

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

Salamandra infraimmaculata

(SALAMANDRIDAE, URODELA) VE *Hyla savignyi*

(HYLIDAE, ANURA) TÜRLERİNDE DERİ

BEZLERİNİN HİSTOLOJİK YAPISININ

İNCELENMESİ

Esra AKAT

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi : 11.12.2015

Bornova-İZMİR

2015

Esra AKAT tarafından **Doktora Tezi** olarak sunulan “*Salamandra infraimmaculata* (Salamandridae, Urodela) ve *Hyla savignyi* (Hylidae, Anura) Türlerinde Deri Bezlerinin Histolojik Yapısının İncelenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **11/12/2015** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	:	
Raportör Üye	:	
Üye	:	
Üye	:	
Üye	:	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “***Salamandra infraimmaculata* (Salamandridae, Urodela) ve *Hyla savignyi* (Hylidae, Anura) Türlerinde Deri Bezlerinin Histolojik Yapısının İncelenmesi**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

01 / 12 / 2015

İmzası

Esra AKAT

ÖZET

***Salamandra infraimmaculata* (SALAMANDRIDAE, URODELA) VE *Hyla savignyi* (HYLIDAE, ANURA) TÜRLERİNDE DERİ BEZLERİNİN HİSTOLOJİK YAPISININ İNCELENMESİ**

AKAT, Esra

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN
Aralık 2015, 34 sayfa

Mevcut çalışmada, Anadolu’da yaşayan *Salamandra infraimmaculata* ve *Hyla savignyi* türlerinde derinin histomorfolojik ve histokimyasal özellikleri ışık mikroskobu ile incelendi. Derinin genel histolojik yapısını belirlemek amacıyla kesitlerin bir kısmı rutin histolojik boyalarla (Hematoksilen-Eozin ve Mallory Trichrome) boyandı. Deri bezlerinin salgılarının kimyasal yapısını belirlemek için ise Periyodik Asit-Schiff ve Alcian Blue histokimyasal boyalar, dermiste kollajen demetleri göstermek amacıyla Picro-Ponceau boyama metodu kullanıldı. Işık mikroskobu incelemelerine göre, her iki türden elde edilen dorsal ve ventral deri örneklerinde granüler ve mukoz olmak üzere iki çeşit bez ayırt edildi. Dorsal bölgede granüler bezler daha yoğun olarak gözlemlendi. Vücudun her yerinde mukoz bezlerin granüler bezlerden daha küçük boyutlarda olduğu tespit edildi. *S. infraimmaculata*’da parotoid bölgeden elde edilen kesitler incelendiğinde, granüler ve mukoz bezlerin yanı sıra parotoid bölgenin orta kısmında konumlanan seröz içerikli özelleşmiş bezler gözlemlendi. Floresan mikroskobu ile elde edilen bulgulara göre, *S. infraimmaculata* ve *H. savignyi* türlerinin derilerinde hyaluronik asit lokalizasyonunun temelde süngerimsi dermiste konumlandığı belirlendi.

Ayrıca dermal bezlerin yüzdeleri hesaplandı ve her bir hayvanın dorsal ve ventral bölgelerindeki mukoz ve granüler bezlerin çapları ölçüldü. Parametreler arasındaki istatistiksel fark SPSS 16.0 programında one-way ANOVA ve Mann-Whitney U-testi ile gerçekleştirildi.

Anahtar sözcükler: Amfibi, *Salamandra infraimmaculata*, *Hyla savignyi*, deri, mukoz bez, granüler bez, hyaluronik asit

ABSTRACT**INVESTIGATION ON THE HISTOLOGICAL STRUCTURE OF SKIN
GLANDS OF *Salamandra infraimmaculata* (SALAMANDRIDAE,
URODELA) AND *Hyla savignyi* (HYLIDAE, ANURA)**

AKAT, Esra

PhD in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN

December 2015, 34 pages

In the present study, histomorphological and histochemical characteristics of skin of *Salamandra infraimmaculata* and *Hyla savignyi* which live in Anatolia were examined with light microscope. To determine general histological structure of the skin, some sections were stained with routine histological stains (Hematoxylin-Eosin and Mallory's Trichrome). To identify the chemical structure of the secretion of skin glands, Periodic Acid-Schiff ve Alcian blue were used. To demonstrate collagenous fiber bundles in the dermis, Picro-ponceau staining method was used. According to light microscopic observations, dorsal and ventral regions two kind of glands; granular and mucous glands were identified in both species. Granular glands were common in dorsal region of the body. It was found that mucous glands were smaller than the granular ones. Considering section obtained from parotoid region of *S. infraimmaculata*, containing serous secretion specialized glands in the center of parotoid region were observed. By fluorescence microscopy observations, localization of hyaluronic acid was determined in skin of *S. infraimmaculata* and *H. savignyi*. The localization of hyaluronic acid was mainly in stratum spongiosum.

Additionally, the percentage of dermal glands was calculated and diameters of granular and mucous glands were measured per animal in both dorsal and ventral regions. The parameters were compared by one-way ANOVA and Mann-Whitney U-test (SPSS 16.0) in terms of statistical differences in the diameters of dermal glands.

Key words: Amphibia, *Salamandra infraimmaculata*, *Hyla savignyi*, skin, mucous gland, granular gland, hyaluronic acid

TEŞEKKÜR

Bu çalışma konusunu öneren ve doktora eğitimim boyunca deneyimi ile yol gösteren Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN'a, saha çalışmaları konusunda fikir veren Ege Üniversitesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Bayram GÖÇMEN'e ve Sayın Dr. Bahadır AKMAN'a, arazi çalışmalarımda bana yardım eden canım babam merhum İsmail AKAT'a, çalışmamda kullandığım antikoru hediye eden ve tezimin immunohistokimya kısmının protokolünü oluşturmamda yardımcı olan Stanford Üniversitesi'nden Sayın Yard. Doç. Dr. Paul BOLLYKY'e, immunohistokimya uygulamasında fikirleriyle yardımcı olan Teksas Üniversitesi'nden Sayın Dr. Yücel AKGÜL'e, laboratuvarlarında fotoğraf çekimine olanak sağlayan Ege Üniversitesi Öğretim Üyeleri Sayın Doç. Dr. Nurşen ALPAGUT KESKİN'e ve Sayın Doç. Dr. Bekir KESKİN'e, Doktora Tezime burs desteğinden dolayı TÜBİTAK-BİDEB-2211 Yurt İçi Doktora Burs Programı'na, 2012 Fen 011 No'lu proje kapsamında maddi destek veren Ege Üniversitesi Rektörlüğü'ne, çalışmalarım esnasında göstermiş oldukları duyarlılıktan dolayı bölümdeki değerli hocalarım ve arkadaşlarıma ve her zaman bana destek olan canım aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGE DİZİNİ	xvi
1.GİRİŞ	1
2.MATERYAL VE METOT.....	6
2.1. Materyal	6
2.2. Yöntem.....	7
2.2.1. Işık mikroskobu yöntemi.....	7
2.2.2. Floresan mikroskobu yöntemi	7
2.2.3. Biyometrik analiz.....	8
3. BULGULAR	9
3.1. <i>Salamandra infraimmaculata</i> Derisinde Işık Mikroskobu Bulguları	9
3.2. <i>Hyla savignyi</i> Derisinde Işık Mikroskobu Bulguları	12
3.3. <i>Salamandra infraimmaculata</i> ve <i>Hyla savignyi</i> Derilerinde Floresan Mikroskobu Bulguları.....	14

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.4. <i>Salamandra infraimmaculata</i> ve <i>Hyla savignyi</i> Deri Bezleri Biyometrik Analizi	15
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	18
KAYNAKLAR DİZİNİ	25
ÖZGEÇMİŞ.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Melanın pigmentinin melanofor içerisindeki dağılımı.....	2
1.3 Granüler bez tipi	4
2.1.1 Örneklerin yakalandığı habitat fotoğrafları	6
3.1.1 <i>S. infraimmaculata</i> dorsal deri kesitleri	10
3.1.2 <i>S. infraimmaculata</i> ventral deri kesitleri	11
3.1.3 <i>S. infraimmaculata</i> parotoid bölgeden alınan kesitler	12
3.2 <i>H. savignyi</i> dorsal/ventral deri kesitleri.....	13
3.3 Dorsal deride dermiste hyaluronik asit immuno-reaktivitesi	14
3.4.2 <i>S. infraimmaculata</i> 'da dermal bezlerin çap ölçümlerinin box-plot (kutu grafiği) ile gösterilmesi.	16
3.4.3 <i>H. savignyi</i> 'de dermal bezlerin çap ölçümlerinin box-plot (kutu grafiği) ile gösterilmesi.....	16
3.4.4 <i>S. infraimmaculata</i> 'da dermal bezlerin yüzdesini gösteren histogram ..	17
3.4.5 <i>H. savignyi</i> 'de dermal bezlerin yüzdesini gösteren histogram	17

ÇİZELGELER DİZİNİÇizelgeSayfa

1.2 Glikozaminoglikan çeşitleri ve dokulardaki dağılımları3

3.4.1 Deri bezleri çap ölçümleri.....15

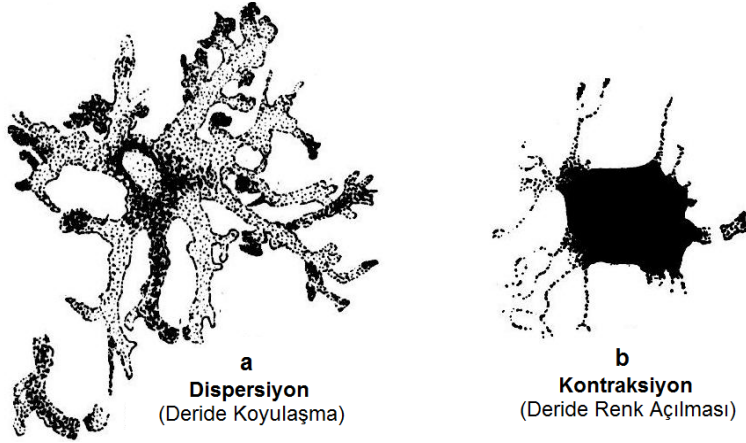
GİRİŞ

Deri organizmanın iç ortamı ve dış çevresi arasında etkili bir bariyer olup, çevrede meydana gelen değişiklikler doğrudan deriyi etkiler. Balıklar, sürüngenler, kuşlar ve memelilerde deriden türetilen pul, plak, tüy veya kıl gibi yapılar; mekanik yaralanmalara, çevresel etkilere, kimyasallara ve zararlı organizmalara karşı canlıyı korur. Kurbağalarda ise, fosil türler (*Ichthyostegalia* grubu) hariç, deri tamamen çıplaktır. Sadece *Apoda*'da (Bacaksız kurbağalar) deri içinde küçük pullar bulunur (Bartholomew, 1994; Budak ve Göçmen, 2005). Amfibi derisi; su-iyon dengesini sağlama, osmoregülasyon, kimyasal ve biyolojik faktörlere karşı morfolojik, anatomik bariyer oluşturma yanında, deri solunumu gibi birçok fonksiyonu yerine getirdiği için, morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik açıdan kompleks bir organdır (Lindemann and Voute, 1976; Yoshie et al., 1985; Toledo and Jared, 1993; Duellman and Trueb, 1994; Erspamer, 1994; Stiffler et al., 1997; Hoffman and Katz, 1999; Sullivan et al., 2000). Ayrıca amfibi derisi; sıcaklık kontrolü, üreme (örneğin renk-desen bakımından eşeysel dimorfizm), dermal renk değiştirme sayesinde kamuflaj özelliği ile hayvanın hayatta kalması gibi fonksiyonları da gerçekleştirir (Clarke, 1997). Dolayısıyla, derinin amfibi yaşamı için hayati öneme sahip olduğu görülmektedir (Fox, 1994).

Diğer omurgalılarda olduğu gibi, amfibi derisi de epidermis ve dermisten oluşur. Epidermis çok katlı yassı epitelden meydana gelir. Bazal membranın altında melanoforlar yer alır. Bazal membran, epitel hücrelerinin bazal kısmında yer alan ve epidermisi alttaki bağ dokusundan ayıran tabakadır (Fox, 1986; Duellman and Trueb, 1994).

Çoğu amfibi, yapısal renklenmeler dışında renk değiştirebilme özelliğine sahiptir. Derinin rengi birkaç faktör tarafından belirlenir. Bunlardan en önemlisi melanin içeriğidir, diğer etkenler dermisteki kan damarlarının miktarı ve bu damarlar içinde akan kanın rengidir. Renk değiştirme olayına “Fizyolojik Renk Değiştirme” denir. Bu renk değişikliği genel anlamda pigmentin, renk hücreleri olarak da bilinen kromatoforlardaki dağılımı ile farklı kromatofor çeşitlerinin pozisyonlarında oluşan değişiklikler ya da bu değişikliklerin her ikisinin de meydana gelmesi sonucu oluşur. Genel olarak deri rengindeki açıklama

kromotoforlardaki renk veren pigmentin kontraksiyonu (toplanması), derideki renk koyulaşması ise yine bu hücrelerdeki pigmentin dispersiyonu (yayılması) sonucu olmaktadır. Özellikle melanin pigmentinin melanoforda nukleus etrafında toplanması deride renk açılmasına neden olurken, aynı pigment maddesinin melanofor pseudopodları içerisine yayılması renk koyulaşmasına yol açarak renk değişikliği gerçekleşmektedir (Şekil 1.1.) (Budak ve Göçmen, 2005).



