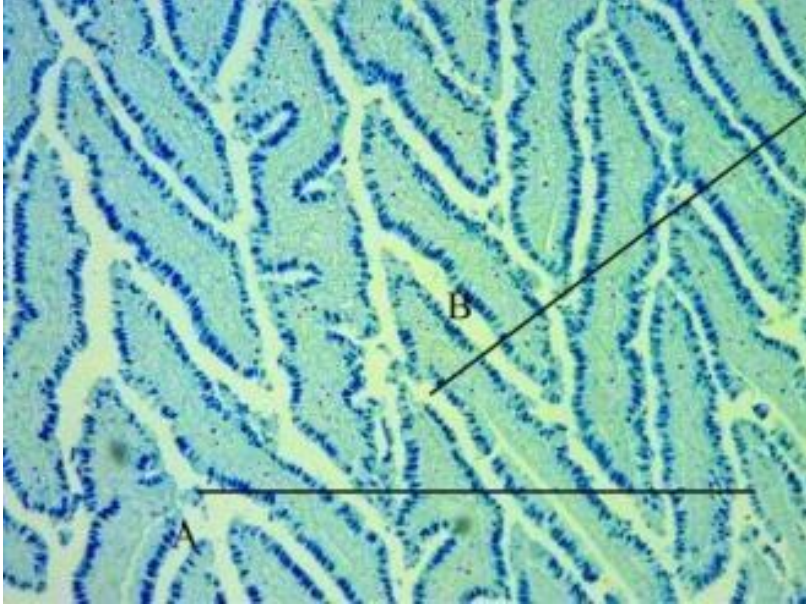
Tablo 4. Farklı kesim açılarının villi boyu ve villi kalınlığı üzerindeki değişimler

	45 derece kesim	Klasik yöntem	Sem	p
vb	1239,2	1258,1	17,50	0,42
vk	104,1a	143,9b	4,77	0,001

*vb: villi boyu; vk: villi kalınlığı

Tablo 4'te farklı kesim açılarının villi boyu ve villi kalınlığı üzerindeki değişimleri verilmiştir. Tablo incelendiğinde kesim açısının villi boyunu değiştirmediği görülmektedir. Villi boyu üzerine istatistiki etkinin olmaması 45 derece eğimle bağırsağın kesilerek incelenebileceğini göstermektedir.

Villi kalınlığının, bağırsağın klasik yöntem kullanılarak kesildiğinde yaklaşık % 40 daha kalın olduğu ve bu farkın istatistik olarak çok önemli olduğu belirlenmiştir. Klasik yöntemle kesilen bağırsak dokularında villi kalınlığının artmasının nedeni, villilerin bağırsak içerisindeki konumlarından kaynaklanmaktadır. Villiler bağırsak içerisine ortalama 45 derecelik konum ile konumlandıklarından klasik kesimle kestiğimiz için villiler kalınlaşmaktadır.



Şekil 2’de yatay kesilen bağırsak içerisinde villilerin konumu verilmiştir. Şekilde A çizgisi klasik kesimi B çizgisi ise 45 derecelik eğimli kesimi temsil etmektedirler. Şekil dikkatli incelendiğinde villilerin klasik kesimle ve ortalama 45 derecelik eğimle kesildikleri görülmektedir. B çizgisinde ise villilerin tam orta noktalarından kesildikleri görülmektedir. A çizgisinde villiler klasik kesildiklerinden dolayı olması gerekenden % 40 daha kalın görülmekte ve villilerin kenarları boyunca sıralı bir şekilde konumlandırılan goblet hücreleri tek olarak kesilmesi gerekirken 2 veya 3 goblet hücresi kesildiğinden şekil 9’da görüldüğü gibi resim alınmaktadır. Bağırsak dokuları 45 derecelik eğimle kesildiklerinde Şekil 6’daki görüntü elde edilmektedir.

