

Kıvrıkcık Cüce Koşın (*Gallus gallus*) Testisindeki Bazı Glikokonjugatların Lektin Histokimyasal Olarak Belirlenmesi

Şeyda BÜYÜKYILDIRIM*¹, Kenan ÇINAR¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 32260, Isparta

(Alınış / Received: 18.12.2015, Kabul / Accepted: 22.02.2016, Online Yayınlanma / Published Online: 18.07.2016)

Anahtar Kelimeler

Horoz,
Gallus gallus,
Testis,
Glikokonjugat,
Lektin,
Histokimya

Özet: Bu çalışmada Kıvrıkcık Cüce Koşın (*Gallus gallus*) testisindeki bazı glikokonjugatların lektin histokimyasal yöntemle belirlenmesi amaçlandı. Glikokonjugat içeriğinin belirlenmesi amacıyla alınan doku kesitleri horseradish peroxidase (HRP) bağlı *Canavalia ensiformis* aglutinin (Con A), *Glycine max* aglutinin (SBA), *Ulex europaeus* aglutinin (UEA-I), *Arachis hypogaea* aglutinin (PNA) ve *Triticum vulgare* aglutinin (WGA) lektinleri ile inkübe edildi. Uygulanan lektin histokimyasal yöntemler sonucunda spermatogonyum ve Leydig hücrelerinde çok güçlü Con A reaksiyonu gözlenirken, lamina propria peritübüler hücrelerinde reaksiyona rastlanmadı. Primer spermatositlerde orta yoğunlukta PNA, çok güçlü WGA reaksiyonu gözlemlendi. Buna karşılık bazal laminada SBA'ya karşı reaksiyon gözlenmezken, UEA-I'e karşı çok güçlü reaksiyon saptandı. Sertoli hücrelerinde Con A, SBA ve UEA I lektinlerinde orta yoğunlukta, PNA ve WGA' da ise zayıf reaksiyon tespit edildi. Sonuç olarak sekonder spermatosit ve erken dönem spermatid aşamasındaki hücrelerdeki glikokonjugatların α -D-Mannoz (α -D-Man), α -D-Glikoz (α -D-Glc) ve α -L-Fukoz (α -L-Fuc) içeriğinin diğer spermatojenik hücrelere göre az olduğu, tüm spermatojenik hücrelerdeki glikokonjugatın yoğun miktarda siyalik asit içerdiği saptandı. Leydig hücrelerindeki glikokonjugatın ise dağılımı araştırılan tüm şeker rezidülerine sahip olduğu belirlendi.

Lectin Histochemical Determination of Some Glycoconjugates in the Testes of Curly Dwarf Cochinchina (*Gallus gallus*)

Keywords

Cock,
Gallus gallus,
Testis,
Glycoconjugates,
Lectin,
Histochemistry

Abstract: This study was aimed to determine some glycoconjugates in testis of Curly Dwarf Cochinchina (*Gallus gallus*) through lectin histochemical method. The sections were incubated with the Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated *Canavalia ensiformis* agglutinin (Con A), *Glycine max* agglutinin (SBA), *Ulex europaeus* agglutinin (UEA-I), *Arachis hypogaea* agglutinin (PNA) and *Triticum vulgare* agglutinin (WGA) lectins in order to determine the glycoconjugate content. Lectin histochemical results indicate that spermatogonium and Leydig cells reacted very strongly with Con A lectin, but the peritubular cells of the lamina propria did not react with this lectin. A moderate reaction to PNA and very strong reaction to WGA were observed in primary spermatocytes. It was noticed that it reacted very strongly with UEA-I lectin while SBA lectin did not bind to the basal lamina. A moderate reaction to Con A, SBA and UEA-I, and weak reaction to PNA and WGA were detected in Sertoli cells. In conclusion, it has been determined that glycoconjugates in secondary spermatocytes and early spermatids contain less α -D-Mannose (α -D-Man), α -D-Glucose (α -D-Glc) and α -L-Fucose (α -L-Fuc) than the other stages, and that glycoconjugates in all spermatogenic cells contain a large amount of sialic acid. However glycoconjugate in Leydig cells had all researched sugar residues.