Şekil 1.1. Melanin pigmentinin melanofor içerisindeki dağılımı. Melanin pigmentinin melanofor pseudopodlarına yayılması, dispersiyon (a) ve melanin pigmentinin nukleus etrafında toplanması, kontraksiyon (b) (Budak ve Göçmen, 2005)

Dermis, epidermisi destekleyen ve subkutan dokuya (hipodermis) bağlayan bağ dokusudur. Dermiste zengin kan ve lenf damarları ağı vardır. Dermisin yapısal bileşenleri bağ dokusu fibrillerinden, kollajen ve elastik fibriller ile zemin maddesidir. Zemin maddesi bağ dokusu hücreleri tarafından sentezlenir. Su içeriği çok fazla olan zemin maddesi, oksijen ve besin maddelerinin hücre ve doku bileşenleri arasındaki difüzyonuna olanak sağlar. Zemin maddesi proteoglikanlardan (%95'i polisakkarit %5'i protein) oluşur. Proteoglikan molekülü, bir merkezi protein ve buna kovalent bağla bağlanan glikozaminoglikan molekülünden meydana gelir. Glikozaminoglikanlar tekrarlı disakkarit birimlerden oluşan uzun polisakkarit zincirleridir ve önemli ekstrasellüler matriks bileşenidir. Glikozaminoglikanlar, sülfat ve karboksil gruplara sahip olmaları nedeniyle negatif yüklüdür. Bu negatif yük suya yüksek ilgi oluşturarak jel şeklinde bir zemin maddesinin oluşmasına yol açar. Bu durum bakteri ve büyük moleküllerin hareketini kısıtlarken, suda çözünebilen moleküllerin hızlı difüzyonuna izin verir. Ayrıca proteoglikanların büyüme faktörlerini (örneğin,

TGF β) bağlayan bölgeleri de vardır. Proteoglikanlara bağlanan büyüme faktörleri; makromoleküllerin, mikroorganizmaların veya metastatik kanser hücrelerinin göç ya da hareketini engeller. Glikozaminoglikanlar, sülfatsız glikozaminoglikanlar (hyaluronik asit) ve sülfatlı glikozaminoglikanlar (kondroitin 4-sülfat, kondroitin 6-sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat, heparin ve keratan sülfat) olmak üzere ikiye ayrılır (Tablo 1.2.) (Balazs et al., 1986; Laurent and Fraser, 1992; Laurent et al., 1996; Akay, 2006; Kennett and Davies, 2009).

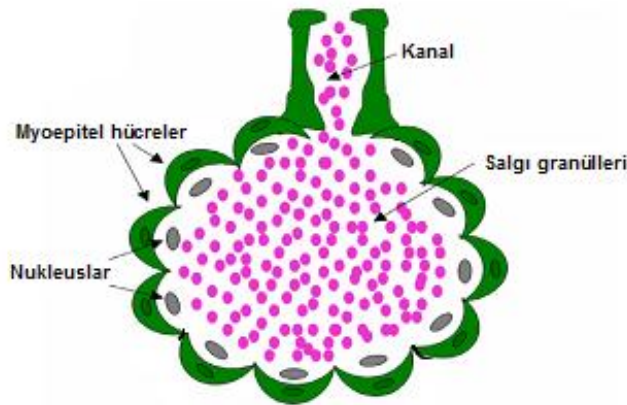
Glikozaminoglikan	Disakkarit birim	Dokulardaki dağılımı
Hyaluronik asit (Hyaluronan)	D-glukronik asit + N-asetil-D-glukozamin	Çeşitli destek dokular, deri, kıkırdak, eklem sıvıları (sinoviyal sıvı), vitreous sıvı (göz merceği arkasındaki camsı cisim)
Kondroitin 4-sülfat	D-glukronik asit + N-asetil-D-galaktozamin	Kıkırdak, kornea, kemik, deri ve atardamarlar
Kondroitin 6-sülfat	D-glukronik asit + N-asetil-D-galaktozamin	Kornea, kemik, deri ve atardamarlar
Dermatan sülfat	D-glukronik asit veya L-iduronik asit + N-asetil-D-galaktozamin	Deri, kan damarları, kalp, kalp kapakçıkları, epinöryum, sklera, organ kapsülleri, tendon ve ligamentler
Heparan sülfat	D-glukronik asit veya L-iduronik asit + N-asetil-D-glukozamin	Bazal lamina, akciğer, karaciğer, atardamarlar, retiküler fibrillerden zengin yapılar, dalak, endonöryum
Heparin	D-glukronik asit veya L-iduronik asit + N-asetil-D-glukozamin	Akciğer, karaciğer, deri ve mast hücreleri
Keratan sülfat	D-galaktoz + N-asetil-D-glukozamin	Kıkırdak, kornea ve omurlar arası disk

Tablo 1.2. Glikozaminoglikan çeşitleri ve dokulardaki dağılımları (Akay, 2006)

Hyaluronik asit (hyaluronan, hyaluronat), vitreous humor (göz merceği arkasındaki camsı cisim) ve sinoviyal sıvının (eklem sıvısı) esas bileşenidir. Ancak çeşitli dokulardaki matrikslerde de bol miktarda bulunur. Çok uzun ve ağır bir moleküldür. En önemli özelliklerinden biri, sulu ortamda çok yüksek derecede

akışkan olmasıdır. Bu özelliğiyle zemin maddesinin kıvamını oluşturur. Hyaluronik asitin akışkanlığı, eklemlerin sinoviyal sıvılarında karşı karşıya gelen kemiklerin, kaygan bir ortamda hareket etmesini sağlar. Yaygın ve akışkan bir molekül olan hyaluronik asit, suyun serbestçe akıp gitmesini engeller. Böylece moleküllerin yayılarak hücrelere girmesi için uygun bir ortam oluşturur. Ayrıca dokuya giren mikroorganizmaların daha fazla yayılmasını engelleyecek bir duvar oluşturur. Hyaluronik asit önceden pasif bir molekül olarak bilinmesine rağmen son yıllarda yapılan çalışmalarla; hücre çoğalması, hücre göçü ve birçok biyolojik olayın düzenlenmesinde aktif rol oynadığı kanıtlanmıştır. Ayrıca hyaluronik asitin kanser ve damar hastalıklarında hücre davranışı ve hücre etkileşimini değiştirebildiği rapor edilmiştir (Toole, 1997; Göransson, 2001; Toole et al., 2002; Turley et al., 2002).

Amfibi derisinin diğer omurgalıların derisinden farklı olmasının nedeni dermiste çok sayıda deri bezlerine sahip olmasıdır. Ultrastrüktürel, histomorfolojik ve histokimyasal özelliklerine göre, amfibi derisi mukoz ve seröz (granüler veya zehir) bezleri olmak üzere iki tip beze sahiptir (Toledo and Jared, 1995). Ancak bazı araştırmacılar, amfibi derisinde bulunan bezleri yapısal özelliklerine göre dört temel grupta toplamıştır (Brizzi et al., 2002). Bunlar; seröz bezler (granüler veya zehir), mukoz bezler, lipit (mum) bezleri ve sero-mukoz (karışık) bezlerdir. Bezlerin hepsi basit alveolar yapılı ve dermis içine gömülü olup; kanal, salgılama birimi ve miyoepitel kılıftan oluşur (Şekil 1.3.) (Delfino, 1991; Gammill et al., 2012).



Şekil 1.3. Granüler bez tipi. Amfibi deri bezleri basit alveolar yapılı olup; kanal, salgılama birimi ve miyoepitel kılıftan oluşur (Gammill et al., 2012' den değiştirilerek).

Deri bezlerinden mukoz bezler solunumda, deri yüzeyinin nemli ve kaygan olması ile iyon değişiminde önemli görevlere sahip olup başlıca Na^+ ve Cl^- iyonlarını içeren sulu salgı üretirler (Lillywhite and Litch, 1975; Sjöberg and Flock, 1976; Fox, 1994; Shepherd et al., 1998; Brizzi et al., 2002). Lipit bezleri salgılarıyla vücudu ince bir mum tabakası şeklinde sararak su kaybını önler (Blaylock et al., 1976). Seröz bezler ise salgıladıkları salgılar ile predatörlere ve mikroorganizmalara karşı koruma sağlar. Bunun yanı sıra, bu bezlerin salgıları sosyal ve üreme aktivitelerinde de önemli görevleri yerine getirmektedir. Türlerin birbirini tanıması, türler arasında iletişim, üreme zamanı eş seçimi, çiftleşme için feromonların salgılanması bu bezlerin salgıları sayesinde gerçekleşmektedir (Brodie et al., 1974; Çevikbaş, 1978; Brizzi et al., 1991; 2000; Toledo et al., 1992; Houck and Sever, 1994; Toledo and Jared, 1995; Staub and Paladin, 1997; Alvarez et al., 1999; Karagöz et al., 2002; Hecker et al., 2003; Dülger et al., 2004).

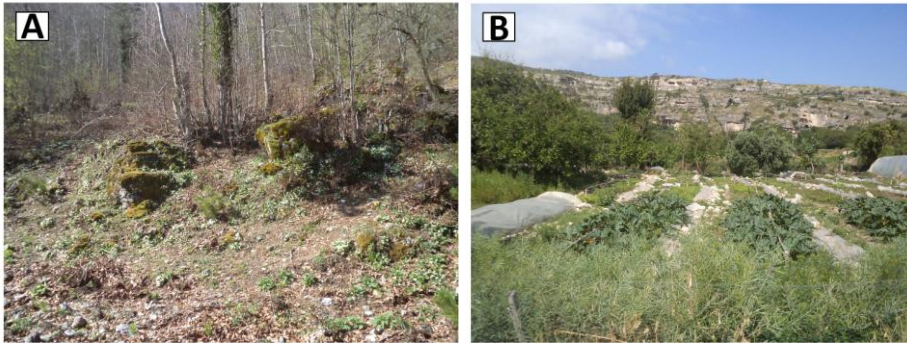
Böylesine çok çeşitli görevleri olan amfibi derisi, birçok araştırmacının dikkatini çekmiş ve çekmeye de devam etmektedir. Çeşitli amfibi türlerinin derisi üzerine 1870’li yıllardan başlayan ve günümüzde de devam eden pek çok araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmada, *Salamandra infraimmaculata* ve *Hyla savignyi* türlerinin derisi ve deri bezlerinin histomorfolojisi ve histokimyasal karakterizasyonu yapıldı. Dermal bezlerin yüzdeleri hesaplandı ve bezlerin çapları ölçüldü. Bir glikozaminoglikan olan hyaluronik asitin fonksiyonunun anlaşılabilmesi için, söz konusu iki türün deri örneklerinde hyaluronik asit lokalizasyonu belirlendi.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'nun 2014/94 nolu kararı, T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı izni (Tarih:20.02.2015, İzin No: 43000) ile gerçekleştirildi. Çalışmada Amfibia sınıfı Urodela ordosu Salamandridae familyasından *S. infraimmaculata* ve Anura ordosu Hylidae familyasından *H. savignyi* türlerinin derileri incelendi. *S. infraimmaculata*'da vücut kalın olup, parlak siyah zemin üzerinde sarı, bazen portakal renkli, ender olarak da kırmızı lekeler bulunur. Vücudun ventrali lekesizdir. Başın her iki tarafında dorsolateral kısımda paratoidler mevcuttur. *H. savignyi*'de sırt genellikle parlak yeşil, bazen gri, ventral taraf ise beyazımsı veya krem renktedir. Gözün önünden başlayan yanıl şeritin kasık çıkıntısı bu türde yoktur. Erkeklerinde başın altında, boğaz bölgesinde dış ses keseleri bulunur (Budak ve Göçmen 2005).

S. infraimmaculata örnekleri (4 dişi, 4 erkek) Dört Yol/Hatay, Topaktaş Yaylası'ndan (Şekil 2.1.1A); *H. savignyi* örnekleri (5 dişi, 5 erkek) Samandağ/Hatay, Çevlik'ten (Şekil 2.1.1B) toplandı.



Şekil 2.1.1 Örneklerin yakalandığı habitat fotoğrafları **A.** *S. infraimmaculata* örneklerinin yakalandığı habitatтан çekilen fotoğraf. *H. savignyi* örneklerinin yakalandığı habitatтан çekilen fotoğraf.

