

Tavuk ve Horozların Gelişme Sürecinde Hipofiz Bezi Pars Distalisinin Histolojik Yönden İncelenmesi

Hatice ERDOST*

Geliş Tarihi: 15.01.2004
Kabul Tarihi: 06.05.2004

Özet: Çalışmada, yumurtadan çıkıştan itibaren tavuk ve horozların beş aylık gelişme süreci içinde hipofiz bezi pars distalisinin morfolojik özelliklerinin ışık mikroskopik seviyede incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışma 50 dişi ve 50 erkek günlük Isobrown yumurtacı piliç ile puberteye ulaşana kadar beş ay (Şubat ile Haziran arasında) sürdürüldü. Her ayın sonunda rastgele her gruptan 10 hayvan seçilerek servikal dislokasyon uygulandı. Histolojik incelemeler için hipofizden alınan doku örnekleri tamponlu formolde tespit edilerek parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alındı. Crossmonn'ın modifiye üçlü boyama tekniği ile incelendi.

Çalışmada sonuç olarak; pars distalisin sefhalik ve kaudal bölgelerden oluştuğu; bu bölgelerin asidofilik, bazofilik ve kromofob karakterde hücre içerdiği saptandı. Bu hücrelerin kordon, follikül ya da tek tek hücreler tarzında yerleşim gösterdiği belirlendi. Hem tavuk hem de horozlarda pars distalide ilk ay hariç diğer aylarda kist oluşumu görülmürken; dördüncü ve beşinci aylarda bazı parenşimal hücrelerin kolloid ile dolu bir lumen etrafında yerleşim gösterdiği saptandı. Tüm gelişme sürecinde asidofil hücre sayısının tavuklarda horozlara, bazofil hücre sayısının da horozlarda tavuklara göre daha fazla olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Tavuk, horoz, hipofiz bezi, histoloji.

Histological Investigations on the Pars Distalis of the Pituitary Gland of Hens and Cocks During the Developing Period

Summary: In the study, the structural differences in the pars distalis of the pituitary gland were investigated during the developing period of the cocks and hens, for five months with light microscopy.

This research had started with laying Isobrown daily 50 male and 50 female chicks and lasted for 5 months (between February and June). At the end of the each month, ten chicks were chosen randomly, sacrificed by cervical dislocation. For histological examination tissue pieces taken from pituitary gland fixed in solution such as buffered formalin and five µm thick sections obtained from the paraffin embedded samples were examined using a triple stain method Crossmonn's modification .

As a results of this study, the pars distalis was divided into cephalic and caudal zones. Both zones contained acidophil, bazophil and chromophobe cells. They were arranged in cords or follicles or separate cells. Some parenchymal cells of the pars distalis were arranged around a lumen filled with colloid only in the fourth and five months; and also occurred the cysts without the first month in both cocks and hens.

During the developing period in hens, the number of the acidophil cells were more then cocks and the number of the bazophil cells were more then hens in cocks.

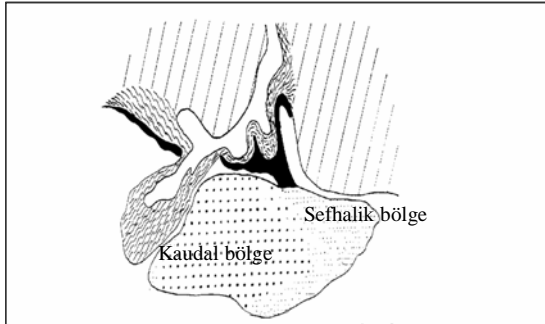
Key Words: Hen, cock, pituitary gland, histology.

* Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Histoloji – Embriyoloji Anabilim Dalı , Bursa-Türkiye.

