

Pre ve Post Embriyonik Dönemdeki Cıvcıvlerin Kalp Ventrikülleri ve Purkinje Hücrelerine Histokimyasal Bir Yaklaşım

Gamze TURGAY-İZZETOĞLU^{1*}, İnci TURAN-ÖZGAN², Servet YALÇIN³

^{1,2}Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı Bornova-İZMİR, ³Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı Bornova-İZMİR

¹<https://orcid.org/0000-0001-9828-2402>, ²<https://orcid.org/0000-0003-3622-2257>, ³<https://orcid.org/0000-0003-4194-0536>

✉: gamze.turgay@ege.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada embriyo ve cıvcıvlerde kalp ventrikül duvarı, iletim sistemi ve Purkinje hücreleri üzerine yumurta ağırlığı ve damızlıkların gelişim hızının etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla hızlı gelişen Ross 308 ve yavaş gelişen Hubbard JA genotipindeki damızlık sürülerinden elde edilen tavuk yumurtaları hafif (64±1g) ve ağır (72±1g) olarak iki gruba ayrılmıştır. Kuluçkanın 18. ve 21. günlerinde alınan kalp ventriküllerinin boyuna kesitlerine farklı histokimyasal boyalar uygulanarak, ventrikül duvarı, iletim sistemi ve Purkinje hücreleri incelenmiştir. Genotipin gelişim hızı ve yumurta ağırlığı, kalp ventriküllerinde histoloji açısından herhangi bir farklılığa yol açmamıştır. Ventrikül duvarlarında miyofibriller arası boşluk oluşumu ve kollajen-miyofibril yoğunluk farklılığı görülmüş, bu durumun embriyonik gelişimden kaynaklandığı düşünülmüştür. Histolojik bir çalışmada farklı histokimyasal boyaların kullanılması, organizmaların embriyonik gelişimlerinin takibinde farklı yapıların incelenmesine olanak sağlamaktadır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 07.07.2020

Kabul Tarihi : 15.09.2020

Anahtar Kelimeler

Cıvciv kalbi

Ventrikül duvarı

Purkinje hücreleri

Histokimya

A Histochemical Approach to Cardiac Ventricles and Purkinje Cells of Chicks in Pre and Post Embryonic Periods

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the effect of egg weight and growth rate of breeders on heart ventricle wall, conduction system and Purkinje cells in embryos and chicks. For this purpose, chicken eggs obtained from fast-growing Ross 308 and slow-growing Hubbard JA broiler breeders were divided into two groups as light (64±1g) and heavy (72±1g) eggs. The ventricle wall, conduction system and Purkinje cells were examined by applying different histochemical dyes to the longitudinal sections of the heart ventricles taken on the 18th and 21st days of the incubation. Genotype growth rate and egg weight did not cause any difference in the histology of the heart ventricles. The formation of inter-miyofibrillar space and collagen-miyofibril density difference were observed in the ventricular walls, which was thought to be due to the embryonic development. The use of different histochemical dyes in a histological study allows the examination of different structures following the embryonic development of organisms.

Research Article

Article History

Received : 07.07.2020

Accepted : 15.09.2020

Keywords

Chick heart

Ventricular wall

Purkinje cells

Histochemistry

Atıf İçin: Turgay İzzetoğlu G, Turan Özgan İ, Yalçın S 2021. Pre ve Post Embriyonik Dönemdeki Cıvcıvlerin Kalp Ventrikülleri ve Purkinje Hücrelerine Histokimyasal Bir Yaklaşım. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (3): 641-649. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.763059>.

To Cite: Turgay İzzetoğlu G, Turan Özgan İ, Yalçın S 2021. A Histochemical Approach to Cardiac Ventricles and Purkinje Cells of Chicks in Pre and Post Embryonic Periods. KSU J. Agric Nat 24 (3): 641-649. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.763059>.

GİRİŞ

Tavuklarda embriyonik gelişim sürecinde nörolasyondan önce mezoderm kısımlara ayrılarak notokorda (mediyo-dorsal mezoderm orijinli), somitler

(paraksiyal mezoderm orijinli) ve ürogenital sistem (intermediyer mezoderm orijinli) gibi yapılar oluşturulur. Geriye kalan lateral mezoderm ise ektoderm ile yakın ilişkili somatik mezoderm ve

endoderm ile ilişkili splanknik mezodermi meydana getirmek üzere iki tabakaya bölünür (Browder ve ark., 1991, Martinsen, 2005; Wesley, 2008; Özfiliz ve ark., 2010; Ünal, 2018). Splanchnik mezoderm hücreleri endoderm boyunca göç ederek ince duvarlı tüpler oluşturur. Bu tüpler orta hatta birleşerek kalbin endokardiyumunu meydana getirir. Splanchnik mezodermin geri kalan kısmı ise ileride miyokardla birlikte endokardı sarar. Kalp gelişimi anterio-posterior salınımlıdır ve bu yüzden ikili kalp tüpleri önce önde ve daha sonra sıralı olarak arka tarafta birleşirler (Browder ve ark., 1991, Gourdie ve ark., 2003; Martinsen, 2005; Wesley, 2008). Kan, kalbin ileride atriumu oluşturacak olan posterior ucuna akar ve gelişmekte olan aortik kemerler aracılığıyla ventriküle pompalanır (Browder ve ark., 1991; Wittig ve Münsterberg, 2016 ve 2019).

