

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİR AYLIK VE BEŞ AYLIK ERKEK RATLARDA MEDULLA
SPİNALİS'İN SERVİKAL SEGMENTİ ÜZERİNE YAPILAN
MORFOLOJİK VE STEREOLOJİK BİR ÇALIŞMA**

Ebe Mesude CANDAN
ANATOMİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK

VAN-2017

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİR AYLIK VE BEŞ AYLIK ERKEK RATLARDA MEDULLA
SPİNALİS'İN SERVİKAL SEGMENTİ ÜZERİNE YAPILAN
MORFOLOJİK VE STEREOLOJİK BİR ÇALIŞMA**

Ebe Mesude CANDAN
ANATOMİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK

VAN-2017

Bu Yüksek Lisans Tezi Van YYÜ BAPB tarafından 2014 SBE-YL 029 numaralı proje ile desteklenmiştir.

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİR AYLIK VE BEŞ AYLIK ERKEK RATLARDA MEDULLA
SPİNALİS'İN SERVİKAL SEGMENTİ ÜZERİNE YAPILAN
MORFOLOJİK VE STEREOLOJİK BİR ÇALIŞMA**

Ebe Mesude CANDAN
VETERİNER ANATOMİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri

Başkanı

Prof. Dr. Hüseyin KARADAĞ

Jüri
Prof. Dr. Gülsün PAZVANT

Jüri
Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK

TEZ KABUL TARİHİ

07/11/2017

TEŞEKKÜR

Bilimsel düşünce ve çalışmayı bizlere öğreten, engin bilgi ve birikimlerini bizlerle paylaşan üzerimizde büyük emeği olan saygıdeğer hocamız Sayın Prof. Dr. Hüseyin KARADAĞ'a, tezimle ilgili çalışmalarım sırasında bilimsel ve teknik katkılarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK'a, Anatomi Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocamız Sayın Prof. Dr. Zafer SOYGÜDER'e, tezimle ilgili tüm aşamalarda bizlere laboratuvarlarında çalışma imkânı tanımış olmanın yanısıra bilimsel ve teknik desteklerini asla esirgemeyen Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı hocamız Sayın Prof. Dr. Murat Çetin RAĞBETLİ hocamıza, istatistiksel analiz sonuçlarının elde edilmesine katkılarından dolayı Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootehni Anabilim Dalı Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Memiş BOLACALI hocamıza, Anatomi Anabilim Dalı Araş. Gör. Osman YILMAZ'a, çalışmamız esnasında desteğini yanımda hissettiğim Biyolog Veysel AKYOL'a ve hayatımın her aşamasında yanımda olan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
Şekiller Listesi.....	VIII
Tablolar Listesi.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Rat Irkı.....	3
2.2. Columna Vertebralis.....	4
2.3. Medulla Spinalis'in Embriyolojisi, Makro ve Micro Anatomisi.....	6
2.3.1. Medulla spinalis'in embriyolojisi.....	6
2.3.2. Medulla spinalis'in makro ve mikro anatomisi.....	7
2.3.3. Medulla spinalis'in segmentleri.....	9
2.3.4. Medulla spinalis'in yüzey anatomisi.....	9
2.3.5. Medulla spinalis'in kesit anatomisi.....	10
2.4. Medulla Spinalis'in Histolojisi.....	11
2.5. Medulla Spinalis'in Fizyolojisi.....	12
2.6. Stereoloji.....	13
2.6.1. Stereoloji'de sıralı rastgele örnekleme (SRÖ).....	15
2.6.2. Etkinlik.....	17
2.6.3. Hata katsayısı (Coefficient of Error= CE).....	17
2.6.4. Sondalar.....	18
2.6.5. Cavalieri prensibi ve toplam hacim hesaplama.....	18
2.6.6. Cavalieri prensibi uygulaması.....	20
2.6.7. Kesit yüzey alanının hesaplanması.....	21
2.6.8. Noktalı alan ölçüm cetvel.....	22
2.6.9. Toplam hacim hesaplama.....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereç.....	29

3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Perfüzyon.....	29
3.2.2. Diseksiyon ve medulla spinalis'in çıkarılması.....	30
3.2.3. Doku takibi.....	32
3.2.4. Örnekleme şekli.....	32
3.2.5. Kesitlerin elde edilmesi.....	33
3.2.6. Boyama işlemi.....	33
3.2.7. Görüntü analizi.....	34
3.2.8. Hacim hesaplamalarında hata katsayısının (Coefficient of Error=CE) tespit edilmesi.....	36
4. BULGULAR.....	42
4.1. İstatistiksel Bulgular.....	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	57
ÖZET.....	60
SUMMARY.....	61
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	68
EKLER.....	69
EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Belgesi.....	69
EK-2. Tez Orijinallik Raporu.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

$\bar{T}$	:Ortalama kesit veya dilim kalınlığı
$\sum P_i$	:Toplam nokta sayısı
$\sum a_i$	:İ numaralı kesitteki yapı iz düşümünün veya iz düşümlerinin toplam yüzey alanı
μM	:Mikrometre
A	:Toplam Görüntü Alanı
A/P	:Her biri belirli bir birim alan
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
A_i	:Kesite ait olan görüntünün toplam alanı
AÖÖ	:Adım Örnekleme Oranı
B	:Toplam Sınır Uzunluğu
C	:Cervical
C	:Camera
CC	:Cubic centimeter
CE	:Coefficient of Error
CT	:Computer Tomografi
CV	:Coefficient of Variance
DK	:Dakika
GE	:Gözlemlenen Etkinlik
GR	:Gram
HK	:Hata Katsayısı
İ.P	:Intraperitoneal
KG	:Kilogram
KÖÖ	:Kesit Örnekleme Oranı
L	:Lumbal
MG	:Miligram
MM	:Milimetre
MM^2	:Milimetre kare
MM^3	:Milimetre küp
MRI	:Manyetik Rezonans
MS	:Medulla Spinalis
MSS	:Merkezi Sinir Sistemi
N	:Sayılması gereken hüce sayısı/incelenen kesit sayısı

NA	:Numerik Açıklık
°C	:Santigrat derece
OSS	:Otonom Sinir Sistemi
ÖE	:Örnekleme Etkinliği
P	:İstatistiksel değer
PSS	:Periferik Sinir Sistemi
Q-	:Disektör Partikülü
R	:Rat
RM	:Rotary Mikrotom
S	:Sacral
SA	:Substantia Alba
SG	:Substantia Grisea
SPSS	:Statistical Package for Social Science
SRÖ	:Sıralı Örnekleme
SRÖ	:Sıralı Rasgele Örnekleme
T	:Thoracal
US	:Ultrason
V	:Hacim
VAR	:Varyasyon
$Var_{SRÖ}$	:Sıralı rasgele örnekleme sonucunda ele edilen varyansı gösteren değer
V_{ref}	:İlgilenilen yapının toplam vey referans hacmi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Archimed'in prensibine göre sıvı yer değiştirmesi ile hacim değerinin ölçülmesi.....	19
Şekil 2.	Noktalı alan ölçüm cetveli.....	22
Şekil 3.	Nokta sıklığının belirlenmesi amacıyla kullanılan bir nomogram örneği	26
Şekil 4.	Sayım çerçevesi (A), Tarafsız sayım çerçevesi (B).....	28
Şekil 5.	Perfüze edilen 1 aylık erkek rat.....	30
Şekil 6.	1 aylık erkek ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin diseksiyonu.....	31
Şekil 7.	5 aylık erkek ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin diseksiyonu.....	31
Şekil 8.	Shtereom programında noktalı alan cetveli.....	35
Şekil 9.	Shtereom programında noktalı alan cetveli.....	35
Şekil 10.	1 aylık rat medulla spinalis cervical segment(x 4'lük objektif).....	42
Şekil 11.	1 aylık rat medulla spinalis cervical segment(x 4'lük objektif).....	43
Şekil 12.	5 aylık rat medulla spinalis cervical segment(x 4'lük objektif).....	43
Şekil 13.	5 aylık rat medulla spinalis cervical segment(x 4'lük objektif).....	44

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Hayvan türlerine göre omur sayıları.....	5
Tablo 2.	Hayvan türlerine göre intumescencia cervicalis ve intumescencia lumbalis'i şekillendiren segmentler.....	8
Tablo 3.	Total volume değerleri.....	38
Tablo 4.	Substantia alba volume değerleri.....	39
Tablo 5.	Substantia grisea volume değerleri.....	40
Tablo 6.	1 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin hacim değerleri (mm ³).....	45
Tablo 7.	1 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia alba'nın hacim değerleri (mm ³).....	45
Tablo 8.	1 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia grisea'nın hacim değerleri (mm ³).....	46
Tablo 9.	1 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/substantia alba hacim (SG/SA) oranları.....	46
Tablo 10.	1 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia alba hacmi/medulla spinalis hacmi (SA/MS) oranları.....	47
Tablo 11.	1 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/medulla spinalis hacim (SG/MS) oranları.....	47
Tablo 12.	5 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin hacim değerleri (mm ³).....	48
Tablo 13.	5 aylık ratlarda medulla spinalis' in cervical segment'inde substantia alba'nın hacim değerleri (mm ³).....	48
Tablo 14.	5 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia grisea'nın hacim değerleri (mm ³).....	49
Tablo 15.	5 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/substantia alba hacim (SG/SA) oranları.....	49
Tablo 16.	5 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia alba hacim/medulla spinalis hacim (SA/MS) oranları.....	49
Tablo 17.	5 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/medulla spinalis hacim oranları(SG/MS).....	50

Tablo 18.	Tüm segment hacminin erkek ratlarda 1.ve 5. aydaki ölçüm değerleri.....	52
Tablo 19.	SA hacminin erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.....	53
Tablo 20.	SG hacminin erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.....	54
Tablo 21.	SG /MS hacim oranı erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.....	55
Tablo 22.	SA/ MS hacim oranı erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.....	55
Tablo 23.	SG/SA hacim oranı erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.....	56



1. GİRİŞ

Sinir sistemi ilerleyen teknoloji ile birlikte günümüzde önceki dönemlere göre daha farklı yöntemlerle incelenmektedir. Sinir sistemi ile ilgili yapılmış olan birçok anatomik ve morfolojik çalışma mevcuttur. Ratlar, deneysel çalışmalarda yoğun olarak tercih edilen laboratuvar hayvanlarıdır.

Yapılan literatür araştırmaları sonucunda ratların medulla spinalis'leri üzerine yapılan morfolojik ve anatomik çalışmaların az oluşu dikkat çekmiştir.

At (Braun, 1950), maymun (Thomas ve Combs, 1965), merkep (Öcal ve Hazıroğlu, 1988), insan (Ko ve ark., 2004) ve rat (Pontiansky ve ark., 2004) medulla spinalis'lerinin bazı segmentlerinde alan ve alan değerleri oranlarının hesaplanması üzerine yapılan çalışmalara rastlanıldığı halde ratlarda hacim ve hacim değeri oranları üzerine bir çalışmanın olmadığı tespit edilmiştir. Bu yönlü bir çalışmanın var olmayışından yola çıkılarak yaş grupları belirlenip 1 aylık ve 5 aylık erkek rat gruplarında medulla spinalis'in hacim değerleri ile substantia alba ve substantia grisea'nın hacim değerleri hesaplandı.

Her ne kadar insanda ve bazı hayvanlarda medulla spinalis'in bazı segmentlerinde substantia alba ve substantia grisea alanları ve alan oranları çalışmalarla ortaya konulmuş ise de, yapılan literatür taramaları neticesinde bu alanda hacim değerleri üzerine yapılan çalışmalar hakkında herhangi bir veriye rastlanılamadı.

Hacim değeri verileri hesaplanırken yöntem olarak stereoloji tercih edildi. Stereoloji günümüzde tam anlamıyla kabul görmüş olan, biyolojik objelerin üç boyutlu yapılarını, iki boyutlu kesitlerden elde edilmiş olan verilerden gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorumların yapılmasını sağlayan yöntemler topluluğudur. Kesitler, herhangi bir yapının içinden geçen ve o yapının bileşenleri ile kesişmiş olan düzlemler olarak düşünüldüğünde incelenen yapının her bir bileşeni, bu kesitlerde kapladığı uzunluk sayısı, büyüklüğü, alan ve hacim oranıyla ilişkili bir şekilde iz düşümler oluşturmaktadır. Yapının içermiş olduğu bileşenler hakkında bilgi bu iz düşümlerinden elde edilir.

Stereoloji, arka planında yer almış olan matematiksel ve istatistiksel temeller ile biyolojik yapıların morfolojileri hususunda tarafsız ve ön kabulsüz bilgilerin elde edilmesi için geliştirilmiş bir metottur (Bolat ve Tıpırdamaz, 2011). Ayrıca gerçek değerden sistematik olarak bir sapmaya neden olmayan, daha az zamanda, daha az hata ile iş yapmayı sağlayan (etkin) yöntemleri ile bu ve buna benzer problemleri ortadan kaldırabilmek amacıyla geliştirilmiş olan kuralların tamamını içeren bir bilim dalıdır (Canan ve ark., 2002).

Bu çalışmada morfolojik ve stereolojik yöntemler kullanılarak, 1 aylık ve 5 aylık erkek ratların medulla spinalis'lerinin cervical segmentleri'nin tamamına ait olan ve substantia alba ve substantia grisea hacim ve hacim oranları değerleri elde edilmiş olup sonuçlar tablolar halinde sunulmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ratırkı

Deney hayvanları içerisinde en büyük yeri tutan hayvan grubu kemirgenlerdir (rodentia). Deney hayvanlarının yaklaşık %70-85'ini oluştururlar. Genellikle gece aktif olan bu hayvanlar; bulundukları laboratuvar ortamına kolay uyum sağlamaları, bakımlarının kolay olması, kısa sürede çok sayıda üretilibilmeleri ve fiziki yapılarının küçük olması nedeniyle biyomedikal araştırmalarda en çok tercih edilen hayvan grubudur. Ratların vücut ağırlığı dişilerde 250-300 gr, erkeklerde 300- 500 gr'dır. Ratların yaşam süresi 2-3 yıldır (İde, 2003; Deniz ve Oral, 2011).

Deneyisel araştırmalarda kullanılan ratlar, *Rattus norvegicus*'tan köken almışlardır. Bu amaçla ilk rat soyu A.B.D. Philadelphia'da bulunan Wistar Enstitüsü'nde üretilmiştir. Günümüzde araştırmalarda kullanılan inbred soyların büyük bölümü Wistar Albino soyundan köken almıştır. Ratlar; temel tıp, farmakoloji, gıda, davranış gibi alanlarda yapılan araştırmalarda kullanılmaktadır. Genetik olarak tanımlanmış yaklaşık 400 inbred ve 50 outbred soy bulunmaktadır. Günümüzde birçok rat soyu bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır. Bunlar arasında Wistar Albino, Spargue Dawley, Fischer 344 ve Long Evans en sık kullanılan soylardır (Deniz ve Oral, 2011).

Wistar ırkı, laboratuvarda araştırma amaçlı kullanılan en popüler rat ırkıdır. Geniş kafası, uzun kulakları ve vücut uzunluğundan daha kısa olan kuyruk uzunluğu ile karakterizedir. Sprague Dawley ve Long-Evans ırkları Wistar ratlardan türemiştir. Wistar ratlar Sprague Dawley ırkı ratlardan çok daha aktiftirler (Clause, 1998).

Yaklaşık otuz yıldan beri laboratuvar ratları birak deneyde kullanılan ilk evcilleştirilmiş laboratuvar hayvanı olarak yalnızca bilimsel çalışmalarda kullanılmak üzere karşımıza çıkmıştır (Krinke, 2000). 2012 yılında Kyoto niversitesi'nde Takashi Kuromoto önderliğinde dünyanın birçok yerinden toplanan 117 albino rat üzerinde genetik analiz yapılmıştır. Yapılan alışmalar sonunda tüm albino ratların kukuletalı ratlardan ve tek bir atadan türediği tespit edilmiştir. Yirminci yüzyılın başlarında kukuletalı ratın Japon ırkı rat olduğuna dair kanıt olmasına rağmen, Kuramoto bir ya da daha fazla Japon kukuletalı ratın Avrupa ve Amerika'ya getirilmiş olabileceğini ve

bugün laboratuvarında kullanılan albino ratların ortak bir atadan, yani kukuletalı ratlardan doğan ratlar olduğunu ortaya koymuştur. Evcil ratlar vahşi ratlardan birçok yönleriyle ayrılırlar. Daha sakinlerdir, ısırılmazlar kalabalıklığı tolere edebilirler, çabuk ve çok sayıda ürerler, beyinleri böbrekleri karaciğerleri, adrenal bezleri ve kalpleri daha küçüktür (Anonim 1, 2017).

2.2. Columna Vertebralis

Columna vertebralis, axial iskelet sisteminin bir parçasıdır. Destek ve hareket işlevine sahip olan, ayrıca içinde yerleşmiş olan medulla spinalis ve medulla spinalis'ten ayrılan spinal kökleri koruma görevini yüklenmiş çok işlevli bir organdır (Rudolf H 1986, Dursun, 2000; Arıncı ve Elhan 2001). Başın, göğüs ve karın organlarının ağırlıklarının taşınmasında da sağlam olan destek görevini üstlenir (Dursun, 2000). Omurga, baş ile birinci boyun omurunun birleşiminden kuyruk ucuna kadar devam ederek gövdenin esasını şekillendiren vertebra adı verilen kemiklerin birbiri arkasına sıralanarak eklemleşmesiyle meydana gelir (Dursun, 2000; Yıldırım, 2000).

Omurgayı şekillendiren omurların tümü (birinci ve ikinci boyu omuru hariç) genel olarak birbirine benzemekle birlikte, her bölgenin kendine özgü bazı farklı özellikleri vardır (Dursun, 2000). Genel olarak her bir vertebra'nın, corpus vertebra ve arcus vertebra olmak üzere iki bölümü mevcuttur. Omurun esasını teşkil eder. Corpus vertebrae, silindirik özellik gösterir. Ön ucunda, yani extremitas cranialis'inde caput vertebrae denilen dış bükey, caudal ucunda ise yani extremitas caudalis'inde fossa vertebrae denilen çukur olan iki eklem yüzüne sahiptir. İki corpus vertebrae, discus intervertebralis denilen fibrokartilaginöz yapı ile birbirine bağlanmaktadır (Dursun, 2002; Dursun, 2008). Arcus vertebrae, sağ ve sol pediculi arcus vertebrae ve lamina arcus vertebrae'dan meydana gelir. Bir arcus vertebra 7 çıkıntıya sahiptir. Bu çıkıntılardan bir tanesi tektir. Üç çift çıkıntı ise processus transversus, processus articularis cranialis ve processus articularis caudalis'lerdir. Bu çıkıntıların dışında bazı özel çıkıntılar da vardır ki bu çıkıntılar evcil memeli hayvan türlerinin hepsinde mevcut değildir ya da sadece bazı bölge omurlarında olduğuna rastlanılmıştır (Dursun 2000; Bahadır ve Yıldız, 2010). Arcus vertebrae, corpus vertebrae'ya pediculi arcus vertebrae vasıtasıyla kaynaşmış ve aralarında kısa tüp şeklinde olan foramen vertebrale

şekillenmiştir. Foramen vertebrae'ler birbiri arkasına dizilerek canalis vertebralis'i şekillendirmiştir (Evans,1993; Dursun, 2000).

Columna vertebralis ilk boyun omuru olan atlas ile başlar ve kuyruğun sonuncu omuruna kadar devam eder. Beş ayrı bölümde incelenir. Bu bölümler; pars cervicalis, pars thoracica, pars lumbalis, pars sacralis ve pars caudalis (pars coccygea)'dir. Columna vertebralis'i şekillendiren vertebra sayıları hayvan türlerine göre farklılık göstermektedir (Zeman ve Maitland 1963; Bahadır ve Yıldız, 2010; Dursun, 2008). Türler göre farklı omur sayıları Tablo 1 'de verilmiştir.

Tablo 1. Hayvan türlerine göre omur sayıları.

Tür Adı	Cervical	Thoracal	Lumbal	Sacral	Caudal (Yaklaşık)
Equus caballus (at)	7	18	6	5	17-21
Equus asinus (eşek)	7	18	5	5	17-22
Bos taurus (sığır)	7	13	6	5	18-21
Ovis aries (koyun)	7	13	6-7	4	16-22
Capra hircus (keçi)	7	13	6	4-5	11-14
Camellus dromedarius (deve)	7	12	7	5	16-18
Sus scrofa domestica (domuz)	7	14	6	4	18-23
Canis familiaris (köpek)	7	13	7	3	18-22
Felis domestica (kedi)	7	13	7	3	20-24
Oryctogalus cuniculus(tavşan)	7	12	7	4	14-16
Cavia porsellus (kobay)	7	13	6	4	6
Rattus norvegicus (fare)	7	13	6	4	27-31
Homo (insan)	7	12	5	5	5

Vertebrae cervicales (boyun omurları), boyun bölgesinin kemiksel çatısını şekillendiren oluşumlardır. Boynun ağırlığını taşımakla görevlidirler. Evcil memeli hayvanlarda yedi adet boyun omuru mevcuttur. Birinci boyun omuru olan atlas, ikinci boyun omuru axis ve yedinci boyun omuru diğer boyun omurlarından şekil itibariyle farklılık göstermektedir. Altıncı boyun omuru da bazı farklılıklar göstermektedir. Üç, dört ve beşinci boyun omurları ise birbirine benzemektedir (Dursun, 2000).

2.3. Medulla Spinalis'in Embriyolojisi, Makro ve Mikro Anatomisi

2.3.1. Medulla spinalis'in embriyolojisi

Sinir sistemi nöral plaktan gelişir. Notokort ve paraksiyal mezoderm nöral plağa farklılaşmak üzere ektodermi uyarır. Nöral plaktan nöral katlantılar, nöral tüp ve nöral krista oluşur. Nöral tüp MSS'ne nöral krest ise PSS ve OSS'nin büyük kısmını oluşturan hücreleri yapar. Nörülasyon olarak bilinen nöral plak ve nöral tüpün oluşumu 4. haftanın başında başlar (Moore ve Persaud, 2009).