Giriş

Hipofiz bezi her canlıda hayatın ve metabolik gelişmenin denge halinde devam ettirilmesinde etkin role sahiptir. Evcil hayvanlarda üreme fonksiyonlarının düzenlenmesi hipofizin hormonal kontrolü altındadır. Reprodüksiyon ve seksüel davranışlar, hipotalamo-hipofizial-gonadal eksen üzerinden düzenlenmektedir. Hipotalamusun hipofiz bezi ile olan ilişkisi ve hemen hemen vücudun bütün endokrin organlarının aktivitesinin düzenlenmesindeki rolü tartışılmazdır^{7,11,18,20,21,24,25}. Hipotalamusun gonadotropin releasing hormonu (GnRH), hipofizden luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılatarak ovaryum ve testis fonksiyonlarını düzenler. Gonadal steroidler, testosteron, östradiol ve progesteron dolaşım yoluyla merkezi sinir sistemini etkiler ve hipotalamusta GnRH yapımı ve salınımını gerçekleştirir. Çevre koşulları, genel sağlık durumu, yaş gibi bireye bağlı özellikler de endokrin faaliyetleri etkilemektedir¹⁸. Kanatlı hayvanlarda özellikle yumurtacı tavuk ırklarında genital gelişim, üretici açısından oldukça önemlidir.

Prenatal ve postnatal gelişim aşamalarında hipofiz bezinin ince yapısında görülen değişiklikler farklı kanatlı türlerinde incelenmiş ve hipofiz bezinin pars distalisin sephalik ve kaudal olmak üzere iki bölgeden ibaret olduğu bildirilmiştir^{1,7,8,10,11,15,17,23} (Resim 1). Kanatlılarda gonadotropik hücrelerin sitoplazmalarında, geniş alana yayılmış ve yassılaştırmış sisternalardan ibaret granüllü endoplazma retikulumu ve belirgin Golgi kompleksi ile çok sayıda irili ufaklı granüllere sahip hücreler oldukları ve hücre içinde çok sayıda polizom bulunduğu belirtilmiştir¹¹.



Resim 1:

Pars distalisin sephalik ve kaudal bölgeleri, S-sephalik, K-kaudal bölge,

Cephalic and caudal lobes of the pars distalis, S-cephalic, K-caudal zone¹¹.

Hipofiz ile perifer endokrin organlar arasındaki ilişki iyi bilinmesine karşın bu bilgiyi hücresel düzeye indirgemek oldukça güç olmuştur. Son yıllarda bu hücre tipleri ile hormonlar arasındaki sitofizyolojik ilişkileri açığa çıkarmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır^{2,3,5,12-14,19,22,23}. Çalışmalar, çeşitli histokimyasal yöntemler kullanılarak ışık mikroskopik ve morfolojik kriterlerin belirlenmesi için de elektron mikroskopik düzeyde olmuştur.

Hazırlanan bu çalışma ile, yumurtadan çıkıştan itibaren tavuk ve horozların beş aylık gelişme süreci içinde hipofiz bezinin pars distalis bölgesinin morfolojik özelliklerinin ışık mikroskopik seviyede değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada 50 adet erkek ve 50 adet dişi günlük Isobrown civciv kullanıldı. Bakım ve besleme Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan kümeslerde yapılmıştır. Puberte çağına kadar gelişmedeki farklılıkların gözlenebilmesi için beş ay (Şubat-Haziran) sürdürülmüştür. Grupları oluşturan dişi ve erkek (50'şer adet) civcivler başlangıçta civciv büyüme yemi ile beslenmişlerdir. Hayvanlara, gelişme dönemlerine göre rasyonda değişiklik yapılarak piliç büyüme yemi, piliç geliştirme yemi ve çalışmanın sonuna kadar yumurta tavuğu yemi verilmiştir. Deneme boyunca tüm hayvanlar ad libitum olarak beslenmiş, civcivlere koruma amaçlı aşılama programı uygulanmıştır.

Bakım besleme 20 hafta sürdürülmüş, her ay sonunda dişi ve erkeklerden 10 hayvan rastgele seçilerek ilk aylarda total perfüzyon daha sonraki aylarda servikal dislokasyon uygulanarak hipofiz bezleri çıkartılmıştır.

Işık mikroskopik incelemeler için alınan hipofiz örnekleri % 10 tamponlu formol ile tespit edildikten sonra histoloji tekniğine uygun doku takibi yapılarak parafin bloklar hazırlanmıştır. Bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitlere ışık mikroskopik düzeyde yapısal özelliklerin belirlenebilmesi için Crossmonn'ın üçlü boyama tekniği⁴ uygulanmıştır.