2.2. Yöntem

2.2.1. Işık Mikroskobu Yöntemi

Araziden canlı olarak yakalanan örnekler eter anestezisi altında dekapitasyon ile ötenazi edildi. Örnekler dekapite edildikten sonra, örneklerden alınan deri parçaları 48 saat süre ile 4 °C'de Bouin sıvısında fikse edildi. Fikse edilen deri parçaları bir gece %70'lik etil alkol çözeltisinde bekletildi. Daha sonra yüzdeliği artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon gerçekleştirildi. Dehidrasyondan sonra ksilolde bekletilen deri parçalarının şeffaflaştırılması sağlandı. Şeffaflaştırma işleminden sonra, deri örnekleri 16 saatte bir parafini değiştirmek şartıyla 48 saat boyunca 58-60 °C'deki etüvde parafin içinde bekletildi. Son olarak deri örnekleri parafine gömülerek blok haline getirildi.

Hazırlanan parafin bloklardan Baird-Tatlock marka rotary mikrotom yardımıyla 5 µm kalınlıkta kesitler lam üzerine alındı. Lam üzerine 8-10 adet kesit alınarak, her bir deri parçasından en az 20'şer lam hazırlandı. İlk önce lam üzerine alınan kesitler ksilol içine alınarak deparafinize edildi. Sonra yüzdeliği azalan alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra çeşitli histolojik ve histokimyasal boyamalar gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlardan bazılarına genel histolojik yapıyı belirlemek için Gill's Hematoksilen-Eozin (H-E) (modifiye Gill et al., 1974), bazılarına ise Periyodik Asit-Schiff (PAS) (Lillie, 1951), Alcian blue (AB) (pH 2.5) (Steedman, 1950), Mallory trichrome (Pantin, 1946), Picro-Ponceau (Gurr, 1956) boyama yöntemleri uygulandı. Boyama sonrası preparatlar, yüzdeliği artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilolde bekletilen preparatlar entellan ile kapatılarak kalıcı hale getirildi. Hazırlanan kalıcı preparatlar, Zeiss AxioCam Erc 5s dijital kamera monte edilmiş AxioScope A1 mikroskobu ile incelendi ve preparatların fotoğrafları çekildi.

2.2.2. Floresan Mikroskobu Yöntemi

Immunohistokimyasal çalışma için, deri örnekleri %4 paraformaldehit ile 4°C'de bir gece fikse edildi. Fosfat tamponlu tuz solüsyonu (0,1M PBS, pH 7.2) ile çalkalanan deri örnekleri yüzdeliği artan alkol serilerinden geçirildikten sonra,

ksilol aşamasının ardından parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Mikrotom yardımıyla 5 µm kalınlıkta kesitler lizinli lam üzerine alındı. Kesitler deparafinize edildi ve %2 bovin serum albumin içeren PBS kullanılarak bloklama yapıldı. Hyaluronik asit (HA) immuno-reaktivitesi hyaluronik asite bağlanan biotinli protein (B-HABP) (Benaroya Araştırma Enstitüsü'nden elde edildi) kullanılarak değerlendirildi. Kesitler B-HABP ile bir gece 4 °C'de inkübe edildi. Streptavidin-Fluorescein Isothiocyanate (FITC) ile işaretleme yapıldı. Pozitif ve negatif kontroller yapıldı. Negatif kontrol için kesitler hyaluronidaz enzimi ile muamele edildi. Pozitif kontrol için B-HABP/HA uygulandı. Preparatların fotoğrafları DFC290 dijital kamera monte edilmiş Leica DM3000 mikroskobu ile çekildi.

2.2.3. Biyometrik Analiz

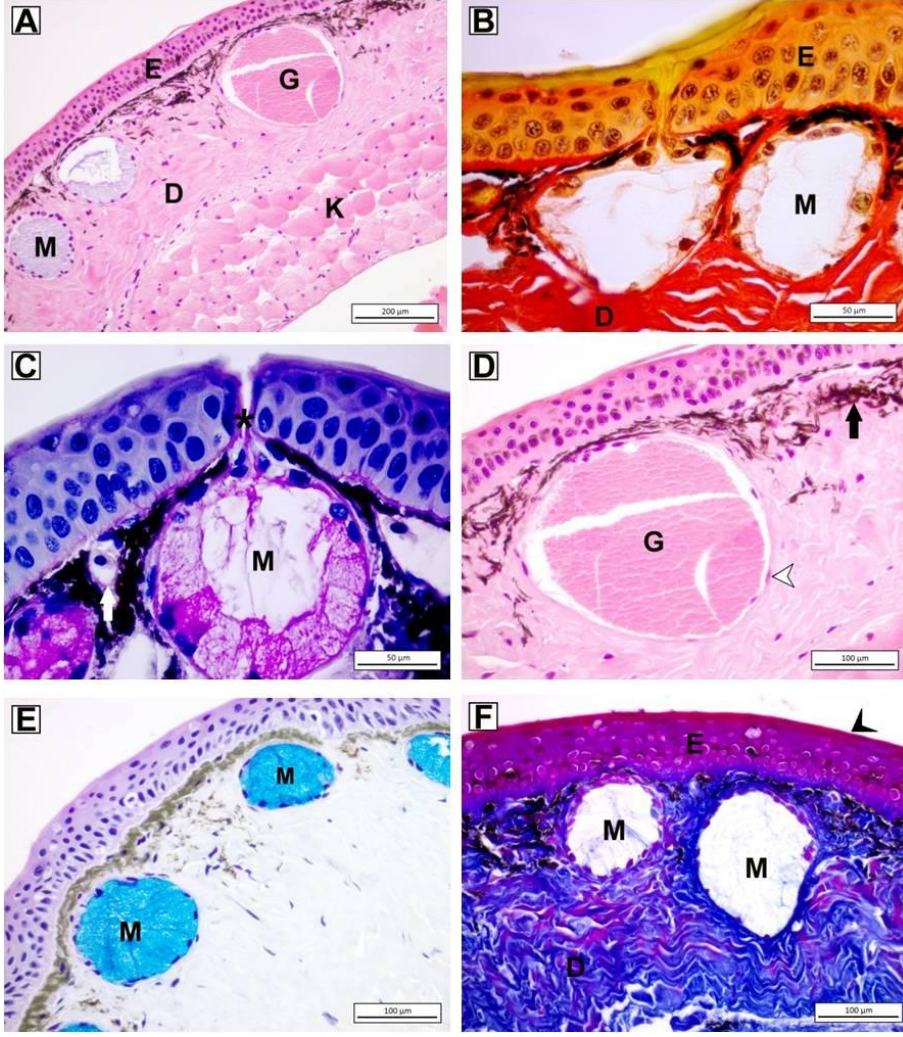
Her bir hayvanın dorsal ve ventral bölgelerinden yüz deri bezi değerlendirildi ve bu bezlerin çapları ölçüldü. Bu ölçümler ışık mikroskobu incelemelerinde mikrometrik oküler kullanılarak direkt preparatlar üzerinden yapıldı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verildi. Dorsal ve ventral bölgedeki deri bezlerinin çapları arasındaki istatistiksel fark SPSS 16.0 programında one-way ANOVA ve Mann-Whitney U-testi ile yapıldı. Analizde $p<0,05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi. Ayrıca her iki tür için dorsal ve ventral bölgedeki mukoz ve granüler bezlerin yüzdeleri hesaplandı.

3. BULGULAR

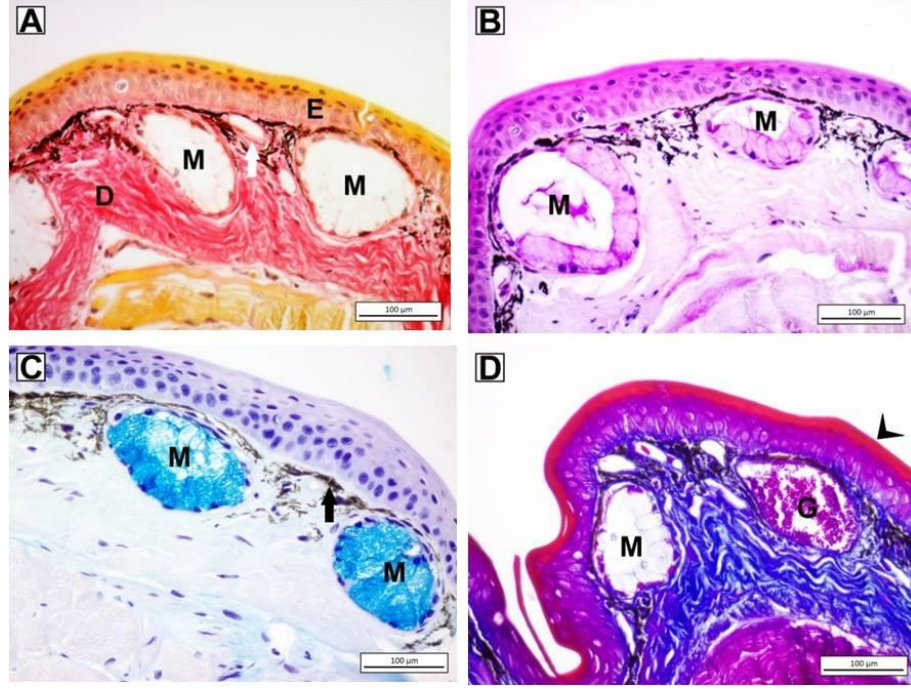
3.1. *S. infraimmaculata* Derisinde Işık Mikroskobu Bulguları

Işık mikroskobu incelemelerine göre, *S. infraimmaculata*'da dorsal ve ventral derinin diğer omurgalılarda olduğu gibi epidermis ve dermisten oluştuğu görüldü (Şekil 3.1.1A ve Şekil 3.1.2A). Çok tabakalı yassı epitelden oluşan epidermis zayıf keratinizasyon gösterdi (Şekil 3.1.1F ve Şekil 3.1.2D). Dermisin, vaskülerize gevşek lifli bağ dokusu (süngerimsi dermis) ve temel olarak kollajen liflerin sıkıca paketlenmesi ile oluşan kompakt dermisten oluştuğu tespit edildi (Şekil 3.1.2A ve Şekil 3.1.2D). Melanoforların hem dorsal hem de ventral tarafta bazal membranın hemen altında dermiste yer aldığı görüldü (Şekil 3.1.1D ve Şekil 3.1.2C). Deri bezleri hem dorsal tarafta hem de ventral tarafta süngerimsi dermiste gözlendi. Dorsal ve ventral bölgelerde iki farklı tipte dermal bez, mukoz ve granüler bez ayırt edildi (Şekil 3.1.1A ve Şekil 3.1.2D). Deri bezlerinin ayrımı histomorfolojik ve histokimyasal özelliklerine göre yapıldı. Mukoz ve granüler bezler hem dorsal hem de ventral tarafta aynı histomorfolojik ve histokimyasal özellikleri gösterdi. Mukoz bezleri belirgin bir lümene sahip alveolar bezler olup, salgıladıkları amorf salgı içeriği ile doluydu. Nötral mukopolisakkarit varlığından dolayı mukoz bezlerin salgı içeriği Periyodik asit-Schiff (PAS) boyama metoduna pozitif reaksiyon verdi (Şekil 3.1.1C ve Şekil 3.1.2B). Ayrıca asit mukopolisakkaritlerin varlığından dolayı mukoz bezleri Alcian blue (AB) pH 2.5 metodu ile de pozitif reaksiyon verdi (Şekil 3.1.1E ve Şekil 3.1.2C). Granüler bezler homojen dağılımlı granüllere sahipti. Granüler bezlerin salgı içeriği PAS ve AB pH 2.5 histokimyasal metotları ile reaksiyon vermedi. Mallory trichrome uygulaması sonrası granüler bez salgı içeriğinin asidofilik olduğu görüldü (Şekil 3.1.2D). Picro-Ponceau metodu uygulama sonrası kollajen demetler kırmızı olarak boyandı (Şekil 3.1.1B. ve Şekil 3.1.2A).

Tüm deri bezlerinin miyoepitel hücreleri tarafından çevrelendiği ve her bir deri bezinin epidermal bir kanal vasıtasıyla yüzey ile bağlantı kurduğu belirlendi. Bezlerin kanal ve salgı hücrelerinden (salgı birimlerinden) oluştuğu görüldü (Şekil 3.1.1C).