Embriyonun gelişimini 46 evrede tamamladığını belirleyen ve aynı zamanda kalp gelişiminin karmaşık olaylarını aşama gösteren Hamburger ve Hamilton, kalbin 14. evrede (50-53. saatler) atmaya başladığını tespit etmişlerdir (Hamburger ve Hamilton, 1951; Martinsen, 2005; Wittig ve Münsterberg, 2019). Dört günlük embriyoda, kalp lümenini çeviren endokardiyum hala tek hücre katmanı halindedir. Epimiyokardiyum ise iç ve dış olmak üzere iki bölgeye ayrılmıştır. İç bölüm miyokardiyum, dış bölüm ise epikardiyum olarak adlandırılır. Miyokardiyum önemli derecede kalınlaşmış ve hücreleri, kalp kası hücrelerinin gelişim özelliklerini göstermeye başlayıp uzamışlardır. Epikardiyum hücreleri kalbi örten bağ dokusu ve epiteliyi oluşturmak üzere yassılaşırlar (Tabakoğlu-Oğuz, 2001; Martinsen, 2005). Epikardiyum, miyokardiyumu sarar ve sonra epiteliyal-mezenşimal geçiş sürecinde epikardiyum türevi hücreleri oluşturur. Bu hücreler miyokarda göç eder ve ventriküler kompakt miyokardın indüksiyonunda ve Purkinje liflerinin farklılaşmasında önemli bir rol oynarlar (Martinsen, 2005; Groot ve ark., 2010). Yetişkin kalbi beş günlük inkübasyon ile oluşur. Endokardiyumdan ayrılan endokardiyal yastık hücreleri olarak bilinen ve bir grup hücrenin önemli şekilde artışı sonucu kalbin içini bölmelere ayıran septumlar oluşur (Browder ve ark., 1991; Martinsen, 2005).

Kalbin sağ ve sol atriyoventriküler (AV) kapakçıkları anatomik özelliklerinin yanı sıra iletim sistemiyle de yakından ilişkilidirler (Lu ve ark., 1993a). İletim sistemi; bir sinüs düğümü, AV düğüm, His demeti, sol ve sağ demet dallarına ek olarak, AV Purkinje halkası ve özel bir orta demet dalından oluşmaktadır (Martinsen, 2005; Dzialowski ve Crossley, 2015; van Eif ve ark., 2018). Sinoatriyal düğüm, sağ sinoatriyal kapağın alt kısmının tabanına yakındır. AV düğüm, triküspit kapağın hemen üstündedir. His demeti bu düğümün anterior ve inferior kenarından interventriküler septuma doğru iner ve daha sonra

sağa, sol ve orta dallara bölünür. Ortadaki demet, posteriordan aortun köküne doğru döner. AV Purkinje halkası proksimal AV düğümünden oluştuktan hemen sonra sağdaki AV kapağı çevreler ve orta demet ile birleşerek sekiz şeklinde bir şekil oluşturur (Lu ve ark., 1993b, Mikawa ve Hurtado, 2007; Fitzgerald ve Beaufrère, 2016).

Gelişim sırasında miyokardiyal kitle hızlı bir artış sürecine girer. Bu süre boyunca, miyokardiyal hipoksiyi engellemek için miyokardın farklı bölümleri olan trabeküller oluşur. Bu trabeküller aynı zamanda primordiyal iletim sistemi ağının bir parçasıdır (Sedmera ve ark., 2004). Trabeküller hızlı büyür ve embriyonik kalbin ilkel iletim sistemini oluşturur (De Jong ve ark., 1992). Düzenli kalp atışı özel bir kalp pili ve iletken hücre ağına bağlıdır. Bu kardiyak yapılar sinir benzeri özellikler gösterirler. Çok sayıda faktör, trabeküler miyositlerin iletim fenotipine doğru farklılaşmasına katkıda bulunur (Gourdie ve ark., 1998; Sedmera ve ark., 2004).

Tavuklarda kalp iletim sistemi P hücresi (kalbin atışını düzenleyici hücre), T hücresi (geçiş hücresi), Purkinje benzeri hücre ve Purkinje hücresi olmak üzere dört tip miyosit içerir. (1) P hücreleri; nispeten büyük bir nükleusa ve seyrek miyofibrillere sahip küçük ve yuvarlaktır. AV düğüm ve sinoatriyal (SA) düğümde bulunurlar. (2) T hücreleri; kalp kası hücrelerine göre çok daha küçüktür ve daha az mikrofibril içermektedir. Yapıları biraz kalp kası hücreleri biraz da Purkinje hücreleriyle benzerlik göstermektedir. İmpulsları P hücrelerinden kalp kası hücrelerine aktarmaktadır. Çok sayıda T hücresi P hücreleriyle beraber, gevşek lifli bağ dokusu kılıfıyla çevrelenmiş SA düğümü oluşturmaktadır. (3) Purkinje benzeri hücreler; tipik bir Purkinje hücresini andırır, ancak daha küçük ve daha koyu görünür. (4) Purkinje hücreleri; az sayıda miyofibrille sahip, iri hücrelerdir. Boyutları kalp kası hücrelerinin beş katına kadar ulaşabilmektedir. Bu sayede elektriksel impulsları çok daha hızlı iletebilirler. His demetinde, sağ ve sol demet dallarında ve periarteriyel ve subendokardiyal Purkinje ağında bulunurlar (Davies, 1930; Lu ve ark., 1993b; Strunk ve Wilson, 2003; Dzialowski ve Crossley, 2015). Bütün bu hücrelerin arasında ise bağ dokusu elemanlarından kollajen ve elastik lifler bulunmaktadır (James 1964; Tükmenoğlu ve ark., 2017).