Dördüncü somit çiftinin caudal'inde yer alan nöral tüp, medulla spinalis yönünde gelişir. Başlangıçta nöral tüpün duvarı yalancı çok katlı silindirik neuroepitel'den oluşur. Bu neuroepitelial hücreler medulla spinalis'teki nöron ve makrogliyal hücreleri oluşturacak olan (astrosit'ler ve oligodendrosit'ler) ventriküler zone'u (ependimal tabaka) yapar. Sonra neuroepitelial hücrelerin dış kısmında bir marginal zone oluşur. Bu zone medulla spinalis'in beyaz cevherini oluştururken ; medulla spinalis ve beyindeki sinir hücrelerinin gövdelerinden çıkan aksonlar da buraya kadar uzanır. Ventricular zone'daki bazı neuroepitelial hücreleri primordial neuron'lara (neuroblast'lara) farklılaşır. Bu embriyolojik hücreler ventricular ve marginal zone'lar (manto tabakası) arasında bir ara zone (intermedier) yapar. Neuroblast'lar sitoplazmik uzantıları geliştikçe neuron haline dönüşürler (Moore ve Persaud, 2009).

MSS'in primordial destek hücreleri olan glioblast'lar (spongioblast'lar) esasen neuroblast oluşumunu tamamladıktan sonra neuroepitel hücrelerinden farklılaşırlar. Glioblast'lar ventricular zone'dan intermedier ve marginal zone'lara göç eder. Bazı glioblast'lar, astroblast ve sonrasında astrosit hücrelerine dönüşür, diğerleri ise oligodendroblast ve sonrasında oligodendrosit'lere dönüşür. Neuroepitel hücreler, neuroblast ve glioblast yapımını bitirdiğinde medulla spinalis'in santral kanalını döşeyen ependim hücrelerini oluşturmak üzere farklılaşır. Gri ve beyaz cevherde dağılmış olan mikrogliya hücreleri ise mezenşimal hücrelerden türeyen hücrelerdir. Microglia hücreleri, MSS'e kan damarlarının girdiği fetal dönemin daha geç dönemlerinde yayılır. Mononükleer fagositik hücre gruplarının üyesi olan microglia'lar kemik iliğinde yapılırlar (Moore ve Persaud, 2009). Bu embriyonik durumun olgun bir omurilik haline dönüşümü, yoğun çoğalma, mantle katmanındaki immatür neuronlar'ın

asimetrik hareketleri ve neuronal sürecin gelişimini tamamlaması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Başlıca neuron hücre gövdelerinden oluşmuş olan omurilik bölümü substantia grisea olarak isimlendirilir. Mantle tabakası immatür neuronların farklı şekillerdeki göçlerine bağlı olarak, cornu dorsale ve cornu ventrale adı verilen yapıları oluşturarak kelebek şeklini alır (Özfiliz ve ark., 2007).

Gelişimin başlangıcında substantia grisea omuriliğin tüm uzunluğu boyunca aynıdır. Extremiteler gelişirken, axial seviyelere rastlayan kısımlar fark edilebilecek şekilde gelişir, büyür. Extremiteler dışındaki yapıların uyarılmasını sağlayan bölgelerdeki immatür neuron'ların dejenerasyonu sonucu bu bölgelerdeki sinir hücre gövde sayıları fazladır. Sayıları fazla olan hücrelerin birçoğu gelişmiş olan kas dokusuyla ilişki kuramadıkları için ölürler. Bu esnada thoracal seviyedeki (T1'den L4'e kadar) immatür nöronlar ventral motor cornu'lardan dışarıya dorsal'e doğru göç ederek cornu lateralis'i şekillendirirler. Bu kısım sempatik sinir hücre gövdelerini içermektedir. Genel olarak altıncı cervical segment ile birinci thoracal segment arasında oluşan omurilik genişlemesi intumescentia cervicalis olarak isimlendirilir. Intumescentia lumbalis, 4. lumbal segment ile 1-3. sacral segment boyunca yer alır ve pelvik extremit uyarılmasını sağlar (Lahunta, 1983). Omuriliğin dış tabakası miyelinli aksonların görüşlerinden ötürü substantia alba olarak adlandırılır. Substantia alba, ascendens ve descendens aksonların bir araya gelerek yaptıkları yığınlar olan funiculus adı verilen yapılar tarafından oluşturulur. Çıkan motor ve giren sensorik köklerin varlığı ile funiculus dorsalis, funiculus lateralis ve funiculus ventralis birbirlerinden ayrılırlar (Lahunta, 1983).

2.3.2. Medulla spinalis'in makro ve mikro anatomisi

Merkezi sinir sisteminin canalis vertebralis içerisindeki bölümü medulla spinalis'tir (Unur ve ark., 2002). Medulla spinalis, foramen magnum düzeyinde medulla oblongata'dan makroskobik bir sınır göstermeden başlar ve conus medullaris ile son bulur (Dursun, 2008). Fötal dönemin erken evresinde medulla spinalis canalis vertebralis'in son kısmına kadar uzanır. Columna vertebralis'in gelişimi prenatal ve postnatal dönemde medulla spinalis'ten daha hızlı olduğu için segmentler cranial'e kayar. Bu durum ascensus medullae olarak isimlendirilir (Habel, 1951; Dursun, 2000). Bundan dolayı medulla spinalis'in sonlandıkları noktalar hayvan türleri arasında farklılık gösterir. Medulla spinalis, koyunda S2 düzeyinde (Rao, 1990), tiftik geçişinde

ise S2-3 arasında sonlanır (Kahvecioğlu ve ark., 1995). Equide’de ise bu sonlanma S1-2 düzeyindedir (Habel, 1951). Kedide ise L7 düzeyinde sonlanmaktadır (Hudson ve Hamilton, 1993). Medulla spinalis her ne kadar silindir şeklinde olsa da bu silindirik yapı tüm uzunluğu boyunca bu şeklini koruyamaz. Bel ve boyun bölgesi olmak üzere iki ayrı bölgede, iki ayrı genişleme yapar (Dursun, 2000; Bahadır ve Yıldız, 2010). Boyun bölümündeki genişleme, intumescentia cervicalis, bel bölgesindeki genişleme, intumescentia lumbalis olarak isimlendirilmektedir (Bahadır ve Yıldız, 2010). Intumescentia cervicalis evcil memelilerin tamamında (domuz hariç) C6-7-8 ve T1-2, insan ve domuzda ise C5-6-7-8 ve T1 segmentlerinin katılımıyla oluşmaktadır (Dursun, 2008).

Tablo 2. Hayvan türlerine göre intumescentia cervicalis ve intumescentia lumbalis’i şekillendiren segmentler.

Tür Adı	Intumescentia cervicalis	Intumescentia lumbalis	Kaynak
Equide	C6-T2	L2- L6	(Budras, 2009a)
Ruminant	C6-T2	L2-L6	(Budras, 2009c)
Köpek	C6-T1	L5-S1	(Fletcher ve Kitchell, 1966), (Budras, 2009b)
Kedi	C6-T1(T2)	L4-S3	(Hudson ve Hamilton, 1993)
Domuz	C5-T1	L5-S1	(Sisson ve Hillmann, 1975)
İnsan	C5-T1		(Dere, 2000)

İnsanda medulla spinalis, fetal yaşamın başlangıcında içinde seyrettiği kanalın yani canalis vertebralis’in tamamını doldururken doğum sonrasında columna vertebralis medulla spinalis’e kıyasla daha hızlı bir gelişme ve büyüme gösterir. Bundan dolayı medulla spinalis’in alt kısmı 2. lumbal vertebra’nın üst yarımı hizasında kalır. Fakat her bir spinal sinir kendine ait olan foramen intervertebrale’den çıkacağı için alt lumbal spinal kökler ve sacral spinal kökler filum terminale’nin çevresinde ve subarachnoidal boşluğun içinde aşağıya doğru seyrederek (Dere, 2000, Waschke ve ark., 2016). Medulla spinalis’in alt bölümünden çıkan sinir kökleri bir araya geldiğinde cauda equinae denilen yapıyı şekillendirmektedir (Dere, 2000; Dursun, 2000; Bahadır ve Yıldız, 2010). Cauda equinae’nın orta kısmında conus medullaris’in tepesinden coccyx’e kadar

uzanan, pia mater'den oluşan filum terminale adı verilen yapı yer almaktadır (Dursun, 2000; Yıldırım, 2000).

2.3.3. Medulla spinalis'in segmentleri

Medulla spinalis gebeliğin 4.haftasında nöral tüpten gelişmeye başlar. Nöral tüpe bitişen ve somitler şeklinde metamer bölümlendirmeye sahip olan mezodermin etkisiyle omurilikte segmental gelişim başlar. Bu segmental bölümler dışardan görülmez. Ancak, segmental düzeyde omurilikten çıkan spinal köklerden anlaşılır. İnsanda toplamda 31-33 arası medulla spinalis segmenti vardır. Bunlar; 8 servikal (pars cervicalis), 12 thorakal (pars thoracica), 5 lumbal (pars lumbalis), 5 sakral (pars sacralis) ve düzensiz sayıda koksigeal (pars coccygea) segmentlerdir (Arıncı ve Elhan, 2001).

2.3.4. Medulla spinalis'in yüzey anatomisi

Dorsal'den basık olan medulla spinalis'in iki yüzü ve bu yüzlerde seyreden oluklar mevcuttur. Medulla spinalis'in alt yüzünün tam ortasında uzunlamasına bir yarık bulunur ki bu fissura mediana ventralis'tir. Bu oluğun her iki yanında sulcus lateralis ventralis denilen oluklar bulunur. Bu oluklardan spinal sinirlerin ventral dalları köken alır. Sulcus medianus dorsalis, dorsal yüzün tam ortasında longitudinal olarak seyreder. Sulcus medianus dorsalis'in her iki yanında sığ olan sulcus lateralis dorsalis'ler mevcuttur. Bu oluklardan spinal sinirlerin dorsal kökleri medulla spinalis'e girer. Medulla spinalis'in cervical segmenti ile thoracal segmenti'nin ön tarafında sulcus medianus dorsalis ile sulcus lateralis dorsalis arasında üçüncü bir sulcus daha mevcuttur ki bu oluk daha az belirgindir. Fasciculus cuneatus ve fasciculus gracilis'in dış sınırını da oluşturan bu sulcus, sulcus intermedius dorsalis'tir. Medulla spinalis, fissura mediana ventralis ve sulcus medianus dorsalis tarafından iki simetrik yarıma ayrılır. Medulla spinalis'in dış yüzü her iki tarafta sulcus lateralis ventralis ve sulcus lateralis dorsalis vasıtasıyla üçer alana ayrılmıştır. İki sulcus lateralis dorsalis'ler arasında kalan üst kısım funiculus dorsalis, sulcus lateralis dorsalis ve sulcus lateralis ventralis arasında kalan iki yan bölüm funiculus lateralis olarak isimlendirilirken, her iki sulcus lateralis ventralis arasında kalan iki yan kısım ise funiculus ventralis olarak tanımlanır (Dursun, 2000).

2.3.5. Medulla spinalis'in kesit anatomisi

Medulla spinalis'in kesit yüzlerinde gri ve beyaz cevher olmak üzere iki alan ayırt edilmektedir. Medulla spinalis'in orta kısmını şekillendiren ve burada yer alan kelebek şeklinde olan ya da H harfine benzeyen substantia grisea iken, substantia grisea'nın dışında bulunan ve onu çevreleyen, daha açık renkte gözüken substantia alba'dır. Substantia grisea miyelinsiz sinir lifleri, sinir ve glia hücreleri ile kan damarlarını içermektedir. Substantia alba ise miyelinli sinir aksonları ile glia hücrelerinden oluşmuştur (Dursun, 2000; Schoenen ve Faull, 2004).

Substantia grisea

Substantia grisea, medulla spinalis'te merkezi olarak yer almıştır. Her yanı substantia alba tarafından çevrelenmiştir. Bu yapının alt kısmında yer alan ve sağlı sollu çıkıntı şeklinde belirmiş olan kısma cornu ventrale, üst kısımda yine sağ tarafta ve sol tarafta bulunan iki adet çıkıntıya ise cornu dorsale denilmektedir. Cornu dorsale'ler dar ve uzunken cornu ventrale'ler geniş ve kısadırlar. Medulla spinalis'te cornu ventrale'ler ve cornu dorsale'ler dışında thoracal ve birinci ve ikinci lumbal segment'lerinde, her iki cornu'nun birleşim yerinin lateral'ine yerleşmiş olan cornu laterale de mevcuttur. Canalis centralis nöral tüpün boşluğu olup substantia grisea'nın tam ortasında yer alır. Medulla spinalis'in uzunluğu boyunca seyreden bu kanal ventriculus quartus'un arka ucuna açılarak sonlanır. Canalis centralis'in conus medullaris seviyesinde yaptığı genişleme ventriculus terminalis'tir. Canalis centralis'in içerisinde beyin omurilik sıvısı mevcuttur ve bu kanal ependim hücreleriyle sınırlandırılmıştır. Canalis centralis, nöral ve glia elementleri ve commissura grisea adı verilen yapıyı içeren katman tarafından çevrelenmiştir (Tanyolaç, 1993). Bu katman substantia gelatinosa centralis'tir. Commissura grisea, canalis centralis'in dorsal'inde yer alan bir taraftan öteki tarafa geçebilen çok sayıda myelinsiz liften oluşmuştur. Substantia gelatinosa centralis'i dış taraftan substantia intermedia centralis adı verilen gri cevher tabakası sarmıştır. Substantia intermedia centralis tabakası, cornu dorsale ve cornu ventrale'leri birleştirir, lateral kısma ise substantia intermedia lateralis denilen gri cevher tabakası ile ulaşır. Cornu dorsale'lerin dorsal kısmını oluşturan substantia grisea tabakası diğer kısımlara göre daha açık renkte bulunmaktadır ki, substantia gelatinosa olarak bilinmektedir (Dere, 2000; Dursun, 2000).

Substantia alba

Substantia alba, medulla spinalis'in dış kısmını oluşturur. Miyelinli liflerin fazlalığı nedeniyle beyaz renkte görünür. Ve çok sayıda glia hücresinden meydana gelmiştir. Medulla spinalis'in tam ortasında bulunan substantia grisea ile substantia alba üç büyük bölgeye ayrılır. Her biri farklı fasciculus ve tractus'lardan oluşan ve çıplak gözle görülebilen bu bölgeler funiculus dorsalis, funiculus lateralis ve funiculus ventralis olarak adlandırılır. Funiculus lateralis ile funiculus ventralis arasındaki sınır pek belirgin olmadığı için tam olarak belirlenemeyebilir. Bu sınırın belirlenebilmesi için en lateral'de yer alan motor nöronların akson uçları referans olarak seçilir (Dursun, 2000).

2.4. Medulla Spinalis'in Histolojisi

Medulla spinalis, beyin ve beyincik ile birlikte merkezi sinir sistemini (MSS) oluşturmaktadır. Gerçek anlamda bir bağ dokusu bulunmaz. Bu sebeple görünüş olarak yumuşak ve pelte kıvamında bir organdır (Junqueira ve ark.,1998).

Medulla spinalis sinir dokusundan oluşmaktadır. Sinir dokusu esas olarak nöronlar ve destek hücreler olmak üzere iki tip hücreden meydana gelmiştir. Nöron ya da sinir hücresi sinir sisteminin fonksiyonel birimidir ve üç genel kategoriye ayrılmaktadır. Bunlardan birincisi, duyuşal nöronlar, reseptörden gelen impulsları MSS'ye iletirler. Bu nöronların uzantıları somatik afferent ve visseral afferent sinir liflerinin içinde yer alırlar. Somatik lifler vücut yüzeyinden ağrı, ısı, temas ve basıç duyuşlarını iletirken visseral lifler ise iç organlardan, müköz membranlardan, bezlerden ve kan damarlarından ağrı ve diğerk duyuşları iletir. İkincisi, motor nöronlar, MSS'den ya da ganglionlardan efektör hücrelere impuls iletirler. Bu nöronların uzantıları somatik efferent ve visseral efferent sinir liflerinin içinde seyrederler. Somatik efferent nöronlar, iskelet kaslarına istemli impulsler gönderirler. Visseral efferent nöronlar düz kaslara, kardiak iletim hücrelerine (Purkinje lifleri) ve bezlere istemsiz impulsler gönderirler. Üç kategoriden sonuncusu ara nöronlar (internöronlar)'dır. Ara nöronlar duyuşal ve motor nöronlar arasında iletişimi sağlayarak entegre edici bir ağ oluşturur. Sinir hücreleri, başka hücrelerden stimulusları almak ve uzantıları sayesinde sistemdeki diğerk kısımlara elektriksel impulsları göndermek konusunda özelleşmiştir. Bu elektriksel impulsların

aktarılmasını sağlayan özelleşmiş temas noktasına sinaps denmektedir (Junqueira ve ark.,1998).

Canalis centralis, embriyonal nöral tüp lümeninin kalıntısıdır. Canalis centralis'in duvarını ependim hücreleri döşemektedir. Bu hücreler bazı yerlerde omurilik sıvısının hareketini kolaylaştıracak titretilen tüylere sahiptir ((Junqueira ve ark.,1998).

Merkezi sinir sisteminde bulunan oligodendrositler nöronların aksonlarının etrafını sararak elektriksel yalıtımını sağlayan miyelin kılıfı oluşturmaktadır ((Junqueira ve ark.,1998).

Astrositler çok sayıdaki uzantıları nedeni ile yıldız şeklinde izlenen hücrelerdir. Astrositler, nöronları, kılcal kan damarlarını, pia matere bağlayarak destek işlevine ek olarak nöronların iyonik ve kimyasal ortamını kontrol eder. Ayrıca merkezi sinir sistemi hasar gördüğünde astrositler çoğalarak hücreyel yara iyileşme dokusu oluştururlar. İki tip astrosit bulunmaktadır. Az sayıda uzun uzantıya sahip ve beyaz cevher içinde yer alan astrositlere fibröz astrosit, çok sayıda dallar ve uzantılara sahip gri cevher içinde yer alan astrositlere protoplazmik astrosit denmektedir ((Junqueira ve ark.,1998).

Mikroglia, kısa uzantılara sahip, uzun, küçük hücrelerdir. Hemotoksilen-Eosin boyası ile diğer glia hücrelerinden yoğun ve uzun çekirdeği sayesinde ayırt edilmektedir. Mikroglialar sinir dokusunda tek çekirdekli fagositik sistem kapsamına giren fagositik hücrelerdir. Erişkin MSS'de inflamasyon ile onarımda görev alırlar ve bunu nötral proteazlar ile oksitativ radikaller üreterek yaparlar ((Junqueira ve ark.,1998).

2.5. Medulla Spinalis'in Fizyolojisi

Sinir sistemi, iletişim şebekesi olarak görev yapan bir grup ile buna destek olan ağı oluşturduğu oldukça karmaşık bir hücre kümesinden meydana gelir. İletişim şebekesi oldukça fazla sayıda nöral devreden oluşmaktadır (Berne ve ark., 2008).

Sistemin iletişim aktivitesini gerçekleştiren temel birime nöron denmektedir. Nöron algılayıcı yüzeyden meydana gelen hücre gövdesi ya da soma ve nöronun bir diğer nöronla bağlantı noktaları ya da sinapsları oluşturan çok sayıda çalı benzeri

dallanması olan dentritten oluşmuştur. Somadan uzanan diğer sinir parçası ise aksondur. Akson diğer nöronlarla ya da efektör hücrelerle sinaptik bağlantılar kurar. Nöronlar arası bağlantı nöral devreler aracılığı ile yapılan iletişim ağı sayesinde sinaptik olarak sağlanmış olur. Kodlanmış bilgi bir nörondan diğerine sinaptik ileti aracılığı ile aktarılır. Sinaptik iletide presinaptik sonlanmaya ulaşan aksiyon potansiyeli genellikle buradan bir nörotransmitter madde salgılatır. Bu nörotransmitter ya postsinaptik hücreyi bir ya da daha fazla aksiyon potansiyeli oluşturarak eksite eder ya da postsinaptik hücrenin aktivitesini inhibe eder. MSS de oligodentrosit birden fazla aksonu sarmalayıp miyelin kılıfı oluşturarak aksiyon potansiyelini çevreden izole eder. Mikroglialar bir hasarın ortaya çıkması sonucunda hasar sonrası oluşan hücresel artık yapıları, fagositik özelliği ile ortadan kaldırır. Ependimal hücreler MSS’i beyin omurilik sıvısından ayıran epitel hücrelerdir. Beyin omurilik sıvısı, ventriküler sistemde lokalize olan koroid pleksusun özelleşmiş ependimal hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Astrositler yıldız şeklindedir ve santral nöronların yüzeyine belirli parçalar ile temas etmekle beraber MSS’deki nöronların mikro çevresini düzenlemektedir. Bu hücrelerin uzantıları sinaptik sonlanma gruplarını kaplayarak bu hücrelerin komşu sinapslardan izole edilmesini sağlamaktadır. Akson taşınımının farklı tipleri vardır. Zara bağlı organeller ile mitokondrialar hızlı aksonal taşınım sayesinde daha hızlı taşınır. Proteinler gibi sitoplazmada çözünen maddeler ise yavaş aksonal taşınım ile hareket etmektedir. MSS diğer işlevlerinin yanında çevre hakkındaki bilgiyi, periferik sinir sistemi aracılığı ile toplar. Parçaların algılanması, refleks ve diğer davranış yanıtlarının organize edilmesi, biliş, öğrenme ve bellek ile istemli hareketlerin planlanması ve gerçekleştirilmesinden sorumlu sistem MSS’dir (Berne ve ark., 2008).

2.6. Stereoloji

Stereoloji, üç boyutlu objelerin iki boyutlu kesit görüntülerinden ya da izdüşümlerinden elde edilmiş olan veriler sayesinde onların gerçekte var olan üç boyutlu özellikleri ile ilgili (hacim, uzunluk, alan, partikül sayısı, vb) yorumlara açık olan ve tarafsız metodlar zincirini içeren bir bilim dalıdır (Baddeley, 1991; Cruz-Orive, 1993).