8. TARTIŞMA

Bu araştırmanın sonuçları etlik piliçlerin ileumlarından alınan örneklerin 45 derecelik eğimle kesildiğinde goblet hücrelerinin sayılabilir bir şekilde kesildiğini ve goblet hücrelerinin düzgün bir şekilde resimlenebildiğini göstermektedir. Daha önce yapılan bilimsel araştırmalarda Bozkurt ve Sandıkçı (2009); Wang ve diğ. (2018); Belote ve diğ. (2019); Wu ve diğ. (2018); Theerawatanasirikul ve diğ. (2017); Reynolds ve diğ. (2020) klasik kesim yöntemi ile etlik piliç ince bağırsaklarında goblet hücrelerini farklı boyama prosedürleri ile incelemiştir. Yaptıkları çalışmada goblet hücrelerini bu araştırma çalışmasında olduğu gibi villinin bir yüzeyinde sıralı şekilde olması gerekirken çok fazla sayıda resimlemiştir.

Dolayısıyla bu araştırma çalışmasından klasik yöntemle kesilen dokuların resimleri benzer olması, etlik piliçlerde sindirim fizyolojisi çalışmalarında goblet hücre tespiti için klasik kesimin doğru olmadığını ve 45 derecelik eğimle dokunun kesilerek incelenmesinin doğru bir yöntem olduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmada klasik kesimle histolojik işlemler yapıldığından elde edilen görüntülerde goblet hücrelerinin sayımının zor olduğu ve goblet hücrelerinin sayımı ile ilgili farklı hesaplamalar literatürlere geçirildiği belirlenmiştir..

Örneğin Amer ve diğ., (2021) etlik piliç rasyonlarına monogliserit ilavesinin bağırsak histolojisi üzerine yaptıkları çalışmada piliçlerin ileumlarında 1 mm 2 villi alanında 50 ila 80 arasında değişen miktarlarda goblet hücresi bulunduğunu bildirmişlerdir. Du ve Guo, (2021) ise 100 mikron villi boyundaki goblet hücrelerinin sayısını belirlemişlerdir. Goblet hücrelerinin sayımı ile ilgili farklı yöntemlerin literatürde kullanımı, bu hücrelerin sayımı ile ilgili bir standart olmadığını göstermektedir.

Ayrıca mevcut histolojik çalışmalar incelendiğinde dokuların nasıl bir işleme tabi tutulduğu ve nasıl kesildiği belirtilmemektedir. Villi üzerindeki goblet hücreleri musin denilen glikoprotein yapısındaki sıvıyı salgırlar, musin villi yüzeyinde sindirime yardımcı laktik asit bakterilerinin çoğalmasını sağlayarak ortamda asitliği arttırıp patojen bakterilerin çoğalmasını engellerler (Fernando et al., 2011). Dolayısıyla goblet hücrelerinin varlığı bağırsak sağlığı ve sindirimle ilişkili en önemli etmenlerin başında gelmektedir.

Goblet hücrelerinin sayısının doğru olarak belirlenmesi, sindirim fizyolojisi ile ilgili çalışmalarda kritik rol oynamaktadır.



9. SONUÇ

Araştırma sonunda çekilen resimlerden örnekler verilmiştir. Resimler incelendiğinde 40x ile çekilen resimlerden anlaşılacağı üzere, 45 derecelik açı ile kesilen dokulardan alınan resimlerden goblet hücrelerinin sayılabilir nitelikte olduğu ve klasik yöntemle ile kesilen dokularda goblet hücrelerinin tespitinin mümkün olmadığı görülmektedir.

Sonuç olarak etlik piliçlerle yapılan bilimsel çalışmalarda sindirim sisteminde goblet hücre tespiti, sindirim yüzey alanı, toplam villi sayısı, toplam goblet hücre sayısının tespitinin 45 derecelik eğimle kesilen dokularda tespitinin yapılabileceği belirlenmiştir.