Etlik civciv üretiminde kullanılan hızlı ve yavaş gelişen genotiplerin büyüme dönemlerinde gelişme hızı ve metabolik hızları farklıdır (Uçar ve ark., 2018; Sarıca ve ark., 2016; Sarıca ve Yamak, 2010). Bu genotiplerin embriyonik dönemde kalp ventrikülleri ve Purkinje hücrelerinin gelişime ilişkin bilgiye literatürde rastlanmamıştır. Ayrıca, embriyo gelişimini etkileyen en önemli etmenlerden biri yumurta ağırlığıdır (Yıldırım, 2005; Yalçın ve ark., 2013). Bu çalışmada hızlı ve yavaş gelişen damızlık

tavuklardan elde edilen, hafif ve ağır olarak sınıflandırılmış yumurtalarda gelişen embriyoların, kalp ventrikül duvarı, iletim sistemi ve Purkinje hücreleri karşılaştırılarak histokimyasal bakımdan yapılarının gösterilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Civciv Kalplerinin Eldesi

Çalışmada kullanılan tavuk yumurtaları hızlı gelişen Ross 308 ve yavaş gelişen Hubbard JA olmak üzere iki farklı genotipindeki damızlık sürülerinden elde edilmiş ve hafif (64±1g) ve ağır (72±1g) olarak iki gruba ayrılmıştır.

Kuluçkalama, standart koşullarda, giriş bölümünde 37.7°C sıcaklık ve %56 nem, çıkış bölümünde 37.5°C sıcaklık ve %65 nem altında yapılmıştır.

Her grup için tekrar sayısı 5 olacak şekilde gelişimlerinin 18. gününde kuluçkalama makinesinden alınıp, kabuğu kırılarak dışarıya çıkarılan embriyolar ve 21. günde gelişimlerini normal olarak tamamlayıp yumurtadan kendiliğinden çıkan civcivler servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldükten sonra ventral tarafları kesilerek kas tabakasının altından iç organlara ulaşılmıştır. Her iki güne ait, iç organlarına ulaşılan hayvanlardan çalışma materyali olan kalpler disekte edilip, fosfat tamponunda yıkanarak temizlenmiştir.

Histoloji-Histokimya

Her gruba ait örnekler Bouin fiksatifinde 24 saat süreyle tespit edilmiştir. Doku takibi aşamalarından sonra tüm gruplardan mikrotomda 5'er µ kalınlığında kesitler alınmıştır. Farklı kesitlere, Mayer Hematoksilen, Heidenhain'in Demirli Hematoksilen'i, Pollak'ın hızlı boyası, Mallory ve Gomori histokimyasal boyaları ayrı ayrı uygulanmıştır (Humason, 1962; Presnell ve Schreiberman, 1997; Öber, 2009). Kuruyan preparatlar Zeiss Axio Scope A1 marka mikroskopta incelenme sonrasında ZEN görüntü analiz yazılımı kullanılarak fotoğraflanmıştır.

Çalışma Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (2015-011).

BULGULAR

Embriyonal gelişimin 18.gününde kalp ventrikül duvarındaki kas fibrillerinin genel yapısıyla ilgili olarak deneme grupları arasında gözle görülür bir farklılık belirlemediği (Şekil 1). Kuluçkadan çıkışta 18. güne kıyasla kas fibril demetleri arasındaki bağ dokusunun fazlaştığı saptanmıştır (Şekil 1). Hızlı gelişen genotipin hafif ve ağır yumurtalarından çıkan civcivlerde bağ doku farklılığı gözlenmemiştir. Yavaş gelişenlerde ise yumurta ağırlığı bağ doku miktarını etkilemiş ve hafif yumurtalardan çıkan civcivlerde ağır yumurtadan çıkanlara göre bağ doku miktarında azalma saptanmıştır. (Şekil 1).