Cruz–Orive (1993) ise stereolojiyi anlatırken bir objenin istatistiksel ve geometrik yapısı ile ilgili olarak nicel bilgileri saptamak amacıyla objeden elde edilen kesitleri ve

izdüşümlerini kullanarak sonuca varan bir yöntem olarak ifade etmiştir. Stereoloji terimi ilk defa 1960 yılından önce kullanılmış olup Yunan kökenli stereos (üç boyutlu olan cisim, üç boyutluluk) teriminden köken almıştır. Jeologlar, biyologlar, tıp disiplininde yer alan bilim adamları, 1961 senesinde Almanya'da Black Forest'ta toplanarak maddelerin üç boyutluluk tanımı ile ilgili problemleri tartışmışlardır. Objeden elde edilen iki boyutlu kesitlerden üç boyutlu yapısını anlayabilmek için Alman profesör Hans Elias, stereoloji teriminin kullanılmasını teklif etmiş ve bilim dünyasına stereoloji terimi bu şekilde girmiştir (Mouton, 2002). Biyoloji ve tıp alanındaki bilimsel yaklaşımlarda son dönemlerde önemli değişimler sergilenmiştir. Öznel yaklaşımlardan daha çok tarafsız ya da nesnel yaklaşımların yaygın olarak kabul görmüş olması bunlardan en önemlileridir. Uygun metotlar kullanılarak biyolojik yapılardan elde edilmiş olan nicel veriler tıpta kesin teşhise gidilmesi açısından, biyolojik türler arasındaki varyasyonun tespit edilmesi için oldukça önemlidir. Veriler sayılar ile ifade edildiği için verilerin karşılaştırılması son derece basittir. Nicel ölçümler öznel yaklaşımlardan daha kolay taşınabilir, depolanabilir ve analiz edilebilir özelliğe sahiptirler (James, 2004).

Stereoloji, günümüzde jeoloji, tıp, astronomi, matematik ve mühendislik bilim alanlarında sıkça kullanılmaktadır. Fakat en fazla yarar sağlanan alanlar histoloji, fizyoloji, anatomi, patoloji ve botanik gibi biyolojik yapılarla ilgilenen bilim dalları olmuştur (Russ ve Dehoff, 2000).

Biyolojik sistemler hakkında ortaya atılan hipotezlerin test edilmesi amacıyla stereolojik yöntemlerle elde edilen bilgiler kullanılır. Yapılan biyomedikal araştırmalarda özellikle biyolojik yapıların maruz kalmış olduğu zehirlenme, atrofi, dejenerasyon, hipertrofi ve proliferasyon gibi patolojik durumların tespit edilmesi için stereolojik metotlar seçilmektedir. Bu metotlar sayesinde araştırmacıya gruplar arası ve grup içi varyasyonlar hakkında bilgi sağlanmış olur (Mouton, 2002).

2.6.1. Stereoloji’de sıralı rastgele örnekleme (SRÖ)

Yapılan biyolojik çalışmalarda verilerin güvenilirliklerinin artırılabilmesi için gerekli olan temel şartlardan biri örnekleme aşamasının doğru yapılmasıdır. Yapılan çalışmanın özelliğine bağlı olmakla beraber çalışma için seçilen yapının tamamında çalışmak her daim mümkün olmayabilir. Bundan dolayı çalışılacak olan yapıdan örnekleme yapılmalıdır. Eğer böbrekte çalışılacak ise böbrek glomerüllerinin tamamını saymak yerine, yönteme uygun şekilde yapılan bir örnekleme sonucunda elde edilmiş olan kesitlerde yapılması planlanan sayımlar genellikle yeterli bulunacaktır (Gundersen, 1986; Gundersen ve Jensen, 1987; Howard ve Reed, 1998).

Örnekleme, günümüzde de eskiden olduğu gibi yapılması planlanan çalışmalarda ya tamamen rastgele ya da isteğe bağlı bir şekilde yapılmaktadır. Bu tarz çalışmalarda kullanılan yapının en iyi görünmüş olduğu ya da yapılan patolojik bir çalışmada patolojik dokunun sağlam dokudan en iyi ayırt edilebildiği kesitler incelenmektedir. Bazı çalışmalarda da hazırlanan preparatlardan en iyi boyananları ya da kesit serilerinden isteğe bağlı olarak belirlenmiş olan ve hep aynı sıraya düşenler seçilmek kaydıyla çalışmalar yapılabilmektedir. Bu şekilde yapılan bir örnekleme sonucunda elde edilecek olan verilerin gerçek değerlere daha yakın olması örnekleme basamağının sistematik bir şekilde ve rastgele yapılmış olmadığından genellikle gerçek değerlerin bir sonucu olmayacaktır (West, 1993; Howard ve Reed, 1998; Ünal ve ark., 2002). Bu şekilde yapılan çalışmalarda genellikle çeşitli ve değişik düzeltme faktörleri kullanılarak gerçek değere yakın değerler elde edebilmek belki de mümkün olabilmektedir (Abercrombie, 1946). Fakat bu şekilde elde edilmiş olan sonuçların gerçek değer olup olmadığı hususunda ciddi anlamda çelişkiler yaşanmaktadır (Haug, 1986; Williams ve Rakic, 1988; Royet, 1991).

Yapılan stereolojik çalışmalarda, sıralı rastgele örnekleme olarak tanımlanan etkin bir örnekleme şekli tercih edilmektedir. Bu tarz bir örneklemede, bileşenlerine ayrılarak incelenmesi gerekli olan yapılardan bir örnekleme yapılması gerektiğinde, o yapının tüm bileşenlerine olasılıkla örnekleme ihtimalinin verilmesi gerekmektedir (Howard ve Reed, 1998; Ünal ve ark., 2002). Çalışmalarda işlemlerin her aşamasında SRÖ şartını sağlamak gerçek sonuca ulaşabilmenin en önemli kuralıdır. Sistematik kelimesi, ilgili olan yapı üzerinde yapılan bir ön çalışmada elde edilmiş olan veriler

doğrultusunda örneklemenin tekrar edilen periyodunu, rastgele ifadesi ise belirlenmiş olan periyodun ilk elemanının tesadüfi olarak yani tarafsız bir şekilde belirlenmesini ifade eder (Howard ve Reed, 1998). Örnekleme işleminin tanımın yapıldığı gibi uygulanmadığı bir çalışmanın diğer basamaklarında hangi metot uygulanırsa uygulansın tarafsız olan stereolojik yöntemler bile kullanılsa dahi gerçek değere ulaşılması mümkün olamaz (Gundersen ve Jensen, 1987; Howard ve Reed, 1998; Ünal ve ark., 2002).

SRÖ stratejisi, stereolojik yöntemlerin kullanılması şartıyla mikroskobik ve makroskobik seviyede yapılacak olan hacim hesaplanmasında etkin ve tarafsız bir sonuç elde edebilmek amacıyla kullanılmalıdır. Burada seçilen yapının hacminin kesin olarak tespit edilebilme derecesine bağlı olarak kesitlerin kalınlığı belirlenir. Eğer bir dokudan ince kesitler halinde çok sayıda kesit elde edilebiliyorsa bunların arasından sistematik rastgele olarak seçilen örneklerin üzerinde, hacim değerleri hesaplamaları ve alan ölçümleri yapılabilir. Bir hacim hesaplamada genellikle çalışılan tüm yapıdan yaklaşık 10 ya da 15 kesit alınması yeterli olacaktır. Hacim hesaplamasını kesinleştirebilmek için örnekleme sıklığının arttırılması gerekmektedir. Aynı zamanda alan ölçümleri kesitlerin aynı yöne bakan yüzey kısımlarında yapılmak zorundadır. Yüzeyler arasındaki kesit kalınlığını muhafaza etmek amacıyla bu gerekli bir durumdur (Gundersen, 1986; Gundersen ve Jensen, 1987; Canan ve ark., 2002).

Mikroskobik analizler için üzerinde çalışılacak olan biyolojik dokuların örneklenmesi, sistematik taraflılıktan uzak olmalıdır. Örnekleme yapılmasına karar verilen nesnenin her bir parçası, eşit oranda örnekleme şansına sahip olmalı ve ölçümle elde edilecek olan sonuca eşit oranda etki edebilmelidir (Cruz-Orive, 1999). Bunun için örnekleme yaparken örneklemenin her bir aşamasında bu kurala uyulması çok önemlidir. Doğru örnekleme yönteminin seçilmesi ve kalibrasyonu yapılmış doğru ölçüm araçlarının kullanılmasıyla sistematik taraflılıktan uzaklaşma mümkündür (Howard ve Reed, 2005). Sistematik rastgele örnekleme ile rastgele yapılan örnekleme şekline göre istatistiki olarak gerçeğe daha da yakın sonuçlar elde edilebilmesi sağlanabilmektedir (Gundersen ve ark., 1999).

Üzerinde çalışılan biyolojik dokuda, önceden belirlenmiş olan ilk aralığın içerisinde rastgelen bir noktadan başlanması örneklemenin rastgelelik özelliğini

sağlarken, örnekleme aralığı ise örneklemenin sistematik kısmını tamamlar. Sıralı rastgele örnekleme metodu, üzerinde çalışılması planlanan dokunun örneklenmesinde (doku örnekleme), histolojik kesit alma (kesit örnekleme) ve mikroskop altında bu kesitlerin incelemeye alınması (alan örnekleme) olmak üzere stereolojik çalışmanın her aşamasında ayrı ayrı uygulanır (Garcia ve ark., 2003; Turgut ve ark., 2007). Russ ve Dehoff (2000), istatistiksel olarak bu şekildeki bir örneklemenin, ne kadar fazla örnek üzerine tatbik edilirse sonuçların doğru olma olasılığının da o kadar artacağını ifade etmişlerdir. Bu tarz uygulama ile aynı zamanda bireyler arasındaki varyasyonun da azaltılmasında faydanın sağlandığı görülmüştür (Gundersen ve Jensen, 1987).

2.6.2. Etkinlik

Etkinlik stereolojide önemli olan başka bir özelliktir. Stereolojide etkinlik, biyolojik bir araştırma ya da çalışmada sarf malzeme, materyal, zaman gibi kaynakların optimum seviyede kullanılarak, gerçek değerlere en yakın tahmin yürütmeyi ifade etmektedir (Gundersen ve Jensen, 1987; Mouton, 2002). Tarafsızlık, gerçek bir değerden sistematik sapmaya neden olmamayı, etkinlik özelliği ise daha az zamanda daha az hatayla iş yapmayı temsil etmektedir. Etkinliği zaman ve kesinlik açısından toplam gözlemlenen etkinlik $GE = \text{kesinlik/zaman} = 1/CV^2 \times \text{zaman}$ ($GE = \text{Gözlemlenen etkinlik}$, $CV = \text{Coefficient of Variance}$, ya da bireyler arası varyasyon) ve örnekleme etkinliği $ÖE = \text{kesinlik/zaman} = 1/CE^2 \times \text{zaman}$ ile ifade edilmektedir (Mouton, 2002). Mouton (2002), tüm bu açıklamalardan sonra etkinliğin hata katsayısı ve zamanla ters orantılı olduğunu görmüştür.

2.6.3. Hata katsayısı (Coefficient of Error=CE)

Stereolojik çalışmaların en önemli aşamalarından birisi hata katsayısının belirlenmesidir. Stereolojik çalışmalar sayesinde hata katsayısı hesaplanarak yapılan sayısal ölçümlerin kalitesi ve kesinliği gözlemlenebilir. Hata katsayısı, yapılan stereolojik çalışmalarda, gerçek biyolojik bir değere karşılık gelmemekle birlikte, örnekleme şeklinin kalitesini gösteren bir değerdir (Slomianka ve West, 2005). Hata katsayısı, örnek büyüklüğü ve örnekleme stratejisi olarak ifade edilen ve araştırmacı tarafından kontrol edilebilen iki faktöre bağlıdır. Pakkenberg ve Gundersen (1997), yapılacak olan bir ön çalışma ile bu iki faktörün belirlenebileceğini ifade etmişlerdir.

Standart hatanın populasyon ortalamasına bölünmesiyle CE hesaplanabilir (Pakkenberg ve Gundersen, 1997; Mouton, 2002). Gundersen ve ark (1999) stereolojik bir araştırmanın sonuçlarının güvenilir olabilmesi için %5 ve altındaki bir CE değerinin yeterli olduğunu bildirmişlerdir.

2.6.4. Sondalar

Teorik olarak, tarafsız stereolojik metotlarda, doku kısımlarının kesit yüzeyindeki görünüşlerinden biyolojik nesnelerin yüzey alanını, uzunluğunu, hacmini ve sayısını tahmin etmek için kullanılan geometrik şekillerin tamamı sonda olarak tanımlanmıştır (Gundersen ve ark., 1988a). Yapılacak olan çalışmalarda doğru olan sonda – parametre birlikteliğini seçmek önemlidir (Mouton, 2002; Howard ve Reed, 2005). Sondaların çizgi sondası, nokta sondası, disektör sondası ve yüzey sondası olmak üzere sınıflandırılmaları mümkündür. Bu sonda türlerinden çizgi sondası, tek boyutlu olan alan hesaplamalarında kullanılırken nokta sondası ise sıfır boyutlu olan hacim hesaplamalarında kullanılmaktadır. Yüzey sondası ise iki boyutlu sonda olup uzunluk hesaplamalarında tercih edilirken, disektör sondası üç boyutludur ve biyolojik yapılarda yer alan herhangi bir partikül türünün toplam sayısının hesaplanmasında kullanılmaktadır. Sonda ve parametre toplamı üç olmak zorundadır. Çünkü stereolojik metodlar biyolojik yapıların üç boyutlu özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Gundersen ve ark., 1988b; Howard ve Reed, 2005).

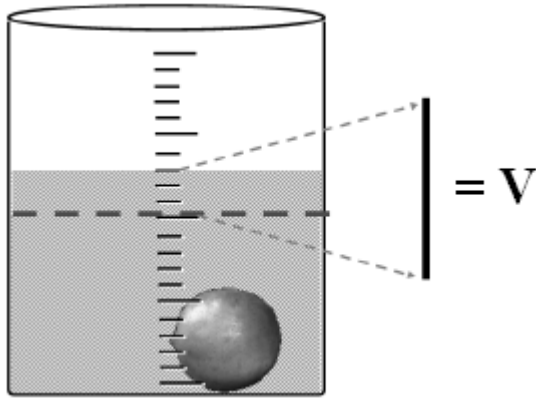
2.6.5. Cavalieri prensibi ve toplam hacim hesaplanması

Sıklıkla kullanılan önemli sayısal değerler, bir organın hacmi, bir organa ait olan değişik bileşenlerin hacimleri, ayrıca bu bileşenlerin birbirlerine ya da yapının bütününe göre hacim oranlarından ibarettir. Hacim değerleri toplamı araştırmacıların tek başına kullanılabilecekleri bir veri olmakla beraber sayılabilen özellikteki bir bileşenin birim hacmine ait olan sayısal değerinden, başka bir ifadeyle sayısal yoğunluğunu (N_v) baz alarak o bileşene ait toplam sayıya ulaşmak istenildiğinde de bilinmesi gerekli olan bir değerdir (Howard ve Reed, 1998; Canan ve ark., 2002). Bu amaçtan yola çıkılarak organ ya da yapılara ait toplam hacim değerlerini ya da bileşenlerine ait hacim değerlerini hesap etmek üzere bir grup farklı metotlar kullanılmaktadır (Weibel, 1969; Gundersen, 1986; Gundersen ve ark., 1988b; Cruz ve Weibel, 1990; Mayhew ve Gundersen, 1996).

Hacim hesaplamalarında kullanılabilecek farklı bir yöntem ise organın ağırlık değerine bağlı kalınarak yapılan hesaplama şeklidir. Bu metotta organın ağırlığı değişmez sabit ise ve de yoğunluk değeri de mevcutsa bütün bu veriler kullanılarak hacim hesaplaması yapılabilmektedir (Howard ve Reed, 1998).

Fakat toplam hacim hesabı için genellikle stereolojide Cavalieri prensibi kullanılmaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987; Gundersen ve ark., 1988a; Howard ve Reed, 1998).

Düzensiz şekle sahip olan nesnelerin hacimlerini hesap edebilmek amacıyla değişik usuller ortaya konulmuştur. Bu yöntemlerden en çok tercih edilen ve kullanılan ise Arşimet prensibidir (Archimedes Principle). Bu prensipte, içi su doldurulmuş olan dereceli silindire hacmi ölçülecek olan nesne daldırılır ve nesnenin taşımış olduğu ya da yükseltmiş olduğu su miktarı o nesnenin hacmine eşit sayılır. Bu yöntemle etrafındaki nesnelerden tamamıyla ayırt edilmiş olan hacmi ölçülecek nesnenin hacim değeri doğrudan ve kolaylıkla ölçülebilir (Michel ve Cruz-Orive, 1988; Canan ve ark., 2002). Fakat etraftan ayırt edilemeyen ve daha çok küçük biyolojik yapıların hacim ölçülerinin belirlenebilmesi için Arşimet Prensibi'nin kullanılması kapillar etkinin varlığından dolayı önerilmemektedir (McCuan ve Treinen, 2007).



Şekil 1. Archimed'in prensibine göre sıvı yer değiştirmesi ile hacim değerinin ölçülmesi.

Sıvı içine atılmış olan bir cisim, ancak sahip olduğu hacim değeri kadar sıvının yer değiştirmesine sebep olabilir (Canan ve ark., 2002). Bundan dolayı Cavalieri prensibi son yıllarda biyolojik yapılarda yapılan hacim hesaplamalarında

kullanılmaktadır (Balcıoğlu ve ark., 2009; Sönmez ve ark., 2010). Örneğin cerebrum ve cerebellum'un tabakalarının, beyin çekirdeklerinin, dalakta bulunan beyaz pulpa gibi yapıların etraflarındaki diğer dokulardan ve yapılardan ayırt edilebilmeleri gayet zordur. Bundan dolayı bu yapıları izole edebilmek ve doğrudan hacim ölçümü yapabilmek kolay değildir. Böylece Cavalieri prensibi kullanılarak hacim hesaplama imkanı doğmuştur (Gundersen ve Jensen, 1987; Howard ve Reed, 1998; Russ ve Dehoff, 1999). Aslında Cavalieri prensibi, Jaohanne Kepler'in yapmış olduğu birtakım çalışmalardan etkilenecek geliştirilmiştir. Kepler, şarap fıçılarının hacmini hesap edebilmek için "Şarap Fıçılarına Dair Yeni Ölçümler" adlı teorik olan çalışmada basit bir yol tanımlamıştır. Bu çalışmada, fıçılar belirli sayıda dilimlere ayrılmış ve bu dilimlerin her birinin hacim değerleri ayrı ayrı hesaplanarak daha sonra bu dilimlere ait olan hacim değerlerinin toplamı alınmış ve fıçının esas toplam değerine ulaşılmıştır. Daha sonra, İtalyan uzay bilimci ve matematikçi olan ve 17.yüzyılda yaşayan Bonaventura Cavalieri isimli şahıs bu prensipten hareketle günümüzde Cavalieri prensibi olarak bilinen matematiksel prensibi tanımlamıştır (Gundersen ve Jensen, 1987; Mayhew ve Gundersen, 1996; Howard ve Reed, 1998; Canan ve ark., 2002) . Bonaventura Cavalieri bir objenin hacim değerinin, mevcut objenin eşit aralıklarla kesilerek her bir kesitin yüzey alanının kesit kalınlığıyla çarpımı sayesinde elde edilebileceğini bulmuştur (Gundersen ve ark., 1999).

Bu yöntem biyolojik dokulardan elde edilmiş olan makroskobik ve mikroskobik kesit görüntülerini ve çeşitli görüntüleme yöntemleriyle (MRI, US, CT) elde edilmiş olan kesit görüntülerinin üzerine uygulanmak kaydıyla hacim hesaplama durumlarında çokça kullanılan bir metot olmuştur (Şahin ve ark., 2003; Bilgiç ve ark., 2005).

2.6.6. Cavalieri prensibi uygulaması

Cavalieri prensibi ile hacim hesaplamalarında aşağıdaki işlemler yapılarak hesaplamalar elde edilir.

- 1) Hacim hesabı yapılacak olan yapı birbirine paralel olan ve eşit aralıklı kesilerle en başından sonuna kadar dilimlenmelidir.
- 2) Her bir dilimin ayrı ayrı aynı yöne bakan kesit yüzlerinin alanları hesaplanmalıdır.

- 3) Bütün dilimlerden elde edilmiş olan toplam yüzey alan değeri dilimleme sırasında kullanılan ortalama dilim kalınlığıyla çarpılmalıdır.

Bu sayede bütün yapının toplam hacim değeri tarafsız bir yöntemle elde edilmiş olur. Hesaplama kullanılan matematiksel denklem aşağıdaki şekilde ifade edilir (Gundersen ve ark., 1988a; Royet, 1991; Howard ve Reed, 1998).

V_{ref} : İlgilenilen yapının toplam veya referans hacmi

$\sum a_i$: i numaralı kesitteki yapı izdüşümünün veya izdüşümlerinin toplam yüzey alanı

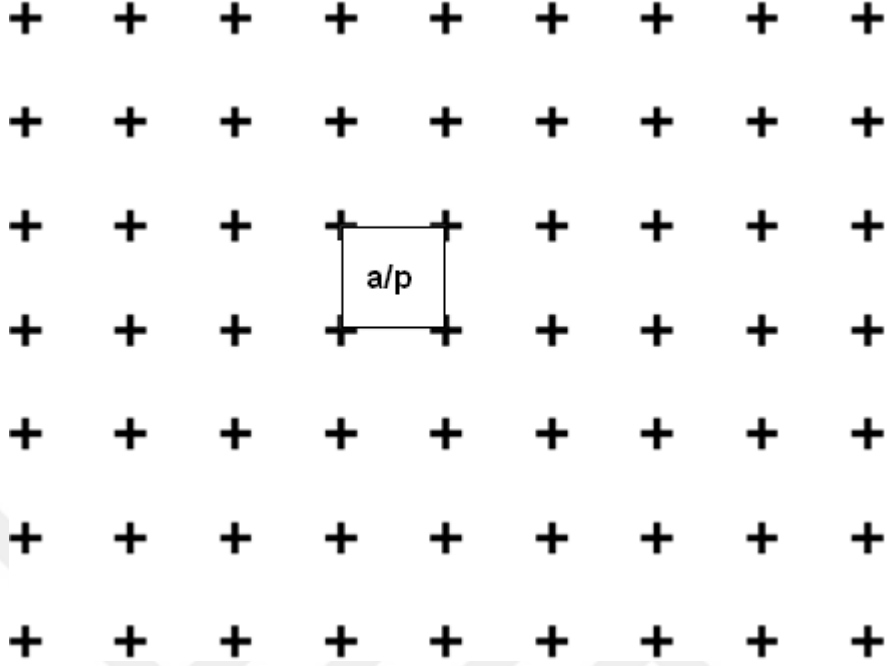
$\bar{t}$: Ortalama kesit veya dilim kalınlığı

Bu metotla, çevresindeki yapılarla olan ilişkilerine bakılmadan makroskobik olmak üzere ya da mikroskobik büyütme ile sınırlarının ayırt edilmesi mümkün olan her şekil ve yapının hacmi hesap edilebilir (Gundersen ve Jensen, 1987; Howard ve Reed, 1998).