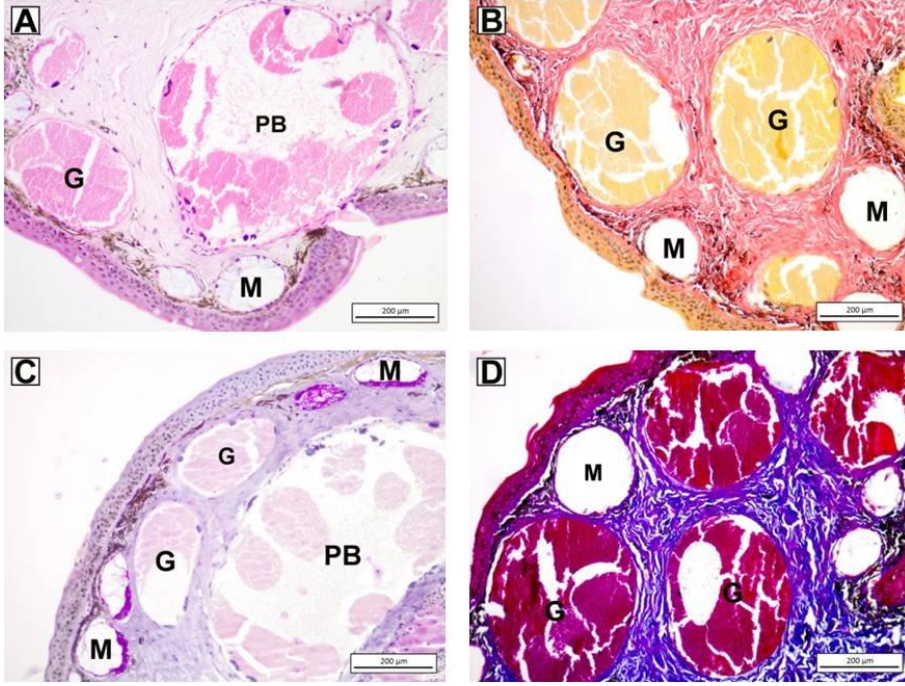
Şekil 3.1.1. *S. inframaculata* dorsal deri kesitleri **A.** Deri, epidermis ve dermisten oluşmuştur, Hematoksilen-Eozin (H-E) E: Epidermis, D: Dermis, M: Mukoz bez, G: Granüler bez, K: İskelet kası 10X büyütme Bar=200 µm **B.** Dermiste kollajen demetler, Picro-Ponceau, E: Epidermis, D: Dermis, M: Mukoz bez 40X büyütme Bar= 50 µm **C.** Her bir deri bezi epidermal bir kanal (*) sayesinde yüzey ile bağlantılıdır. Nötral mukopolisakkarit varlığı nedeniyle mukoz bezlerin salgı içeriği Periyodik Asit-Schiff (PAS) ile pozitif reaksiyon vermiştir. M: Mukoz bez, kan damarı (beyaz ok) 40X büyütme Bar= 50 µm **D.** Deri bezleri miyoepitel hücreleri tarafından çevrenmiştir, H-E 20X büyütme Bar=100 µm **E.** Asit mukopolisakkaritlerin varlığı nedeniyle mukoz bezlerin Alcian blue (AB) pH 2.5 ile pozitif reaksiyonu, M: Mukoz bez 20X büyütme Bar=100 µm **F.** Çok tabakalı yassı epitelden oluşan epidermis zayıf keratinizasyon göstermektedir (ok başı), E: Epidermis, D: Dermis, M: Mukoz bez, Mallory trichrome 20X büyütme Bar=100 µm.



Şekil 3.1.2. *S. infraimmaculata* ventral deri kesitleri **A.** Deri, epidermis ve dermisten oluşmuştur, Picro-Ponceau E: Epidermis, D: Dermis, M: Mukoz bez, kan damarı (beyaz ok) 20X büyütme Bar=100 µm **B.** Nötral mukopolisakkarit varlığı nedeniyle mukoz bezlerin salgı içeriğinin Periyodik Asit-Schiff (PAS) ile pozitif reaksiyonu, M: Mukoz bez 20X büyütme Bar=100 µm **C.** Asit mukopolisakkaritlerin varlığı nedeniyle mukoz bezlerin Alcian blue (AB) pH 2.5 ile pozitif reaksiyonu M: Mukoz bez, melanoforlar (siyah ok) 20X büyütme Bar= 100 µm **D.** Çok tabakalı yassı epitelden oluşan epidermis zayıf keratinizasyon (ok başı) göstermektedir, Mallory trichrome, M: Mukoz bez, G: Granüler bez 20X büyütme Bar= 100 µm.

S. infraimmaculata'da parotoidler bir çift olup başın üzerinde ve gözün hemen arkasında bulunmaktadır. Parotoid bölgeden alınan kesitlerde üç farklı bez tipi (mukoz, granüler ve parotoid bezler) ayırt edildi. Parotoid bezler salgılayıcı birimlerin agregasyonu gibi olup, parotoid bezlerin diğer bez tiplerinden (mukoz ve granüler bezler) daha büyük olduğu saptandı (Şekil 3.1.3A ve Şekil 3.1.3C). Parotoid bezlerin kollajen fibril demetleri ile çevrelendiği ve sadece parotoid bölgede konumlandığı belirlendi. Parotoid bez terimi bezin bulunduğu bölgeden dolayı tercih edildi. Yukarıda belirtildiği gibi parotoid bölgede diğer bez tipleri olan mukoz ve granüler bezler de görüldü. Fakat parotoid bölgeden alınan kesitler, vücudun dorsal ve ventral bölgelerinden alınan deri kesitleri ile karşılaştırıldığında daha sık oranda granüler bez içerdiği gözlemlendi (Şekil 3.1.3B ve

Şekil 3.1.3D). Parotoid bölgedeki mukoz bezler de Periyodik Asit-Schiff (PAS) (Şekil 3.1.3C) ve Alcian blue (AB) pH 2.5 metotları ile pozitif reaksiyon verdi.

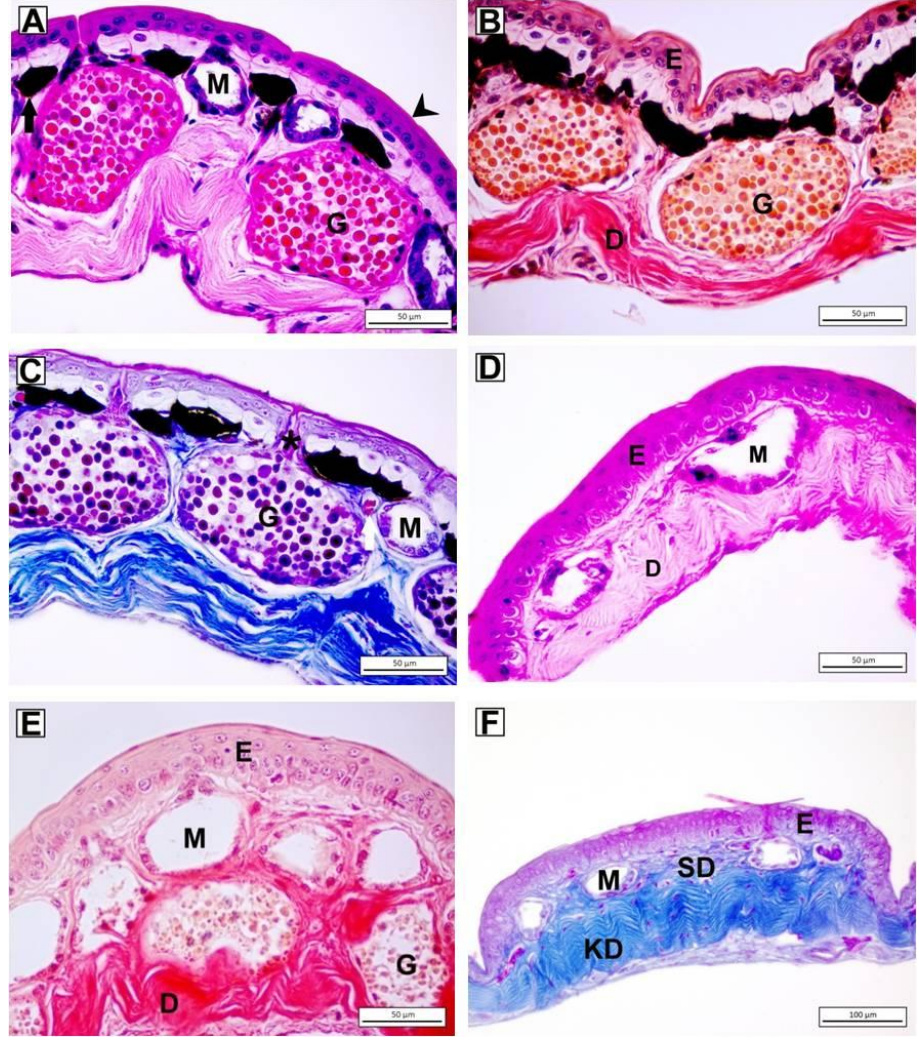


Şekil 3.1.3. *S. inframaculata* parotoid bölgeden alınan kesitler. Parotoid bölgede mukoz ve granüler bezlerin yanı sıra özelleşmiş bez tipi parotoid bezler görüldü. Parotoid bezler salgılayıcı birimlerin agregasyonu gibidir. **A.** H-E, **B.** Picro-Ponceau, **C.** PAS, **D.** Mallory trichrome M: Mukoz bez, G: Granüler bez, PB: Parotoid bez 10X büyütme Bar= 200 µm

Erkek ve dişi bireylerde deri bezlerinin histolojisinin birbirinden farklı olmadığı tespit edildi.

3.2. *H. savignyi* Derisinde Işık Mikroskobu Bulguları

Işık mikroskobu incelemelerine göre, *H. savignyi* dorsal ve ventral derisinin diğer omurgalılarda olduğu gibi epidermis ve dermisten oluştuğu görüldü. Epiderminin çok tabakalı yassı epitelden meydana geldiği görüldü. Dermisin, vaskülerize gevşek lifli bağ doku olan süngerimsi dermis ve kollajen liflerin sıkıca paketlenmesi ile oluşan kompakt dermisten oluştuğu tespit edildi. Deri bezleri hem dorsal tarafta hem de ventral tarafta süngerimsi dermiste gözlemlendi (Şekil 3.2B, Şekil 3.2F ve Şekil 3.2E). Melanoforların dorsal tarafta bazal membranın hemen altında dermiste yer aldığı görüldü (Şekil 3.2A). Ventral tarafta melanoforlar gözlenmedi (Şekil 3.2D, Şekil 3.2E ve Şekil 3.2F).



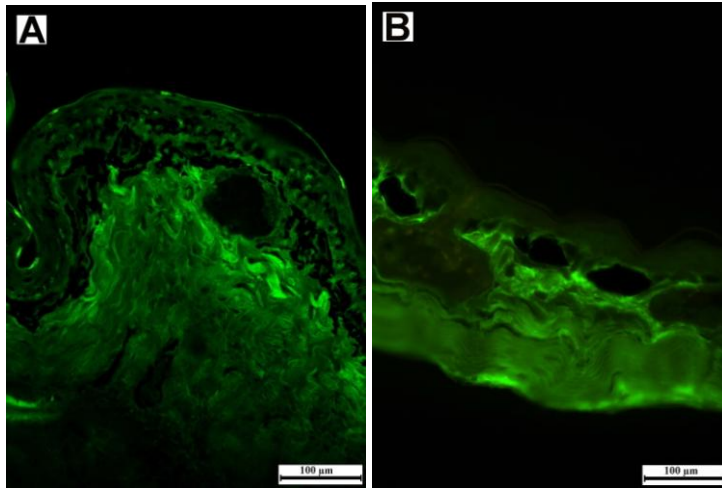
Şekil 3.2. *H. savignyi* dorsal/ventral deri kesitleri **A.** Süngerimsi dermiste yer alan dermal bezler ve çok katlı yassı epitelde çok zayıf keratinizasyon (ok başı), melanofor (siyah ok), M: Mukoz bez, G: Granüler bez, H-E 40X büyütme Bar= 50 µm **B.** *H. savignyi* dorsal deri kesiti Picro-Ponceau, E: Epidermis, D: Dermis, G: Granüler bez 40X büyütme Bar= 50 µm **C.** *H. savignyi* dorsal deri kesiti. Asidofilik granüler bez salgı içeriği, Mallory trichrome M: Mukoz bez, G: Granüler bez, Salgı kanalı (*) 40X büyütme Bar= 50 µm **D.** *H. savignyi* ventral deri kesiti, H-E, E: Epidermis, D: Dermis, M: Mukoz bez 40X büyütme Bar= 50 µm **E.** *H. savignyi* ventral deri kesiti, Picro-Ponceau, E: Epidermis, D: Dermis M: Mukoz bez, G: Granüler bez, 40X büyütme Bar= 50 µm **F.** *H. savignyi* ventral deri kesiti, Mallory trichrome, SD: Süngerimsi dermis, KD: Kompakt dermis 20X büyütme Bar= 100 µm

Dorsal ve ventral bölgelerde mukoz ve granüler bez olmak üzere iki farklı tipte dermal bez ayırt edildi (Şekil 3.2A, Şekil 3.2C ve Şekil 3.2E). Mukoz ve granüler bezler hem dorsal hem de ventral tarafta aynı histomorfolojik ve histokimyasal özellikleri gösterdi. Mukoz bezler belirgin bir lümene sahip

alveolar bezlerdi. Granüler bezler homojen dağılımlı granüllere sahipti. Granüler bezlerin salgı içeriği ve mukoz bezler PAS ve AB pH 2.5 histokimyasal metotları ile reaksiyon vermedi. Mallory trichrome uygulaması sonrası granüler bez salgı içeriğinin asidofilik olduğu görüldü (Şekil 3.2C). Picro-Ponceau metodu uygulama sonrası kollajen demetler kırmızı olarak boyandı (Şekil 3.2B ve Şekil 3.2E). Tüm deri bezlerinin miyoepitel hücreleri tarafından çevrelendiği ve her bir deri bezinin epidermal bir kanal sayesinde yüzey ile bağlantı kurduğu belirlendi. Bezlerin kanal ve salgı hücrelerinden (salgı birimlerinden) oluştuğu görüldü (Şekil 3.2C). Erkek ve dişi bireylerde deri bezlerinin histolojisinin birbirinden farklı olmadığı tespit edildi.