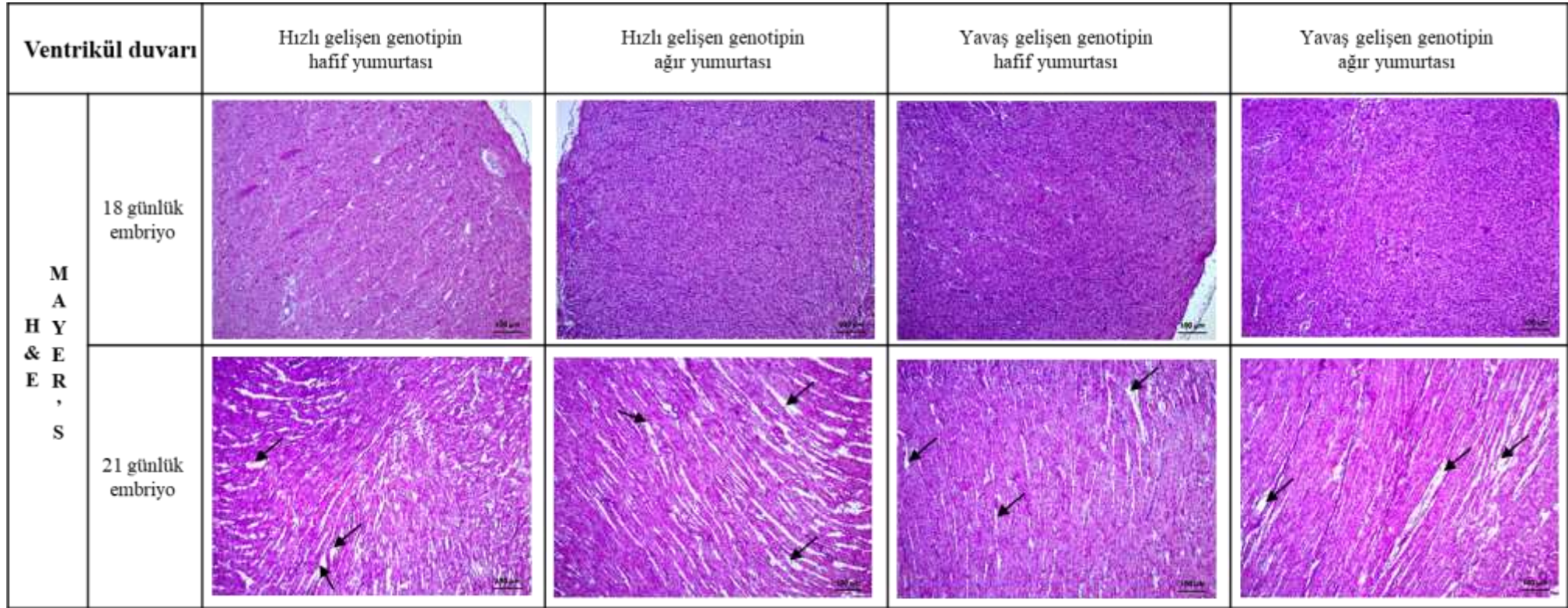
Mayer'in Hematoksilen-Eozin ile boyamada 18 ve 21 günlük kalp kasına ait fibril demetlerin görünümünde bir fark gözlenmemiştir (Şekil 1). Buna karşılık, Gomori, Pollak's ve Mallory ile verdikleri reaksiyonlara bağlı olarak kalp kası fibril demetlerinin, 18 günlük embriyo kesitlerinde mavi-yeşilken, 21 günlük civciv kesitlerinde kırmızı tonlarında olduğu görülmüştür (Şekil 2, 3). Bu fark, 21 günlük civciv kalplerinde kollajenin azalarak yerini kasılabilir miyofibrillere bıraktığını göstermektedir (Şekil 2, 3). Şekil 3'te Mallory ile boyanan kesitler detaylı olarak incelendiğinde, 18 günlük embriyo kalplerinde kollajenin yerini 21 günlük civciv kalplerinde kas dokununun bir elemanı olan kasılabilir miyofibrillere bıraktığı renk farkının yanında histolojik açıdan kollajen ve miyofibril ayrımı da gösterilerek desteklenmiştir.

Çalışmada deneme grupları Purkinje hücre yapıları histokimyasal bakımdan karşılaştırılarak incelenmiş ancak herhangi bir belirgin farka rastlanılmamıştır (Şekil 4). Purkinje hücrelerinin deneme gruplarının hepsinde hangi konumda olursa olsun (subendokardiyal, periarteriyal veya ventrikül duvarı içinde) uygulanan histolojik ve histokimyasal boyaların tamamında, nukleuslarının kardiyomiyosit nukleuslarına göre nispeten daha büyük ve yuvarlak, sitoplazmalarının kas fibrilleri açısından fakir olduğu ve bu sebeple daha açık renge boyandığı ayrı ayrı belirlenmiştir (Şekil 4).

