

KEÇİ, SIĞIR VE KOYUN'UN KARACİĞER'İNDE GLİKÖJEN MİKTARLARI ÜZERİNDE MORFOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Narin Liman¹

Attila Tanyolaç²

Morphological Study on Amounts of the Glycogen in the Liver of Goats, Cattles and Sheep.

Summary: *In this study which aims to determine histologically the amount of glycogen in the liver of goats, cattles and sheep in various age groups (fetal, young and adult), it has been observed that in the fetal stages glycogen increased with growing gestation. It has been determined that the glycogen was increased in the liver of the adult cattles and goats directly proportional to age, and also in the liver of the adult sheep was decreased indirectly proportional to age. It has been established that glycogen was diffused in liver acini in the fetal stages and it was located in the 1st region (periferal region) of the liver acini in the kids and adult goats, 3rd region (centrolobular region) of the liver acini in the lambs, sheep and adult cattles.*

Özet: *Fötal ve erişkin dönemlerinde olmak üzere çeşitli yaş gruplarındaki keçi, sığır ve koyunların karaciğerinde, glikojenin kalitatif olarak belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, fötal dönemde gebeliğin ilerlemesiyle glikojenin arttığı gözlemlendi. Erişkin keçi ve sığırdaki yaşa bağlı olarak glikojenin arttığı, koyunda ise yaşla ters orantılı biçimde azaldığı belirlendi. Fötal evrede glikojenin karaciğer acinus'larında yaygın olduğu, oğlak ve erişkin keçilerde 1. bölgede (periferal bölge), erişkin sığır, kuzu ve koyunlarda ise 3. bölgede (sentrolobuler bölge) yerleşmiş olduğu saptandı.*

Giriş

Ruminantların vücut için kullandıkları enerji kaynağı, fötal dönemde (fruktojenik fötüs), hemen doğum sonrasında (monogastrik neonatal evre) ve gelişmiş mide döneminde (fonksiyonel ruminant) olmak üzere dönemlere göre farklılık gösterir (6).

Plazma glikoz düzeyinin düşük (%20-30 mg), fruktoz düzeyinin ise iki kat yüksek olması (14) ile karakterize olan fötal evrede glikoz, plasentadan geçer-

1. Yrd. Doç. Dr., Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, KARS.
2. Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

ken fruktoza çevrilir (fruktojenik fötüs) (7, 12). Bundan sonra görülen ve yaklaşık 6 hafta süren neonatal monogastrik evrede doğumu izleyen ilk 24 saat içerisinde kan fruktozu sıfıra düşer (10) glikoz düzeyi ise %90 mg'dır (16). Fonksiyonel ruminant evresi midenin geliştiği ve ruminasyonun başladığı evre olup, besinlerle alınan karbonhidratlar ruminal mikroorganizmalar tarafından uçucu yağ asitlerine dönüştürüldükten sonra emilir. Bu nedenle vücut için gerekli olan enerji kaynağı glukoneogenezisle karşılanmaya çalışılır (1, 5).

Bilindiği gibi karaciğer pek çok fonksiyonu yanında, glukoneogenezinin gerçekleştiği başlıca organdır; aynı zamanda glukoneogenezis sonucu şekillenmiş glikozun fazlasını glikojen halinde depolar ve gerektiğinde tekrar glikoza dönüştürerek kana verir (1, 3, 8, 9, 15).

Bugüne kadar karaciğer üzerinde birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte ruminant türlerinin karaciğerinde glikojeni değişik yaş gruplarına göre belirleyen bir araştırmaya rastlanamadı. Bu nedenle, böyle bir çalışmanın yapılması uygun görüldü.

Materyal ve Metot

Çalışmada fötal, yavru ve erişkin olmak üzere çeşitli yaş gruplarındaki keçi, sığır, koyunların, ayırım yapılmaksızın değişik karaciğer loplardan parçalar alındı.

Fötal dönemin incelenmesi amacıyla, 12-16 haftalık keçi-, 15-34 haftalık sığır-, 9-20 haftalık koyun fötüsleri olmak üzere 15 fötüs kullanıldı. Yavru döneminin incelenmesi için gerekli karaciğer örnekleri 5 günlük- ve 2,5 aylık oğlak ile 3 günlük- ve 8 aylık kuzu olmak üzere toplam 10 hayvandan sağlandı. Sığırın yavru dönemine ait materyal bulunamadı. Erişkin dönemi incelemek için ise, 1,5-3 yaşlı keçi, 1-4 yaşlı sığır ve 1-3 yaşlı koyun olmak üzere 15 hayvanın karaciğeri kullanıldı.