Her aylık yaşta dişi ve erkeklere ait preparatlardan asidofilik ve bazofilik hücreler mikroskopta 40'lık objektifle (Bir birim alan 0,0625mm² dir.) mikrometrik oküler aracılığı ile sayıldı. Bazofil ve asidofil hücre sayısına etki

eden faktörleri incelemek amacı ile aşağıdaki doğrusal model kullanılmıştır⁹. Doğrusal modelde;

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + HT_j + C_i \times HT_j + e_{ijk} \text{ dir.}$$

Burada Y_{ijk} = tavuk veya horoz sayısını

μ = Beklenen ortalamayı

C_i = Cinsiyetin etkisini

HT_j = Hücre tipinin etkisini (asidofil, Bazofil)

$C_i \times HT_j$ = Cinsiyet X Hücre tipi arasındaki etkileşimi

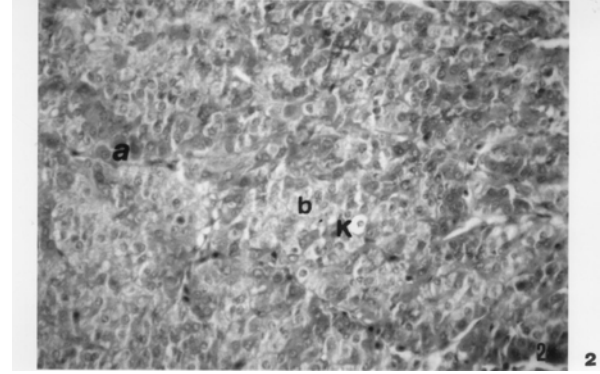
e_{ijk} = Tesadüfi hatayı göstermektedir.

Bulgular

Hipofiz bezi parasagittal kesitlerinde pars distalisin sefhalik ve kaudal olmak üzere iki bölgeden ibaret olduğu görüldü. Her iki bölgede de kromofil ve kromofob hücrelere çok sayıda rastlandı. Kromofil hücreler asidofil ve bazofil özellikler gösterirken, sefhalik bölgenin kaudal bölgeye göre daha bazofilik özelliğe sahip olduğu belirlendi. Sefhalik bölgenin asidofil hücrelerinin daha açık renkte ve az miktarda olduğu gözlenirken bazofil hücrelerin daha fazla olduğu saptandı. (Resim 2). Kaudal bölgenin, koyu boyanan asidofil hücreleri fazla olduğu için daha eosinofilik bir görünümde olduğu görüldü (Resim 3). Hücre dizileri arasında kapillar damar ağları ve sinuzoidlere rastlandı. Kromofob hücrelerin asidofilik ve bazofilik hücre yumaklarının ortalarında yer aldığı tespit edildi. Beş aylık gelişim sürecinde, hem horozların hem de tavukların hipofizlerinde kromofil ve kromofob hücrelerin yerleşiminde ve dağılımında herhangi bir farklılık gözlenmedi. Ancak birim alandaki hücre sayılarına bakıldığında (Tablo I) tüm gelişme sürecinde asidofil hücre sayısının tavuklarda horozlara göre, bazofil hücre sayısında horozlarda tavuklara göre daha fazla olduğu görüldü. Cinsiyet X Hücre tipi arasındaki etkileşim bütün aylarda $P < 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Horozlar ile tavukların asidofil ve bazofil hücre sayıları arasındaki farklılık üçüncü ay sonunda $P < 0.05$, beşinci ay sonunda ise $P < 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo I).

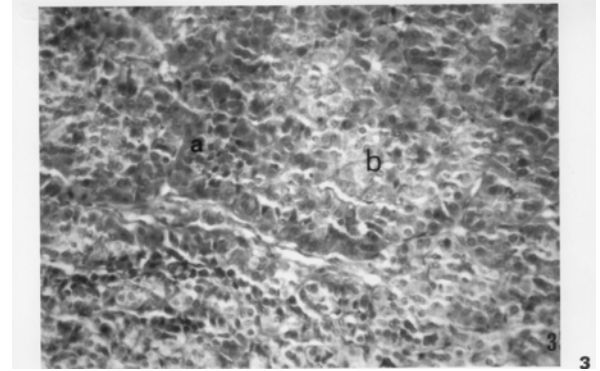
Hüresel yerleşimin, sinuzoidlerin arasında daha çok follikül benzeri hüresel gruplaşmalar ile longitudinal kordonlar oluşturduğu saptandı. Bunların arasında tek tek bulunan hücelere de rastlandı. Üçlü boyama tekniği ile hazırlanan preparatlarda; araştırma süresince her ay tavuk ve

horoz hipofiz bezleri değerlendirildiğinde, cinsiyete bağlı herhangi bir yapısal farklılık görülmedi.