2.6.7. Kesit yüzey alanının hesaplanması

Cavalieri hacim hesaplama metodu makroskobik dilimler ile mikroskobik kesitler üzerinde uygulanabilmektedir. Hesaplamayı yapabilmek için ilk basamak, üzerinde çalışılan bölgenin izdüşümlerinin ya da kesitlerde mevcut olan görüntülerin alanlarının hesaplanmasıdır (Howard ve Reed, 1998). Stereolojide yoğun olarak kullanılan bir yöntem noktalı alan cetvellerini kullanarak kesit görüntülerine ait olan alanları hesaplamaktır (Russ ve Dehoff, 1999).

2.6.8. Noktalı alan ölçüm cetveli



Şekil 2. Noktalı alan ölçüm cetveli. Artı işaretlerinin merkezleriyle belirtilen her bir nokta bir birim alanı a/p ifade eder.

Noktalı alan ölçüm cetveli (Şekil 2) sistematik şekilde birbirlerinden eşit uzaklıklarla ayrılmış olan noktalardan meydana gelir. Bu şekildeki bir cetvelde artı işaretlerinin kollarının kesişim noktası cetveldeki bir noktayı temsil etmektedir. Bu noktalardan her biri ise, dört tane noktanın arasında kalmış olan bir birim cetvel alanına denk gelir ve bu alan a/p ile ifade edilir. Bu şekilde hazırlanmış olan noktalı alan ölçüm cetvelinde her bir nokta arasına denk gelen sabit aralık bilinebilmektedir (Gundersen ve Jensen, 1987; Howard ve Reed, 1998).

Noktalı alan ölçüm cetveli ile alan hesaplanması

Noktalı alan ölçüm cetvelleri kullanarak alan hesaplayabilmek için, cetvel, alan hesabı yapılacak olan kesit görüntüsünün üzerine rastgele bir biçimde atılır. Bu uygulamanın sonucunda kullanılan yapının kesit üzerindeki iz düşümü kısmına denk gelen nokta sayısı, bu iz düşümünün kesitte temsil etmiş olduğu alanın miktarıyla doğru orantı içerisinde olacaktır. Görüntüsünün büyük ya da küçük oluşuna göre nokta sayısı çok veya az olacaktır. Bu noktalardan her biri belirli bir birim alanı (a/p) ifade etmektedir. Kullanılan kesit görüntüsüne denk gelen toplam nokta sayısı ($\sum P_i$) bu

birim alan değeriyle çarpıldığı zaman, o kesite ait olan görüntünün toplam alanı (A_i) tarafsız olan bir hesaplama ile elde edilir. Bu yolla elde edilen alan hesaplaması uygulama için basittir. İstatistiksel açıdan da güvenilirdir (Gundersen, 1986; Gundersen ve Jensen, 1987; Howard ve Reed, 1998; Russ ve Dehoff, 1999; Canan ve ark., 2002).

Noktalı alan ölçüm cetveli ile yapılmış olan alan hesabında uygun olan sıklıkta noktalara sahip olan cetveller tercih edilmelidir. Uygun sıklıkta noktaya sahip olan cetveller tercih edilip kullanıldığında bilgisayar destekli görüntü analizi yapan sistemlerin yaptığı hesaplamalar gibi güvenilir sonuçlar elde etmek mümkün olmaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987; Gundersen ve ark., 1999). Noktalı alan ölçüm cetvelinin diğer bir avantajı da uygulama açısından kolay olmasıdır. Şeffaf bir asetat üzerine çizilen, aralarındaki mesafenin bilinebildiği ve sistematik şekilde yerleştirilen noktaların yerine kullanılan artıların mevcut olduğu bir yapı bu iş için yeterlidir (Howard ve Reed, 1998; Canan ve ark., 2002).

Büyütme derecesi

Noktalı alan ölçüm cetvelleriyle yapılan alan hesaplamalarında en önemli husus büyütme derecesinin doğru olarak hesap edilebilmesidir. Eğer büyütme derecesi doğru bir şekilde hesap edilebilir ise bu yöntem herhangi bir görüntü üzerinde uygulamak mümkün olabilmektedir. Gerek mikroskop altında gözlemlenebilen gerekse kamera ile ekrana ya da herhangi bir yolla başka bir görüntü ortamına yansıtılan ya da fotoğraflanan herhangi bir görüntü üzerinde (ışık mikroskopik ya da elektron mikroskopik mikroyraflar, makroskopik fotoğraflar, röntgen, manyetik rezonans filmleri, bilgisayarlı tomografi) rahatlıkla uygulanabilir (Pakkenberg ve ark., 1989; Geinisman ve ark., 1996). Bu uygulamada bilinmesi gereken tek şey noktalı alan ölçüm cetvelinde bulunan noktalar arasındaki uzaklığın, büyütme derecesine göre, doku üzerindeki gerçek olan uzunluk değeri olmalıdır (Gundersen ve Jensen, 1987; Russ ve Dehoff, 1999). Bu durum bir örnekle şöyle açıklanabilir:

Noktalı alan ölçüm cetvelinde mevcut olan noktaların arasındaki uzaklık 4mm ise ve de bu cetvel 100 defa büyütülen bir görüntü üzerinde kullanılırsa, noktalar birbirinden doku seviyesinde 40 mikrometrelik (μm) bir aralıkla ayrılmış demektir. Bu hesaplama ise şu şekilde yapılır:

4mm= 4000 μm 'dir.

Büyütme 100 defa olduğundan

Büyütme derecesi; $4000 \mu\text{m}/100 = 40 \mu\text{m}$ olur.

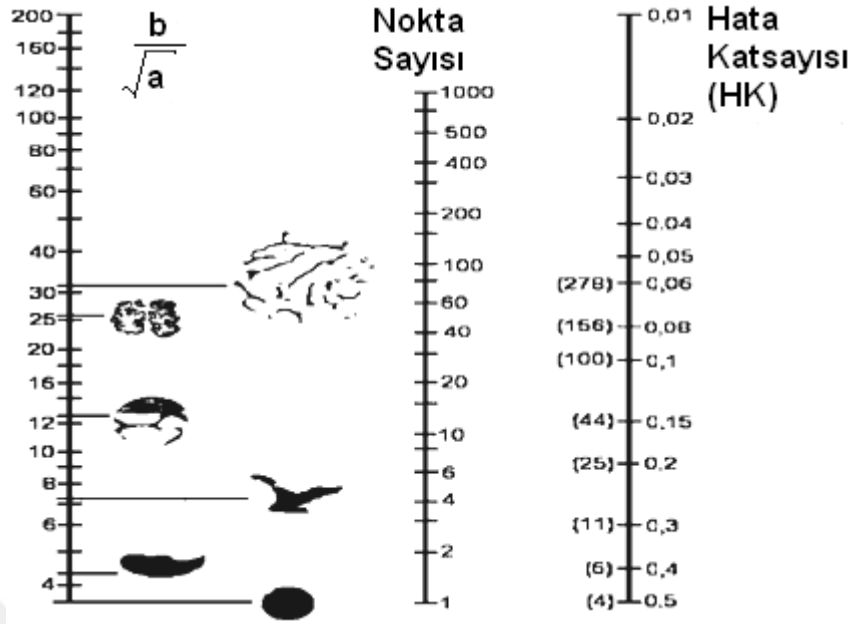
Bu durumda her bir noktanın doku seviyesinde temsil etmiş olduğu alan da rahatlıkla hesap edilebilir. Bu örnekte mevcut olan alan verilen değerlere göre, $40 \times 40 = 1600 \mu\text{m}^2$ olan bir alanı temsil eder. Görüntü üzerine denk gelen noktaların sayısı bu değer ile çarpıldığında ise, izdüşümün toplam yüzey alanı bulunacaktır (Howard ve Reed, 1998; Russ ve Dehoff, 1999). Büyütme derecesini elde etmenin en güvenilir şekli, mikrometrik bir disk kullanmaktır. Fakat mikrometrik disk yerine bu diskin görevini yapabilecek bir alet ya da ölçüm skalası ile de bu işlemi yürütmek mümkün olmaktadır (Boddke ve ark., 1997; Kaplan ve ark., 2001).

Nokta sıklığı

Stereolojik çalışmalar için noktalı alan ölçüm cetvelinin nokta sıklığının belirlenmesi de önemlidir. Sınırları karışık bir yapı gösteren, iç içe geçen yapıların görüntülerinde çalışabilmek için sık yerleşime sahip olan noktalı test cetvellerini kullanmak gerekir. Düzgün sınırlı yapılar için ise seyrek noktalı test cetvelleri tercih edilmelidir (Russ ve Dehoff, 1999). Hesaplamaların daha doğru olabilmesi için noktalı alan ölçüm cetvellerinde var olan nokta sıklığını arttırmak gerekmektedir. Fakat belirli bir hata payı durumunda mümkün olduğunca en seyrek noktalı alan cetvelinin seçilerek kullanılması daha etkin bir yaklaşım şekli olacaktır (Howard ve Reed, 1998; Canan ve ark., 2002).

Hacim ölçümü yönteminin, nokta sayımı ile belirlenmesi durumu sırasında, çalışılacak olan yapıya göre sayılması gerekli olan toplam nokta sayısını ya da kullanılacak noktalı alan ölçüm cetvelinin sahip olması gereken nokta sayısını belirlemek üzere Gundersen ve Jensen (1987) tarafından bir nomogram önerilmiştir (Şekil 3). Bu nomogram birbirine paralel olan Y ekseninde yerleşik olan $b/\sqrt{a}$, nokta sayısı ve de hata katsayısı (HK ya da CE) değerlerini ifade eden üç ayrı çizgiden oluşmaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987).

Sol tarafta yer alan çizgide ifade edilen değerler, bu nomograma göre, çalışılacak yapının $b/\sqrt{a}$ ile gösterilen değeri ifade eder. İzdüşümlerin sınır düzgünlüğünü ifade eden değer $b/\sqrt{a}$ 'dır. Bu değer saptanırken, $b/\sqrt{a}$ formülüyle doğrudan hesaplama yapılacağı gibi (Howard ve Reed, 1998), bu formülün yerine genellikle gözle yapılacak olan bir belirleme de yeterli olabilecektir. Bu nomograma göre gözle yapılan belirleme için çalışılan yapının düzgün sınırları mevcutsa, eksen üzerinde seçilecek olan nokta, çizginin alt tarafında yer almak zorundadır. Fakat karmaşık bir yapının kesitlerinin üzerinde çalışma yapılıyorsa, nomogramın sol kısmındaki çizgisinde belirlenecek değer daha yukarı tarafta olmak durumundadır (Gundersen ve Jensen, 1987). Nomogramın en sağ tarafındaki çizgi ise çalışma için olması istenilen hata katsayısını ifade eder. Sayılması gerekli olan toplam nokta sayısının ya da kullanılacak olan noktalı alan ölçüm cetveline ait olan nokta sıklığının belirlenmesi için bu çizgiden de bir değer tespit edilmesi gerekmektedir. Yapılan istatistiksel çalışmalarda, çoğunlukla kabul edilebilir seviyedeki istatistiksel açıdan hata katsayısı değeri 0.05 ya da bundan daha düşük bir değer olmalıdır. Bu değer altında seçilebilen her rakam yapılacak olan herhangi bir stereolojik çalışma için yeterli olacaktır. Fakat sonuçları çok daha kesin olan bir alan ölçümü yapılmak istenildiği durumlarda, bu çizgiden daha da düşük olan hata katsayısı değerleri seçilmelidir (Gundersen ve Jensen, 1987). Nomogramın sağ ve sol tarafındaki çizgilerden $b/\sqrt{a}$ ve HK değerlerini belirledikten sonra, bu iki değer düz bir çizgi ile birleştirilir. Çizilen çizgi ortada bulunan çizgiyi kesecektir. Bu çizginin ortada bulunan çizgiyi kestiği noktaya denk gelen değer, alan hesaplaması için örnekleme yapılan tüm kesitlerde sayılması gerekli olan toplam nokta sayısını verecektir. Böylelikle yapılacak olan bir ön çalışmada, noktalı alan ölçüm cetveline ait olan nokta sıklığını, bütün kesitlerde, nomogramda var olan kadar toplam nokta sayılacak tarzda düzenledikten sonra, belirlenecek olan hata oranlarına uyan alan ölçüm sonuçlarının elde edilmesi mümkündür. (Gundersen ve Jensen, 1987; Canan ve ark., 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu nomogram vasıtasıyla bulunmuş olan değerlerden daha fazla sayıda nokta saymanın gerekli olduğu ifade edilmekteyse de, bu konu üzerinde halen tartışmalar mevcuttur (Schmitz ve ark., 1999; Schmitz ve Hof, 2000; Schmitz ve ark., 2001).



Şekil 3. Nokta sıklığının belirlenmesi amacıyla kullanılan bir nomogram örneği.

(b = Toplam sınır uzunluğu, a = toplam görüntü alanı, $b/\sqrt{a}$ oranı izdüşümlerin sınırlarının düzgün oluşunu ifade etmektedir) (Gundersen ve Jensen, 1987; Canan ve ark., 2002).

2.6.9. Toplam hacim hesaplama

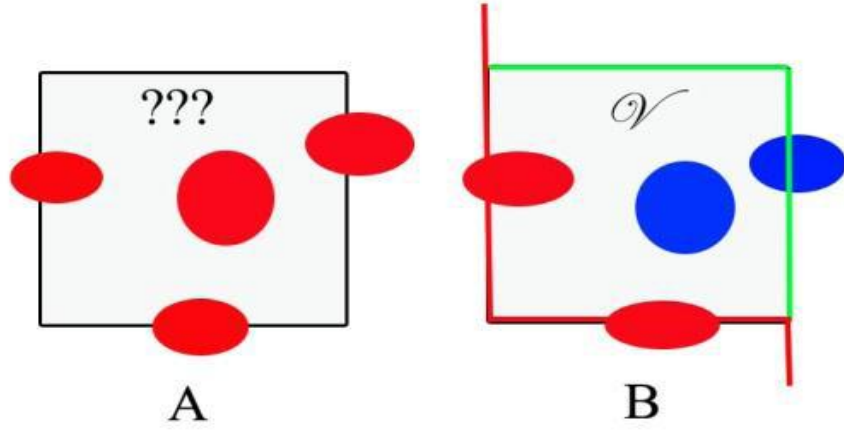
Kesitlerde çalışılan bölgenin iz düşümlerinin toplam alanı hesaplandıktan sonra, toplam hacim değerini elde edebilmek için elde edilmiş olan bu toplam alan değeri

$V_{ref} = \sum a_i \times \bar{t}$ denkliğinde yerine yerleştirilerek sonuca gidilir. Toplam alan değeri ile, dilimleri ya da kesitleri elde ederken kullanılan ortalama kesit kalınlığı değeriyle çarpıldığında elde edilen denklik sayesinde toplam hacim değerine ulaşılabilir. Bu prosedürlerin uygulandığı bir çalışmada, çalışılan yapının toplam hacmi etkin ve tarafsız olarak bulunmuş olur (Gundersen, 1986; Şahin ve ark., 2001; Canan ve ark., 2002).

Sterio (1984) tarafından geliştirilen belirli bir hacme sahip olan partiküllerin sayısının tarafsız bir metotla hesaplanabilmesi için üç boyutlu bir örnekleme yöntemi olan disektör yöntemi uygun görülmüştür. Bu yöntem biyolojik yapılar üzerine

uygulanırken fiziksel ve optik disektör olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmaktadır (Gundersen, 1986). Fiziksel disektör birbirine paralel ve ardışık olan eşit kalınlıkta ve aralarındaki uzaklık bilinen iki kesit üzerinde tanecik sayımı işleminde kullanılmaktadır (Sterio, 1984). (Q-) simgesi genellikle disektör partikülünü temsil eder. Bundan dolayı disektör bir kesitte, yani örnek olan kesitte görülüp ardışık olan kesitte gözlem kesitinde gözükmeyen partikül izdüşümlerini yani partiküllerin kesit alma yönündeki uçlarını saymaktadır. Mayhew ve Simpson (1994) bu durumda da tarafsız olarak disektör hacminde var olan partiküllerin sayısını verdiğini bildirmektedirler. Bu metodun olumsuz tarafı tanecik sayımı esnasında örnek kesiti ve gözlem kesitinin aynı bölgeleri üst üste gelme zorunluluğunun var olmasıdır. Ayrıca bu yöntemin en önemli avantajı ise kalın kesit alma durumunda kalınmamasıdır (Gundersen, 1986; Mayhew, 1991). Işık mikroskobu ile yapılan çalışmalarda optik disektör ilk kez Braendgaard ve ark., (1990) ve Gundersen (1986) tarafından kullanılmıştır. Bu metodun asıl amacı kalın olan bir doku kesiti içerisinde sayısal açıklığı fazla olan merceklerle yukarıdan aşağıya doğru ilerleyerek alınan sanal kesitlerde partikül sayımını yapabilmektir. Optik disektör uygulamasının yapılabilmesi için seçilen dokudan ortalama kalınlığı en az 25 µm olan kesitler sistematik rastgele örnekleme metodu ile alınır. Alınacak olan kesitlerin kalınlığını ölçmek için mikrokator kullanılır (Gundersen, 1986; Pakkenberg, 1993; Mayhew ve Gundersen, 1996). Tarafsız sayım çerçevesinin uygulanması ile ilgilenilmiş olan dokunun sayım işlemi elde edilen kalın kesitler üzerinde yapılır (Gundersen, 1977). Optik disektör metodunda ayrı ayrı iki fiziksel disektörün karşılaştırılmasına gerek duyulmaz. Bunun için optik disektör yöntemi ile iki ayrı fiziksel kesitin incelenmesi esnasında ortaya çıkan zorluklar engellenmiş olur (West, 1993). Optik parçalama daha önce anlatılan disektör yöntemlerinde yer alan disektör hacmine bağlı olmayan bir metottur. Bu metotta yalnızca örnekleme aşamaları kayıt edilerek toplam disektör partikülüyle örnekleme aşamalarındaki var olan değerlerin tersinin çarpımı mevcut dokudaki toplam hücre sayısını gösterir (Mayhew, 1991; West ve ark., 1991). Optik disektörde, yapılan çalışmada, çalışmanın hata katsayısına uygun olarak sayımının yapılması gereken hücre sayısı Poisson dağılımından (Poisson Distribution) türetilen $CE=1/\sqrt{n}$ formülü ile hesaplanabilmektedir (West ve ark., 1991). Bu formülde n sayılması gerekli olan hücre sayısını temsil etmektedir. Hata katsayısı değeri sayılan

hücre sayısının artmasıyla beraber düşecektir (Glaser ve Wilson, 1998; Schmitz ve Hof, 2000).



Şekil 4. Sayım çerçevesi (A), Tarafsız sayım çerçevesi (B).

Şekil 4’de A ile gösterilen sayım çerçevesinde hangi hücrelerin sayımının yapılacağı kesin olarak belli değildir. Sayım çerçevesinin kenarlarına ve içine isabet etmiş olan tüm hücreler taraflı bir şekilde sayılabilmektedir. Bu durum ise sonuçların yanlış hesaplanmasına sebep olacaktır. B ile gösterilen tarafsız sayım çerçevesinde ise kırmızı çizgilere denk gelen hücreler sayılmamalıdır. Çerçevenin içerisine ve yeşil çizgilere denk gelen hücreler sayılmalıdır. Bu durumda bir hücre ya da partikül ancak bir defa sayılmış olabileme seçeneğine sahiptir (Gundersen, 1977).

Stereoloji, günümüzde tamamı ile kabullenilmiş bir metodlar ve yöntemler topluluğu olarak bilinmektedir. Aslında istatistiksel ve matematiksel temellerle biyolojik yapıların morfolojileri ile ilgili olarak daha güvenilir ve doğru bilgilerin elde edilebilmesi için geliştirilmiş bir yöntemdir.