Alınan karaciğer örnekleri formol-alkol'de tespit edildikten sonra dereceli alkollerden, metil benzoattan ve benzollerden geçirilerek paraplastta bloklandılar. Bloklardan alınan 6 mikron kalınlığındaki karaciğer kesitleri, PAS (Periodic Acid Schiff) ve Best Carmin (2) ile boyandılar. Aynı zamanda glikojenin diastaz reaksiyonu ile kontrolleri de yapıldı (2). Boyanan örneklerde, karaciğerin fonksiyonel üniteleri olan asinuslarda, bölgelere göre glikojenin kalitatif dağılımı belirlendi.

Bulgular

Keçide:

Fötal dönem: 12-16 haftalık keçi fötüslerinin karaciğerleri incelendiğinde gebeliğin erken döneminde kan hücrelerinin hepatositlere oranla tabloya hakim

oldukları gözlemlendi. Gebelik yaşının ilerlemesiyle hem hepatositlerin hem de bu hücrelerdeki glikojen birikiminin giderek arttığı dikkati çekti; buna göre de hepatositlerin görünümünde: glikojeni çok az içeren veya hiç içermeyenler, orta derecede glikojen içerenler ve glikojen yoğun hücreler şeklinde bir tablo saptandı. Bunlardan, orta derecede glikojen içeren hepatositlerde glikojen hücrenin bir tarafında toplanmıştı. Glikojen yoğun hepatositlerde ise glikojen sitoplazmayı tamamen doldurmuştu (Şekil 1). Gebeliğin erken dönemlerinde orta derecede glikojen içeren hepatositler, gebeliğin ileri dönemlerinde ise glikojen yoğun hepatositler daha fazlaydı. 12 haftalıktan 16. haftaya kadar olan fütüslerde glikojenin karaciğer asinuslarında yaygın olduğu görüldü (Şekil 2).

Yavru dönemi: 5 günlükten 2,5 aya kadar olan oğlakların karaciğerinde başlangıçta glikojenin yok denecek kadar az olduğu, yaklaşık 2 aylıktan sonra glikojenin arttığı dikkati çekti. 2-2,5 aylık oğlaklarda özellikle orta derecede glikojen içeren hepatositler, az olarak da glikojen yoğun hepatositler bulunmaktaydı. Bu hücrelere daha sık olarak asinusların 1. bölgesinde, nadir olarak da 3. bölgede rastlandı.

Erişkin dönem: 1,5 yaştan 3 yaşa kadar olan keçilerde glikojenin, asinusların 1. bölgesinde yerleştiği ve özellikle 2. yaşta glikojen yoğun hücrelerin oldukça fazla olduğu dikkati çekti. Genellikle 1. bölgede bulunan bu hücrelerin Kiernan aralıklarını adeta sınırladıkları (Şekil 3), ayrıca 3. bölgede de buldukları gözlemlendi.

Sığırdı:

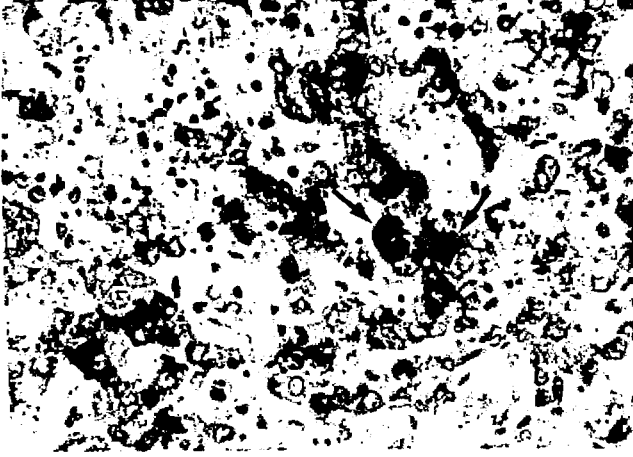
Fötal dönem: 15-34 haftalık sığır fütüslerinde gebeliğin erken dönemlerinde keçi fütüslerindeki bulgulara benzer olarak, bol miktarda değişik gelişim aşamalarındaki kan hücreleri görüldü. Hepatositlerin büyük bir bölümü orta derecede glikojen içermekteydi. Bu tip hepatositler, asinusların üç bölgesinde de yaygın olarak bulunmakta ve sayıları gebelik yaşının ilerlemesiyle artmaktaydı.

Yavru dönemi: Olanaklar elvermediği için bu döneme ait materyal sağlanamadı.