Resim 2:

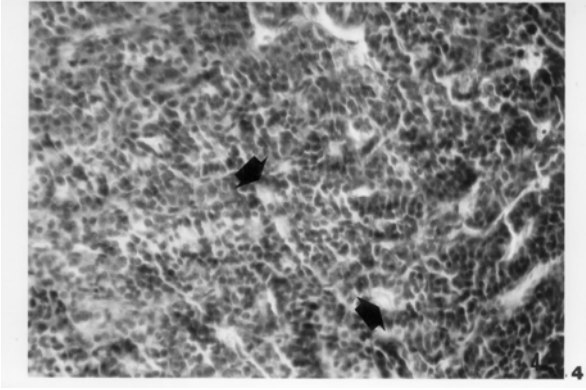
Sefhalik bölgede asidofil (a), bazofil (b), kromofob(k) hücreler, üçlü boyama X40 obj.
Acidophils, (a), basophil (b), chromophobe (k) of the cephalic zone, triple X40 obj.



Resim 3:

Kaudal bölgede asidofil (a), bazofil (b) hücreler, üçlü boyama X40 obj.
Acidophil (a), basophil (b) of the caudal zone, triple X40 obj.

Hipofiz bezinde hücre gruplaşmalarının yer yer kolloid ile dolu küçük bir lumen çevresinde şekillendiği saptandı (Resim 4). Kolloid içeren bu hücre gruplaşmaları kanatlı hipofiz bezinde ilk üç ayda görülmedi. Sadece dört ve beş aylık yaşta sahip tavuk ve horozlarda seyrek olarak saptandı. Bunun yanında pars distalis içinde irili, ufaklı kistler gözlemlendi. Kist oluşumuna dişi ve erkek grupların her ikisinde de birinci ayda rastlanmadı, kist oluşumu ikinci aydan itibaren görüldü; ayrıca horoz ile tavuk grupları arasında yapısal bir farklılık tespit edilmedi. Kistlerin pars distalisin her yerinde olabildiği gibi özellikle perifer kısımlarda daha çok lokalize oldukları dikkat çekti (Resim 5).



Resim 4:
Hücrelerin yerleşimi, kolloid (oklar),
üçlü boyama X 40 obj.
Localization of the cells, kolloid (arrows)
triple X40 obj.



Resim 5:
Pars distaliste kistler, üçlü boyama X10 obj.
Cysts in the pars distalis, triple X10 obj.

Tablo I. Tavuk ve Horozların Gelişme Sürecinde Asidofil ve Bazofil Hücre Sayılarının (adet / birim alan) Ortalamaları ve Standart Hatası

	n	Tavuk		Horoz	
		Asidofil	Bazofil	Asidofil	Bazofil
		X ± SX	X ± SX	X ± SX	X ± SX
1. ay	10	24.60 ± 1.00	21.80 ± 0.74	21.70 ± 0.79	26.20 ± 1.06
2. ay	10	29.70 ± 0.90	26.30 ± 1.16	26.30 ± 1.01	32.20 ± 1.23
3. ay	10	32.40 ± 0.75 a	28.80 ± 0.95 a	27.80 ± 0.76 b	36.0 ± 0.135 b
4. ay	10	40.90 ± 0.77	36.80 ± 1.26	35.70 ± 1.03	43.80 ± 0.88
5. ay	10	42.60 ± 0.60 a	39.50 ± 0.89 a	34.70 ± 1.14 b	45.10 ± 1.11 b

Cinsiyet X Hücre tipi arasındaki interaksiyon bütün aylarda $P < 0.001$ düzeyinde önemlidir.

Üçüncü ayda tavukların asidofil hücreleri ile horozların asidofil hücreleri arasında (farklı harf taşıyan değerler arasında) $P < 0.05$ düzeyinde önem bulunmuştur.

Beşinci ayda tavukların bazofil hücreleri ile horozların bazofil hücreleri arasında (farklı harf taşıyan değerler arasında) $P < 0.001$ önem bulunmuştur.