Bu çalışmada, laboratuvar çalışmalarında yaygın olarak kullanılan deney hayvanlarından biri olan ratta, medulla spinalis’in cervical segmenti’nin morfolojik ve stereolojik olarak incelenmesi ve elde edilecek sonuçların da konuyla ilgili yapılacak çalışmalarda referans değerler olarak kullanılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

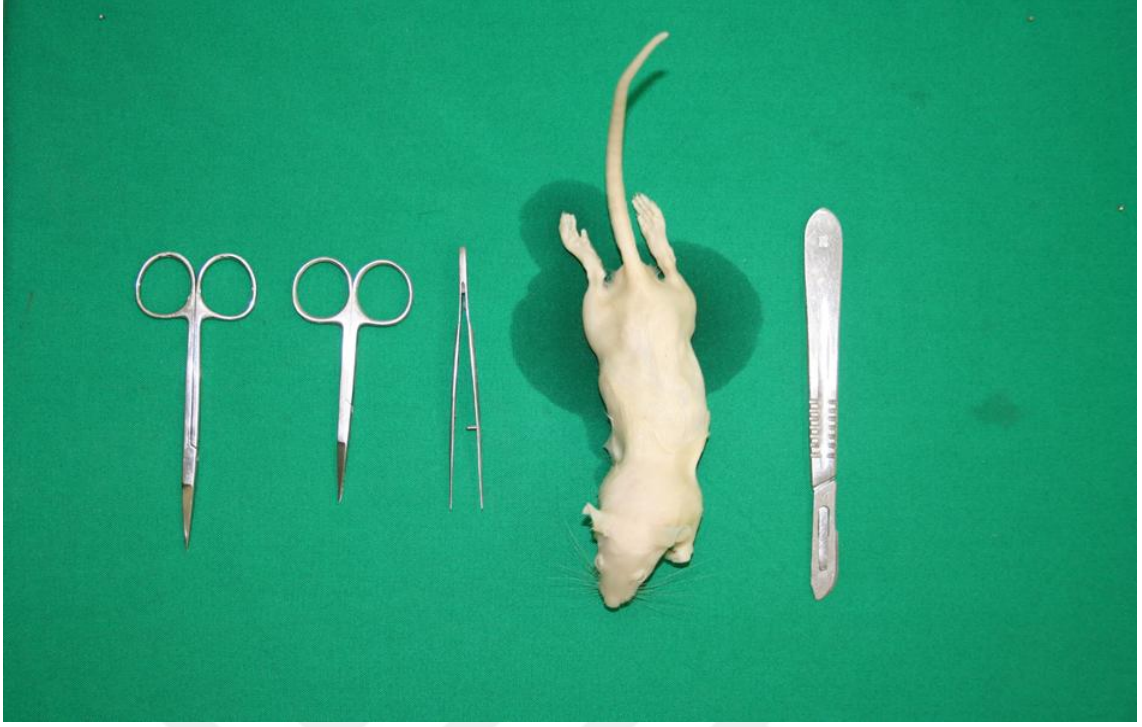
3.1. Gereç

Çalışmada ağırlıkları 50- 60 gr olan 1 aylık Wistar Albino ırkı yavru erkek ratlar ile yine ağırlıkları 150- 200 gr kadar olan 5 aylık Wistar Albino ırkı erişkin erkek ratlar kullanıldı. Ratlar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'ne başvurularak elde edildi. Çalışmanın izni 08/08/2014 tarih ve 2014/18 sayılı kurul kararı ile Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Perfüzyon

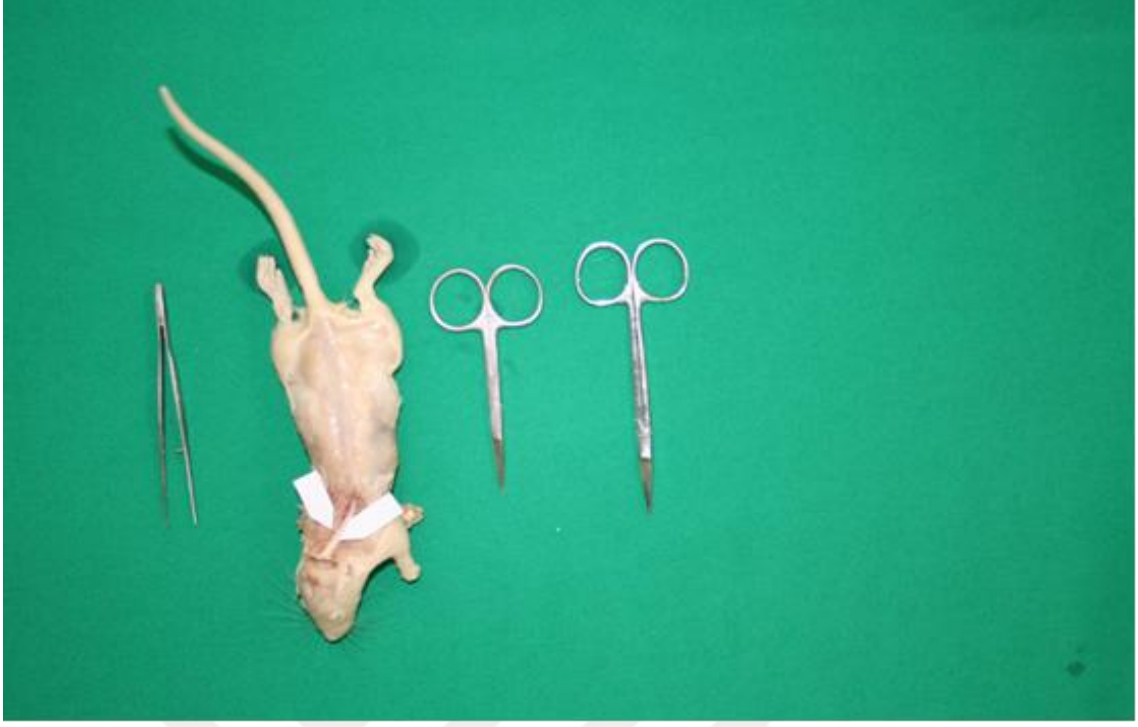
Çalışmadaki tüm hayvanlara perfüzyon yapmak için hayvanlarda derin anesteziyi sağlayabilmek amacıyla 50mg/kg ketalar i.p olarak verildi. Diaphragma'nın alt kısmından bir cerrahi makas yardımıyla göğüs kafesi açılarak kalbin görülmesi sağlandı. Anesteziye alınmış olan ratların kalpleri çalışır durumdayken ratların dolaşım sistemine insülin enjektörüyle 0,5 cc heparin kalbin ventriculus sinister'inden enjekte edildi. Ventriculus sinister'e kanül yardımıyla girildi. Perfüzyonun yapıldığı esnada kanın dışarıya akışını sağlayabilmek için de kalbin ventriculus dexter'ine bir kesi atıldı. Ventriculus dexter'den akan kanın rengi berraklaşmaya kadar (5 dakika) aynı anda kanül vasıtasıyla intracardiac %0,9'luk serum fizyolojik verildi. Aynı yöntemle 10 dakika süreyle %10'luk tamponlu formalin verilerek hayvanların tespit edilmesi sağlandı. Perfüzyon ve tespit işlemlerinden sonra ratların disseksiyonu yapıldı.



Şekil 5. Perfüze edilen 1 aylık erkek rat.

3.2.2. Diseksiyon ve medulla spinalis'in çıkarılması

Bir hafta tespit solüsyonunda bekletilen ratların medulla spinalis'lerini çıkarmak amacıyla columna vertebralis'in etrafındaki yumuşak dokular, pens, bisturi, cerrahi makas ve mikromakas yardımıyla uzaklaştırıldı. Bu işlemden sonra columna vertebralis'i şekillendiren ilgili bölgedeki vertebra'ların arcus vertebra'ları laminektomi ile uzaklaştırıldı. Böylece kemik yapı ayrıldıktan sonra medulla spinalis'e ulaşıldı. Cervical spinal segment'ler açığa çıkarıldı. Her bir hayvana ait olan medulla spinalis'lerin cervical segment'lerinin her birinden ayrı ayrı dokular elde edildi. Daha sonra bu dokulara doku takibi işlemi uygulandı (Bancroft ve ark., 1996).



Şekil 6. 1 aylık erkek ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin diseksiyonu.



Şekil 7. 5 aylık erkek ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin diseksiyonu.

3.2.3. Doku takibi

Tespit işlemleri yapıldıktan sonra doku takibi için aşağıda belirtilen sıralı işlemler yapıldı:

- | | |
|---------------------|---------|
| 1- Akar suda yıkama | 24 saat |
| 2- %70'lik alkol | 1 gece |
| 3- %80'lik alkol | 1 saat |
| 4- %96'lık alkol | 1 saat |
| 5- %96'lık alkol | 1 saat |
| 6- %99,5'lik alkol | 1 saat |
| 7- %99,5'lik alkol | 1 saat |
| 8- Ksilen | ½ saat |
| 9- Ksilen | ½ saat |
| 10- Bloklama işlemi | |

3.2.4. Örneklem şekli

Hayvan adedi, kesit sayısı ve örneklemenin belirlenmesi amacıyla çalışmaya başlamadan önce pilot çalışma yapıldı. Mevcut kaynaklarda, yapılacak olan stereolojik çalışmalarda yaklaşık olarak 0,05'lik hata katsayısını elde edebilmek için her bir grubun en az 5 adet hayvandan oluşması gerekliliği bildirilmektedir (Cruz-Orive ve Weibel, 1990). Pilot çalışma ile hayvan sayısının, kesit adedinin ve örneklem şeklinin uygun olduğu ortaya konuldu.

Ön çalışma için 5 aylık ve 1 aylık ratların medulla spinalis'lerinin cervical bölümlerinden segmentler çıkarıldı. Bu segmentlerden doku örnekleri alındı. Bu doku örneklerinden 5µm kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Rotary mikrotom vasıtasıyla (Leica RM 2135, Leica Instruments, Nussloch, Germany) alındı. Bir hayvanın medulla spinalis'inin cervical segmenti'nden ortalama 8-10 kesit alındı. İlk 15 kesit arasından rastgele bir tanesinden başlanarak ve onu takip eden her 50.kesit alınarak sistematik ve rastgele bir şekilde 1/50 oranında örneklem işlemi yapıldı. Örneklem yapılmış olan kesitler daha sonra çalışmaya dâhil edildi. Bu pilot çalışmadan sonra örneklem şekli temel alınarak diğer ratların medulla spinalis'lerinin histolojik olarak yapılan takip işlemlerini mütâkiben pilot çalışmadaki örneklem oranları ve şekli baz alınarak mikrotomda kesit alma işlemlerine devam edildi.

3.2.5. Kesitlerin elde edilmesi

Ön çalışmada tespit edilmiş olan sayıdaki kesitlerin elde edilebilmesi için parafine gömülerek bloklanmış cervical spinal segment'lerin her birinden ayrı ayrı kesitler alındı. Kesit alma işleminden önce kesitlerin lama tam olarak yapışmasını sağlamak amacıyla 40-50°C olan su banyosu havuzunun içine %1 oranında jelatin karıştırıldı. Jelatinin erimesi için 10-15 dakika kadar beklenildi. Coronal düzlemde, bloklardan, Rotary mikrotom vasıtasıyla (Leica RM, 2135, Leica Instruments, Nussloch, Germany) çelik disposable mikrotom bıçakları kullanılarak 5µm kalınlığında kesitler alındı. Pilot çalışmaya bağlı kalınarak örnekleme için 1/50 adım ile alınan kesitler 40-50°C ye sabitlenmiş olan su havuzundaki suyun üzerine bırakıldı. Bir müddet suyun üzerinde kesitler alınırken meydana gelen kırışıklıkların düzleşmesi için beklenildi. Düzleştiği gözlemlenen kesitler daha önceden hazırlanmış ve isim kodlamaları yapılmış olan lamaların üzerine alındı. Kesitlerin hem lamlara daha iyi yapışmalarını sağlamak için hem de fazla olan parafini eritebilmek için lamalar zembillere yerleştirilerek 80°C'lik etüvde 30 dakika bekletildi. Lamlara yapışan ve fazla parafini eritilerek uzaklaştırılan kesitler boyamaya hazır hale getirildi.

3.2.6. Boyama işlemi

Dokulardan elde edilmiş olan kesitler hematoksilin- eozin boyama yöntemi ile boyandı. Boyama işlemi için kesitler lamlara alınarak boyamaya hazır hale getirilmek üzere hazırlanmış olan bu kesitlere sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı (Bancroft ve ark., 1996).

1- Ksilen	20 dakika(4x5 dk)
2- %95'lik Alkol	5 dakika
3- %96'lık Alkol	5 dakika
4- %80'lik Alkol	5 dakika
5- %70'lik Alkol	5 dakika
6- Distile su	5 dakika
7- Hematoksilin	10 dakika
8- Distile su	5 dakika
9- Hafif akarsu	Renk açılıp eflatun tona dönünceye kadar
10- Eozin	3-5 saniye

11- Distile su	5 dakika
12- Hafif akarsu	Lamdaki boya akıncaya kadar
13- Distile su	5 dakika
14- %70'lik Alkol	5 dakika
15- %80'lik Alkol	5 dakika
16- %96'lık Alkol	5 dakika
17- %99,5'lik Alkol	5 dakika
18- Ksilen (x4)	5 dakika (x4)
19- Entellan® (SIGMA) ile kapatma	

3.2.7. Görüntü analizi

Medulla spinalis oldukça küçük bir yapı olduğu için stereolojik adımlamaya ihtiyaç duyulmadı. Numerik açıklık (NA)=0,25, objektif x 4 büyütme ile noktalı alan ve ardından da hacim hesaplaması yapıldı. Bunun için Shtereom 1.0 paket programı seçildi. Programdaki hesaplama için Cavalieri Prensibi kullanıldı (Gundersen ve Jensen,1997; Odacı ve ark., 2005). Sayım yapılırken Olympus CX31 marka mikroskop altında, Olympus U-TV0, 5XC-3 Tokyo Japan ile görüntü elde edildi. Yapılan araştırmada medulla spinalis'lerin cervical kısmını oluşturan 8 segmentin; toplam medulla spinalis hacmi; substantia grisea hacmi ve toplam substantia alba hacmi hesaplandı. Noktaların sayısal oranları hacim yerine geçerli olarak kullanılabildiği için nokta sayısı kullanıldı (Howard ve Reed, 1998; Howard ve Reed, 2005). Noktalı alan ölçüm cetveli kullanılırken substantia alba ve grisea için küçük noktalar hesaba katıldı. Segmentin tümünde gereksiz nokta sayımını engellemek için küçük noktaların dört katı alanı içeren büyük noktalar kullanılarak hesaplamada 4 ile çarpımı gerekirken Shtereom paket programı bu büyütmeyi otomatik olarak gerçekleştirmektedir.

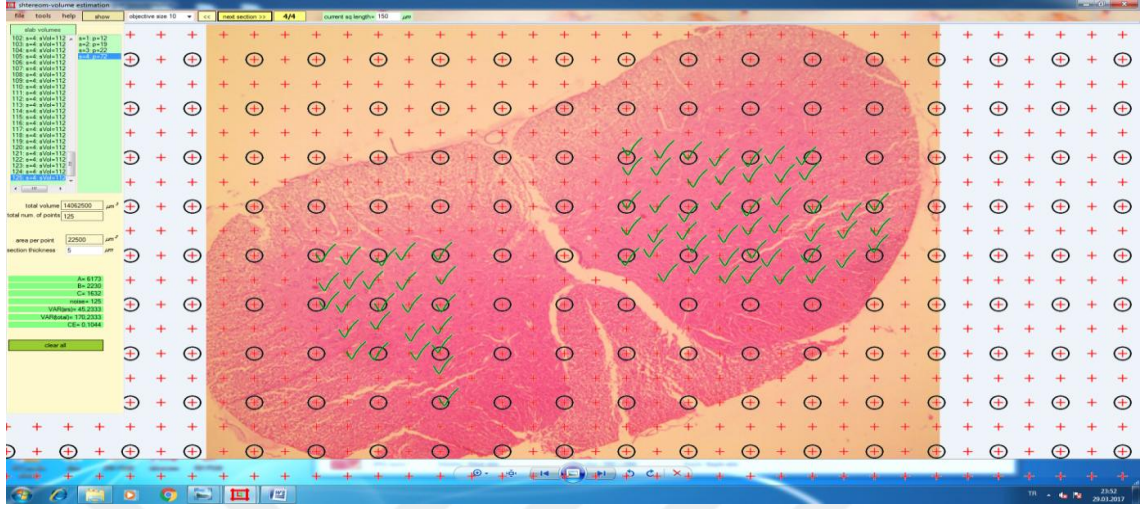
Hacim yoğunluğunu hesaplama formülü:

Her bir segmentin substantia alba'ya ait olan hacim oranı: Substantia alba'ya denk gelen nokta sayısı/ cervical segment'in tümüne denk gelen nokta sayısı

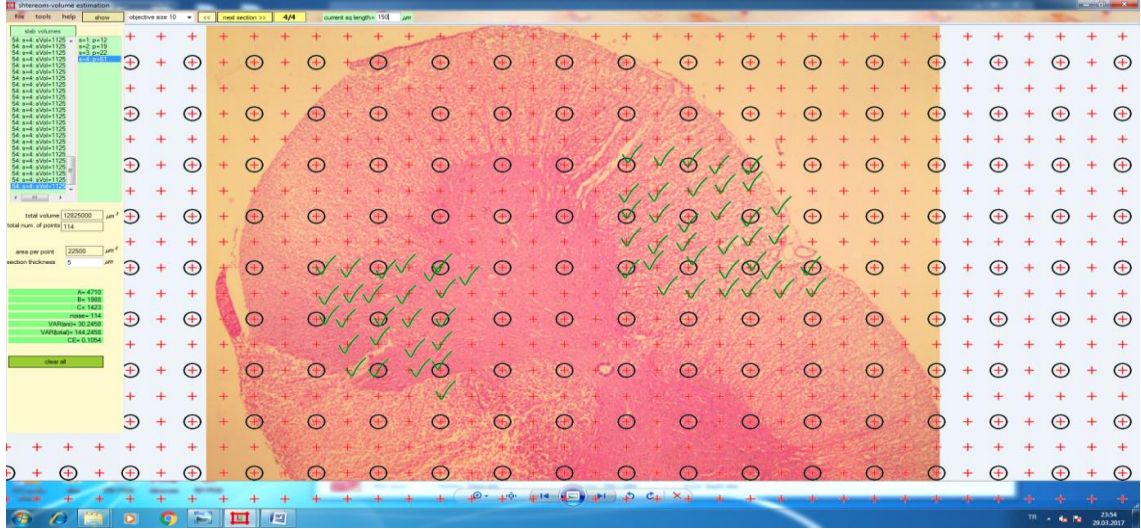
Total hacim hesaplama formülü: Segmentlerin total hacmi için 8 adet segmente ait olan hacim verileri toplandı.

Cervical segment hacim formülü: Hacim oranı X cervical segment'in referans hacmi

Cervical segment referans hacmi formülü: Kesit aralığı mesafesi X noktanın gerçek alanı X nokta sayısı



Şekil 8. Shtereom programında noktalı alan cetveli.



Şekil 9. Shtereom programında noktalı alan cetveli.

3.2.8. Hacim hesaplamalarında hata katsayısının (Coefficient of Error=CE) tespit edilmesi

Cavalieri prensibi kullanılarak yapılan çalışmalarda, kesit sayısı ki buna bağlı olarak kesit aralığı ve noktalı alan test cetvelindeki noktaların sıklığının yeterli olup olmadığının kararının verilebilmesi için hata katsayısına (HK) bakılmalıdır. Ortalama standart hata ya da hata katsayısı, Cavalieri Prensibi kullanılarak elde edilmiş olan hacim değerlerinin doğruluğunu ortaya koyan bir değerdir. Yaptığımız çalışmada da elde edilen hacim değerlerinin doğruluğunun ortaya konulabilmesi için HK formülü kullanıldı (Gundersen ve Jensen, 1987). Bu formülle aynı zamanda çalışma için gerekli olan kesit sayısı ve noktalı alan cetvelindeki nokta sıklığının yeterliliği de belirlenmektedir. Özellikle hacim ölçümlerinde hata katsayısı değerinin %5'den küçük ya da eşit olmasının tercih edilmesi söz konusudur (Gundersen ve Jensen 1987; Gundersen ve ark 1999; Garcia-Finana ve ark., 2003). Hata katsayısı hesaplaması ve diğer veriler bir takım formüller yardımıyla hesaplanmaktadır.

NOISE değeri HK hesaplamasının yapılabilmesi için bilinmelidir. İnceleyeceğimiz yapıdan kesit alındığında ortaya çıkan kesitin yüzey alanının hakkında bilgiler veren değer NOISE değeridir. Hesaplanması ise şu şekilde olmaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987; Geinisman ve ark., 1996; Gundersen ve ark., 1999).

$$(\text{Var}_{\text{SRÖ}}) \left[\sum_{i=1}^n a \right] = \left[3x \sum (P_i^2 - \text{NOISE}) - 4x \sum p_i \times p_{i+1} + \sum p_i \times p_{i+2} \right] / n$$

$$(\text{Var}_{\text{SRÖ}}) \left[\sum_{i=1}^n a \right] = [(3xA - \text{NOISE}) - 4xB + C] / n$$

$$\text{NOISE} = 0,072 \times (b/\sqrt{a})$$

Formülde;

0,0072: her hesaplamada kullanılan sabit bir değer;

n: incelenen kesit sayısı

$\sum P$: tüm kesitler için kullanılan ilgili alan üzerine denk gelen toplam nokta sayısı

$b/\sqrt{a}$: çalışmada kullanılan yapının kesitlerinde ortaya çıkan iz düşümlerinin karmaşıklığını ifade eden değerdir.

Şekil 3’de verilen nomogramda $b/\sqrt{a}$ verisinin elde ediliş şekli açıklanmıştır (Gundersen ve Jensen, 1987; Canan ve ark., 2002).

Hata katsayısının hesaplanabilmesi için NOISE değeri ile beraber SRÖ varyansının da bilinmesi gerekmektedir.

$$(Var_{SRÖ})$$

Bu formül daha da basitleştirilebilir.

$$HK(\sum p) = \sqrt{\text{Toplam Var} / (\sum p_i)}$$

$$\text{Hacim}(V) = \sum p_i \cdot a/p \cdot (KÖÖ) \cdot (AÖÖ) \cdot \bar{t}$$

$(Var_{SRÖ})$, SRÖ sonucunda elde edilen varyansı (değişikliği) gösteren değerdir. Bu varyans, kesit örneklerinde uygun bir değişken elde etmek için gerekli olan kesit sayısı hakkında bilgi vermektedir. $Var_{SRÖ}$ ’den hareketle aşağıda bulunan formüller ile toplam varyans ve HK değerleri elde edilebilir (Gundersen ve Jensen, 1987).

$$\text{Toplam Var} = \text{NOISE} + Var_{SRÖ}$$

$$HK(\sum P) = \sqrt{\text{toplamlar Var} / (\sum Pi)}$$

Çalışmalarda HK değerinin 0,05’den küçük olması örnekleme şekil ve planının yeterli olduğunu ifade eder (Gundersen ve Jensen, 1987; Şahin ve ark., 2001).

Çalışmada ilgili yapıların hacim hesaplaması için aşağıdaki formül kullanılmıştır

$$\text{Hacim}(V) = \sum Pi \cdot a/p \cdot (KÖÖ) \cdot (AÖÖ) \cdot \bar{t}$$

$\sum P_i$: Toplam nokta sayısı

a/p: Bir noktanın temsil etmiş olduğu alan

KÖO: Kesit örnekleme oranı

AÖO: Adım örnekleme oranı

$\bar{t}$: Ortalama kesit kalınlığı

Çalışmada NOISE, HK ve medulla spinalis'in hacim hesaplamalarına ait olan örnek tablo 3, 4, 5'de verilmiştir.