KAYNAKLAR

- [1]. Amer, S. A. ., Afaf A-Nasser ., Hanan S. Al-Khalaifah ., Dina M. M. AlSadek., , Doaa M. Abdel fattah., Elshimaa M. Roushdy. , Wafaa R. I. A. Sherief. , Mohamed F. M. Farag. , Dalia E. Altohamy ., Ahmed A. A. Abdel-Wareth ., Abdallah E. Metwall, (2021). Effect of Dietary Medium-Chain α -Monoglycerides on the Growth Performance, Intestinal Histomorphology, Amino Acid Digestibility, and Broiler Chickens' Blood Biochemical Parameters. *Animals*, 11(1), 57.
- [2]. Belote, B. L., Soares, I., Tujimoto-Silva, A., Sanches, A. W., Kraieski, A. L., & Santin, E. (2019). Applying I see inside histological methodology to evaluate gut health in broilers challenged with *Eimeria*. *Veterinary Parasitology*: X, 1, 100004.
- [3]. Bozkurt, M., & Sandıkçı, M. (2009). Farklı yaşlardaki civcivlerin barsak villus boyu ve çapı ile kadeh hücresi ve mitotik hücre sayılarındaki değişimler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(1), 5-9.
- [4]. Coşkun, I., & Bat, G. (2016). Etlik Piliçlerin İleum Histolojisi ve Goblet Hücre Sayısı Üzerine Farklı Kesim Canlı Ağırlığının Etkisi.
- [5]. Du, E., Guo, Y. (2021). Dietary supplementation of essential oils and lysozyme reduces mortality and improves intestinal integrity of broiler chickens with necrotic enteritis. *Animal Science Journal*, 92(1), e13499.
- [6]. Erener, G. Genel Hayvan Besleme Ders Notu, Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Kırşehir, 2013.
- [7]. Fernando, P. S., Rose, S. P., Mackenzie, A. M., & Silva, S. P. (2011). Effect of diets containing potato protein or soya bean meal on the incidence of spontaneously occurring subclinical necrotic enteritis and the physiological response in broiler chickens. *British Poultry Science*, 52, 106–114. <https://doi.org/10.1080/00071668.2010.549105>
- [8]. Ghazanfari, S., Mohammadi, Z., & Adib Moradi, M. (2015). Effects of coriander essential oil on the performance, blood characteristics, intestinal microbiota and histological of broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(4), 419-426.
- [9]. Giannenas, I., Bonos, E., Filliouis, G., Stylianaki, I., Kumar, P., Lazari, D., Efterpi C & Florou-Paneri, P. (2019). Effect of a polyherbal or an arsenic-containing feed

additive on growth performance of broiler chickens, intestinal microbiota, intestinal morphology, and lipid oxidation of breast and thigh meat. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(1), 164-175.

- [10] Humer, E., Rohrer, E., Windisch, W., Wetscherek, W., Schwarz, C., Jungbauer, L., & Schedle, K. (2015). Gender specific effects of a phytogetic feed additive on performance, intestinal physiology and morphology in broiler chickens. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 99(4), 788-800.
- [11]. Jahanian, E., Mahdavi, A. H., Asgary, S., & Jahanian, R. (2016). Effect of dietary supplementation of mannanoligosaccharides on growth performance, ileal microbial counts, and jejunal morphology in broiler chicks exposed to aflatoxins. *Livestock Science*, 190, 123-130.
- [12]. Kara, A.; Hira, F.; Şimşek, N.; Yörük, M. ve Gümüş, R. İnorganik ve Organik Bakır, Çinko ve Mangan Eklenen Diyetlerle Beslenen Yumurta Tavuklarının İnce Bağırsak Morfolojisi Üzerine Histokimyasal ve Histometrik Bir Çalışma, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 2013, 8(1):53-61.
- [13]. Kaya, D.; Kaya, T.; Güler, H. ve Türk, M. EGG ile Çölyak Hastalığının Tespiti için Sinyal Analiz Metotlarının Uygulanması, URSI-TÜRKİYE'2014 VII. Bilimsel Kongresi, ELAZIĞ, 28-30 Ağustos 2014
- [14]. Marković, R., Šefer, D., Krstić, M., & Petrujkić, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de medicina veterinaria*, 41(2), 163-169.
- [15]. Nourmohammadi, R., & Afzali, N. (2013). Effect of citric acid and microbial phytase on small intestinal morphology in broiler chicken. *Italian Journal of Animal Science*, 12(1), e7.
- [16]. Reisinger, N., Steiner, T., Nitsch, S., Schatzmayr, G., & Applegate, T. J. (2011). Effects of a blend of essential oils on broiler performance and intestinal morphology during coccidial vaccine exposure. *Journal of Applied Poultry Research*, 20(3), 272-283.
- [17]. Reynolds, K. L., Cloft, S. E., & Wong, E. A. (2020). Changes with age in density of goblet cells in the small intestine of broiler chicks. *Poultry Science*.