Tartışma

Kanatlı adenohipofizi pars distalis ve pars tuberalis bölümlerinden ibarettir. Memeli hayvanlarda bilinen pars intermedia bölümü kanatlı hayvanlarda bulunmamaktadır. Her iki bölge birbirlerinden bağ doku ya da farklı bir bölüm ile ayrılmamış olup birbiri içine girmişlerdir. Kanatlı hayvanlarda hipofiz bezi pars distalisi memeli hayvanlardan farklı olarak sefhalik ve kaudal bölgelerden ibarettir^{7,11}. Sefhalik ve kaudal bölgelerde, kromofob ve kromofil hücrelerden oluşan kordon, folikül ya da asinus şeklinde yerleşim göstermektedir¹⁶. Sefhalik bölge bazofilik, kaudal bölge asidofilik özelliktedir^{7,10}. Bir aylık yaştan beş aylık yaşa kadar olan gelişim sürecinde hücrelerin pars distalisin sefhalik ve kaudal bölgelerindeki yerleşimi literatür bilgileriyle paralellik göstermektedir. Memeli hayvanlarda kromofob hücreler küçük sitoplazmalı iken⁶, kanatlı hipofizinde geniş sitoplazmalı ve ortada yer alan çekirdek ile oldukça tipiktir. Dört ve beş aylık yaşlarda tek tük saptanan kolloid ile dolu lumen çevresinde hücre gruplaşmalarının melanotroplardan oluşan follikül epitel hücrelerinden kaynaklanabileceği⁶ gibi, bazofil hücrelerin holokrin ve merokrin sekresyonları sonucu ya da hücrel ürünlerin parçalanmasıyla meydana gelen sekresyonlardan da oluşabileceği bildirilmektedir. Ayrıca genç kanatlılarda kolloidin oldukça az olduğu da belirtilmektedir¹¹. Çalışmada tavuk ve horoz grupları arasında bu yönden bir farklılık saptanmamıştır. Özellikle ilk 3ay hiç bir grupta kolloid oluşumu gözlenmezken dördüncü ve beşinci aylarda nadiren görülmüştür.

Pars distalis içinde bulunan kistlerin silyumlu müköz transizyonal bir epitel ile örtülü olduğu belirtilirken^{7,11} çalışmada bu kistlerin özellikle pars distalisin periferinde yer aldığı saptanmıştır. Ayrıca tavuk ve horoz gruplarında kist ikinci aydan itibaren oluşmaya başlamıştır.

Sonuç olarak çalışmada sefhalik ve kaudal bölgelerden oluşan pars distalisin asidofilik, bazofilik ve kromofob hücreler içerdiği saptanmış; bu hücrelerin kordon, folikül ya da tek hücre tarzında yerleşim gösterdiği belirlenmiştir. Dördüncü ve beşinci aylarda, hem tavuk hem de horozlarda pars distalisin bazı parenşim hücrelerinin kolloid ile dolu bir lumen etrafında yerleştiği ve ilk ay hariç diğer aylarda kist oluşumu saptanmıştır. Tüm gelişme sürecinde asidofil hücre sayısının dişilerde erkeklere göre, bazofil hücre sayısının da erkeklerde dişilere göre daha fazla olduğu görülmüştür.