TARTIŞMA ve SONUÇ

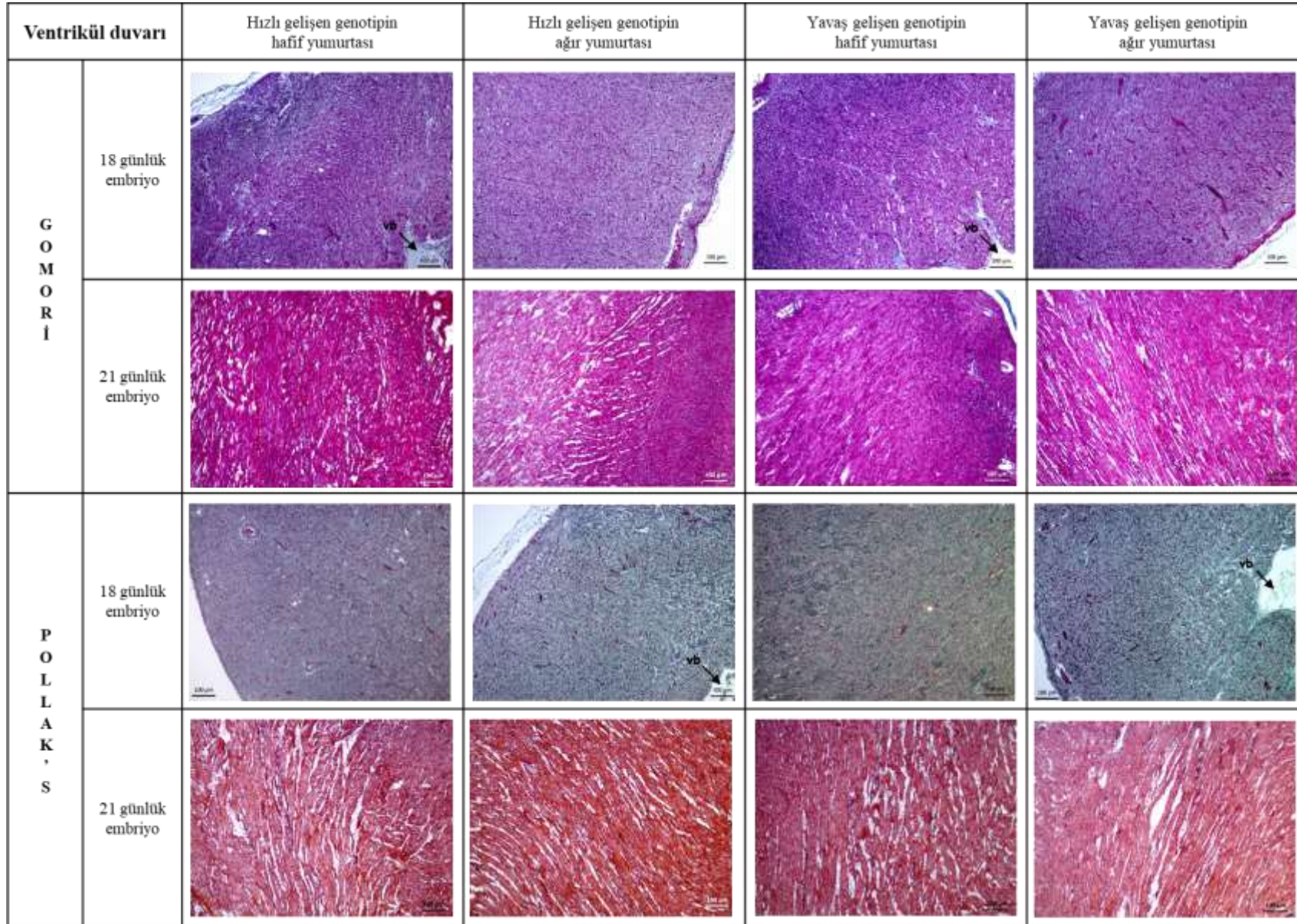
Tavuk embriyosu gelişiminin çok erken dönemlerinde, kalp kapakçığı oluşumu sırasında, tip II kollajen bol miktarda üretilmektedir. Tip II kollajenin yanı sıra bazı diğer fibriller (Tip I, Tip III, Tip V) kollajenler 18. evrede (3 gün) mezenseyal yastık hücrelerinde bulunmaktadır. 23. evrede (4 gün) alfa I kollajen AV kapakçıklarda bulunmaktadır. Kollajen I ve III subepikardiyumda, miyokard çevreleyen bağ dokusu kılıfında kalbin elastikliğini ve yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü sağlamada kritik bir rol oynamaktadır. Gelişim ilerledikçe, alfa I kollajen transkriptlerinin nispi bolluğu 22-45. evreler (3,5-19. günler) sırasında azalmaktadır (Swidersky ve ark., 1994).

Humason (1962) ile Presnell ve Schreiberman (1997)'a göre, Gomori ve Pollak's boyaları kollajeni mavi-yeşile, kas dokusunu ise kırmızıya boyarken, Mallory boyası kas dokuyu portakal renginden kırmızıya kadar değişen renklerde, kollajeni ise koyu mavi renge boyamaktadır (Humason, 1962; Presnell ve Schreiberman, 1997). Bu çalışmada da 18 günlük embriyo kalp kesitlerinin mavi-yeşil renkte, 21 günlük civciv kalp kesitlerinin kırmızı renkte boyanması, Swidersky ve ark. (1994) ile Humason (1962), Presnell ve Schreiberman (1997)'ın bulgularına benzer şekilde, gelişim ilerledikçe kollajenin azaldığını destekler