1. Giriş

Hücreler, aralarında lektinlerin de bulunduğu, zarlarındaki birçok aracı molekül (karbonhidratlar, laminin ve integrin) üzerinden iletişimlerini sağlarlar. Hücrelerin birbirlerine karşı belli bir yatkınlık gösterdikleri uzun yıllardan beri bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda [1, 2, 3], hücreler arası iletişimin hücre yüzeylerinde lokalize olan moleküllerle yapıldığını ortaya çıkarmıştır. Glikokonjugatları çöktüren ve hücreleri aglutine eden moleküller lektinlerdir ve hücreleri birbirine çapraz bağlayan glikoprotein veya protein yapısındaki moleküllerdir. Lektinler, genellikle şekerlere spesifik olarak bağlanabilen protein ya da glikoprotein yapısındaki biyomoleküllerdir; hastalıkların teşhisinde, patolojik ve normal dokular arasındaki değişikliğin tespitinde kullanılmaktadır. İmmünoloji, hücre biyolojisi ve biyokimya gibi bilim alanlarında preparatif ve analitik amaçlar için yaygın olarak kullanılır [4]. Bu çalışmada kullanılan baklagil orijinli PNA, Con A, UEA I ve SBA lektinleri ile buğdaygiller familyasına ait WGA lektininin, özel bir ırk özelliği taşıyan Kıvrıkcık Cüce Koşin (*Gallus gallus*) testislerinde immunohistokimyasal olarak belirlenmesi amaçlandı.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada araştırma materyali olarak Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Çiftçi Eğitim ve Tarımsal Uygulama kümesinden temin edilen sağlıklı, erişkin 6 adet horoza ait testisler materyal olarak kullanıldı. Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (HADYEK) onayı (karar tarihi: 07.01.2014/ karar no: 02) kapsamında gerçekleştirildi. Alınan testis dokuları, Bouin solüsyonunda 16 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra alkol serisinden (%50, %70, %80, %90, %100(I), %100(II), %100(III)) geçirilerek dehidre edilen örnekler, ksilolde şeffaflaştırılarak parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 6-7 µm kalınlığında alınan kesitlere lektin histokimya yöntemi uygulandı. Bu yöntemde göre endojen peroksidazın tutulması için 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile muamele edilen kesitler, distile su ile çalkalanıp 0,1 M ve pH 7,2'lik PBS (phosphate buffer saline) (Sigma P4417) içeren %1'lik Bouine Serum Albumin (BSA) (Sigma A3311) ile yıkandı. Kesitler, farklı karbonhidrat özgünlüğüne sahip olan ve tür adlarının yanı sıra dilüsyon oranları da Tablo 1'de belirtilen, PBS de çözülmüş Horseradish Peroksidaz bağlayan (HRP) lektinlerle 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek PBS ile yıkandı. HRP lektinlerle bağlantı içeren bölgelerin tespit edilmesi için kesitler DAB (3,3'-diamino benzidine tetra hydrochloride)'da (Sigma D0426) 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Distile su ile yıkandıktan sonra alkol ve ksilollerden geçirilen kesitler entellan ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus marka CX-41 model ışık mikroskopu ile incelenerek ilgili kısımlardan fotoğraf çekimi yapıldı.

Ayrıca kesitler HRP lektin içermeyen PBS ile 30 dakika, ardından DAB ile 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek negatif kontrol uygulandı.

Tablo 1. Kullanılan lektinlerin izole edildiği türler, bağlanma yerleri ve dilüsyon oranları

Lektin Adı	Tür Adı	Karbonhidrat özgünlüğü	Dilüsyon oranları (µg/ml)
Con A (Sigma L6397)	<i>Canavalia ensiformis</i>	α-D-Man, α-D-Glc	20
SBA (Sigma L2650)	<i>Glycine max</i>	N-asetil-D-Galaktozamin	15
UEA-I (Sigma L8146)	<i>Ulex europaeus</i>	α-L-Fukoz	25
PNA (Sigma L7759)	<i>Arachis hypogaea</i>	Galactoseβ1, 3-N-asetilgalaktozamin	40
WGA (Sigma L3892)	<i>Triticum vulgare</i>	GlcNAcβ1-4GlcNAcβ1-4GlcNAc, Neu5Ac (siyalik asit)	10