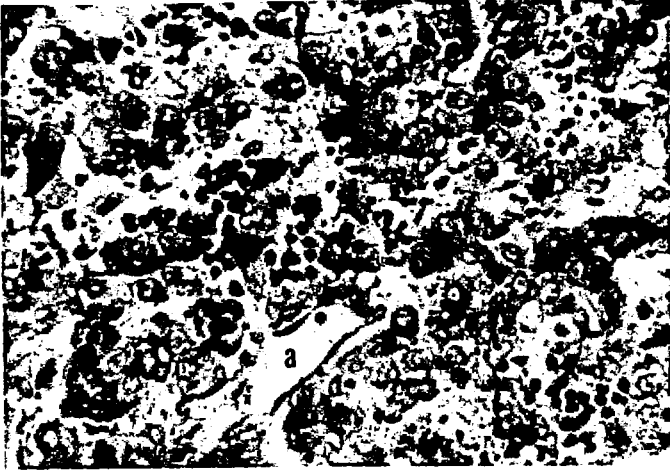
Erişkin dönem: 1-4 yaşlı sığır karaciğer örneklerinde glikojenin 1. yaşta daha az olduğu, sonraki yaşlarda ise arttığı görüldü. Kesitlerde glikojen yoğun hücrelerin asinuslarda genellikle 3. bölgede yerleştikleri (Şekil 4), bazen de yaygın oldukları dikkati çekti.

Koyunda:

Fötal dönem: 9-20 haftalık koyun fütüslerinin karaciğerleri incelendiğinde, gebeliğin ilerlemesiyle glikojen birikiminde bir artış gözlemlendi. Başlangıçta orta derecede glikojen içeren hepatositler çoğunlukta iken, 19-20 haftalık fütüslerde glikojen yoğun hepatositlerin tabloya hakim olduğu ve bu tip hücrelerin asinuslarda yaygın oldukları görüldü.



Şekil 1. Glikojen yoğun hepatositler, oklar. X256.
Figure 1. Glycogen dense hepatocytes, arrows. X 256.

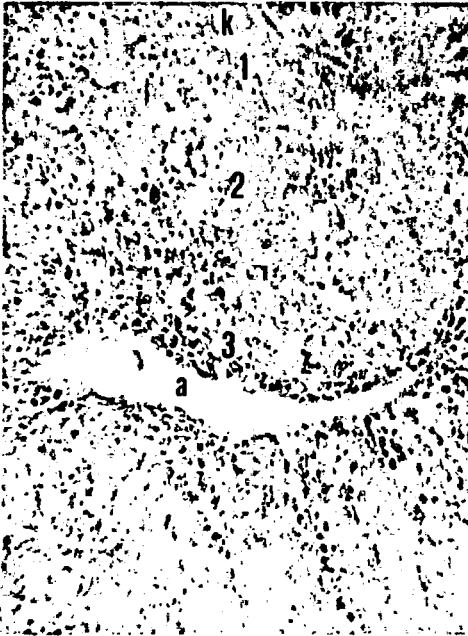


Şekil 2: Karaciğer asinuslarında glikojenin yaygın yerleşimi. a. vena sentralis. X236.
Figure 2: Diffuse glycogen localisation in the liver acini. a. vena centralis. X236.



Şekil 3: Kiernan aralığını sınırlayan glikojen yoğun hepatositler. d. duktus biliferus, v. v. interlobularis, k. Kiernan aralığı. X144.

Figure 3: Kiernan areas limited with glycogen dense hepatocytes. d. ductus biliferus, v. v. interlobularis, k. Kiernan aralığı. X144.



Şekil 4: Karaciğer asinuslarının 3. bölgesindeki glikojen yoğun hepatositler. a.v. sentralis, k. Kiernan aralığı, 1. birinci bölge, 2. ikinci bölge, 3. üçüncü bölge. X133.

Figure 4: Glycogen dense hepatocytes in the 3rd region of liver acini. a.v. centralis, k. Kiernan areas, 1. 1st region, 2. 2nd region. 3. 3rd region, X133.

Yavru dönemi: Üç günlük-5 aylık kuzularda glikojenin çok az olduğu, 5-8 aylıktakilerde ise hücrelerdeki glikojenin arttığı saptandı; şöyle ki: orta derecede glikojen içeren hepatositler çoğunlukta olup, asinusların 3. bölgesinde yerleşmişlerdi.

Erişkin dönem: Yaşları 1-3 arasında değişen erişkin koyunlarda glikojen birikiminin en fazla görüldüğü yaş grubu 1 yaş olup, glikojen yoğun hepatositler çoğunlukta idi. Bu hücrelerin genellikle asinusların 3. bölgesinde, nadir olarak da 1. bölgenin Kiernan aralıklarına komşu yüzeyinde buldukları belirlendi. Glikojenin, 1. yaştan itibaren yaştan ilerlemesiyle azaldığı dikkati çekti.