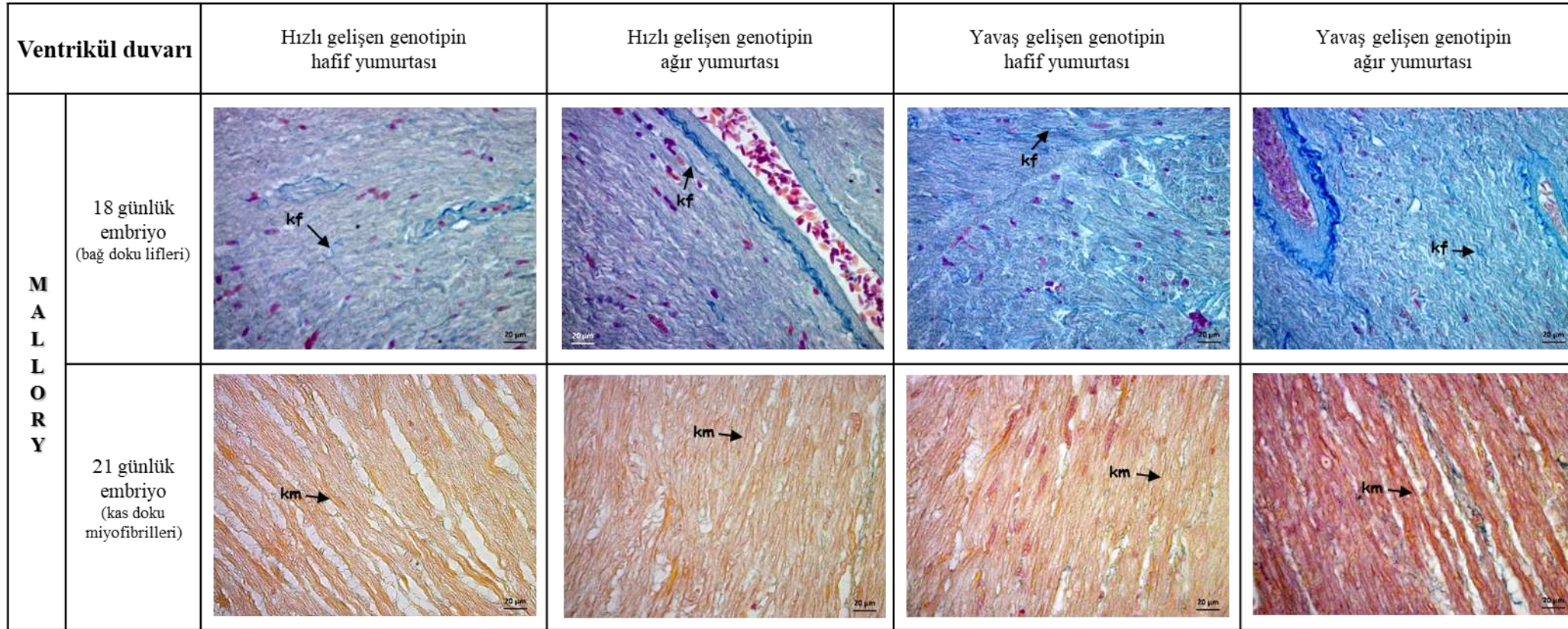
Şekil 1. Tavuk embriyosunda kalp ventrikül duvarı, oklar; kas fibrilleri arasındaki bağ dokusu.

Figure 1. Heart ventricular wall in chicken embryo, arrows; connective tissue between muscle fibers.