3. Bulgular

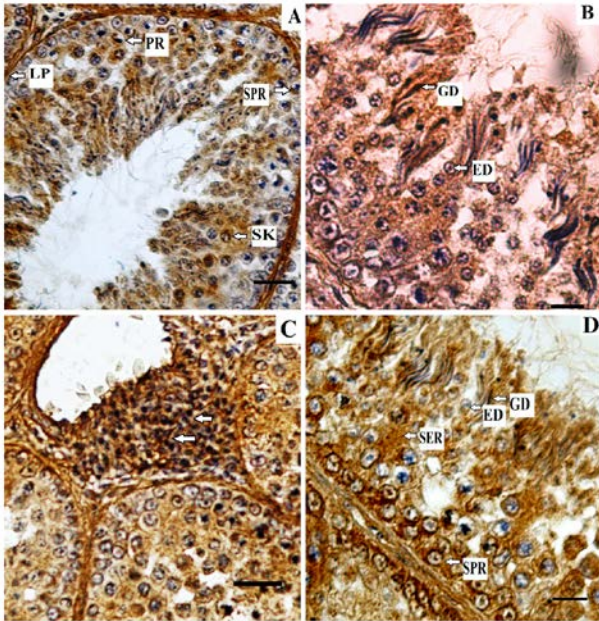
Lamina propriya ve spermatojenik hücrelerdeki glikokonjugatların uygulanan lektinlere verdiği reaksiyon yoğunlukları Tablo 2' de belirtildi. reaksiyon yoğunlukları Spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, lamina propriya, Leydig hücreleri ve geç dönem spermatidlerde güçlü reaksiyon gözlenirken, erken dönem spermatidlerde orta yoğunlukta UEA-I reaksiyonu saptandı. Con A lektiniyle erken dönem spermatidlerde zayıf, geç dönem spermatidler ve Sertoli hücresi sitoplazmasında güçlü, spermatogonyumlarda ise çok güçlü reaksiyon tespit edildi (Şekil 1). Primer spermatositlerde orta yoğunlukta reaksiyon gözlenirken, sekonder spermatositlerde orta yoğunlukta ve güçlü reaksiyon belirlendi. Sekonder spermatosit ve erken dönem spermatidlerde zayıf PNA reaksiyonu saptandı. Spermatogonyum ve geç dönem spermatidlerde orta yoğunlukta reaksiyon gözlenirken, Leydig hücrelerinde ise çok güçlü reaksiyon tespit edildi. SBA lektininde primer spermatositlerde zayıf reaksiyon saptandı. Erken dönem spermatidlerde orta yoğunlukta, geç dönem spermatidlerde güçlü reaksiyon belirlendi. Ayrıca spermatogonyumlarda SBA reaksiyonunun çok güçlü olduğu tespit edildi (Şekil 2). Sekonder spermatosit ve Sertoli hücresi sitoplazmasında orta yoğunlukta SBA reaksiyonu saptandı. WGA' ya karşı spermatogonyum, lamina propriya ve geç dönem spermatidlerde çok güçlü reaksiyon belirlendi. Primer spermatosit çevresi ile sekonder spermatositlerin WGA lektiniyle güçlü reaksiyon verdiği belirlendi (Şekil 3). Ayrıca lamina

proprayadaki peritubuler hücrelerde, uygulanan lektinlere karşı reaksiyona rastlanmadı.

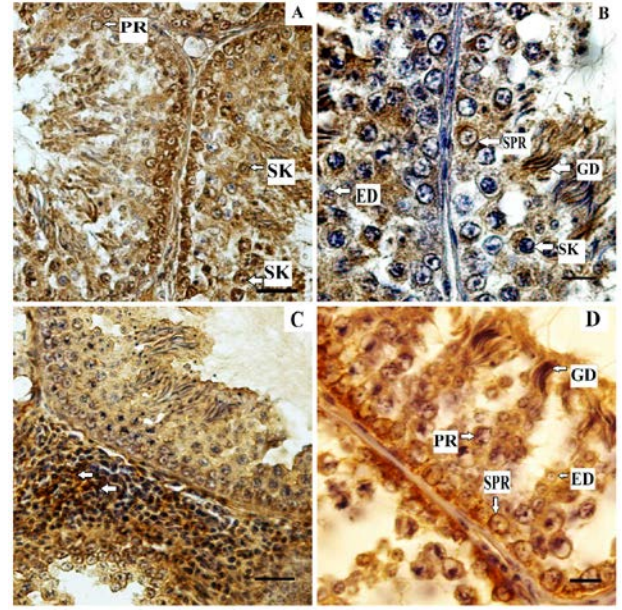
Tablo 2. Uygulanan lektinlerin bağlandıkları glikokonjugatların çalışılan hücreler ve lamina propriyadaki reaksiyon yoğunlukları

Lektinler	Hücreler Ve Lamina propriya				
	PNA	Con A	WGA	SBA	UEA-I
Spermatogonium	+++	+++ ++	++ ++	+++ ++	++ ++
Primer spermatosit	+++	+++	++ ++	++ ++	++ ++
Sekonder spermatosit	++	+++ / ++ ++	++ ++	+++ ++	++ ++
Erken dönem spermatid	++	++	+++ ++	+++ ++	++ ++
Geç dönem spermatid	+++	+++ +	+++ ++	+++ +	++ / +++
Leydig hücresi	+++ ++	+++ ++	+++ ++	+++ ++	++ ++
Sertoli hücresi	++	+++ +	++	+++	+++
Lamina Propriya	Bazal lamina	+++ ++	+++ ++	-	++ ++
	Peritubuler hücreler	-	-	-	-