3.3. *S. infraimmaculata* ve *H. savignyi* Derilerinde Floresan Mikroskobu Bulguları

Hyaluronik asit immuno-reaktivitesi FITC ile işaretlenen spesifik antikor (B-HABP) uygulaması sonucu floresan mikroskobu ile değerlendirildi. Bu immuno-reaktivite ekstrasellüler matriks bileşeni olan hyaluronik asit ile gerçekleşti. Gerçekleşen immuno-reaktiviteye göre, hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* türlerinde hyaluronik asit dermiste ve mukoz bezlerin etrafında süngerimsi dermiste yaygın olarak gözlemlendi (Şekil 3.3A ve Şekil 3.3B).



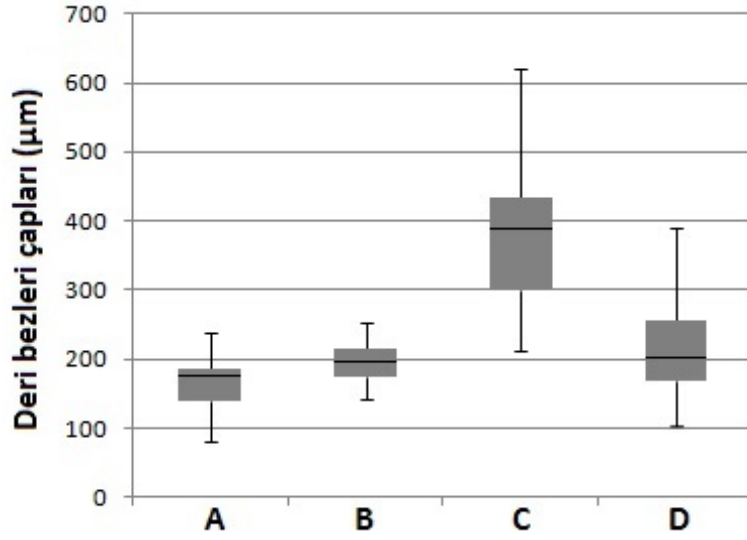
Şekil 3.3. Dorsal deride dermiste hyaluronik asit immuno-reaktivitesi. Hyaluronik asit lokalizasyonu temel olarak süngerimsi dermistedir. **A.** *S. infraimmaculata* dorsal deri; **B.** *H. savignyi* dorsal deri, 20X büyütme Bar= 100 µm

3.4. *S. infraimmaculata* ve *H. savignyi* Deri Bezleri Biyometrik Analizi

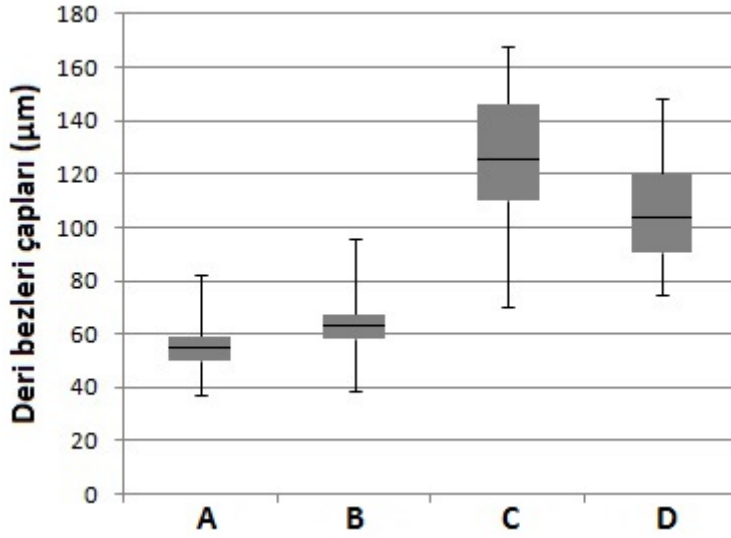
Dermal bezlerde büyüklük açısından istatistiksel bir fark olup olmadığını belirlemek için bezlerin çapları ölçüldü. Her örnekten, her bir bez tipi için 100 ölçüm yapıldı ve veriler box-plot grafiği ile gösterildi (Şekil 3.4.2. ve Şekil 3.4.3.). Elde edilen sonuçlara göre, hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* türlerinde dorsal bölgedeki granüler bezlerin çapının ventral bölgedeki granüler bezlerin çapından daha büyük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu, ancak dorsal bölgedeki mukoz bezlerin çaplarının ventral bölgede bulunan mukoz bezlerin çaplarından daha küçük olduğu tespit edildi (Tablo 3.4.1.). Her bir örnekten yapılan incelemeye göre, dorsal bölgedeki mukoz bezlerin yüzdesinin ventral bölgedeki mukoz bezlerin yüzdesinden daha düşük olduğu, dorsal bölgedeki granüler bezlerin yüzdesinin ise ventral bölgedeki granüler bezlerin yüzdesinden daha yüksek olduğu belirlendi (Şekil 3.4.4. ve Şekil 3.4.5.).

Deri bezleri çapları (µm)	Ortalama	Standart sapma	z-değeri	p değeri
<i>S. infraimmaculata</i> dorsal mukoz bez	166,17	46,02	-1,81	0,07
<i>S. infraimmaculata</i> ventral mukoz bez	191,8	24,32	-1,81	0,07
<i>S. infraimmaculata</i> dorsal granüler bez	386,33	110,8	-4,75	<0,05
<i>S. infraimmaculata</i> ventral granüler bez	204,04	59,58	-4,75	<0,05
<i>H. savignyi</i> dorsal mukoz bez	54,5	8,49	-3,60	<0,05
<i>H. savignyi</i> ventral mukoz bez	64,15	11,37	-3,60	<0,05
<i>H. savignyi</i> dorsal granüler bez	124,74	25,86	-2,16	<0,05
<i>H. savignyi</i> ventral granüler bez	106,43	22,93	-2,16	<0,05

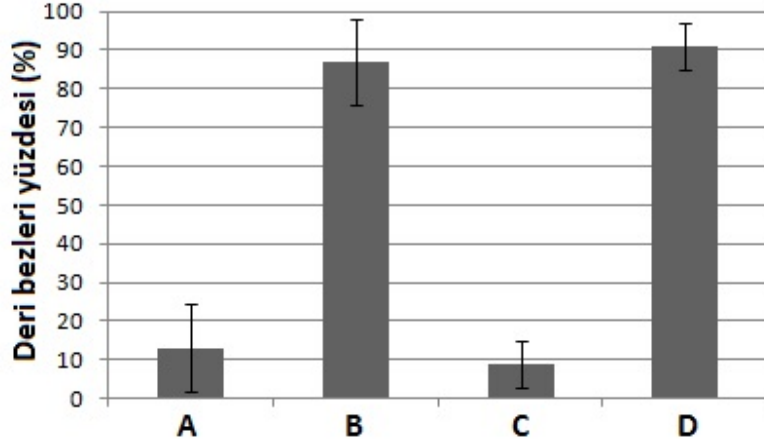
Tablo 3.4.1. Deri bezleri çap ölçümleri. Her örneğin dorsal ve ventral bölgelerinden 100 mukoz ve 100 granüler bez ölçülmüştür. Mann-Whitney U-testi, anlamlılık değeri $p < 0,05$



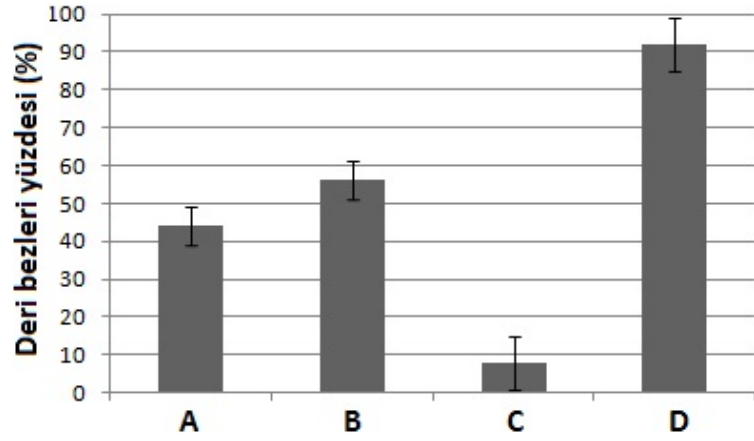
Şekil 3.4.2. *S. inframaculata*'da dermal bezlerin çap ölçümlerinin box-plot (kutu grafiği) ile gösterilmesi. Kutunun üst ve alt sınırları sırasıyla Q3 (%75'lik değer) ve Q1'i (%25'lik değer) temsil etmektedir. Kutu grafiğinin içindeki orta çizgi %50'lik değeri göstermektedir. Kutunun yukarısına uzanan çizgi üst değeri, aşağıya uzanan çizgi en alt değeri işaret etmektedir.



Şekil 3.4.3. *H. savignyi*'de dermal bezlerin çap ölçümlerinin box-plot (kutu grafiği) ile gösterilmesi. Kutunun üst ve alt sınırları sırasıyla Q3 (%75'lik değer) ve Q1'i (%25'lik değer) temsil etmektedir. Kutu grafiğinin içindeki orta çizgi %50'lik değeri göstermektedir. Kutunun yukarısına uzanan çizgi üst değeri, aşağıya uzanan çizgi en alt değeri işaret etmektedir.



Şekil 3.4.4. *S. inframaculata*'da dermal bezlerin yüzdesini gösteren histogram. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir. **A:** *S. inframaculata*'da dorsal granüler bez, **B:** *S. inframaculata*'da dorsal mukoz bez, **C:** *S. inframaculata*'da ventral granüler bez, **D:** *S. inframaculata*'da ventral mukoz bez.



Şekil 3.4.5. *H. savignyi*'de dermal bezlerin yüzdesini gösteren histogram. Hata çubukları standart sapmayı göstermektedir. **A:** *H. savignyi*'de dorsal granüler bez, **B:** *H. savignyi*'de dorsal mukoz bez, **C:** *H. savignyi*'de ventral granüler bez, **D:** *H. savignyi*'de ventral mukoz bez.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bir asırdan fazla bir süredir; amfibiler fizyoloji, embriyoloji, endokrinoloji, ekoloji, genetik, evrim, ilaç geliştirme ve koruma biyolojisi gibi çok çeşitli bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır (Haslam et al., 2014). Amfibi derisi; epidermal gelişim, savunma ve modelleme prensiplerinde önemlidir (Alibardi, 2006; Lillywhite, 2006). Amfibi derisi, iyon ve su transferi, solunum gibi hayati görevleri gerçekleştirmesi nedeniyle önemli bir organ olmasına rağmen, amfibi derisinin morfolojik ve fonksiyonel özellikleri ayrıntılı olarak anlaşılmış değildir (Duellman and Trueb, 1994; Stiffler et al., 1997; Hoffman and Katz, 1999; Sullivan et al., 2000). Son yıllarda farklı anur türlerinin derisi üzerine yapılan morfolojik ve histolojik çalışmalar (de Brito-Gitirana and Azevedo, 2005; Felsemburgh et al., 2007, 2009; Gonçalves and de Brito-Gitirana, 2008; Mangione et al., 2011) olsa da, semender türlerinin deri yapısı ve morfolojisi ile ilgili çalışmalar oldukça azdır.

S. infraimmaculata ve *H. savignyi* türlerinin derileri üzerine yaptığımız ışık mikroskobu incelemelerinde, deri tıpkı diğer omurgalılarda olduğu gibi epidermis ve epidermisi destekleyen bir bağ dokusu olan dermisten meydana gelmiştir. Dermis diğer amfibi türlerinde olduğu gibi salgı bezlerinin konumlandığı süngerimsi dermis ve kompakt dermisten oluşmuştur (Fox, 1986; Duellman and Trueb, 1994; Rigolo et al., 2008; Bingöl Ozakpınar and Murathanoglu, 2011; Akat and Arıkan, 2013; Akat et al., 2014). Hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* epidermisi tıpkı *Lithobates catesbeianus* (Pelli et al., 2010), *Lyciasalamandra billae* ve *L. luschani basoglui* (Akat et al., 2014)'de olduğu gibi çok katlı yassı epitel dokudan oluştuğu ve epidermiste keratinizasyonun zayıf olduğu görülmüştür. Ancak *Rhinella icterica* (önceden *Bufo ictericus*)'da ve *Tylotriton taliangensis*'te epidermiste belirgin keratinizasyon varlığı gösterilmiştir (de Brito-Gitirana and Azevedo, 2005; Wang et al., 2011). Keratinizasyon derecesi hayvanın karasal ortama adaptasyonu ile ilişkilidir. Çünkü keratin, epitel hücrelerini mekanik strese karşı korur (Gu and Coulombe, 2007; Pelli et al., 2010). Ancak amfibi derisi oksijene ve karbondioksit geçiirgenliği yüksek olması nedeniyle deri solunumu yaptığı için karasal diğer

tetrapodlardaki gibi deride keratinizasyon derecesinin çok yüksek olması beklenen bir durum değildir.