Tablo 3. Total volume değerleri.

shtereom	volume	estimation			
	date	time			
	21.04.2016	15:36:16			
section no, i	Qi	Qi x Qi	Qi x Qi+1	Qi x Qi+2	
1	290	84100	86420	82070	
2	298	88804	84334	82248	
3	283	80089	78108	79523	
4	276	76176	77556	68724	
5	281	78961	69969	71093	
6	249	62001	62997	69222	
7	253	64009	70334	64009	
8	278	77284	70334	58936	
9	253	64009	53636	0	
10	212	44944	0	0	
	total=2673				
	A=	720377			
	B=	653688			
	C=	575825			
	noise=	2673			
	VAR(srs)=	475,7708333			
	VAR(total)=	3148,770833			
	CE=	0,0209929			
	total volume=	2138400000			

Tablo 4. Substantia alba volume değerleri.

shtereom	volume	estimation			
	date	time			
	06.04.2016	12:28:42			
section no, i	Qi	Qi x Qi	Qi x Qi+1	Qi x Qi+2	
1	98	9604	10388	10584	
2	106	11236	11448	12084	
3	108	11664	12312	11340	
4	114	12996	11970	12996	
5	105	11025	11970	11340	
6	114	12996	12312	12540	
7	108	11664	11880	12636	
8	110	12100	12870	8910	
9	117	13689	9477	0	
10	81	6561	0	0	
	total=1061				
	A=	113535			
	B=	104627			
	C=	92430			
	noise=	1061			
	VAR(srs)=	47,2666667			
	VAR(total)=	1108,266667			
	CE=	0,0313767			
	total volume=	848800000			

Tablo 5. Substantia grisea volume değerleri.

shtereom	volume	estimation			
	date	time			
	05.04.2016	15:58:11			
section no, i	Qi	Qi x Qi	Qi x Qi+1	Qi x Qi+2	
1	98	9604	8624	7840	
2	88	7744	7040	8976	
3	80	6400	8160	7120	
4	102	10404	9078	8364	
5	89	7921	7298	8099	
6	82	6724	7462	8364	
7	91	8281	9282	8463	
8	102	10404	9486	7752	
9	93	8649	7068	0	
10	76	5776	0	0	
	total=901				
	A=	81907			
	B=	73498			
	C=	64978			
	noise=	901			
	VAR(srs)=	58,35			
	VAR(total)=	959,35			
	CE=	0,0343767			
	total volume=	720800000			

Çalışmada substantia alba'nın hacmi tüm medulla spinalis'ten substantia grisea ve canalis centralis çıkarılarak hesap edildi. Referans hacim içinde yer alan anatomik bir yapının referans hacme olan oranı genellikle kullanılan ve önemli olduğu düşünülen bir parametredir (Gundersen, 1986; Gundersen ve ark., 1988; Howard ve Reed, 2005) Yapılan çalışmada substantia grisea, substantia alba segment düzeyinde tüm segmente ait olan (1) ve (2) hacim oranları aşağıda verilen formüller ile hesap edildi.

$$1) V_A (X,Y) = \frac{Y'nin \text{ içerisinde bulunan } X'in \text{ alanı}}{Y'nin \text{ alanı}} \times 100$$

$$2) V_V (X,Y) = \frac{Y'nin \text{ içerisinde bulunan } X'in \text{ hacmi}}{Y'nin \text{ hacmi}} \times 100$$

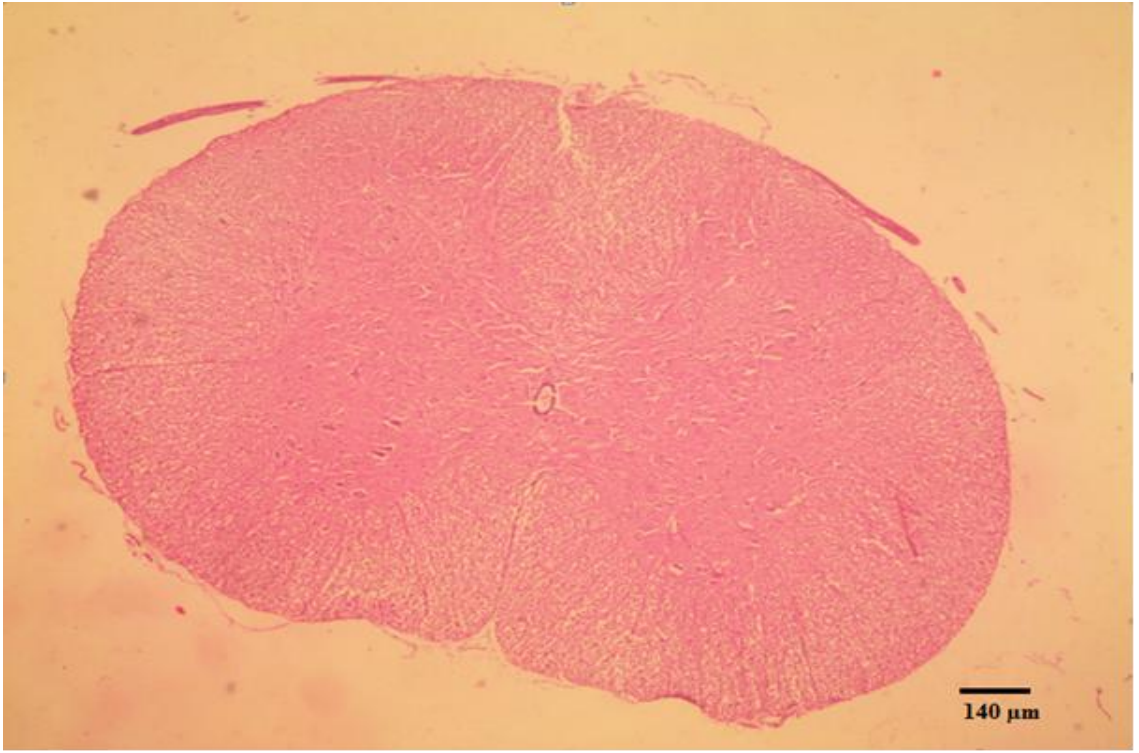
Formülde X substantia grisea ya da substantia alba'nın alanını (hacmini), Y ise medulla spinalis'in alanını (hacmini) ifade etmektedir. Hacim yerine substantia grisea ya da substantia alba ve medulla spinalis'in denk gelen nokta sayıları da kullanılabilir.

$$V_v(\text{substantia grisea, medulla spinalis}) = \frac{\Sigma P \text{ substantia grisea}}{\Sigma P \text{ medulla spinalis}}$$

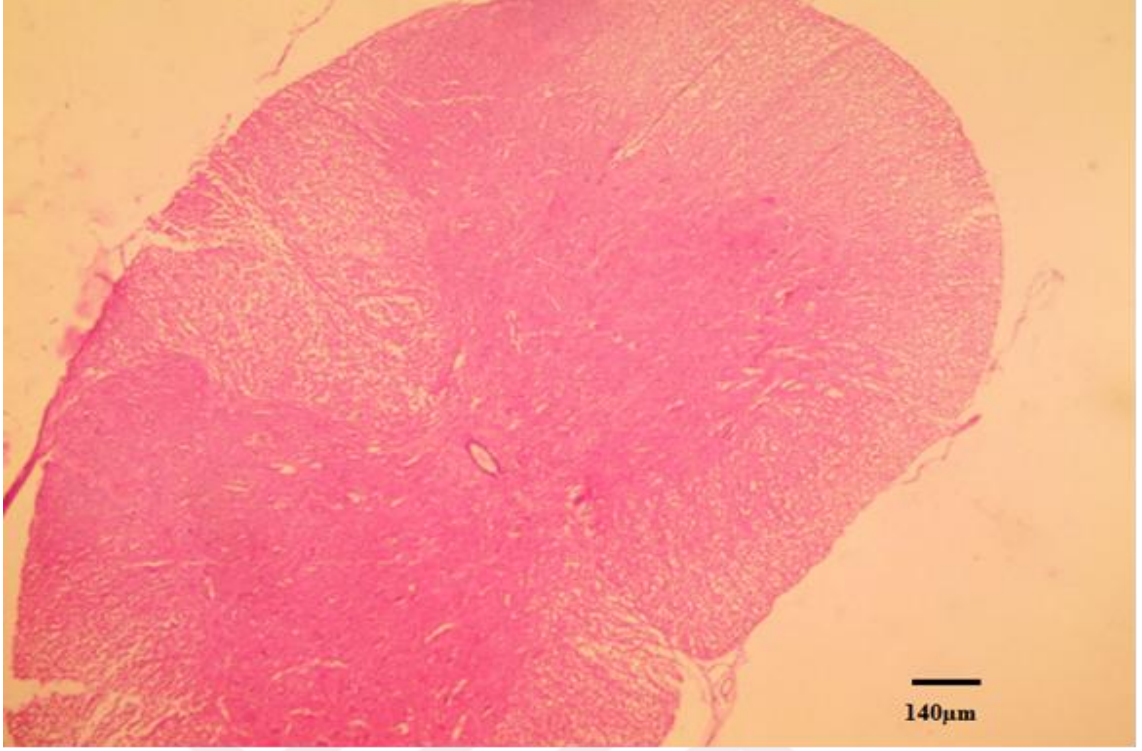
Formülde ΣP substantia grisea, substantia grisea'ya denk gelen noktaların toplamını, ΣP medulla spinalis ise medulla spinalis'in tamamının üzerine isabet eden toplam nokta sayısını temsil etmektedir (Turgut ve ark., 2007).

4. BULGULAR

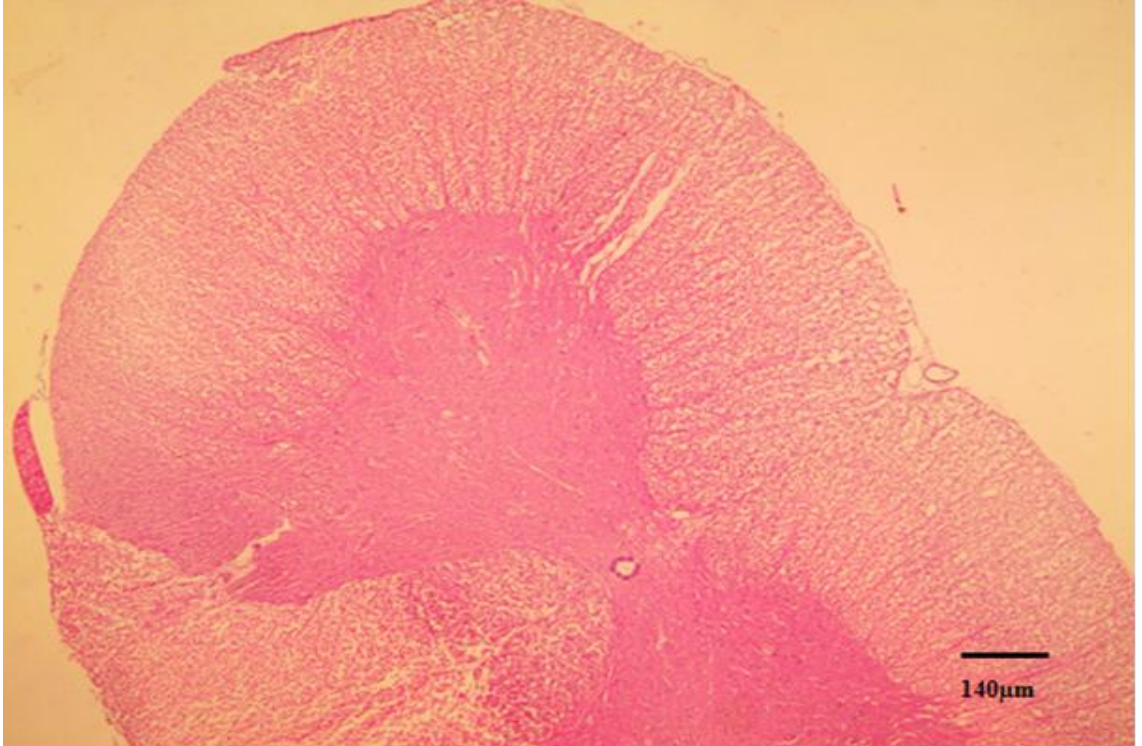
Bu çalışmada altı adet 1 aylık ve altı adet 5 aylık erkek ratların medulla spinalis'lerinin cervical segment'lerine ait olan tüm hacim, substantia alba ve substantia grisea hacim değerlerinin ayrı ayrı tespit edilmiş olmasının yanı sıra SG hacim değerlerinin SA hacim değerlerine oranları, SA hacim değerlerinin tüm cervical segment'e ait olan hacim değerlerine oranları ve yine SG hacim değerlerinin tüm cervical segment'e ait olan hacim değerlerine oranları ayrı ayrı tespit edilerek değerlendirilmeleri sağlandı.



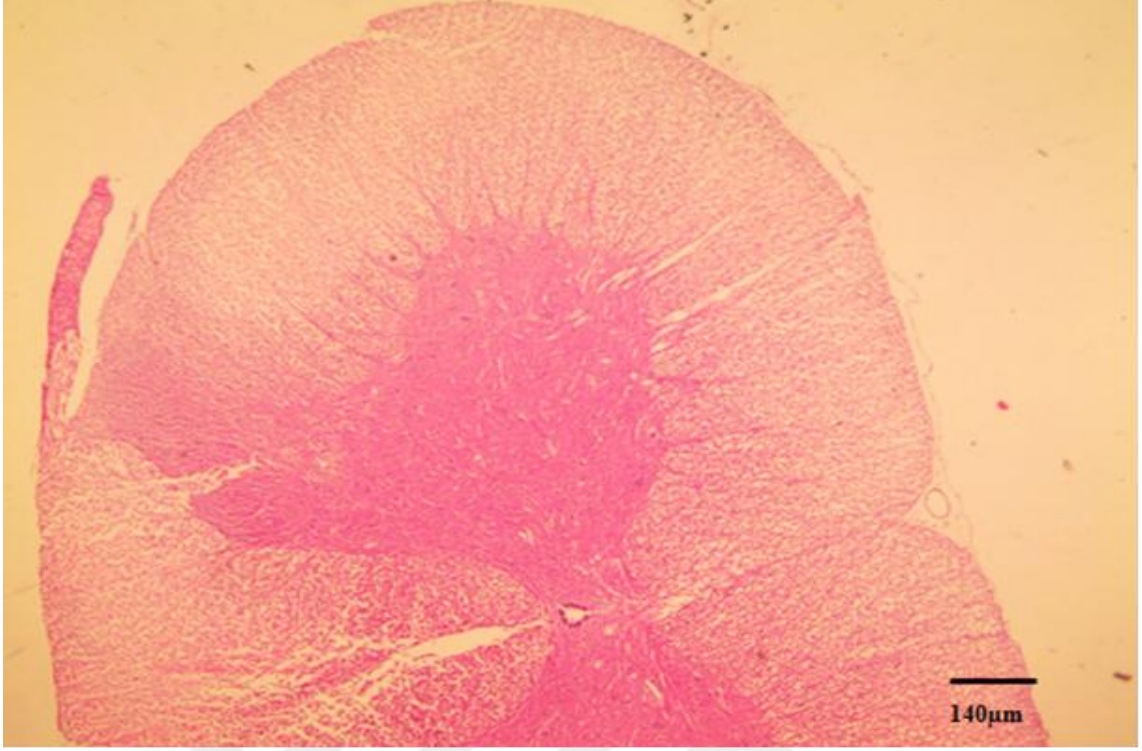
Şekil 10. 1 aylık rat medulla spinalis cervical segment (X 4'lük objektif).



Şekil 11. 1 aylık rat medulla spinalis cervical segment (X 4'lük objektif).



Şekil 12. 5 aylık rat medulla spinalis cervical segment (X 4'lük objektif).



Şekil 13. 5 aylık rat medulla spinalis cervical segment (X 4'lük objektif).

Yapılan bu çalışmada altı adet 1 aylık erkek ratlara ait olan medulla spinalis'in cervical segment'inin tüm hacim değerleri hesap edildi. Bu hesaplamaların sonucunda 1 aylık erkek ratlarda tüm hacim bakımından bir değerlendirilme yapıldığında C1 değerinin hayvanlar arasında farklılık gösterdiği saptandı. Aritmetik ortalama incelendiğinde ise C1'in cervical segment tüm hacim değerinin diğer bütün segmentlerden daha fazla olduğu gözlemlendi. Ayrıca ortalama C3 değerinde bir azalma saptanırken C4 değerinin 2,102 mm³ olduğu ve bir artışın görüldüğü saptandı. C5 segment'inden sonra ise tüm hacim değerinde belirgin bir düşüş görüldü. En düşük cervical segment tüm hacim değerinin ise C8'e ait olup 1,067 mm³ olarak saptandığı yapılan hacim değerlendirilmesi ile tespit edildi (Tablo 6).

Tablo 6. 1 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin hacim değerleri (mm³).

Hayvan Sayısı	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	R1	2,138	2,192	2,006	2,247	2,080	1,800	0,700	1,163
	R2	2,238	1,785	1,861	1,755	2,100	1,676	1,156	0,917
	R3	3,646	2,017	2,426	2,713	3,079	2,317	1,618	1,421
	R4	2,378	2,240	2,783	2,595	2,697	2,026	1,313	1,236
	R5	3,204	1,732	1,529	1,647	1,192	1,700	2,128	0,863
	R6	1,388	2,840	1,608	1,660	1,205	0,974	0,971	0,803
	Ortalama	2,498	2,134	2,035	2,102	2,058	1,748	1,314	1,067

Tablo 7'de gösterilen 1 aylık erkek ratların cervical segment'ine ait olan substantia alba değerlerinden en yüksek ortalama hacim değeri 1,018 mm³ olup C1 segment'ine aittir. C2 ve C3 segment'lerinin substantia alba hacim değerleri belirgin bir azalma gösterirken C4 segment'ine ait olan hacim değerinin arttığı gözlemlendi. C5 segment'inin hacim değerinin 0,919 mm³ olduğu ve bu değer diğer segmentlerde giderek azaldığı tespit edildi. C6, C7 ve C8 segment'lerindeki substantia alba hacim değerlerinin de daha düşük olduğu görüldü. Substantia alba'ya ait olan en yüksek hacim değerinin de 1,009 mm³ olduğu ve bu değer de C4 segment'ine ait olduğu saptandı.

Tablo 7. 1 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia alba'nın hacim değerleri (mm³).

Hayvan Sayısı	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	R1	0,848	1,050	0,914	0,856	0,654	0,813	0,488	0,644
	R2	0,832	0,859	0,864	0,537	0,846	0,646	0,511	0,414
	R3	1,296	0,709	0,840	0,856	0,943	0,738	0,560	0,580
	R4	1,145	0,743	0,865	1,501	1,389	0,835	0,674	0,712
	R5	1,133	1,004	0,976	1,076	0,900	1,180	1,118	0,668
	R6	0,858	1,232	0,972	1,232	0,782	0,683	0,716	0,694
	Ortalama	1,018	0,932	0,905	1,009	0,919	0,815	0,677	0,618

Bir aylık erkek ratlarda cervical segment'lere göre substantia grisea değerleri incelendiğinde C1 ve C4'e ait olan hacim değerlerinin diğer segmentlere ait olan hacim değerlerine göre daha yüksek olduğu dikkat çekti. C1 segment'i için bu değer 0,851 mm³ iken C4 segment'i için bu değer 0,784 mm³ olarak hesap edildi. C2 ve C3 segment'lerine ait olan substantia grisea'nın hacim değerleri C1 ve C4 segment'lerinin hacim değerlerine göre daha düşüktü. Fakat asıl hacim değeri düşüşünün C5 segment'inde olduğu saptandı. C8 segment'ine kadar hacim değerindeki azalmanın

devam ettiği görüldü. Substantia grisea'nın hacim değerinin en düşük olduğu segment olarak C8 tespit edilirken bu değer 0,393 mm³ olarak bulundu (Tablo 8).

Tablo 8. 1 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia grisea'nın hacim değerleri (mm³).

	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hayvan Sayısı	R1	0,720	0,653	0,697	0,735	0,568	0,654	0,548	0,428
	R2	0,741	0,619	0,672	0,737	0,837	0,568	0,421	0,362
	R3	1,213	0,676	0,622	0,836	0,829	0,765	0,445	0,415
	R4	0,940	0,600	0,816	0,738	0,695	0,776	0,434	0,347
	R5	0,823	0,766	0,728	0,835	0,545	0,580	0,802	0,400
	R6	0,669	1,015	0,775	0,828	0,572	0,476	0,481	0,409
	Ortalama	0,851	0,721	0,718	0,784	0,674	0,636	0,521	0,393

1 aylık erkek ratlarda Tablo 9'da cervical segment'e ait olan substantia grisea'nın hacim değerinin substantia alba hacim değerine oranları incelendiğinde en yüksek ortalama oran değerinin C4 segment'inde tespit edilip 0,85 olduğu görüldü. Ayrıca C1 segment'ine ait olan oran değeri de yüksek olarak saptandı. Substantia grisea / substantia alba oran değeri C5 segment'inden itibaren azalma göstermiş olup en düşük oran değeri 0,64 ile C8 segment'inde tespit edildi.

Tablo 9. 1 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/substantia alba hacim (SG/SA) oranları.

	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hayvan Sayısı	R1	0,84	0,62	0,76	0,85	0,86	0,80	1,12	0,66
	R2	0,89	0,72	0,77	1,37	0,98	0,87	0,82	0,87
	R3	0,93	0,95	0,74	0,97	0,87	1,03	0,79	0,71
	R4	0,82	0,80	0,94	0,49	0,50	0,93	0,64	0,48
	R5	0,72	0,76	0,74	0,77	0,60	0,49	0,71	0,59
	R6	0,77	0,82	0,79	0,67	0,73	0,69	0,67	0,58
	Ortalama	0,82	0,77	0,79	0,85	0,75	0,80	0,69	0,64

Yine 1 aylık erkek ratların cervical segment'inde substantia alba'nın hacim değerinin tüm medulla spinalis'in hacim değerine olan oranı incelendiğinde bu oranın C8'de 0,60 olduğu, bu rakamın da değerlerin en yükseği olarak tespit edildiği saptandı. Ayrıca C4 ve yine C7 segment'lerinde de oran değerinin yükseldiği görüldü. Bu değerlerin C4 segment'i için 0,49 iken C7 segment'i için 0,53 olarak belirlendi. En düşük hacim oranı değeri ise 0,42 ile C1 segment'inde tespit edildi (Tablo 10).

Tablo 10. 1 aylık ratlarda cervical spinal segment’lerde substantia alba hacim /medulla spinalis hacim (SA/MS) oranları.