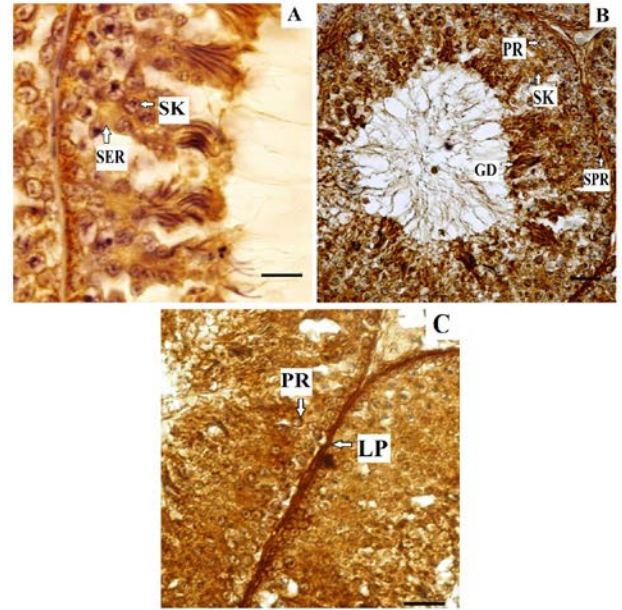
- reaksiyon yok; + çok zayıf; ++ zayıf; +++ orta; ++++ güçlü; +++++ çok güçlü reaksiyon.



Şekil 1. A. Spermatogonyum (SPR), primer spermatosit (PR), sekonder spermatosit (SK) ve lamina propriya (LP) da güçlü UEA I reaksiyonu. Bar: 100µm. B. Erken dönem spermatidlerde (ED) orta yoğunlukta, geç dönem spermatid (GD) de ise güçlü reaksiyon. Bar: 50µm. C. Leydig hücrelerinde (oklar) güçlü UEA I reaksiyonu. Bar: 100µm. D. Spermatogonyum (SPR) da çok güçlü, geç dönem spermatid (GD) ve Sertoli hücresi sitoplazmasında (SER) güçlü, erken dönem spermatid (ED) de ise zayıf Con A reaksiyonu. Bar: 50µm.



Şekil 2. A. Primer spermatosit (PR) de orta yoğunlukta, sekonder spermatositlerde (SK) ise orta yoğunlukta (ince ok) ve güçlü Con A reaksiyonu (kalın ok). Bar: 100µm. B. Spermatogonyum (SPR) ve geç dönem spermatid (GD) de orta yoğunlukta, sekonder spermatosit (SK) ve erken dönem spermatid (ED) de ise zayıf PNA reaksiyonu. Bar: 50µm. C. Leydig hücrelerinde (oklar) çok güçlü PNA reaksiyonu. Bar: 100µm. D. Spermatogonyum (SPR) çok güçlü, geç dönem spermatid (GD) de güçlü, erken dönem spermatid (ED) de orta yoğunlukta ve primer spermatosit (PR) de ise zayıf SBA reaksiyonu. Bar: 50 µm.



Şekil 3. A. Sekonder spermatosit (SK) ve Sertoli hücresi sitoplazmasında (SER) orta yoğunlukta SBA reaksiyonu. Bar: 50µm. B. Spermatogonyum (SPR) ve geç dönem spermatid (GD) de çok güçlü, primer spermatosit çevresi (PR) ve sekonder spermatositte (SK) ise güçlü WGA reaksiyonu. Bar: 100µm. C. Lamina propriya (LP) da çok güçlü ve primer spermatositte (PR) güçlü WGA reaksiyonu. Bar: 100µm.