Tartışma ve Sonuç

Karaciğerin fonksiyonel üniteleri olan asinuslar, kalitatif ve kantitatif yönlerden farklı metabolizma aktiviteleri sergileyen 3 bölgeden oluşurlar. Kiernan aralığına komşu olan 1. bölge (periferik bölge)'nin hepatositleri kanla, dolayısıyla oksijen ve besin maddeleriyle ilk karşılaşan hücrelerdir. Bu nedenle 1. bölgedeki hepatositler minimum düzeyde metabolik yıkım ürünleri içerirlerken, maksimum düzeyde de glikojen ve plazma proteinlerini sentezlerler. Vena sentralis'e en yakın konumdaki 3. bölgeye (sentrolobuler bölge) doğru hepatositlerde bu yetenek giderek azalır; bu ikisi arasında kalan bölge ise 2. bölge (intermedier bölge)'dir (3, 8, 9). Bu çalışmada, sığır, koyun ve keçinin fetal dönemlerinde, bölge ayırımı yapılmaksızın, asinuslarda glikojenin yaygın olduğu belirlendi; ancak, buna ilişkin literatür bilgiye rastlanamadı. Keçinin yavru ve erişkin dönemlerinde, glikojenin asinusların 1. bölgesinde yerleştiği yönündeki bulgu, literatür bilgi (3, 8, 9) ile paralellik gösterdiği halde, sığır, kuzu ve koyunda glikojenin, asinusların 3. bölgesindeki hücrelerde depolandığını gösteren bu çalışmadaki bulgu literatüre uymamaktadır.

Shelley (14), koyun fütüslerinin karaciğerinde, gebeliğin 3. ayından itibaren glikojenin sentezlendiğini bildirdiği halde, bu çalışmada, koyun fütüslerinde glikojenin 9 haftalıkta veya daha önce sentezlenmeye başladığı belirlendi. Doğuma yakın dönemdeki koyun fütüslerinin karaciğerinde glikojenin, karaciğer ağırlığının %8'ini oluşturan miktarda depo edildiği (4), ayrıca gebeliğin başlangıcından itibaren %85'lik bölümünde glikojenin 40-60 mg/g iken, %95'lik bölümündeki fütüslerde 90-100 mg/g'a ulaştığı belirtilmektedir (4, 10, 14); yapılan çalışmada da, literatüre benzer durumda, koyunun fetal döneminde, gebeliğin sonuna doğru glikojenin arttığı saptandı. Keçi ve sığır fütüslerinde de, koyunlarda olduğu gibi, gebelik yaşının ilerlemesiyle glikojen miktarı arasında doğru bir orantının olduğu gözlemlendi, ancak bu hayvan türlerine ilişkin literatür bilgiye rastlanamadı.

Koyunlarda doğumdan sonra maternal glikozun kullanılmadığından ilk 24 saat içerisinde karaciğer glikojenin mobilize olduğu (1) ve bütün glikojen kaynaklarının boşaltıldığı (2, 10, 11), ayrıca ruminantlarda doğumdan sonraki neonatal monogastrik evrenin yaklaşık 6 hafta sürdüğü belirtilmektedir (10). Bu

araştırmada oğlaklarda 2. aya, kuzularda ise 5. aya kadar olan dönem içerisinde glikojenin yok denecek kadar az görülmesi, doğumdan sonra glikojenin mobilize olması ile ilgili bildirimlere (2, 10, 11) uymaktadır; ancak bu çalışmada neonatal monogastrik evrenin, literatürde bildirildiği gibi 6 hafta ile sınırlı olmadığı ve bunun ruminant türlerine göre değiştiği belirlendi.

Erişkin sığırlarda karaciğer glikojeni 9,1-22,3 mg/kg oranında bulunmuş, bunda beslenme şeklinin ve metabolizmanın etkili olabileceği ileri sürülmüştür (13). Sunulan çalışmada, sığırın erişkin döneminde 1 yaşından itibaren glikojenin arttığı gözlemlendi; ancak 3 yaş grubundaki iki hayvandan birinde glikojenin yoğun, diğerinde ise daha az saptanması, glikojen miktarı üzerinde beslenme ve metabolizmanın etkili olabileceği bildirişiyle (13) uyumaktadır. Aynı şekilde erişkin keçi glikojenin özellikle 2. yaşta yoğun olması, 3 yaş grubundan iki hayvanda farklı miktarlarda bulunması sığırlar için bildirilenler (13) doğrultusundadır. Koyunda ise glikojen miktarının, 1. yaşta fazla olduğu ve yaşın ilerlemesiyle çok azaldığı saptandı; ancak, bu konuya ilişkin literatür bilgisiyle karşılaştıramadı.