S. infraimmaculata'da hem dorsal hem de ventral deri örneklerinde bazal membranın altında melanoforlar görülmüştür. Ancak *H. savignyi* deri örneklerinde sadece dorsal tarafta bazal membranın altında melanoforlar görülmüştür. Melanin, tirozin oksidasyonu sonucu oluşan biyolojik bir pigmenttir. Melanin pigmentinin ultraviyole ışını (UV) etkili oranda absorbe ederek UV'nin zararlı etkilerinden yapıyı koruma, termoregülasyon, kamuflaj ve antibiyotik özelliği gibi görevleri olduğu rapor edilmiştir (Riley, 1997).

S. infraimmaculata ve *H. savignyi* türlerinin dermislerinde yaygın olarak bulunan deri bezlerinin, her iki türün hem dişi hem de erkek bireylerinde granüler ve mukoz tip olmak üzere iki çeşit olduğu tespit edilmiştir. Bez tipleri bezlerin histomorfolojisine ve uygulanan histokimyasal boyalar ile verdikleri reaksiyona göre tespit edilmiştir. Amfibi deri bezleri ile ilgili yapılan çalışmaların bazılarında; *R. icterica* (de Brito-Gitirana and Azevedo, 2005), *Cycloramphus fuliginosus* (Gonçalves and de Brito-Gitirana, 2008), *T. taliangensis* (Wang et al., 2011), *L. billae* ve *L. luschni basoglui* (Akat et al., 2014) türlerinde dermiste mukoz ve seröz (=granüler, zehir) bez tipleri olmak üzere iki farklı bez tipi ayırt edilmiştir. Ancak bazı araştırmacılar mukoz ve seröz bezler dışında yağ ve seromukoz bezler olarak iki farklı deri bezi daha rapor etmişlerdir. *Phyllomedusa sauvagei* ve *Litoria caerulea* deri örneklerinde lipid salgılayan özelleşmiş deri bezlerinin varlığı tespit edilmiştir (Blaylock et al., 1976; Christian et al., 1988). Farklı bez tipi olan yağ bezleri evrimsel süreç içerisinde dehidrasyon stresine karşı gelişmiş olabilir. Yine başka bir çalışmada, bir semender türü olan *Triturus karelinii* derisinde mukoz, seröz ve seromukoz olmak üzere üç farklı bez incelenmiştir (Bingöl Ozakpınar and Murathanoglu, 2011). Ayrıca bir kuyruksuz kurbağa türü olan *Fejervarya cancrivora*'da seromukoz bezin varlığı rapor edilmiştir (Seki et al., 1995).

Histolojik ve histokimyasal uygulamaların ardından ışık mikroskobu incelemeleri sonucunda, bezlerin basit alveolar yapıda, epidermisin altında ve süngerimsi dermis tabakasında konumlandığı tespit edilmiştir. Bezler kanal ve

salgılama birimlerinden oluşmuş ve miyoepitel hücreler ile çevrelenmiştir. Salgı ürünleri epidermis içinden geçen kanal aracılığıyla deri yüzeyine boşaltılır. Balıklarda dermiste dermal bezlerin olmadığı, fakat epidermiste mukus hücrelerinin varlığı rapor edilmiştir. Bu hücrelerden salgılanan mukusun vücutta iyon dengesini sağlama, termoregülasyon, deriyi tahribat ve darbeye karşı koruma gibi görevleri olduğu bildirilmiştir (Quiniou et al., 1998).

Amfibi deri bezi salgıları; protein, peptid, steroid, alkaloid, biyojenik amin ve lipid gibi çok çeşitli bileşenleri içerdiği rapor edilmiştir (Daly et al., 1987; Erspamer, 1994; Clarke, 1997; Shepherd et al., 1998; Maciel et al., 2003; Felseburgh et al., 2007). Bu salgılar predatörlere karşı korunma, mikrobiyal gelişime karşı antibiyotik etki gösterme, deri solunumuna yardımcı olma, iyon transferi, ozmoregülasyon ve su emilimi gibi görevleri sağladığı bildirilmiştir (Yoshie et al., 1985; Erspamer, 1994).

Preparatlara uygulanan histokimyasal boyamalar sonucunda boyanın çeşidine göre bezlerin pozitif veya negatif reaksiyon verdikleri gözlenmiştir. PAS+HE boyamasından sonra mukoz bezlerinin içeriğinin pembe tonlarda boyanması salgının kimyasal bileşiminin nötral glikoprotein yapıda olduğunu göstermiştir. *S. infraimmaculata* deri örneklerinde mukoz bezler PAS ile pozitif reaksiyon verirken, *H. savignyi* deri örneklerinde mukoz bez tipi PAS ile reaksiyon vermemiştir. Alcian blue (AB) pH 2.5 boyamasından sonra ise mukoz bezlerinin içeriğinin mavi tonlarda boyanması mukus içeriğinin asidik mukopolisakkarit yapısında olduğunu göstermiştir. *S. infraimmaculata* deri örneklerinde mukoz bezler AB ile pozitif reaksiyon verirken, *H. savignyi* deri örneklerinde mukoz bez tipi AB ile reaksiyon vermemiştir. Park (1974), *Rana nigromaculata*'da AB histokimyasal boyamanın ardından asidik mukopolisakkaritlerin varlığını ortaya koymuştur. Diğer taraftan Brizzi vd. (2002) amfibi derisi üzerine yaptığı çalışmada, *Rana italica* mukoz bezleri AB boyama metodu ile pozitif reaksiyon vermemiştir. Mukoz bezlerin salgılarının solunumda gaz alışverişini sağlama, deriyi nemli tutarak hayvanın kurumasını önleme, deriye kayganlık sağlayarak derideki aşınmayı ve tahribatı önleme, termoregülasyonu sağlama, çeşitli iyonların taşınmasını sağlayarak hayvanın yaşamsal faaliyetlerini yerine getirmesinde önemli roller üstlendiği pek çok araştırmacı tarafından da

rapor edilmiştir (Yoshie et al., 1985; Erspamer, 1994; Fox, 1994; Barthalmus, 1994; Duellman and Trueb, 1994; Alvarez et al., 1999; Brizzi et al., 2002). Hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* deri örneklerinde granüler bezlerin PAS ve AB histokimyasal boyamaları ile reaksiyon vermediği gözlenmiştir.

Amfibilerin çoğu su içme davranışı göstermezler. Amfibilerde su dengesinin korunması deri yoluyla gerçekleştirilir. Özellikle yarı sucul ve karasal amfibilerde su geçişinin büyük bir bölümü pelvik ve ventral bölge derileri ile gerçekleştirilmektedir (Hoffman and Katz, 1999; Sullivan et al., 2000). Deri bezleri üzerine yaptığımız sayısal analizlere göre, hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* türlerinde ventral tarafta mukoz bezlerin sayıca granüler bezlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yine her iki türde de ventral tarafta bulunan mukoz bezlerin çaplarının dorsal tarafta bulunan mukoz bezlerin çaplarından daha büyük olduğu gösterilmiştir.

Mallory trichrome uygulaması sonrasında, granüler bezlerin içeriğinin koyu pembe tonlarda boyanmış olması ile granüler bezlerin içeriğinin kimyasal yapısının protein yapıda olduğu anlaşılmıştır. Seröz içerikli bezler başlıca pasif savunmadan sorumlu olup omurgalıların pek çok türüne karşı toksik salgı üretirler (Noble, 1931; Brodie et al., 1974; Brodie, 1977; Toledo et al., 1992; Toledo and Jared, 1995). Bu salgılar bazen zehirli olmasa da tahriş edici etki gösterebilir. Ayrıca seröz salgıların antimikrobiyal, antifungal ve antiviral özelliği vardır (Dülger et al., 2004, Karagöz et al., 2002). Ayrıca seröz bezlerin salgıları predatöre karşı amfibilerin korunma mekanizmasıdır (Barthalmus, 1994; Toledo and Jared, 1995). Yaptığımız biyometrik analizlerde her iki türde de dorsal bölgede bulunan granüler bezlerin çaplarının ventral bölgedeki granüler bez çaplarından daha büyük olduğu ve istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görülmüştür. Dorsal bölgedeki granüler bezlerin yüzdesinin ventral bölgedeki granüler bezlerin yüzdesinden daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Aynı sonuçlar bazı araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Bingöl Ozakpınar and Murathanoglu, 2011; Akat and Arıkan, 2013). Vücudun dorsal tarafında daha çok oranda granüler bezlerin bulunması antimikrobiyal aktivite ve granüler bezlerin sekresyonunun predatörlere karşı korunma stratejisi ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Amfibilerde deride yaygın olarak görülen mukoz ve seröz bezlerden başka özelleşmiş mukoz ve seröz bezlerin de bulunduğu bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Brizzi vd. (2002) yaptıkları çalışmada, bazı *Rana* türlerinde dorsal bölgede pektoral kemer hizasındaki deride normal mukoz bezlerden daha büyük ve boyanma özellikleri ile de farklı olan mukoz bezlerin varlığını rapor etmişlerdir. Bu bezlerin sadece ses kesesi olmayan erkek bireylerde görülmesinin bu bireylerde tür içi iletişimin ses yoluyla değilde kimyasal yolla gerçekleşmekte olabileceğini göstermiştir. Aynı zamanda sadece erkek bireylerde bu tür özelleşmiş mukoz bezlerin varlığı bu bezlerin seksüel dimorfik bir karakter olduğunu da göstermiştir. Anurlarda yapılan başka bir çalışmada, seksüel dimorfik deri bezlerinden özelleşmiş mukoz bezleri sadece erkek bireylerde görülürken dişi bireylerde görülmemiştir (Thomas et al., 1993). *Microhyla carolinensis*'te de benzer bir durum rapor edilmiştir. Bu türde ise erkek bireylerin ventral bölgesinde pektoral kemer hizasında yumurtlama bezleri olarak özelleşmiş mukoz bezlerin var olduğu ve bu bez tipinin yumurtlama döneminde erkek bireyin dişi bireye tutunmasını sağladığı bildirilmiştir. Çünkü normalde erkek birey dişiden oldukça küçüktür. Dişi birey amplexus durumunda tam olarak kucaklanamaz. Ancak bu bezler aracılığıyla erkek birey dişi bireye sıkıca bağlanmaktadır. Rahatsız edilme durumunda bile bu hayvanlar birbirinden ayrılmazlar. Histokimyasal olarak bu bezlerin reaksiyonlarının mukoz bezlerden farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu bezlerin de seksüel dimorfik bezler olduğu bildirilmiştir (Conaway and Metter 1967).

Yaptığımız bu çalışmada, özelleşmiş mukoz bezlere rastlanmamıştır. Bununla beraber, hem urodelerde hem de anurlarda özelleşmiş seröz bezler görülmektedir. Genel olarak makrobezler olarak adlandırılan bu bezler vücudun değişik yerlerinde bulunabilmektedir. Parotoid, paraknemid, lumbar, hedonik ve pektoral makrobezler özelleşmiş seröz bezlere örnek olup genel olarak üreme ve savunmada özelleşmişlerdir (Toledo and Jared 1995).

Parotoidler; anurlardan Bufonidae, Hylidae (Phyllomedusinae), urodelerden Salamandra, Ambystoma, Lyciasalamandra ve Mertensiella cinslerine ait türlerde görülmektedir (Özeti ve Yılmaz, 1994; Williams and Larsen, 1986; Toledo and Jared, 1995; Hostetler and Cannon, 1974; Cannon and Hostetler, 1976, Toledo et

al., 1992; Licht and Sever, 1993; Antoniazzi et al., 2013). Paratoid ya da parotid yerine parotoid kelimesinin kullanılması hem literatür bilgisi dikkate alındığında hem de etimolojik açıdan daha uygundur (Cannon and Palkuti, 1976; Tyler et al., 2001). Paratoidler gözün arkasında konumlanan ve en iyi bilinen makro bezlerdir. *S. infraimmaculata* türünde parotoid bölgeden alınan kesitler incelendiğinde, mukoz ve granüler bezler dışında özelleşmiş seröz içerikli bezler görülmüştür. Bu özelleşmiş bezlerin parotoid bölgede konumlanması da stratejik açıdan önemlidir. Çünkü karasal olan bu semenderin hareketinin yavaş olması nedeniyle predatörleri tarafından onun baş bölgesinden yakalanıp yutulmasını önlemektedir. Çünkü ağız mukozası kan damarları açısından zengindir ve ağız mukozası epitelinin geçirgenliği fazladır (Shojaei, 1998). Bu bakımdan parotoid bezlerin konumu predatörlerden savunma açısından oldukça önemlidir. Parotoid bölge hem erkek hem de dişilerde görülebilmektedir. Granüler ve parotoid bezlerin salgıları diğer hayvanlar için çok toksik olabilir (Lutz, 1966; Barthalmus, 1994; Toledo and Jared, 1995; Clarke, 1997). Anurlardan *Bufo* genusuna ait türlerin deri salgıları ile yapılan çalışmalarda toksik etkiye sahip steroidler tespit edilmiştir. Bu salgıların birçok omurgalının özellikle de yılanların ağız mukozası ile temas etmesi sonucu hayvanın kalp atış hızında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Habermehl, 1981).