4. Tartışma ve Sonuç

Memeli testislerinin glikokonjugat içeriğini belirlemeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmış olmasına karşın kuşlarda bu konuda yapılmış araştırma sayısı sınırlıdır [5, 6, 7]. Uygulanan lektin histokimyasal yöntem sonucunda elde edilen bulgular glikokonjugatların dağılımlarının ve yoğunluklarının spermatogonyum, spermatositler, spermatidler, Sertoli hücreleri ve Leydig hücrelerinde farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada spermatogonyumlarda tespit edilen orta yoğunlukta ve güçlü PNA reaksiyonunun insan [8] ve deve [9] ve hindi [6] spermatogonyumlarında zayıf biçimde gözlemlendiği bildirilmiştir. Hamster [10], geyik domuzu (*Babyroussa babyroussa*) [11], yaban domuzu [12] ve Java cüce geyiği [13] spermatogonyumlarında ise bu reaksiyona rastlanmadığı belirtilmiştir. Spermatositlerdeki PNA reaksiyonunun Java cüce geyiğinde [13] güçlü, insanda [8] zayıf görüldüğü belirtilirken, deve [9], geyik domuzu [11] ve yaban domuzu [12] spermatositlerinde PNA reaksiyonu gözlenmediği belirtilmiştir. Bu çalışmada ise primer spermatositlerde orta yoğunlukta sekonder spermatositlerde ise güçlü PNA reaksiyonu gözlemlendi. Bu çalışmada PNA uygulaması sonucunda erken dönem spermatidlerde güçlü reaksiyon gözlenirken, geç dönem spermatidlerde hindide [6] elde edilen bulgu ile benzer tarzda zayıf reaksiyon gözlemlendi. Benzer bulguların sivri fare (*Suncus murinus*) ve güvercinde de [5] elde edildiği bildirilmiştir. Yaban domuzu [12] ve erişkin ata [14] erken ve geç dönem spermatid akrozomunda reaksiyon yoğunlukları belirtilmeksizin PNA reaksiyonuna rastlandığı belirtilmiştir. PNA uygulaması sonucunda deve [9] orta yoğunlukta, insanda [8] güçlü, erişkin ata [14] çok güçlü reaksiyon tespit edildiği bildirilmiştir. Ayrıca java cüce geyiği [13], sivri fare [15] ve yaban domuzu [12] geç dönem spermatidlerin son aşamasında (olgunlaşma evresi) reaksiyon yoğunluklarının aniden azaldığı belirtilmiştir. PNA uygulaması sonucunda geyik domuzu [11] yaban domuzu [12], Java cüce geyiği [13], deve [9] ve hamster (*Mesocricetus auratus*) [10] Leydig hücrelerinde reaksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada Leydig hücrelerinde PNA reaksiyonuna güçlü biçimde rastlanırken, insan [8]'da zayıf, erişkin ata [14] orta yoğunlukta reaksiyon saptandığı bildirilmiştir. Sertoli hücrelerine yönelik olarak Sivri farede [15] PNA'ya karşı güçlü, erişkin ata [14] orta yoğunlukta reaksiyona rastlandığı, geyik domuzu [11], yaban domuzu [12], Java cüce geyiği [13], deve [9] ve hamsterda [10] ise reaksiyon gözlenmediği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise Sertoli hücrelerinde orta yoğunlukta PNA reaksiyonu tespit edildi. Benzer bulgunun Denizli horozunda da [8] elde edildiği bildirilmiştir. Yaban domuzu [12]'nda PNA uygulamasına karşı lamina propriada zayıf reaksiyon saptandığı belirtilmektedir. Bu çalışmada ise hamsterda [10] elde edilen bulguya benzer olarak PNA'ya karşı reaksiyon gösteren peritübüler