Kaynaklar

1. BARABANOV VM. Detection of Prolactin in the Hypophysis of the Chick and Chick Embryo. *Ontogenez* 1985; 16(2): 118-26.
2. BASTINGS E, BECKERS A, REZNIK M, BECKERS JF. Immunocytochemical Evidence for Production of Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone in Separate Cells in the Bovine. *Biol Reprod.* , 1991; 45:788-796.
3. BERGHMAN LR, GRAUWELS L, VANHAMME L, PROUDMAN A, FOIDART A, BALTHAZART J, VANDESANDE F. Immunocytochemistry and Immunoblotting of Avian Prolactins Using Polyclonal and Monoclonal Antibodies Toward a Synthetic Fragment of Chicken Prolactin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1992; 85(3): 346-57.
4. CROSSMONN G. A Modification of Mallory's Connective Tissue Stain with a Discussion of the Principles Involved. *Anat. Rec.* 1937; 69: 33-8.
5. DACHEUX F, DUBOIS MP. Ultrastructural Localization of Prolactin, Growth Hormone and Lutenizing Hormone by Immunocytochemical Techniques in the Bovine Pituitary. *Cell and Tissue Research.* 1976; 174: 245-260.
6. DELLMANN HD .Endocrine System. In: DELLMANN HD, EURELL A, eds. *Textbook of Veterinary Histology.* Fifth Edition, Williams&Wilkins, USA, 289-93, 1998.
7. FARNER DS, KING JR, PARKES KC. *Avian Biology.* Volume III, Acedemic Pres, New York, 128-148, 1973.
8. GUEMENE D, WILLIAMS JB. LH Responses to Chicken Luteinizing Hormone-Releasing Hormone I and II in Laying, Incubating and Out of Lay Turkey Hens. *Domes. Anim. Endoc.* 1999; 17, 1-5.
9. HARVILLE DA, CALLANAN TP. Estimation of Genetic Parameters. In: GIANOLA D, HAMMOND K, eds. *Advances in Statistically Methods for Genetic Improvement of Livestock:* Springer - Verlag, 135 – 171, 1990.
10. HATTORI A, ISHII S, WADA M. Different Mechanisms Controlling FSH and LH Release in Japanese Quail (*Caturnix Coturnix Japonica*): Evidence For an Inherently Spontaneous Release and Production of FSH. *J. Endocrinol.* 1986; 2: 239-45.
11. HODGES RD. *The Histology of the Fowl,* Academic Press, London, 429-431, 1974.
12. IWAMA Y. Immunohistochemical Identification of Mouse Adenohypophysial Gonadotropes. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 1990; 67:281-87.
13. KANSAKU N, SHIMADA K, SAITO N. Regionalized Gene Expression of Prolactin and Growth Hormone in the Chicken Anterior Pituitary Gland. *Gen Comp Endocrinol,* 1995; 99 (1): 60-8.
14. KRISHMAN KA, PROUDMAN JA, BAHR JM. Purification and Characterization of Chicken Follicle-Stimulating Hormone. *Comp. Biochem. Physiol.* 1992; 1: 67-75.
15. LIU R, LEA RW, SHARP PJ, MAXWELL MH. Ultrastructure of Lipid-Containing Cells of the Anterior Pituitary Gland of the Domestic Chicken, *Gallus Domesticus.* *Anac. Rec.* 1993; 237: 506-511.
16. MIKAMI S. Morphological Studies on the Avian Adenohypophysis Related to Its Function. *Gunma Symp. Endocrinol.* 1969; 6:151-170.
17. MIKAMI S, KUROSU T, FARNER DS . Light and Electron Microscopic Studies on the Secretory Cytology of the Adenohypophysis of the Japanese Quail, *Coturnix Coturnix Japonica.* *Cell And Tissue Res.* 1975; 159 (2):147-65.
18. OTTINGER MA, BAKST MR. Endocrinology of the Avian Reproductive System. *J Avian Med Sur.*1995; 9(4): 242-250.
19. PROUDMAN JA, VANDESANDE F, BERGHMAN LR. Immunohistochemical Evidence That Follicle-Stimulating Hormone Reside. In the Chicken Pituitary. *Biology of Reproduction.*, 1999; 60:1324-1328.
20. RAMESH R, PROUDMAN JA, KUENZELWJ. Changes in Pituitary Somatotroph and Lactatroph Distribution in Laying and Incubating Turkey Hens. *Gen Comp Endocrinol.*, 1996; 104(1): 67-75.
21. RAHMANIAN MS, THOMPSON DL, MELROSE PA. Immunocytochemical Localization of Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone in the Pituitary. *J. Anim. Sci.* 1998; 76:839-846.
22. SASAKI F, IWAMA Y. Sex Difference in Prolactin and Growth Hormone Cells in Mouse Adenohypophysis. Stereological, Morphometric and Immunohistochemical Studies by Light and Electron Microscopy, *Endocrinology,* 1988; 123(2):905-912.
23. TAI S.: Correlative Transmission Electron Microscopy and High Resolution Scanning Electron Microscopy Studies on The Fine Structural Organization of the Chicken Pituitary Gland. 1: *Scanning Microsc.*, 1992 ; 6 (1): 263-71.
24. YASHIMURA Y. OKAMOTO T. TAMURA T.: Effects of Luteinizing Hormone and Progesterone Receptor Induction in Chicken Granulosa Cells in Vivo, *Poultry Science,* 1995; 74:147-51.
25. YILMAZ, B.: *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi,* Feryal Matbaacılık, Birinci Baskı, Ankara, 38-45, 1999.