- [18]. Santin, E., Maiorka, A., Macari, M., Grecco, M., Sanchez, J. C., Okada, T. M., & Myasaka, A. M. (2001). Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Journal of Applied Poultry Research*, 10(3), 236-244
- [19]. Sunar, M. ve Özüdoğru, Z. Işık Stresi Uygulanan Bildircinların (Coturnix Coturnix Japonica) İnce Barsaklarında Gözlenen Makroskobik Uzunluk ve Goblet Hücre Sayılarındaki Değişikliklerin İncelenmesi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 2009, Cilt: 4, Sayı: 1, Sayfa: 49-55.
- [20]. Şimşek, N.; Karadeniz, A.; Özüdoğru, Z.; Kara, A. ve Can, İ. Yetişkin Bildircinların Gastrointestinal Sisteminde Gastrin, Somatostatin ve Serotonin Salgılayan Hücreler Üzerine İmmunohistokimyasal Bir Araştırma, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 2011, 6(3): 183-193.
- [21]. Theerawatanasirikul, S., Koomkrong, N., Kayan, A., & Boonkaewwan, C. (2017). Intestinal barrier and mucosal immunity in broilers, Thai Betong, and native Thai Praduhangdum chickens. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 41(3), 357-364.
- [22]. Tong, C., Li, P., Yu, L. H., Li, L., Li, K., Chen, Y., Shu HY. & Long, M. (2020). Selenium-rich yeast attenuates ochratoxin A-induced small intestinal injury in broiler chickens by activating the Nrf2 pathway and inhibiting NF-KB activation. *Journal of Functional Foods*, 66, 103784.
- [23]. Wang, F., Zuo, Z., Chen, K., Gao, C., Yang, Z., Zhao, S., ... & Cui, H. (2018). Histopathological injuries, ultrastructural changes, and depressed TLR expression in the small intestine of broiler chickens with aflatoxin B1. *Toxins*, 10(4), 131.
- [24]. Wu, W., Xiao, Z., An, W., Dong, Y., & Zhang, B. (2018). Dietary sodium butyrate improves intestinal development and function by modulating the microbial community in broilers. *PloS one*, 13(5), e0197762.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Kübra SACIHAN
Doğum Yeri	ANKARA
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C.
Telefon	
E-Posta Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Tarımsal Biyoteknoloji
Mezuniyet Yılı	2016

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Zootekni Anabilim Dalı
Programı	Zootekni
Mezuniyet Tarihi	2021

Makale ve Bildiriler
<p>Sacıhan, K., Gören, H., Civaner, A., Filik, G., Beyaz Et Tüketim Alışkanlıklarının Kırşehir Örneği, 11. Ulusal Zootekni Öğrenci Kongresi, 29-30 Nisan 2015, Diyarbakır, Dicle Üniversitesi</p>
<p>Sacıhan, K., Saydut, F., Korkmaz, A., Coşkun, İ., Using of Grasshoppers as Protein Source in Poultry Nutrition 10. International Animal Science Conference 25-27 October 2018, Antalya</p>
<p>Coşkun, İ., Çayan, H., Sacıhan, K., Erener, G. (2020). The Effects of Cereal Based Fermented Functional Food Supplementation on Growth, Cecal Microflora and Duodenum Histology of Quails (<i>Coturnix coturnix Japonica</i>)</p>