hücrelere rastlanmadı. Con A uygulamasında deve [9] spermatogonyumlarında herhangi bir reaksiyonun gözlenmediği bildirilmiştir. Java cüce geyiği [13] ile güvercinde [5] orta yoğunlukta, yaban domuzu [12], hamster [10] ve geyik domuzu [11]'da ise Con A reaksiyonunun güçlü biçimde saptandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise spermatogonyumlarda Con A reaksiyonunun çok güçlü olduğu tespit edildi. Yaban domuzu [12] ve geyik domuzu [11] spermatositlerinde Con A lektinine karşı güçlü reaksiyon görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada spermatositlerde saptanan zayıf ve orta yoğunlukta Con A reaksiyonunun benzer şekilde Java cüce geyiğinde [13] orta yoğunlukta, insanda [8] zayıf yoğunlukta gözlemlendiği bildirilmiştir. Deve [9] ise Con A reaksiyonuna rastlanmadığı belirtilmiştir. Sivri fare [15] erken ve geç dönem spermatidlerinde reaksiyon yoğunluğu belirtilmeden Con A lektinine karşı pozitif reaksiyon gözlemlendiği bildirirken, bu çalışmada da erken ve geç dönem spermatidlerde orta yoğunlukta ve güçlü reaksiyon gözlemlendi. İnsan [8] spermatidlerinde dönem belirtilmeksizin orta yoğunlukta, deve [9] ve Java cüce geyiği [13] erken dönem spermatidlerinde ise reaksiyon görülmediği belirtilmiştir. Deve Leydig hücrelerinde [9] Con A'ya karşı reaksiyon gözlenmediği, bu hücrelerin geyik domuzu [11], yaban domuzu [12], Java cüce geyiği [13] ve hamsterda [10] güçlü, insan [8] ve prepubertal dönemdeki atda [14] orta yoğunlukta reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise Leydig hücrelerinde çok güçlü Con A reaksiyonuna rastlandı. Yaban domuzu [12], geyik domuzu [11], Java cüce geyiği [13] ve hamster [10] Sertoli hücrelerinde güçlü Con A reaksiyonu gözlemlendiği bildirilmiştir. Sivri fare [15] Sertoli hücrelerinde Con A'ya karşı pozitif reaksiyon gözlemlendiği bildirilirken, deve [9] Sertoli hücrelerinde reaksiyona rastlanmadığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise güvercinde [7] elde edilen bulguya benzer şekilde Sertoli hücrelerinde orta yoğunlukta Con A reaksiyonuna rastlandı. Bu çalışmada lamina propriadaki peritübüler hücrelerin Con A lektinine karşı reaksiyon göstermediği saptandı. Bu bulgu, hamsterda [10] elde ettikleri bulguları desteklemektedir. Yaban domuzunda [12] ise zayıf reaksiyona rastlandığı bildirilmiştir. WGA uygulamasında insan [8], hindi [6], güvercin [5] spermatogonyumlarında zayıf; geyik domuzu [11], Java cüce geyiği [13] ve yaban domuzunda [12] güçlü reaksiyonların tespit edildiği bildirilmiştir. Deve [9] ise aynı hücrelerde WGA reaksiyonuna rastlanmadığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise orta yoğunlukta ve güçlü WGA reaksiyonuna rastlandı. Yaban domuzu [12] ve geyik domuzu [11]'da güçlü, insan [8] ve java cüce geyiğinde [13] dönemleri belirtilmeksizin spermatositlerde orta yoğunlukta WGA reaksiyonu tespit edildiği bildirilmiştir. Deve [9] spermatositlerinde ise bu reaksiyonun gözlenmediği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise primer spermatositlerde çok güçlü ve sekonder spermatositlerde ise güçlü WGA pozitivitesine

rastlandı. Bu çalışmada WGA uygulaması sonucunda hem erken, hem de geç dönem spermatidlerde güçlü ve çok güçlü reaksiyon gözlenmesine karşın, deve [9] bu hücrelerde reaksiyona rastlanmadığı belirtilmiştir. Yaban domuzu [12] erken dönem spermatidlerinde zayıf WGA reaksiyonu görülürken, java meyve yarasasında [16] çok güçlü, hamster [10] erken ve geç dönem spermatidlerinde güçlü ve dönem belirtmeksizin insan [8] spermatidlerinde de güçlü WGA reaksiyonu gözlemediği bildirilmiştir. Güvercinde de [5] spermatidlerde zayıf WGA reaksiyonuna rastlandığı belirtilmiştir. Hamster [10], deve [9] ve geyik domuzunun [11] Leydig hücrelerinde orta yoğunlukta, insan [8] Leydig hücrelerinde zayıf WGA reaksiyonu gözlemediği bildirilirken bu çalışmada çok güçlü WGA reaksiyonu tespit edildi. Erişkin at [14] Leydig hücrelerinde reaksiyona rastlamadıklarını bildirilmiştir. WGA uygulamasında deve [9] Sertoli hücrelerinde reaksiyona rastlanmadığı, yaban domuzu [12] ve hamster [10]'da orta yoğunlukta, Java meyve yarasası [16] ve geyik domuzunda [11] güçlü pozitive belirlendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada da at [14] ve java cüce geyiğinde [13] elde edilen bulgulara benzer şekilde Sertoli hücrelerinde zayıf reaksiyon tespit edildi. Bu çalışmada WGA'ya karşı reaksiyon gösteren peritübüler hücrelere rastlanmazken, hamsterda [10] orta yoğunlukta reaksiyon olduğu ya da hiç reaksiyonun gözlenmediği, yaban domuzunda da [12] peritübüler hücrelerde zayıf ya da negatif sonuç elde edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada spermatogonyumlarda çok güçlü SBA pozitivitesine rastlanırken, [12] yaban domuzu spermatogonyumlarında orta yoğunlukta reaksiyon gözlemediği; insan [8], geyik domuzu [11] ve java cüce geyiğinde [13] ise reaksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir. SBA uygulaması sonucunda insan [8] ve geyik domuzu [11] spermatozoidlerinde herhangi bir reaksiyonun gözlenmediği, boğa [12] ve sivri fare [13] spermatozoidlerinde orta yoğunlukta SBA reaksiyonu saptandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise primer ve sekonder spermatozoidlerde SBA'ya karşı orta yoğunlukta ve güçlü reaksiyon tespit edildi. Java meyve yarasasının [16] spermatidlerinde SBA uygulaması sonucunda reaksiyon görülmediği, sivri fare [15]'de reaksiyon şiddeti belirtmeksizin reaksiyona rastlandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise insanda [8] olduğu gibi güçlü ve çok güçlü SBA reaksiyonu tespit edildi. Leydig hücrelerinde insan [8], erişkin at [14], yaban domuzu [12], geyik domuzu [11] ve java cüce geyiğinde [13] SBA'ya karşı reaksiyon gözlenmezken, prepubertal dönemdeki atlarda [14] zayıf, hamsterda [10] güçlü SBA reaksiyonu görüldüğü belirtilmiştir. Bu çalışmada ise Leydig hücrelerinde çok güçlü SBA reaksiyonuna rastlandı. Bu çalışmada da SBA uygulaması sonucunda yaban domuzu [12] ve erişkin atta [14] elde edilen bulgularla benzer şekilde Sertoli hücrelerinde orta yoğunlukta reaksiyon gözlemedi. Sivri fare [15], hamster [10], geyik domuzu [11] ve java cüce geyiğinde [13] ise Sertoli hücrelerinde