Glikozaminoglikanlar amino şeker türevlerinin tekrarlanan disakkarit birimlerinden oluşur. Hidroksil, karboksil ve sülfat gruplarından dolayı hidrofilik özellik gösterirler. Kıkırdak, kemik, öz bağ dokusu gibi dokularda hücreler arası zemin maddesini meydana getiren hyaluronik asit, kondroitin sülfat, keratan sülfat, heparin, heparan sülfat, dermatan sülfat gibi çeşitleri bulunmaktadır (Akay, 2006; Necas, 2008). Hyaluronik asitin birçok biyolojik sürece aktif olarak katıldığı ve onları düzenlediği son yıllarda yapılan çalışmalar ile ortaya çıkmıştır. Hyaluronik asit; hücre çoğalması, hücre göçü, hücre-hücre etkileşimi, kanser ve damar hastalıklarında etkilidir (Toole, 1997; Göransson, 2001; Toole et al., 2002; Turley et al., 2002).

Floresan mikroskop ile yaptığımız incelemelere göre, hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* türlerinde hyaluronik asit dermiste ve mukoz bezlerin etrafında süngerimsi dermiste yaygın olarak gözlemlendi. Hyaluronik asit

dermiste bir su bariyeri gibi görev görmekte ve muhtemelen suyun epidermise doğru akmasını sağlamaktadır. Bu nedenle derinin nemliliği ve kayganlığı sağlanarak mekanik sürtünmeye karşı deri korunmaktadır. Çalışmamızla uyumlu olarak hyaluronik asitin en önemli bağ doku matriks bileşeni olduğu ve su tutma özelliği nedeniyle doku hidrasyonunu sağladığı rapor edilmiştir (Elkan, 1968; Laurent et al.,1996).

Hyaluronik asit dokunun viskozitesini arttırarak, dokunun geçirgenliğinin azalmasına neden olur. Hyaluronidaz enzimi, hyaluronik asiti hidrolize ederek dokunun geçirgenliğini arttırmaktadır. Bu nedenle tıpta, ilacın dokuda hızlı bir şekilde yayılması için bazı ilaçların uygulanması esnasında hyaluronidaz kullanılmaktadır. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Clostridium perfringens* gibi bazı bakteriler dokularda hareketlerini arttırmak için hyaluronik asiti hidrolize eden hyaluronidaz üretirler (Ponnuraj and Jedrzejewski, 2000; Lin and Stern, 2001; Lokeshwar et al., 2002; Hajjaji et al., 2005; Kim et al., 2005; Girish and Kemparaju, 2006; Necas et al., 2008). Literatür bilgilerine dayanarak hyaluronik asitin kimyasallara, bakterilere ve diğer patojenlere karşı koruma fonksiyonu olması muhtemeldir. Bu nedenle hyaluronik asit temel olarak epidermisin altında süngerimsi dermiste konumlanarak kimyasal ve biyolojik etkilere karşı bariyer olarak görev yaptığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada hem *S. infraimmaculata* hem de *H. savignyi* türünde dorsal ve ventral deri örneklerinde mukoz ve granüler bez olmak üzere iki çeşit bez ayırt edilmiş, mukoz bezlerin ventralde, seröz bezlerin ise dorsalde daha çok sayıda bulunduğu, seröz bezlerin çaplarının mukoz bezlerin çaplarından daha büyük olduğu saptanmıştır. Özelleşmiş bezlerden parotoid bezlerin sadece *S. infraimmaculata* türünün her iki cinsiyetinde de bulunduğu görülmüştür. Ayrıca dermiste bezlerin etrafında konumlanan hyaluronik asitin, mukoz bezler ile birlikte deride su dengesini sağlamanın yanı sıra kimyasal ve biyolojik bir savunma hattı oluşturduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akat, E. and Arikan, H.**, 2013, Morphology and Biometric Study of Skin of *Hyla orientalis* Bedriaga, 1890 (Anura, Hylidae), *Russian Journal of Herpetology*, 20(4):253-258.
- Akat, E., Arikan, H. and Göçmen, B.**, 2014, Investigation of dorsal/ventral skin and the parotoid region of *Lyciasalamandra billae* and *Lyciasalamandra luschni basoglui* (Urodela: Salamandridae), *Biologia*, 69(3):389-394.
- Akay, M.T.**, 2006, Genel Histoloji, Palme Yayıncılık Ankara, Türkiye 262s.
- Alibardi, L.**, 2006, Structural and immunocytochemical characterization of keratinization in vertebrate epidermis and epidermal derivatives, *International Review of Cytology*, 253:177-259.
- Alvarez, B., Brizzi, R., Delfino, G., Jantra, S. and Sever, D.M.**, 1999, Let's take a look at amphibian cutaneous glands. 10th Ordinary General Meeting of Societas Europaea Herpetologica, Irakleio, 6-10 September 1999, 169-171 pp.
- Antoniazzi, M.M., Neves, P.R., Mailho-Fontana, P.L., Rodrigues, M.T. and Jared, C.**, 2013, Morphology of the parotoid macroglands in Phyllomedusa leaf frogs, *Journal of Zoology*, 291(1):42-50.
- Balazs, E.A., Laurent, T.C. and Jeanloz, R.W.**, 1986, Nomenclature of hyaluronic acid, *Biochemical Journal*, 235(3): 903.
- Bartholmus, G.T.**, 1994, Biological roles of amphibia skin sections. In: H. Heatwole and G.T. Bartholmus (eds): Amphibian Biology. Vol. 1, The Integument. Chipping Norton, NSW, Australia: Surrey Beatty and Sons, 382-410 pp.
- Bingol-Ozakpınar, O. and Murathanoglu, O.**, 2011, The morphology of the dorsal and ventral skin of *Triturus karelinii* (Caudata: Salamandridae), *Biologia*, 66(2):349-356.
- Blaylock, L.A., Ruibal, R. and Platt-Alola, K.**, 1976, Skin structure and wiping behaviour of Phyllomedusine frogs, *Copeia*, 283-295.
- Brizzi, R., Calloni, C. and Delfino, G.**, 1991, Tail Base Glands in European Plethodontid Salamanders with Some Comments on Their Biological and Phylogenetic Significance, *Amphibia-Reptilia*, 12:357-372.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Brizzi, R., Calloni, C., Delfino, G. and Jantra, S.,** 2000, Structural and ultrastructural observations on antipredatory cutaneous glands in *Triturus marmoratus*, *Museo Regionale di Scienze Naturali, Torino*, 8:199-205.
- Brizzi, R., Delfino, G. and Pelegrini, R.,** 2002, Specialized mucous glands and their possible adaptive role in the males of some species of Rana (Amphibia, Anura), *Journal of Morphology*, 254:328-341.
- Brodie Jr, E.D.,** 1977, Salamander antipredator postures, *Copeia*, 523-535.
- Brodie Jr, E.D., Hensel Jr, J.L. and Johnson, J.A.,** 1974, Toxicity of the Urodele Amphibians Taricha, Notophthalmus, Cynops and Paramesotriton (Salamandridae), *Copeia*, 2:506-511.
- Budak, A. ve Göçmen, B.,** 2005, Herpetoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, No. 194, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- Cannon, M.S. and Hostetler, J.R.,** 1976, The anatomy of the parotoid gland in Bufonidae with some histochemical findings II. *Bufo alvarius*, *Journal of morphology*, 148(2):137-159.
- Cannon, M.S. and Palkuti, G.A.,** 1976, The 'parotoid' gland of Bufonidae, *Toxicon*, 14(2):149-151.
- Christian, K., Parry, D. and Green, B.,** 1988, Water-loss and an extraepidermal lipid barrier in the Australian treefrog *Litoria caerulea*, In *American Zoologist*, 28(4):A17.
- Clarke, B.T.,** 1997, The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications, *Biological Reviews*, 72:365-379.
- Conaway, C.H. and Metter, D.E.,** 1967, Skin glands associated with breeding in *Microhyla carolinensis*, *Copeia*, 672-673.
- Çevikbaş, A.,** 1978, Antibacterial activity in the skin secretion of the frog *Rana ridibunda*, *Toxicon*, 16(2):195-197
- Daly, J.W., Myers, C.W. and Whittaker, N.,** 1987, Further classification of skin alkaloids from neotropical poison frogs (Dendrobatidae), with a general survey of toxic/noxious substances in the amphibia, *Toxicon*, 25(10):1023-1095.
- de Brito-Gitirana, L. and Azevedo, R.A.,** 2005, Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae), *Micron*, 36(6):532-538.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Delfino, G.**, 1991, Ultrastructural aspects of venom secretion in anuran cutaneous glands. In: A. T. Tu (ed.), Handbook of Natural Toxins, Vol. 5, Reptile Venom and Toxins, Marcel Dekker, Inc., New York, 777-802 pp.
- Duellman, W.E. and Trueb, L.**, 1994, Biology of Amphibians, (2nd edn.) Johns Hopkins University Press, London, 670 p.
- Dülger, B., Uğurtaş, İ.H. and Sevinç, M.**, 2004, Antimicrobial activity in the skin secretion of *Bufo viridis* (Laurenti, 1768), *Asiatic Herpetological Research*, 10:161-163.
- Elkan, E.**, 1968, Mucopolysaccharides in the anuran defence against desiccation, *Journal of Zoology*, 155:19-53.
- Erspamer, V.**, 1994, Bioactive secretions of the amphibian integument, in: H. Heatwole (ed.), Biology of Amphibians: The Integument, Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, Australia, 179-315 pp.
- Felsemburgh, F.A., Carvalho-e-Silva, S.P. and de Brito-Gitirana, L.**, 2007, Morphological characterization of the anuran integument of the Proceratophrys and Odontophrynus genera (Amphibia, Anuran, Leptodactylidae), *Micron*, 38(5):439-445.
- Felsemburgh, F.A., de Almeida, P.G., de Carvalho-e-Silva, S.P. and de Brito-Gitirana, L.**, 2009, Microscopical methods promote the understanding of the integument biology of *Rhinella ornata*, *Micron*, 40(2):198-205.
- Fox, H.**, 1986, The skin of Amphibia. Epidermis, In: Bereiter-Hahn J., Matoltzky A.G. and Richards S. (eds), Biology of the Integument Vol. 2. Vertebrates, Springer, Berlin, 855 p.
- Fox, H.**, 1994, The structure of the integument, In: H. Heatwole and G.T. Barthalmus (eds): Amphibian Biolgy. Vol. 1. The Integument. Chipping Norton, NSW, Australia: Surrey Beatty and Sons, 1-32 pp.
- Gammill, W.M., Fites, J.S. and Rollins-Smith, L.A.**, 2012, Norepinephrine depletion of antimicrobial peptides from the skin glands of *Xenopus laevis*, *Developmental and Comparative Immunology*, 37:19-27.
- Gill, G.W., Frost, J.K. and Miller, K.A.**, 1974, A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation, *Acta Cytologica*, 18:300-311.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Girish, K.S. and Kemparaju, K.**, 2006, Inhibition of *Naja naja* venom hyaluronidase: Role in the management of poisonous bite, *Life Sciences*, 78:1433-1440.
- Gonçalves, V.F. and de Brito-Gitirana, L.**, 2008, Structure of the sexually dimorphic gland of *Cycloramphus fuliginosus* (Amphibia, Anura, Cycloramphidae), *Micron*, 39(1):32-39.
- Göransson, V.**, 2001, Hyaluronan and Renal Fluid Handling. Studies during Normal and Pathological Conditions of Renal Function. Acta Universitatis Upsaliensis, Comprehensive, Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine 1090, Uppsala, 62 p.
- Gu, L.H. and Coulombe, P.A.**, 2007, Keratin function in skin epithelia: a broadening palette with surprising shades, *Current Opinion In Cell Biology*, 19(1):13-23.
- Gurr, E.**, 1956, A Practical Manual of Medical and Biological Staining Techniques (2nd edn.) Interscience Publishers, Inc., New York, 451 p.
- Habermehl, G.**, 1981, Venomous Animals and their Toxins, Springer Verlag, Berlin.
- Hajjaji, H.E., Cole, A.A. and Manicourt, D.H.**, 2005, Chondrocytes, synoviocytes and dermal fibroblasts all express PH-20, a hyaluronidase active at neutral pH, *Arthritis Research Therapy*, 7(4):756-768.
- Haslam, I.S., Roubos, E.W., Mangoni, M.L., Yoshizato, K., Vaudry, H., Kloepper, J.E., Pattwell D.M., Maderson P.F.A. and Paus, R.**, 2014, From frog integument to human skin: dermatological perspectives from frog skin biology, *Biological Reviews*, 89(3):618-655.
- Hecker, L., Madison, D.M., Dapson, R.W. and Holzherr, V.**, 2003, Presence of modified serous glands in the caudal integument of the Red-backed Salamander (*Plethodon cinereus*), *Journal of Herpetology*, 37(4):732-736.
- Hoffman, J. and Katz, U.**, 1999, Elevated plasma osmotic concentration stimulates water absorption response in a toad, *Journal of Experimental Zoology*, 284(2):168-173.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hostetler, J.R. and Cannon, M.S.**, 1974, The anatomy of the parotoid gland in Bufonidae with some histochemical findings. I. *Bufo marinus*. *Journal of morphology*, 142(2):225-239.
- Houck, L.D. and Sever, D.M.**, 1994, Role of skin in reproduction and behaviour, In: H. Heatwole and G.T. Barthalmus (eds): Amphibian biology. Vol. 1, The integument. Chipping Norton, NSW, Australia: Surrey Beatty and Sons, 351-381 pp.
- Karagöz, A., Kimiran, A. and Şengezer-İnceli, M.**, 2002, Search for Biological activities in *Rana ridibunda* (Anura-Amphibia) skin secretion, *Biologia*, 57(6):755-759.
- Kennett, E.C. and Davies, M.J.**, 2009, Glycosaminoglycans are fragmented by hydroxyl, carbonate, and nitrogen dioxide radicals in a site-selective manner: implications for peroxynitrite-mediated damage at sites of inflammation, *Free Radical Biology and Medicine*, 47(4):389-400.
- Kim, E., Baba, D., Kimura, M., Yamashita, M., Kashiwabara, S. and Baba, T.**, 2005, Identification of a hyaluronidase, Hyal5, involved in penetration of mouse sperm through cumulus mass, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102:18028-18033.
- Laurent, T.C. and Fraser, J.R.E.**, 1992, Hyaluronan, *The FASEB Journal*, 6(7):2397-2404.
- Laurent, T.C., Laurent, U.B.G. and Fraser, J.R.E.**, 1996, The structure and function of hyaluronan: An overview, *Immunology and Cell Biology*, 74(2):A1-A7.
- Licht, L.E. and Sever, D.M.**, 1993, Structure and development of the parotoid gland in metamorphosed and neotenic *Ambystoma gracile*, *Copeia*, 116-123.
- Lillie, R.D.**, 1951, The allochrome procedure; a differential method segregating the connective tissues collagen, reticulum and basement membranes into two groups, *American Journal of Clinical Pathology*, 21(5): 484-488.
- Lillywhite, H.B.**, 2006, Water relations of tetrapod integument, *Journal of Experimental Biology*, 209(2):202-226.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lillywhite, H.B. and Licht, P.**, 1975, A comparative study of integumentary mucous secretions in amfibians, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 51(4):937-941.
- Lin, G. and Stern, R.**, 2001, Plasma hyaluronidase (Hyal-1) promotes tumor cell cycling, *Cancer Letters*, 163:95-101.
- Lindemann, B. and Voute, C.**, 1976, The structure and function of the epidermis, in: R. Llinas and W. Precht (eds.), *Frog Neurobiology*, Springer Verlag, Berlin, 169 – 210 pp.
- Lokeshwar, V.B., Schroeder, G.L., Carey, R.I., Soloway, M.S. and Iida, N.**, 2002, Regulation of hyaluronidase activity by alternative mRNA splicing. *Journal of Biological Chemistry*, 277:33654-33663.
- Lutz, B.**, 1966, Biological significance of cutaneous secretions in toads and frogs. *Memórias do Instituto Butantan*, 33:55-59.
- Maciel, N.M., Schwartz, C.A., Junior, O.R.P., Sebben, A., Castro, M.S., Sousa, M.V., Fontes, W., Schwartz, E.N.F.**, 2003, Composition of indolealkylamines of *Bufo rubescens* cutaneous secretions compared to six other Brazilian bufonids with phylogenetic implications, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 134(4):641-649.
- Mangione, S., Garcia, G. and Cardozo, O.M.**, 2011, The Eberth–Katschenko layer in three species of ceratophryines anurans (Anura: Ceratophryidae), *Acta Zoologica*, 92(1):21-26.
- Necas, J., Bartosikova, L., Brauner, P. and Kolar, J.**, 2008, Hyaluronic acid (hyaluronan): a review, *Veterinarni Medicina*, 53:397-411.
- Noble, G.K.**, 1931, *The Biology of the Amphibia*, McGraw-Hill, New York.
- Özeti, N. ve Yılmaz, İ.**, 1994, Türkiye Amfibileri, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 151.
- Pantin, C.F.A.**, 1946, *Notes on Microscopical Technique for Zoologists*, Cambridge University Press, Cambridge, 75 p.
- Park, J.S.**, 1974, Histochemical study of the mucous gland of the frog (*Rana nigromaculata*) skin under dry conditions, *Korean Journal of Zoology*, 17:43-50.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pelli, A.A., Cinelli, L.P., Mourão, P.A.S. and de Brito-Gitirana, L.,** 2010, Glycosaminoglycans and glycoconjugates in the adult anuran integument (*Lithobates catesbeianus*), *Micron*, 41(6):660-665.
- Ponnuraj, K. and Jedrzejewski, M.,** 2000, Mechanism of hyaluronan binding and degradation: Structure of *Streptococcus pneumoniae* hyaluronate lyase in complex with hyaluronic acid disaccharide at 1.7 Å resolution, *Journal of Molecular Biology*, 299:885-895.
- Quiniou, S.A., Bigler, S., Clem, L.W. and Bly, J.E.,** 1998, Effects of water temperature on mucous cell distribution in channel catfish epidermis: a factor in winter saprolegniasis, *Fish and Shellfish Immunology*, 8(1):1-11.
- Rigolo, J.R., Almeida, J.A. and Ananias, F.,** 2008, Histochemistry of skin glands of *Trachycephalus aff. venulosus* Laurenti, 1768 (Anura, Hylidae), *Micron*, 39(1):56-60.
- Riley, P.A.,** 1997, Melanin, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 29(11):1235-1239.
- Seki, T., Kikuyama, S. and Yanaihara, N.,** 1995, Morphology of the skin glands of the crab-eating frog (*Rana cancrivora*), *Zoological Science*, 12(5):623-626.
- Shepherd, A.B., McDowell, W.T. and Martan, J.,** 1998, Skin glands of *Hyla japonica*, *Journal of Herpetology*, 32(4):598-601.
- Shojaei, A.H.,** 1998, Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(1):15-30.
- Sjöberg, E. and Flock, Å.,** 1976, Innervation of skin glands in the frog. *Cell and Tissue Research*, 172:81-91.
- Staub, N.L. and Paladin, J.,** 1997, The presence of modified granular glands in male and female *Aneides lugubris* (Amphibia: Plethodontidae), *Herpetologica*, 53(3):339-344.
- Steedman, H.F.,** 1950, Alcian blue 8G: a new stain for mucin, *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 91:477-479.
- Stiffler, D.F., Eskandari, S. and Dejbakhsh, S.,** 1997, Cutaneous transport of Ca^{2+} in the frog *Rana pipiens*: significance and specificity, *Journal of Experimental Zoology*, 277(5):371-381.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sullivan, P.A., Hoff, K.S. and Hillyard, S.D.**, 2000, Effects of anion substitution on hydration behavior and water uptake of the red-spotted toad, *Bufo punctatus*: is there an anion paradox in amphibian skin? *Chemical Senses* 25(2):167-172.
- Thomas, E. O., Tsang, L. and Licht, P.**, 1993, Comparative histochemistry of the sexually dimorphic skin glands of anuran amphibians, *Copeia*, 133-143.
- Toledo, R. C. and Jared, C.**, 1993, Cutaneous adaptations to water balance in amphibians, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105:593-608.
- Toledo, R. C., Jared, C. and Brunner Jr., A.**, 1992, Morphology of the large granular alveoli of the parotoid glands in toad (*Bufo icterus*) before and compression, *Toxicon*, 30(7):745-753.
- Toledo, R.C. and Jared, C.**, 1995, Cutaneous granular glands and amphibian venoms, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 111(1):1-29.
- Toole, B.P.**, 1997, Hyaluronan in morphogenesis, *Journal of Internal Medicine*, 242(1):35-40.
- Toole, B.P., Wight, T.N. and Tammi, M.I.**, 2002, Hyaluronan-cell interaction in cancer vascular disease, *Journal of Biological Chemistry*, 277:4593-4596.
- Turley, E.A., Noble, P.W. and Bourguignon, L.Y.**, 2002, Signaling properties of hyaluronan receptors, *Journal of Biological Chemistry*, 277:4589-4592.
- Tyler, M., Burton, T. and Bauer, A.**, 2001, Parotoid or parotid: on the nomenclature of an amphibian skin gland, *Herpetological Review*, 32(2):79-81.
- Wang, N.N., Liu, S.L. and Zeng, L.**, 2011, Histological observation on skin of *Tylototriton taliangensis*, *Sichuan Journal of Zoology*, 30(1):66-68.
- Williams, T.A. and Larsen, J.H.**, 1986, New function for the granular skin glands of the eastern long-toed salamander, *Ambystoma macrodactylum columbianum*, *Journal of Experimental Zoology*, 239(3):329-333.
- Yoshie, S., Toshihiko, I. and Tsuneo, F.**, 1985, Coexistence of bombesin and 5-hydroxytryptamine in the cutaneous gland of the frog, *Bombina orientalis*, *Cell and Tissue Research*, 239(1):25-29.