Hayvan Sayısı	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	R1	0,39	0,47	0,45	0,38	0,31	0,45	0,69	0,55
	R2	0,37	0,48	0,46	0,30	0,40	0,38	0,44	0,45
	R3	0,35	0,35	0,34	0,31	0,30	0,31	0,34	0,40
	R4	0,35	0,57	0,63	0,65	0,75	0,69	0,52	0,77
	R5	0,61	0,43	0,60	0,74	0,64	0,69	0,73	0,86
	R6	0,48	0,33	0,31	0,57	0,51	0,41	0,51	0,57
	Ortalama	0,42	0,43	0,46	0,49	0,48	0,48	0,53	0,60

Tablo 11’da verilen değerler cervical segment’te substantia grisea’nın hacim değerinin tüm medulla spinalis’in hacim değerine olan oran tablosunu göstermektedir. Substantia grisea’nın hacim değerinin tüm medulla spinalis’in hacim değerine olan oranı incelendiğinde en yüksek değer 0,43 gibi bir rakamla C7 segment’ine ait olduğu tespit edildi. En düşük SG/MS değerinin ise C2 segment’ine ait olup 0,33 gibi bir rakam olarak saptandığı görüldü. Diğer segmentlerde ise SG/MS hacim oranının birbirine yakın olarak seyrettiği saptandı.

Tablo 11. 1 aylık ratlarda cervical spinal segment’lerde substantia grisea hacim/medulla spinalis hacim (SG/MS) oranları.

Hayvan Sayısı	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	R1	0,33	0,29	0,34	0,32	0,27	0,36	0,78	0,36
	R2	0,33	0,34	0,36	0,41	0,39	0,33	0,36	0,39
	R3	0,33	0,33	0,25	0,30	0,26	0,33	0,27	0,29
	R4	0,39	0,26	0,29	0,28	0,25	0,38	0,33	0,28
	R5	0,25	0,44	0,47	0,50	0,45	0,34	0,37	0,46
	R6	0,48	0,35	0,48	0,49	0,47	0,48	0,49	0,50
	Ortalama	0,35	0,33	0,36	0,38	0,34	0,37	0,43	0,38

5 aylık erkek ratların cervical segment’lerindeki ortalama tüm medulla spinalis’e ait hacim değerleri incelendiğinde en yüksek hacim değerinin 2,519 mm³ olarak tespit edildiği ve C3 segment’ine ait olduğu görüldü. Ayrıca C1 segment’inde de bu değer yüksek olduğu ve 2,565 mm³ olarak tespit edildiği saptandı. C4 segment’ine ait olan hacim değerinin düştüğü görüldü. C5 segment’ine ait olan hacim değeri ise 2,397 mm³ olarak tespit edildi. En düşük değer ise 1,566 olarak saptandı. Bu değer C8 segment’ine aitti (Tablo 12).

Tablo 12. 5 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inin hacim değerleri (mm³).

Hayvan Sayısı	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	R1	2,584	2,360	3,085	2,944	2,928	3,032	2,048	1,578
	R2	2,853	2,812	3,560	2,932	2,829	2,606	1,486	1,546
	R3	2,240	2,048	2,086	2,100	2,628	2,648	2,220	1,587
	R4	2,665	2,652	2,566	2,536	2,444	2,639	2,197	1,580
	R5	2,527	2,812	2,175	2,347	1,978	1,400	1,784	1,752
	R6	2,522	2,221	1,644	1,932	1,575	1,041	1,364	1,357
	Ortalama	2,565	2,484	2,519	2,465	2,397	2,233	1,849	1,566

Tablo 13'de 5 aylık erkek ratlara ait olan substantia alba değerleri incelendiğinde en yüksek ortalama hacim değerinin 1,248 mm³ olduğu ve bu değer C2 segment'ine ait olduğu tespit edildi. Substantia alba hacim değerinin azalmaya başladığı segment C3 olup bu değer 1,154 mm³ olarak saptandı. En düşük hacim değeri ise 0,866 mm³ olarak hesap edildi. Bu değer C8 segment'ine aitti.

Tablo 13. 5 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia alba'nın hacim değerleri (mm³).

Hayvan Sayısı	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
	R1	1,471	1,401	1,305	1,475	1,187	1,369	1,004	0,789
	R2	1,265	1,247	1,673	1,235	1,108	1,078	0,895	1,024
	R3	1,023	1,179	1,201	1,075	1,049	1,188	0,836	0,837
	R4	1,156	1,240	1,152	1,065	1,062	1,205	0,833	0,824
	R5	1,215	1,205	0,803	1,133	0,896	0,788	0,961	0,849
	R6	1,146	1,219	0,790	1,135	0,890	0,760	0,964	0,877
	Ortalama	1,212	1,248	1,154	1,186	1,032	1,064	0,915	0,866

5 aylık erkek ratlarda cervical segment'te tespit edilen substantia grisea hacim değerleri tablosunda (Tablo 14) inceleme yapıldığında C1 segment'ine ait olan hacim değerinin 0,714 mm³ olduğu saptandı. C3 segment'inde bu değer 0,731 mm³ olarak tespit edildi. Bu değer bu tabloya ait olan en yüksek substantia grisea hacim değeri olarak dikkat çekti. C4 segment'inden itibaren segmentler arasında substantia grisea hacim değerleri bakımından düşüşün olduğu gözlemlendi. En düşük hacim değeri ise 0,349 mm³ olup C8 segment'inde saptandı.

Tablo 14. 5 aylık ratlarda medulla spinalis'in cervical segment'inde substantia grisea'nın hacim değerleri (mm³).

	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hayvan Sayısı	R1	0,777	0,51	0,710	0,766	0,665	0,711	0,341	0,362
	R2	0,670	0,643	0,901	0,738	0,656	0,608	0,408	0,371
	R3	0,880	0,724	0,704	0,708	0,702	0,664	0,765	0,327
	R4	0,839	0,669	0,627	0,712	0,813	0,696	0,745	0,328
	R5	0,575	0,621	0,723	0,530	0,364	0,339	0,336	0,357
	R6	0,555	0,409	0,725	0,551	0,420	0,349	0,354	0,352
	Ortalama	0,714	0,619	0,731	0,677	0,603	0,561	0,491	0,349

5 aylık erkek ratlara ait olan cervical segment'te SG/SA hacim oran değerleri incelendi. En yüksek hacim oran değerinin 0,62 olup C3 segment'ine ait olduğu tespit edilirken en düşük ortalama SG/SA hacim oran değerinin C8 segment'inde saptandığı tespit edildi. Bu değer 0,33 olarak bulundu (Tablo15).

Tablo 15. 5 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/substantia alba hacim (SG/SA) oranları.

	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hayvan Sayısı	R1	0,52	0,46	0,54	0,51	0,56	0,51	0,33	0,45
	R2	0,52	0,51	0,53	0,59	0,50	0,59	0,57	0,36
	R3	0,71	0,61	0,58	0,65	0,66	0,54	0,91	0,39
	R4	0,72	0,53	0,54	0,66	0,81	0,57	0,89	0,39
	R5	0,50	0,50	0,91	0,46	0,40	0,44	0,34	0,40
	R6	0,45	0,32	0,62	0,46	0,40	0,32	0,38	0,40
	Ortalama	0,57	0,48	0,62	0,55	0,57	0,49	0,56	0,33

Tablo 16'da SA/MS hacim oran değerleri incelendiği zaman en yüksek ortalama SA/MS değerinin 0,55 olduğu ve bu değer de hem C6 segment'inde hem de C8 segment'inde tespit edildiği ortaya konuldu. En düşük ortalama SA/MS değeri ise C5 segment'ine ait olup 0,45 olarak tespit edildi.

Tablo 16. 5 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia alba hacim/medulla spinalis hacim (SA/MS) oranları.

	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hayvan Sayısı	R1	0,56	0,59	0,42	0,50	0,40	0,45	0,49	0,50
	R2	0,44	0,44	0,46	0,42	0,39	0,41	0,60	0,66
	R3	0,45	0,57	0,57	0,51	0,39	0,44	0,52	0,52
	R4	0,43	0,46	0,44	0,41	0,43	0,45	0,37	0,52
	R5	0,48	0,42	0,36	0,48	0,45	0,56	0,53	0,48
	R6	0,48	0,56	0,70	0,61	0,65	1,02	0,67	0,63
	Ortalama	0,47	0,50	0,49	0,48	0,45	0,55	0,53	0,55

5 aylık erkek ratlarda substantia grisea'nın hacminin tüm medulla spinalis'in hacmine olan oran değerleri incelendiğinde en yüksek hacim oran değerinin C3 segment'ine ait olduğu ve bu değer 0,30 olarak saptandığı görüldü. C1 segment'ine ait olan değer oranları ile C4 segment'ine ait olan değer oranlarının birbirine eşit olduğu belirlenirken bu değer 0,27 olarak hesap edildiği ortaya konuldu. C6 ve C7 segment'lerinde bu hacim oran değeri 0,25 olarak saptandı. En düşük hacim oran değeri ise 0,21 ile C8 segment'inde tespit edildi (Tablo 17).

Tablo 17. 5 aylık ratlarda cervical spinal segment'lerde substantia grisea hacim/medulla spinalis hacim oranları (SG/MS).

	Segment	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Hayvan Sayısı	R1	0,30	0,27	0,23	0,26	0,22	0,23	0,16	0,22
	R2	0,23	0,22	0,25	0,25	0,23	0,23	0,27	0,23
	R3	0,39	0,35	0,33	0,33	0,26	0,24	0,34	0,20
	R4	0,31	0,25	0,24	0,28	0,33	0,26	0,33	0,20
	R5	0,22	0,22	0,33	0,22	0,18	0,24	0,18	0,20
	R6	0,22	0,18	0,44	0,28	0,26	0,33	0,25	0,25
	Ortalama	0,27	0,24	0,30	0,27	0,24	0,25	0,25	0,21

1 aylık ve 5 aylık erkek ratlarda columna vertebralis'in cervical bölümünün 7 adet vertebrae'dan oluştuğu tespit edildi. Ayrıca 8 adet cervical segment saptandı.

1 aylık erkek ratlarda tüm cervical segment hacmi değerlendirildiğinde C2, C3, C4, C5 segment'lerinde hacim değerinin arttığı tespit edilmiştir. Yine 1 aylık erkek ratlarda cervical segment'te substantia grisea hacmi değerlendirildiğinde hacim değerinin C2, C3, C4, C5 segment'lerinde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

1 aylık erkek ratlarda cervical segment'te substantia alba hacim değeri incelendiğinde en yüksek değerlerin C2, C3, C4, C5 segment'lerinde saptandığı görüldü. Böylece C2, C3, C4, C5 segment'lerinin intumescentia cervicalis denilen genişleme bölgesini oluşturduğu düşünüldü.

5 aylık erkek ratlarda tüm cervical segment hacmi değerlendirildiğinde bu değer en fazla C3, C4, C5, C6, C7'de tespit edildiği gözlemlendi. 5 aylık erkek ratlarda substantia alba hacim değeri incelendiğinde C2, C3, C4, C5, C6 değerlerinin diğer segmentlere nazaran daha yüksek olduğu görüldü. Substantia grisea hacim değeri açısından incelendiğinde C3, C4, C5, C6 segment değerlerinin yüksek olduğu saptandı.

Yapılan çalışmada 5 aylık erkek ratlarda bu genişlemenin C3 segment'inin değerinde pik yaptığı C4, C5 segment'inden sonra hacim değerinde göze çarpan bir azalmanın olduğu tespit edildi. 5 aylık erkek ratlarda C3, C4, C5, C6 segment'lerinin intumescencia cervicalis'i oluşturduğu düşünüldü.

Yapılan bu çalışmada 5 aylık erkek ratlar için tüm cervical segment ortalama hacmi hesaplandığında 2,259 mm³ gibi bir değer elde edildi. 1 aylık erkek ratların tüm cervical segment hacimlerinin ortalaması hesaplandığında bu değer 1,615mm³ değerinde bir ortalama hacim elde edildi. 5 aylık ve 1 aylık erkek ratların cervical segment'lerinin tüm hacim değerlerinin aritmetik ortalaması karşılaştırıldığında 1 aylık ratların hacim değerlerinin daha düşük olduğu saptandı.

1 aylık erkek ratlarda substantia grisea hacim değerinin en yüksek olduğu segmentin C4 segment'i olduğu tespit edildi. Tüm hacim değeri ile karşılaştırıldığında en yüksek toplam hacim değerinin C2 ve C4 segment'lerine ait olduğu tespit edildi. Substantia alba hacim değeri ile tüm hacim değeri karşılaştırıldığında en yükdek değerin C2, C4 segment'lerine ait olduğu tespit edildi. Servikal genişlemenin olduğu C2, C3, C4, C5 segment'lerinde en yüksek değerin substantia alba, substantia grisea ve tüm hacim değerleri açısından C2, C4 segment'lerindeki artışın birbirine paralellik arz ettiği görüldü.

5 aylık erkek ratlarda en yüksek substantia grisea değerinin C1, C3 ve C4 segment'lerine ait olduğu tespit edildi. En yüksek substantia alba değerinin ise C1, C2 C4 segment'lerine ait olduğu gözlemlendi. Tüm hacim değeri en yüksek olarak C2, C3, C4 segment'lerinde tespit edildi. Substantia alba, substantia grisea ve tüm hacim değerlerinde artmaların olduğu segmentler birbirleriyle paralellik göstermektedir.

4.1. İstatistiksel Bulgular

Tablo 18. Tüm segment hacminin erkek ratlarda 1.ve 5.aydaki ölçüm değerleri.

Segmentler	1. Ay	5. Ay	Sig.
C1	2,499±0,330 ^a	2,565±0,082 ^a	-
C2	2,134±0,164 ^{ab}	2,484±0,131 ^a	-
C3	2,036±0,198 ^{ab}	2,519±0,287 ^a	-
C4	2,103±0,197 ^{ab}	2,465±0,172 ^{ab}	-
C5	2,059±0,313 ^{ab}	2,397±0,214 ^{ab}	-
C6	1,749±0,184 ^{bc}	2,234±0,330 ^{ab}	-
C7	1,314±0,206 ^{cd}	1,850±0,149 ^{bc}	-
C8	1,067±0,099 ^d	1,567±0,051 ^c	*
Sig.	**	**	

-: Önemsiz, *: P<0.05, **: P<0.01

a, b, c, d. Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir.

Tüm medulla spinalis hacim değerleri ele alındığında 1 ve 5 aylık yaştaki ratlar arasında incelenen tüm segmentler bakımından (C8 hariç) istatistiki olarak bir fark olmadığı buna karşın rakamsal olarak artışın olduğu tespit edilmiştir. 1 aylık ratların segmentleri incelendiğinde, en yüksek değer C1 segment'ine ait olduğu ve segment sırası arttıkça segment değerinin azaldığı (C3, C5 hariç) belirlenmiştir (P<0.01). Ek olarak, C1-5 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmazken diğerlerinden farklı olduğu; C2-6 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmazken diğerlerinden farklı olduğu ve C7-C8 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmazken diğerlerinden farklı olduğu belirlenmiştir. En düşük değer ise C8 segment'inde olduğu belirlenmiştir. 5 aylık ratların segmentleri incelendiğinde en yüksek değer C1 segment'inde olduğu ve segment sırası arttıkça segment değerinin azaldığı (C3 hariç) belirlenmiştir (P<0.01). Ek olarak, C1-6, C4-7 ve C7-C8 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmadığı saptanmıştır (Tablo 18).

Tablo 19. SA hacminin erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.

Segmentler	1. Ay	5. Ay	Sig.
C1	1,019±0,081 ^a	1,213±0,061 ^a	-
C2	0,933±0,082 ^{ab}	1,249±0,032 ^a	**
C3	0,905±0,024 ^{ab}	1,154±0,135 ^a	-
C4	1,010±0,137 ^a	1,186±0,063 ^a	-
C5	0,919±0,103 ^{ab}	1,032±0,048 ^{ab}	-
C6	0,816±0,079 ^{ab}	1,065±0,100 ^{ab}	-
C7	0,678±0,095 ^{bc}	0,916±0,029 ^b	*
C8	0,619±0,045 ^c	0,867±0,034 ^b	**
Sig.	*	**	

-: Önemsiz, *: P<0.05, **: P<0.01

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir.

SA hacim değerleri bakımından 1 aylık ve 5 aylık yaştaki ratlar arasında incelenen tüm segmentler bakımından (C8 hariç) istatistiki olarak bir fark olmadığı görülmüştür. Buna karşılık rakamsal açıdan artmanın olduğu tespit edilmiştir. 1 aylık ratların segmentleri incelendiğinde en yüksek değer C1 segment'ine ait olduğu ve segment sırası arttıkça (C4 hariç) segment değerinin azaldığı belirlenmiştir (P<0.05). Ayrıca C1-7 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark gözlemlenmezken C7- C8 segment'lerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. En düşük değer C8 segment'ine ait olduğu belirlenmiştir. C7 ve C8 segment'leri arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmiştir. 1 aylık ve 5 aylık ratlar arasında C2 ve C8 segment'leri ile diğer segmentler arasındaki fark önemlidir (P<0.01). Yine C2 segment'i ile diğer segmentler arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.05).

5 aylık ratların segmentleri SA hacim değerleri bakımından incelendiğinde en yüksek değer C2 segment'ine ait olduğu belirlenmiştir. Segment sırası arttıkça (C4 ve C6) segment değerinin azaldığı tespit edilmiştir (P<0.01). Ayrıca C1-6, C5-8 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 19).

Tablo 20. SG hacminin erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki ölçüm değerleri.

Segmentler	1. Ay	5. Ay	Sig.
C1	0,851±0,082 ^a	0,716±0,056 ^a	-
C2	0,722±0,063 ^{ab}	0,620±0,044 ^{ab}	-
C3	0,718±0,029 ^{ab}	0,732±0,037 ^a	-
C4	0,785±0,022 ^{ab}	0,668±0,041 ^{ab}	*
C5	0,674±0,055 ^{bc}	0,603±0,071 ^{ab}	-
C6	0,637±0,048 ^{bc}	0,561±0,070 ^{ab}	-
C7	0,522±0,059 ^{cd}	0,492±0,084 ^{bc}	-
C8	0,394±0,013 ^d	0,350±0,007 ^c	*
Sig.	***	***	

-:Önemsiz, *: P<0.05, ***:P<0.001

a, b, c, d: Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir.

SG hacim değerleri bakımından 1 aylık ve 5 aylık yaş grubundaki ratlar arasında incelenen tüm segmentler bakımından (C8 segmenti hariç) istatistiki olarak bir fark olmadığı bunun yanısıra rakamsal olarak (C3 segmenti hariç) azalışın olduğu tespit edildi. 1 aylık ve 5 aylık ratlarda sırasıyla C4 ve C8 segment'leri ile diğer segmentler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

1 aylık ratların segmentleri incelendiğinde en yüksek değer C1 segment'ine ait olduğu ve segment sırası arttıkça segment değerinin azaldığı (C4 segment'i hariç) saptanmıştır (P<0.001). Ayrıca C1-C4 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmazken diğerlerinden farklı olduğu, C2-C7 segment'leri arasında istatistiki olarak farka rastlanmazken diğerlerinden farklı olduğu ve en düşük değer C8 segment'ine ait olduğu tespit edilmiştir.

5 aylık ratların segmentleri kendi aralarında incelendiğinde en yüksek değer C3 segment'ine ait olduğu ve segment sayısı arttıkça segment değerinin azaldığı (C3 hariç) belirlenmiştir (P<0.001). Ayrıca C1- C6, C2-C7 ve C7-C8 segment'leri arasında istatistiki olarak bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 20).

Tablo 21. SG /MS oranı erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki hacim ölçüm değerleri.

Segmentler	1. Ay	5. Ay	Sig.
C1	0,352±0,031	0,473±0,019	**
C2	0,335±0,025	0,507±0,031	**
C3	0,365±0,038	0,492±0,050	-
C4	0,383±0,040	0,488±0,030	-
C5	0,348±0,041	0,452±0,041	-
C6	0,370±0,023	0,555±0,095	-
C7	0,433±0,075	0,530±0,042	-
C8	0,380±0,036	0,552±0,030	**
Sig.	-	-	

-.Önemsiz, **:P<0.01

SG/MS hacim oranları 1 aylık ve 5 aylık yaştaki ratlar arasında incelenen tüm segmentler bakımından C1, C2, C8 (P<0.01) segment'leri hariç istatistiki açıdan önemsiz olduğu saptanmıştır.1 aylık ratların segmentleri SG/MS hacim oranları istatistiki açıdan kendi aralarında değerlendirildiğinde segmentler arası farkın önemsiz olduğu ortaya konulmuştur.

5 aylık ratların segmentleri SG/MS hacim oranları istatistiksel olarak incelendiğinde segmentler arası farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Tablo 21).

Tablo 22. SA/ MS oranı erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki hacim ölçüm değerleri.

Segmentler	1. Ay	5. Ay	Sig.
C1	0,425±0,042	0,473±0,019	-
C2	0,438±0,036	0,507±0,031	-
C3	0,465±0,053	0,492±0,050	-
C4	0,492±0,076	0,488±0,030	-
C5	0,485±0,075	0,452±0,041	-
C6	0,488±0,066	0,555±0,095	-
C7	0,538±0,061	0,530±0,042	-
C8	0,600±0,074	0,552±0,030	-
Sig.	-	-	

-.Önemsiz.

SA/MS hacim oranları 1 aylık ve 5 aylık ratlar için değerlendirildiğinde istatistiki olarak segmentler arasında farkın önemsiz olduğu ortaya konulmuştur.

Tablo 23. SG/SA oranı erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki hacim ölçüm değerleri.

Segmentler	1. Ay	5. Ay	Sig.
C1	0,828±0,031	0,570±0,047	**
C2	0,778±0,045	0,488±0,039	**
C3	0,790±0,031	0,620±0,060	*
C4	0,853±0,123	0,555±0,037	*
C5	0,757±0,074	0,555±0,065	-
C6	0,802±0,078	0,495±0,041	**
C7	0,792±0,071	0,568±0,110	-
C8	0,648±0,055	0,398±0,012	**
Sig.	-	-	

-:Önemsiz, *: P<0.05, **:P<0.01

SG/SA hacim oranları 1 aylık ve 5 aylık yaştaki ratlar arasında incelenen segmentler bakımından C1, C2, C6 ve C8 segment'leri açısından istatistiki olarak önem arz etmektedir (P<0.01). Ayrıca C3 ve C4 segment'leri açısından da segmentler arası fark istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05). 1 aylık ratlarda segmentler arası SG/SA hacim oranları istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. 5 aylık ratlarda da segmentler arası SG/SA hacim oranları istatistiksel açıdan önemsizdir (Tablo 22).