reaksiyon gözlenmediği bildirilmiştir. Yaban domuzunda [12] tabaka ayrımı yapılmaksızın lamina propria'da orta yoğunlukta SBA reaksiyonuna rastlandığı, hamsterda [10] ise orta yoğunlukta reaksiyonun tespit edildiği ya da bu reaksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise bu yapının iki tabakasından da SBA reaksiyonu gözlenmedi. İnsan [8] spermatogonyumlarında UEA I'e karşı zayıf reaksiyon gözlemediği bildirilirken, yaban domuzu [12] deve [9], geyik domuzu [11] ve java cüce geyiğinde [13] reaksiyon görülmediği belirtilmiştir. Bu çalışmada ise spermatogonyumlarda orta ve güçlü UEA I pozitivitesine rastlandı. Spermatozoidlerde, yaban domuzu [12], deve [9], geyik domuzu [11] ve java cüce geyiğinde [13] UEA I'e karşı reaksiyon gözlenmediği, insanda [8] ise zayıf reaksiyon görüldüğü belirtilmiştir. Bu çalışmada ise orta ve çok güçlü UEA I reaksiyonuna rastlandı. UEA-I uygulamasında java meyve yarasası [16] ve deve [9] spermatidlerinde reaksiyon gözlenmediği, insan (Arenas vd., 1998)'da ise güçlü reaksiyon gözlemediği bildirilirken bu çalışmada spermatidlerde UEA-I'e karşı orta yoğunlukta ve zayıf reaksiyon tespit edildi. İnsan [8] Leydig hücrelerinde UEA-I'e karşı zayıf reaksiyon görüldüğünün bildirilmesine karşın, yaban domuzu [12], hamster [10], deve [9] ve geyik domuzu [11]'nda reaksiyona rastlanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise bu hücrelerde çok güçlü UEA-I pozitivitesi saptandı. Sivri fare [15] yaban domuzu [12], hamster [10], deve [9], geyik domuzu [11] ve java cüce geyiği [13] Sertoli hücrelerinde SBA reaksiyonunun görülmediğinin bildirilmesine karşın; bu çalışmada Sertoli hücrelerinde orta yoğunlukta UEA-I reaksiyonu tespit edildi. Bu çalışmada lamina propria'da çok zayıf UEA-I reaksiyonu tespit edilirken, yaban domuzu [12] ve hamsterda [10] çok güçlü UEA-I reaksiyonun gözlemediği bildirilmiştir.

Sonuç olarak spermatojenik hücrelerin tüm glikokonjugatları içerdikleri belirlendi. Sekonder spermatozoid ve erken dönem spermatidlerdeki α -D-Man, α -D-Glc (Con A) ve Fuca1-2Gal-R (UEA-I) içeriğinin diğer spermatojenik hücrelere göre az olduğu, tüm hücrelerin yoğun miktarda GlcNAc β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc, Neu5Ac (sialik asit) (WGA) içerdiği saptandı. Leydig hücrelerinin çok yoğun miktarda tüm glikokonjugatlara sahip olduğu belirlendi. Böylece, kanatlı türlerinde testislerde meydana gelen spermatogenezin hangi aşamasında ne tür özellikte şeker birimlerinin etkili olduğu ortaya çıkarıldı ve kanatlı üreme biyoloji çalışmalarında spermatogenezin düzenlenmesinde şekerlerin ne şekilde etkili olacağı tarzındaki çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No 3957-yl1-14) tarafından desteklenmiştir. Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynakça