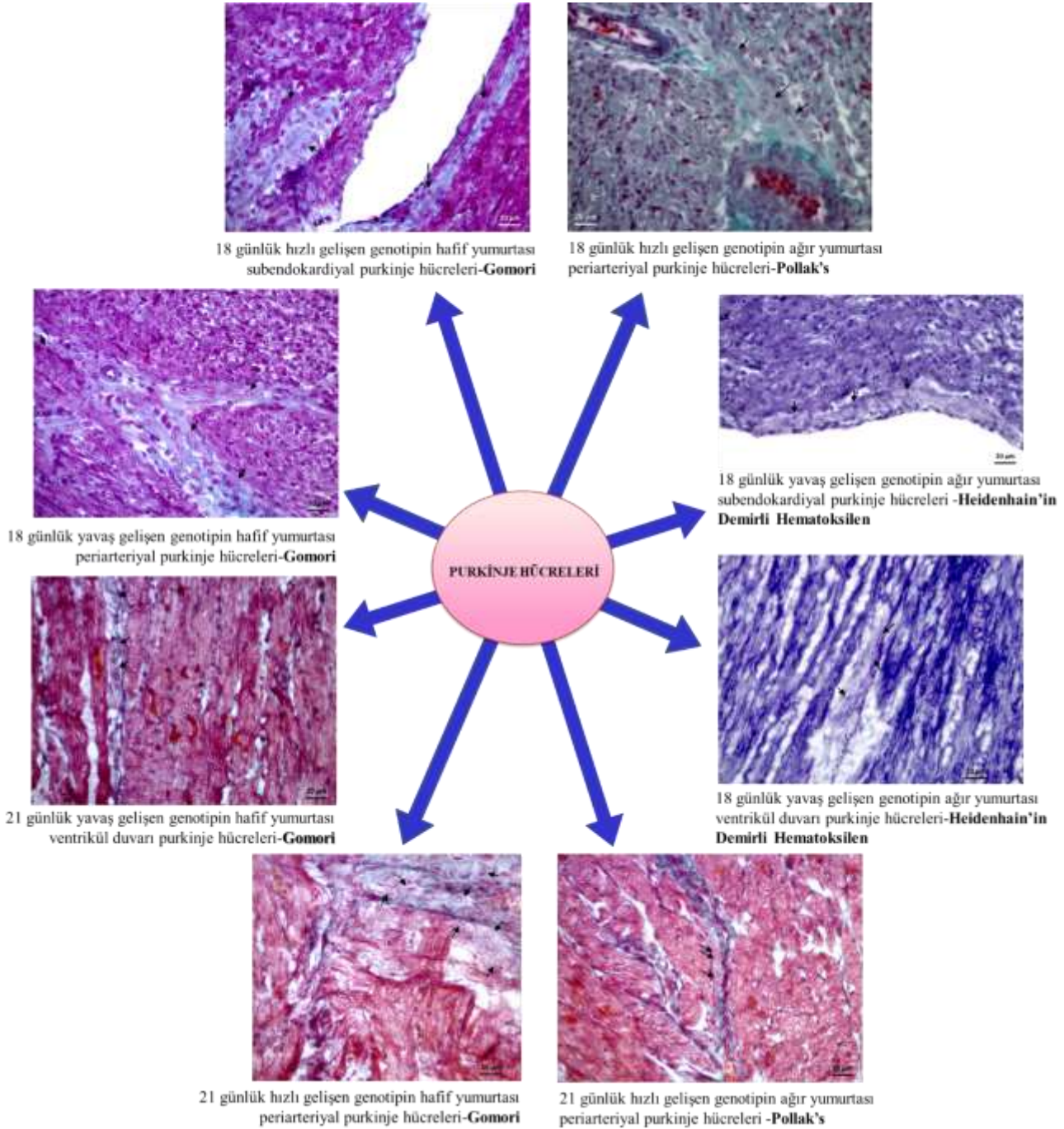


Şekil 2. Embriyonik kalp ventrikül duvarındaki kollajen ve kas miyofibril yoğunlukları, vb; ventrikül boşluğu.

Figure 2. Collagen and muscle myofibril concentrations in the embryonic heart ventricular wall, vb; ventricular cavity.



Şekil 3. Embriyonik kalp ventrikül duvarındaki kollajen fibriller ve kas miyofibrilleri, kf; kollajen fibril, km; kas miyofibrili
Figure 3. Collagen fibrils and muscle myofibrils in the wall of the embryonic heart ventricle, kf; collagen fibril, km; muscle myofibril.



Şekil 4. Embriyonik kalp ventrikül duvarındaki Purkinje hücreleri (oklar).
Figure 4. Purkinje cells in the embryonic heart ventricular wall (arrows).

niteliktedir. Mavi-yeşilden kırmızıya dönen histolojik boyanma farkından anlaşıldığı üzere, 21 günlük embriyo kalplerinde azalan kollajen yerini kasılabilir miyofibrillere bırakmaktadır (Swidersy ve ark., 1994). Çalışmada Purkinje hücrelerinin nukleuslarının kardiyomiyosit nukleuslarından daha büyük ve yuvarlak olduğu, sitoplazmalarının kas fibrilleri açısından fakir olduğu ve bu sebeple daha açık renge boyandığı görülmüştür. Kalp ventrikül kası içinde bulunan iletim sistemine ait Purkinje hücrelerinin, kalp kası hücrelerinden daha az miyofibril içerdiği,

nukleuslarının kalp kası hücrelerine göre nispeten daha büyük ve yuvarlak olduğu daha önce yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir (Ideker ve ark., 2009). Çalışma bulguları, kalp bağ doku gelişiminin yumurta ağırlığından etkilenebileceğini, bu etkinin yavaş gelişen genotiplerde önemli olduğunu, hızlı gelişenlerde ise 64-72 gram ağırlığı arasındaki yumurtanın kalp kasında bağ doku gelişimini etkilemediğini göstermektedir. Bu bulgu kanatlı bilimi için yeni olup, kesin yargıya varmak için daha fazla çalışmaya gereksinim vardır. Ventrikül duvarındaki