Bu çalışmada keçi, sığır ve koyunların bütün yaş gruplarında, hepatositlerin içerdiği glikojenin, kalitatif olarak yokluk ya da azlık durumunda, orta derecede ve yoğun biçimde toplandığı saptandı; literatürde ise böyle bir sınıflamaya rastlanamadı.

Sonuç olarak, asinusun bölgelerine göre glikojenin dağılımı yönünden, fetal dönemde ruminant türleri arasında bir farklılık bulunmamaktadır. Yavru döneminde, oğlaklarda glikojenin 1. bölgede, kuzularda 3. bölgede toplanması, oğlaklarda 2. aydan, kuzularda ise 5. aydan sonra glikojen birikiminde bir artış olması önemli bir farklılıktır. Erişkin dönemde ise, asinusun bölgelerine göre glikojenin toplanması yönünden sığır ve koyun, glikojen birikiminde yaşa bağlı bir artışın olmasıyla da keçi ve sığır birbirine benzemektedirler. Koyunda glikojen birikiminin yaşın ilerlemesiyle azalması, keçi ve sığırdan farklı bir durumu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. **Ballard, F.J., Hanson, R.W. and Kronfeld, D.S.** (1969). *Gluconeogenesis and Lipogenesis in Tissue from Ruminant and Nonruminant Animals.* Fed. Proc., 28:218-231.
2. **Bancroft., J.D. and Cook, H.C.** (1984). *Manual of Histological Techniques.* Churchill Livingstone. Edinburgh, London, Melbourne and New York, pp 102-103, pp 122-123.
3. **Banks, W.J.** (1993). *Applied Veterinary Histology. Third Edition, Mosby-Year Book, St. Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Philadelphia, Sydney, Toronto,* pp 363-371.
4. **Barnes, R.J., Fowden, A.L., Silver, M. and Comline, R.S.** (1977). *Liver glycogen concentrations in the foetal lamb and pig.* Annals of Veterinary Research. 8(4), 374-375.
5. **Bergman, E.N., Roe, W.E. and Kon, K.** (1966). *Quantitative Aspects of Propionate Metabolism and Gluconeogenesis in Sheep.* Am. J. Physiol. 211: 793-799.

6. **Bonner-Weir, S. and Like, A.A.** (1980). *A Dual Population of Islets of Langerhans in Bovine Pancreas. Cell Tissue Res.*, 206: 157-170.
7. **Britton, H.G. Huggett, A. St. G. and Nixon, D.A.** (1963). *Carbohydrate Metabolism in the Perfused Sheep Placenta Studied with Radioactive Sugars. J. Physiol.*, 166:21P-22P.
8. **Cormack, H.D.** (1987). *Ham's Histology. Ninth Edition, J.B. Lippincott Company Philadelphia, London, Mexico City, New York, St Louis, Sao Paulo, Sydney*, pp 521-535.
9. **Dellman, H.D.** (1993). *Textbook of Veterinary Histology. Fourth Edition. Lea and Febiger, Philadelphia*, pp. 185-189.
10. **Foden, A.L. and Silver M.** (1991). *Prenatal Change in Hepatic Glycogen and Glucose-6-phosphatase in Foal. Pig and Lamb.*, J. Physiol. 438:278P.
11. **Gleason, C.A. and Rudolph, A.M.** (1985). *Gluconeogenesis by the Fetal Sheep Liver in vivo. J. Dev. Physiol.*, 7:185-194.
12. **Huggette, A. St. G., Warren, F.L. and Warren, N.V.** (1951). *The Origin of the Blood Fructose of the Foetal Sheep, J. Physiol*, 113:258-275.
13. **Mehnert, E., Hudcc, R. and Stolzenberg, K.** (1986). *Die Bestimmung des Gehaltes und Lipiden, Glycogen und Protein im Leberbiopiat des Milchrindes. Vet. Med.*, 41:229-231.
14. **Shelley, H.J.** (1961). *Glycogen Reserves and their Changes at Birth and in Anoxia.. Brit. Med. Bull.*, 17:137-143.
15. **Swenson, M.J.** (1984). *Dukes' Physiology of Domestic animals. Tenth Edition., Cornell University Press*, pp 375.
16. **Young, J.W., Otchere, E.O., Trenkle, A. and Jacobson, N.I.** (1970) *Effect of age on Glucose reducing Sugars and Plasma Insulin in Blood of Milk Fed Calves.. J. Nurtr.*, 100:1267-1274.