- [1] Basu, D., Nair, J.V. and Appukuttan, P.S. 1987. Oligosaccharide structure determination of glycoconjugates using lectins. *J Biosci*, Vol.11, Numbers 1-4, pp. 41-46.
- [2] Seyrek, K. ve Bildik, A. 2001. Lektinler. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 12 (1-2), 96-100.
- [3] Wakitani, S., Hondo, E., Shimokawa, T., Kusakabe, K., Okada, T., Nakamuta, N., Stewart, C.L. and Kiso, Y. 2008. Effects of leukemia inhibitory factor on lectin-binding patterns in the uterine stromal vessels of mice. *Immunobiol*, 213, 143-150.
- [4] Scillitani, G., S. Zizza, G.E. Liquori and D. Ferri, 2007. Lectin histochemistry of gastrointestinal glycoconjugates in the greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum*. *Acta Histochem.*, 109: 347-357. DOI: S0065-1281(07)00043-8 [pii]
- [5] Ballesta, J., Martinez-Menarguez J. A., Pastor L.M., Aviles, M., Castells, M.T., 1991. Lectin binding pattern in the testes of several tetrapode vertebrates. *European Journal of Basic Applied Histochemistry*, 35(2), 107-117.
- [6] Bakst, M. R., Akuffo, V., Trefil, P., Brillard, J. P. 2007. Orphological and histochemical characterization of the seminiferous epithelial and leydig cells of the turkey. *Animal Reproduction Science* 97, 303-313.
- [7] Keskin, N., Ili, P., 2011. Glycohistochemical Study on the Denizli Cock testis. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(10), 1327-1331.
- [8] Arenas M.I., Madrid J.F., Bethencourt FR, Fraile B and Paniagua R (1998) Lectin histochemistry of the human testis *International Journal of Andrology* 21 332-342.
- [9] Elmaksoud, Ahmed Abd., Ahmed Sayed-Ahmed, Mohamed Kassab, Khaled Aly. 2007. Histochemical mapping of glycoconjugates in the testis of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) during rutting and non-rutting seasons. *Acta histochemica* 110 (2008) 124-133.
- [10] Pastor, L.M., Eva Morales, Luis A. Polo, Alfonso Calvo, Jacinto Pallarés, and Sheila De La Viesca. 2003. Histochemical study of glycoconjugates in active and photoperiodically-regressed testis of hamster (*Mesocricetus auratus*). *Acta Histochem.* 105(2) 165-173.
- [11] Agungpriyono, S., Kurohmaru, M., W.E. Prasetyaningtyas, L. Kaspe and K.Y.G. Leus et al., 2007. A lectin histochemical study on the testis of the Babirusa, *Babyroussa babyroussa* (*Suidae*). *Anatomia Histologia Embryologia*, 36: 343-348.
- [12] Calvo, A., L. M. Pastor, S. Bonet, E. Pinart and M. Ventura. 2000. Characterization of the glycoconjugates of boar testis and epididymis. *Journal of Reproduction and Fertility* (2000) 120, 325-335.
- [13] Agungpriyono, S., Kurohmaru, M., Kimura, J., Wahid, A. H., Sasaki, M., Kitamura, N., Yamada, J., Fukuta, K. And Zuki, A. B. 2009. Distribution of lectin-bindings in the testis of the lesser Mouse deer, *Tragulus javanicus*. *Anatomia Histologia Embryologia* 38, 208-213.
- [14] Verini-Supplizi, A., G. Stradaioli, O. Fagioli, and F. Parillo, 2000: Localization of the lectin reactive sites in adult and prepubertal horse testes. *Res.Vet. Sci.* 69, 113-118.
- [15] Kurohmaru M., Kobayashi H., Kanai I., Hattori S., Nishida T and Hayashi Y 1995. Distribution of lectin binding in the testes of the musk shrew, *Suncus murinus*. *Journal of Anatomy* 187, 323-329.
- [16] Morigaki T, Kurohmaru M, Kanai Y, Mukohyama M, Hondo E, Yamada J, Agungpriyono S, Hayashi Y. Lectin-binding patterns in the testes of Java fruit bat (*Pteropus vampyrus*) and the Japanese lesser horseshoe bat (*Rhinolophus cornutus*). *J Reprod Dev* 2000; 46, 309-314.