ÖZGEÇMİŞ

Esra AKAT 26.06.1985 tarihi'nde Kars'ta doğdu. İlk ve orta öğrenimini Özkanlar İlköğretim Okulu'nda 1999 yılında tamamladı. Lise öğrenimini Mustafa Kemal Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nde 2003 yılında bitirdi. 2003 yılında kayıtlı olduğu Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'ndan 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalı Yüksek Lisans programından 2010 yılında mezun oldu. Yine aynı yıl kayıtlı olduğu Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalı Doktora programına başladı. 2011 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. Halen Doktora programında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

Yayın Listesi

- 1- **Akat, E.**, Arıkan, H., Göçmen, B. (2014): Histochemical and biometric study of the gastrointestinal system of *Hyla orientalis* (Bedriaga, 1890) (Anura, Hylidae). European Journal of Histochemistry 58:291-295.
- 2- **Akat, E.**, Göçmen, B. (2014): A histological study on hepatic structure of *Lyciasalamandra arikani* (Urodela: Salamandridae). Russian Journal of Herpetology. 21(3):201-204.
- 3- **Akat, E.**, Arıkan, H., Göçmen, B. (2014): Investigation of dorsal/ventral skin and the parotoid region of *Lyciasalamandra billae* and *Lyciasalamandra luschni basoglu* (Urodela: Salamandridae). Biologia 69(3): 389-394.
- 4- **Akat, E.**, Arıkan, H. (2013): A histological study of the eye in *Hyla orientalis* (Bedriaga, 1890) (Anura, Hylidae). Biharean Biologist 7(2):61-63.
- 5- **Akat, E.**, Arıkan, H. (2013): Morphology and biometric study of skin of *Hyla orientalis* Bedriaga, 1890 (Anura, Hylidae). Russian Journal of Herpetology. 20(4):253-258.
- 6- Çakıcı, Ö., **Akat, E.** (2013): Propanil-induced histopathological changes in the liver and kidney of mice. Analytical and Quantitative Cytopathology and Histopathology 35(3):163-170.
- 7- Çakıcı, Ö., **Akat, E.** (2013): Some histological and histochemical characteristics of the digestive tract of the snake-eyed lizard, *Ophisops elegans* Menetries, 1832 (Squamata: Lacertidae). North-Western Journal of Zoology 9(2):257-263.

- 8- Çakıcı, Ö., Akat, E. (2013): Effects of oral exposure to diazinon on mice liver and kidney tissues: Biometric analyses of histopathologic changes. *Analytical and Quantitative Cytopathology and Histopathology*. 35(1):7-16.
- 9- Çakıcı, Ö., Akat, E. (2012): Histopathological effects of carbaryl on digestive system of snake-eyed lizard, *Ophisops elegans*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 88(5):685–690.
- 10- Çakıcı, Ö., Akat, E. (2012): Histopathological effects of carbaryl on testes of snake-eyed lizard, *Ophisops elegans*. *Environmental Science and Pollution Research* 19(1):64–71.
- 11- Akat, E., Çakıcı, Ö., Dinçaslan, Y.E., Arıkan, H. (2011): Histochemical and histological investigations on Duvernoy's gland in *Natrix tessellata* (Squamata: Colubridae). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 17(2):285–289.