miyofibriller arası boşluk oluşumu ve kollajen - miyofibril yoğunluk farklılığı, 3 günlük bir embriyonik gelişimden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Browder LW, Erickson CA, Jeffery WR 1991. *Developmental Biology*, 3rd. edition, Philadelphia: Saunders College Publishing, ISBN 0-03-013514-1, 754 pp.
- Davies F 1930. The Conducting System of the Bird's Heart, *J Anat.* 64(Pt 2): 129-146.
- De Jong, F, Ophhof T, Wilde AA, Janse MJ, Charles R, Lamers WH, Moorman AF 1992. Persisting Zones of Slow Impulse Conduction in Developing Chicken Hearts. *Circ Res* 71(2): 240–250.
- Dzialowski EM, Crossley DA 2015. The Cardiovascular System, Chapter 11, 193-283pp, *Sturkie's Avian Physiology*, 6th edition, Ed. Scanes CG, Elsevier Inc., ISBN 978-0-12-407160-5, 1056 pp.
- Fitzgerald BC, Beaufrère H 2016. *Cardiology*, Chapter 6, 252-328pp, *Current Therapy in Avian Medicine and Surgery*, 1st edition, Ed. Speer BL, Elsevier Inc., ISBN 978-1-4557-4671-2, 928 pp.
- Gourdie RG, Wei Y, Kim D, Klatt SC, Mikawa T 1998. Endothelin-Induced Conversion of Embryonic Heart Muscle Cells into Impulse-Conducting Purkinje Fibers. *PNAS* 95(12): 6815-6818.
- Gourdie RG, Harris BS, Bond J, Justus C, Hewett KW, O'Brien TX., Thompson RP, Sedmera D 2003. Development of the Cardiac Pacemaking and Conduction System. *Birth Defects Research (Part C)* 69: 46–57.
- Groot ACG-d, Winter EM, Poelmann RE 2010. Epicardium-Derived Cells (EPDCs) in Development, Cardiac Disease and Repair of Ischemia. *J Cell Mol Med* 14(5): 1056-1060.
- Hamburger V, Hamilton HL 1951. A Series of Normal Stages in The Development of The Chick Embryo. *J Morphol* 88(1): 49-92.
- Humason GL 1962. *Animal Tissue Techniques*. WH Freeman and Company, San Francisco, 61-17383, 468 pp.
- Ideker RE, Kong W, Pogwizd S 2009. Purkinje Fibers and Arrhythmias. *Pacing Clin Electrophysiol* 32(3): 283-285.
- James TN 1964. Anatomy of the A-V node of the dog. *The Anatomical Record*. 148: 15-27.
- Lu Y, James TN, Bootsma M, Terasaki F 1993a. Histological Organization of The Right and Left Atrioventricular Valves of The Chicken Heart and Their Relationship to The Atrioventricular Purkinje Ring and The Middle Bundle Branch. *Anat Rec* 235(1): 74-86.
- Lu Y, James TN, Yamamoto S, Terasaki F 1993b. Cardiac Conduction System in The Chicken: Gross Anatomy Plus Light and Electron Microscopy. *Anat Rec* 236(3): 493-510.
- Martinsen BJ 2005. Reference Guide to the Stages of Chick Heart Embryology. *Developmental Dynamics* 233: 1217–1237.
- Mikawa T, Hurtado R 2007. Development of the Cardiac Conduction System, *Seminars in Cell & Developmental Biology* 18: 90–100.
- Öber A 2009. *Zoolojide Laboratuvar Teknikleri*. 3. baskı. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, ISBN: 978-975-483-824-4, 209 sy.
- Özfiliz N, Erdost H, Zık B 2010. *Veteriner Embriyoloji*, 4. Baskı, Ed. Özer A, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, ISBN: 978-9944-77-205-1, 272 sy.
- Presnell JK, Schreibman MP 1997. *Humason's Animal Tissue Techniques*. 5th edition. The Johns Hopkins University Press Ltd, London ISBN: 0-8018-5401, 572 pp.
- Sarıca M, Yamak US 2010. Yavaş Gelişen Etlik Piliçlerin Özellikleri ve Geliştirilmesi, *Anadolu Tarım Bilim. Derg.*, 2010,25(1): 61-67.
- Sarıca M, Ceyhan V, Yamak US, Uçar A, Boz MA 2016. Yavaş Gelişen Sentetik Etlik Piliç Genotipleri ile Ticari Etlik Piliçlerin Büyüme, Karkas Özellikleri ve Bazı Ekonomik Parametreler Bakımından Karşılaştırılması, *Tarım Bilimleri Dergisi – Journal of Agricultural Sciences*, 22: 20-31.
- Sedmera D, Reckova M, Bigelow MR, Dealmeida A, Stanley CP, Mikawa T, Gourdie RG, Thompson RP 2004. Developmental Transitions in Electrical Activation Patterns in Chick Embryonic Heart. *The Anatomical Record* 280A(2): 1001–1009.
- Strunk A, Wilson GH 2003. Avian cardiology. *Vet Clin Exot Anim* 6: 1–28.
- Swiderski RE, Daniels KJ, Jensen KL, Solursh M 1994. Type II Collagen is Transiently Expressed During Avian Cardiac Valve Morphogenesis. *Dev Dyn* 200(4): 294-304.
- Tabakoğlu-Oğuz A 2001. *Hayvan Embriyolojisi*, 2. Baskı, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi, İstanbul, ISBN: 9754041571, 266 sy.
- Türkmenoğlu İ, Çevik-Demirkan A, Akosman MS, Akalan MA, Özdemir V 2017. Manda Kalbindeki Sinir Düğümlerinin Makroanatomik, Subgross ve Stereolojik İncelenmesi, *Kocatepe Vet J*, 10(4): 241-246.
- Uçar A, Türkoğlu M, Sarıca M 2018. Etlik Piliç ve Ebeveynlerinin Gelişimi, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(1): 73-77.
- Ünal G 2018. *Hayvan Embriyolojisi*, 3. baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, ISBN: 978-605-320-859-4, 136 sy.

- Van Eif VWW, Devalla HD, Boink GJJ, Christoffels VM 2018. Transcriptional Regulation of The Cardiac Conduction System, Cardiac Development doi: 10.1038/s41569-018-0031-y
- Wesley J 2008. Embryology: Life in Twenty-one Days. https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1002&context=extension_curall
- Wittig JG, Münsterberg A 2016. The Early Stages of Heart Development: Insights from Chicken Embryos. *J Cardiovasc Dev Dis* 3(12): 1-15.
- Wittig JG, Münsterberg A 2019. The Chicken as a Model Organism to Study. *Cold Spring Harb Perspect Biol* doi: 10.1101/cshperspect.a037218
- Yalçın S, Turgay-İzzetoğlu G., Aktaş A, 2013. Effects of Breeder Age and Egg Weight on Morphological Changes in The Small Intestine of Chicks During the Hatch Window, *British Poultry Science*, 54(6): 810–817.
- Yıldırım İ 2005. Broiler Kuluçkalık Yumurta Ağırlığı ve Ebeveyn Sürü Yaşının Embriyo Gelişimi ve Kuluçka Sonuçlarına Etkileri, *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 19 (37): 87-91.