Erkek ratlarda 1. ve 5. aydaki hacim ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında Two-simple T Test kullanılmıştır. Segmentler arası hacim ölçüm değerlerinin karşılaştırılmasında ise One-Way Anova testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizlerde SPSS paket programı kullanılmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada medulla spinalis'in cervical segment'leri diseke edilirken medulla spinalis bir bütün halinde columna vertebralis'ten ayırt edilmemiştir. Çünkü columna vertebralis'in cervical vertebra'ları cervical segment'lerin isimlendirilmesi hususunda yardımcı olmuştur. Begum ve ark. (2010), medulla spinalis'i columna vertebralis ile birlikte segmentlerine ayırmışlardır. Yaptığımız çalışmanın diseksiyon aşaması, Begum ve ark (2010), yapmış olduğu çalışmaya benzerlik göstermektedir.

Çeşitli literatürlerde (Zeman ve Maitland, 1963; Waibl, 1973; Fitzgerald, 1987; Paxinos, 2004) ratların cervical segment sayısı cervical vertebra sayısından bir fazla olarak, 8 adet cervical segment şeklinde belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada da cervical segment sayısı 8 adet olarak tespit edildi.

Leghorn ırkı tavuklarda yapılan bir çalışmada intumescentia cervicalis'in C13, C14, C15, T1, T2 tarafından oluşturulduğu belirlenmiştir (Bolat ve Tıpırdamaz, 2011). Baumel (1966) ve Hazıroğlu ve ark., (2001) ise kanatlılarda intumescentia cervicalis'in son üç cervical ve ilk iki thoracal segment tarafından oluşturulduğunu ifade etmişlerdir. Nickel (1977), son iki cervical ile T1, T2, bazen de T3 tarafından oluşturulduğunu bildirmiştir. Zeman ve Maitland (1963), ratta cervical segment'teki genişlemenin C4 segment'inden başlayıp C8 segment'ine kadar devam ettiğini belirtmektedir. Yaptığımız çalışmada 1 aylık erkek ratlarda C2, C3, C4, C5 segmentlerinin intumescentia cervicalis denilen genişleme kısmını oluşturduğu görüldü. Yapılan çalışmada beş aylık erkek ratlarda bu genişlemenin C3 segment'inin hacim değerinde pik yaptığı C4, C5 segment'inden sonra hacim değerinde göze çarpan bir azalmanın olduğu tespit edildi. İntumescentia cervicalis'in C3, C4, C5 segment'lerine denk geldiği yapılan bu çalışma ile tespit edildi. Literatürlerde yaşa bağlı olarak erkek ratlarda intumescentia cervicalis'in bulunduğu segmenti tespit eden herhangi bir çalışmaya rastlanılamadı.

Leghorn ırkı tavukların medulla spinalis'inin transversal kesitleri üzerinde yapılan çalışmalarda hacim hesaplamaları sonucunda substantia alba'nın toplam hacminin dişilerde $1007 \pm 127 \text{ mm}^3$, erkeklerde ise $1400,7 \pm 94,1 \text{ mm}^3$ olduğu tespit edilmiştir. Substantia grisea'nın ölçümleri sonucu ise dişilerde substantia grisea'nın hacminin $241,4 \pm 26,8 \text{ mm}^3$ ve erkeklerde ise $311,4 \pm 23,4 \text{ mm}^3$ olduğu tespit edilmiştir.

Aynı çalışmada substantia grisea'nın toplam hacmi medulla spinalis'in tüm hacmine oranlandığında dişilerde $19,36 \pm 0,882$, erkeklerde ise $18,19 \pm 0,706$ gibi değerler elde edilmiştir (Bolat ve Tışırdamaz, 2011).

Yaptığımız çalışmada, 1 aylık erkek ratlarda substantia alba'nın toplam hacmi $0,861 \text{ mm}^3$ iken 5 aylık erkek ratlarda substantia alba'nın toplam hacmi $1,081 \text{ mm}^3$ olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmada 1 aylık erkek ratlarda substantia grisea'nın toplam hacim değeri $0,662 \text{ mm}^3$ olarak bulunurken 5 aylık erkek ratlarda substantia grisea'nın hacim değeri $0,591 \text{ mm}^3$ olarak bulunmuştur. Böylece substantia grisea'nın toplam hacim değerinin 5 aylık erkek ratlarda azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 1 aylık erkek ratlarda substantia grisea'nın hacim değerinin 5 aylık erkek ratların substantia grisea hacim değerinden daha yüksek olduğu tespit edildi.

Leghorn ırkı tavuklarda yapılan çalışmada (Bolat ve Tışırdamaz, 2011), dişilerde substantia grisea hacim oranının pars caudalis'te ve pars lumbosacralis'te; erkeklerde ise bu değerin en fazla pars caudalis'te yüksek olduğu tespit edilmiştir. Rahmanifar ve ark (2008), devekuşu üzerinde yapmış oldukları araştırmada substantia grisea'nın en yoğun olarak pars lumbalis'te bulunduğunu saptamışlardır. Leghorn ırkı tavuklarda yapılan araştırmada (Bolat ve Tışırdamaz, 2011) ise dişi ve erkek hayvanlarda substantia grisea'nın tüm medulla spinalis'e olan oranının en az olduğu bölüm olarak pars cervicalis belirlenmiş, en yüksek oran ise pars thoracalis'te tespit edilmiştir.

Rahmanifar ve ark. (2008) ise, ergin devekuşunda yapmış oldukları araştırmada pars cervicalis'in substantia grisea miktarının en az olduğunu, pars thoracalis ve pars lumbalis'te substantia grisea değerinin pars cervicalis'e göre daha yoğun olduğunu ifade etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise 1 aylık erkek ratlarda substantia grisea hacmi'nin tüm medulla spinalis'in hacmine oran ortalaması $0,36$ olarak bulundu. 5 aylık erkek ratlarda ise bu oran $0,25$ olarak tespit edildi. 1 aylık erkek ratlara ait olan bu oranın 5 aylık erkek ratlara ait olan orandan yüksek olduğu, ergin ratlarda bu oranın düştüğü ve bunun yanı sıra substantia grisea hacim değerinin 5 aylık erkek ratlarda daha küçük olduğu tespit edildi.

Medulla spinalis'in lumbal segment'lerinde kesit, substantia alba ve substantia grisea alanları ve alan oranları at (Braun, 1950), maymun (Thomas ve Combs, 1965), merkep (Öcal ve Hazıroğlu, 1988), insan (Ko ve ark., 2004) ve rat (Pontiansky ve ark., 2004) üzerinde yapılan morfometrik araştırmalarda birer parametre olarak takdim edilmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışmada morfolojik ve stereolojik yöntemler kullanılarak, 1 aylık ve 5 aylık erkek ratların medulla spinalis'lerinin cervical segment'lerinin tamamına ait olan ve substantia alba ve substantia grisea hacim ve hacim oranları değerleri elde edilmiş olup sonuçlar tablolar halinde sunulmuştur. Yapılan bu araştırma sonuçları ile dünya bilgi envanterine katkıda bulunulabileceği düşünüldü. Ayrıca bu çalışmanın bundan sonra yapılacak olan çalışmalara da ışık tutabileceği kanaatini taşımaktayız.

ÖZET

Candan M, Bir Aylık ve Beş Aylık Erkek Ratlarda Medulla Spinalis'in Servikal Segmenti Üzerine Yapılan Morfolojik ve Stereolojik Bir Çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anatomi Anabilim Dalı, Veteriner Programı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2017. Bu çalışmada ratlarda medulla spinalis'in servikal bölümünün ak ve gri madde ve tüm dokunun hacim yoğunlukları stereolojik yöntem kullanılarak araştırıldı. Materyal olarak 1 aylık ve 5 aylık olmak üzere iki farklı yaş grubundan altışar adet erkek Wistar Albino ırkı ratlar kullanıldı. Materyaller % 10'luk tamponlu formaldehitte perfüze edilerek tespit edildi. Daha sonra ratlar diseke edildi ve medulla spinalis'leri açığa çıkarıldı. Çalışmada 1 aylık ve 5 aylık ratların medulla spinalis'lerinin cervical bölümlerinden segmentler elde edildi. Kesitler alınırken ilk 15 kesit arasından rasgele bir tanesi seçildi. Onu takip eden her 50.kesit sistematik rasgele örnekleme yöntemiyle belirlendi. Böylelikle bir hayvanın medulla spinalis'inin cervical segment'inden 5µm kalınlığında 8-10 kesit alındı. Bu kesitler hematoxilen eosin boyama tekniği ile boyanarak mikroskop altında fotoğraflandı. Cavalieri Prensibi kullanılarak noktalı alan cetveli sayesinde medulla spinalis'in cervical bölümünün her bir segmentinde tüm dokunun, substantia alba ve substantia grisea kısımlarının hacim yoğunlukları hesaplandı. Ayrıca araştırmada cervical segmentin tüm hacminin, substantia alba ve substantia grisea hacim değerleri ve bu hacim değerlerinin birbirlerine oranları hesaplanarak değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Hacim, medulla spinalis, rat, servikal segment, stereoloji.

SUMMARY

Candan M, A Morphological and Stereological Study on Cervical Spinal Cord of One and Five Months Age Male Rat, University of Van Yuzuncu Yil, Institute of Health Sciences Department of Anatomy, Veterinary Program, Master Thesis, Van, 2017. In this study volume density of gray and white matter of cervical segments of spinal cords of rats were investigated using stereological method. Twelve male Wistar albino rats were used in the study as two different age groups 1 month and 5 months. All animals were fixed by perfusing 10% buffered formalin. Rats were dissected and spinal cords of rats were removed. In the study cervical segments of 1 and 5 months age rats were obtained. One of the first 15 section were selected randomly when the sections were taken. And following every 50th section was determined by systematic random sampling. Thus, 8-10 sections of 5µm thickness were obtained from cervical segments of each animal's medulla spinalis. These sections were stained by hemotoxylin eosin and they were photographed at microscope. Densities of volumes of all tissue of cervical segments of whole spinal cord and white and gray matters were calculated using dotted area ruler by Cavalieri Principle. SHTEREOM 1.0 package programme was used for counting dotted area. In addition, the volume vales of total cervical segment, volume values of the white matter and the gray matter and the ratios of these volume values to each other were evaluated in the study.

Key words: Cervical segment, rat, spinal cord, stereology, volume.

KAYNAKLAR

- Abercrombie M (1946). Estimation of nuclear populations from microtome sections. *The Anat Rec*, 94, 239-247.
- Anonim 1 (2017). "43rd Annual Pathology of Laboratory Animals Course" <http://www.afip.org/vetpath/POLA/POLA96./oldrats.txt> Erişim: 01/09/2017.
- Arıncı K, Elhan A (2001). Anatomi. Vol 1. 3th ed. *Güneş Kitapevi*, Ankara, 59-65.
- Baddeley AJ (1991). Stereology In: Spatial statistics and digital image analysis. Washington DC, *Nat Res Co*, 181-216.
- Bahadır A, Yıldız H (2010). Veteriner Anatomi Hareket Sistemi ve İç Organlar, 3th ed, *Ezgi Kitapevi*, İstanbul, 37-56.
- Balcioglu H, Uyanikgil Y, Yuruker S, Tuna H, Karacayli U (2009). Volumetric assessment of lateral pterygoid muscle in unilateral chewing: A Stereologic Study. *J Craniofac Surg*, 20, 13-64.
- Bancroft JD, Stevens A, Turner DR (1996). Theory and Practice of Histological Technique. Fourth edition, *Churchill Livingstone*, 15, 76-81.
- Baumel E (1966). Evcil hayvanların komparatif nörolojisi. *A Ü Vet Fak Yayınları*, 203-289.
- Begum F, Zhu W, Namaka MP, Frost EE (2010). A novel decalcification method for adult rodent bone for histological analysis of peripheral-central nervous system connections. *J Neurosci Methods*, 187, 1, 59-66.
- Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA (2008). Fizyoloji. Çeviri Türk Fizyoloji Bilimler Derneği, 5. baskı, *Güneş Tıp Kitabevi*, Ankara.
- Bilgic S, Sahin B, Sonmez OF, Odaci E, Colakoglu S, Kaplan S, Ergur H (2005). A new approach for the estimation of intervertebral disc volume using the Cavalieri principle and computed tomography images. *Clin Neurol Neurosurg*, 107, 282-88.
- Boddke FR, Van Vliet LJ, Young IT (1997). Calibration of the automated z-axes of a microscope using focus functions. *J Microsc*, 186, 270-274.
- Bolat D, Tıpırdamaz S (2011). Leghorn ırkı kanatlılarda medulla spinalis'in stereolojik metodlar ile incelenmesi. *Doktora Tezi*, SÜ Sağ Bil Enst.
- Braendgaard H, Evans S, Howard C, Gundersen H (1990). The total number of neurons in the human neocortex unbiasedly estimated using optical disectors. *J Microsc*, 157, 3, 285-304.
- Braun A (1950). Der segmentale feinbau des rückenmarks des pferdes. *Acta Anat Basel*, 10, 1-76.
- Budras KD (2009a). Veteriner Anatomi Atlası At. 1th ed. *Medipres Matbaacılık*, Malatya, 58-60.
- Budras KD (2009b). Veteriner Anatomi Atlası Köpek. 1th ed. *Medipres Matbaacılık*, Malatya, 144-62.

- Budras KD (2009c). Veteriner Anatomi Atlası Sığır. 1th ed. *Medipres Matbaacılık*, Malatya, 56-62.
- Canan S, Şahin B, Odacı E, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S (2002). Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22, 7-14.
- Clause BT (1998). Rats (Not Mice) and History, Mendel Newsletter, February.
- Cruz-Orive LM (1993). Systematic sampling in stereology. *Bull Int Statistic Institu*, 451-468.
- Cruz-Orive LM (1999). Precision of Cavalieri sections and slices with local errors. *J Microsc*, 193, 3, 182-198.
- Cruz-Orive LM, Weibel ER (1990). Recent stereological methods for cell biology: a brief survey. *Am J Physiol, Lung Cellular and Molecular Physiology*, 258, 148-156.
- Deniz G, Oral B (2011). Deneysel Hayvan Modelleri Çalıştayı, *The Off J Turk Soc Immunol*, 1, 18, 10.
- Dere F (2000). Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji. 3th ed, *Nobel Tıp Kitapevi*, Adana, 62-101.
- Dursun N (2000). Veteriner Anatomi III, *Medisan Yayınevi*, Ankara, 15-23.
- Dursun N (2002). Evcil Kuşların Anatomisi, *Medisan Yayınevi*, Ankara, 97-98.
- Dursun N (2008). Veteriner Anatomi I, 7th ed. *Medisan Yayınevi*, Ankara, 15-67.
- Evans H. The Skelaton (1993). Miller's Anatomy of the Dog, In: Evans H, editör, 3th ed, *WB Saunders Co*, Philadelphia, 122-219.
- Fletcher T, Kitchell R (1966). Anatomical studies on the spinal cord segments of the dog. *Am J Vet Res*, 27,121, 1759-67.
- Fritzgerald MJT (1987). Anatomy and embriology of the laboratory rat. *J Anat*, 153, 256.
- Garcia-Finana M, Cruz-Orive LM, Mackay CE, Pakkenberg B, Roberts N (2003). Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. *Neuroimage*, 18, 2, 505-516.
- Geinisman Y, Gundersen HJG, Van Der Zee E, West MJ (1996). Unbiased stereological estimation of the total number of synapses in a brain region. *J Neurocytol*, 25, 805-819.
- Glaser E, Wilson P (1998). The coefficient of error of optical fractionator population size estimates: a computer simulation comparing three estimators. *J Microsc*, 192, 2, 163-171.
- Gundersen HJ (1977). Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary particles: The edge effect. *J Microsc*, 111, 219-223.
- Gundersen HJ (1986). Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson, *J Microsc*, 143, 3-45.
- Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B (1988). The new stereological tools: disector,

fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Ap Mis*, 96, 10, 857-81.

Gundersen HJ, Jensen EB (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*, 147, 229-263.

Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A, West MJ (1988b). The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Path Micro Im A*, 96, 857-881.

Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A, West MJ (1988a). Some new, simple, and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Path Micro Im A*, 96, 379-394.

Gundersen HJG, Jensen EBV, Kieu K ve Nielsen J (1999). The efficiency of systematic sampling in stereology- reconsidered. *J Microsc*, 193, 199-211.

Habel R (1951). The topography of the equine and bovine spinal cord, *J Am Vet Med Assoc*, 118, 379-382.

Haug H (1986). History of neuromorphometry. *J Neurosci Meth*, 18, 1-17.

Haziroglu RM, Orhan IO, Yildiz D, Gultiken ME (2001). Morphology of the spinal cord in the chicken, duck and pigeon. *Turk J Vet Anim Sci*, 25, 6, 913-920.

Howard CV, Reed MG (1998). Unbiased Stereology: Three-dimensional measurement in microscopy. First edition, *BIOS Scientific Publishers*, UK.

Howard V, Reed M (2005). Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy. Taylor & Francis, 34-39.

Hudson L, Hamilton W (1993). Atlas of feline anatomy for veterinarians. 1th ed. Mexico, *WB Saunders*, 189-227.

İde T (2003). Hayvan Modelleri. In: Translation ed. Ide T, Laboratuvar Hayvanları, Biliminin Temel İlkeleri Türkçe Çeviri, Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. Chap 10. Ankara: *Medipres Yayınları-Özkan Matbaacılık*.

James NT (2004). Morphometry and stereology in biology and medicine using confocal microscopy. The Institution of Electrical Engineers, 1-4.

Junqueria LC, Carneiro J, Kelley RO (1998). Temel Histoloji. *Barış Kitapçılık*, 8. Baskı, İstanbul, 191-217.

Kahvecioğlu KO, Özcan S, Çakır M (1995). Tiftik keçisinde medulla spinalis üzerinde anatomik çalışmalar. *YYÜ Vet Fak Derg*, 6, 1-2, 76-80.

Kaplan S, Canan S, Aslan H, Ünal B, Şahin B (2001). A simple technique to measure the movements of the microscope stage along the x and y axes for stereological methods. *J Microsc*, 203, 321-325.

Ko H, Park JH, Shin YB, Beak SY (2004). Gross quantitative measurements of spinal cord in human. *Spinal Cord*, 42, 35-40.

- Krinke GJ (2000). "History, strains and models", The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals), Bullock GR, Bunton T, *Academic Press*, 3-16.
- Kuramoto T (2012). "Origin of Albino Laboratory Rats", Bio Resource Newsletter, National Institute of Genetics.
- Lahunta A (1983). Veterinary neuroanatomy and clinical neurology, *WB Saunders Company*, Philadelphia, 10-19.
- Mayhew TM, Gundersen HJG (1996). If you assume, you can make an ass out of you and me: a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat*, 188, 1-15.
- Mayhew TM (1991). The new stereological methods for interpreting functional morphology from slices of cells and organs. *Exp Physiol*, 76, 5, 639-665.
- Mayhew TM, Simpson RA (1994). Quantitative evidence for the spatial dispersal of trophoblast nuclei in human placental villi during gestation. *Placenta*, 15, 8, 837-844.
- McCuan J, Treinen R (2007). Capillarity and Archimedes' principle of floatation. *Pacific J Math*, 231, 1, 167-191.
- Michel RP, Cruz-Orive LM (1988). Application of the Cavalieri principle and vertical sections method to lung: estimation of volume and pleural surface area. *J Microsc*, 150, 2, 117-136.
- Moore KL, Persaud TVN (2009). Embriyoloji ve doğum defektlerinin temelleri, çeviri, Müftüoğlu S, Atilla P, Kaymaz F, *Güneş Tıp Kitabevi*, 7. baskı, Ankara.
- Mouton PR (2002). Principles and practices of unbiased stereology. John Hopkins University Press, 5-6.
- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, Siller W, Wight P (1977). Anatomy of the domestic birds. Parey New york: Springer-Verlag, Berlin.
- Odacı E, Bahadır A, Yıldırım Ş, Şahin B, Canan S, Baş O, Bilgiç S, Kaplan S (2005). Cavalieri Prensibi Kullanılarak Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleri Üzerinden Hacim Hesaplanması ve Klinik Kullanımı. *T Klin Tıp Bilimleri*, 25, 421-428.
- Öcal M, Hazıroğlu RM (1988). Merkebin (*Equus asinus* L.) medulla spinalis'i üzerinde komparatif morfolojik araştırmalar. I Segmentlerin transversal kesitlerinin incelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 35, 55-68.
- Özfiliz N, Erdost H, Zık B (2007). Sinir Sistemi, Veteriner Embriyoloji, In: Aytekin Ö, editör, 3th ed, *Nobel Yayın Dağıtım*, Ankara, 155-75.
- Pakkenberg B (1993). Total nerve cell number in neocortex in chronic schizophrenics and controls estimated using optical disectors. *Biol Psychiat*, 34, 11, 768-772.
- Pakkenberg B, Boesen J, Albeck M, Gjerris F (1989). Unbiased and efficient estimation of total ventricular volume of the brain obtained from CT scans by a stereological method. *Neuroradiology*, 31, 413-417.
- Pakkenberg B, Gundersen HJ (1997). Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. *J Comp Neurol*, 384, 2, 312-320.

- Paxinos G, (2004). The Rat Nervous, System Third Edition, Prince of Wales Medical Research Institute The University of New South Wales Sydney, Australia.
- Pontiansky L, Barbeito CG, Goya RG, Gimeno EJ, Zuccolilli GO (2004). Morphometry of cervical segments grey matter in the male rat spinal cord. *J Neu Meth*, 139, 217-229.
- Rahmanifar F, Mansouri S, Ghazi S (2008). Histomorphometric study of the spinal cord segments in the chick and adult male ostrich (*Struthio camelus*). *Iranian J Vet Res IJVR*.
- Rao G (1990). Anatomical studies on the ovine spinal cord. *Anatomischer Anzeiger*, 171, 261-64.
- Royet JP (1991). Stereology: a method for analysing images. *Prog Neurobiol*, 37, 433-474.
- Rudolf H (1986). Anatomy and embriology of laboratory rat. 1-17.
- Russ J. Dehoff R (2000). Practical stereology. New York, *Plenum Pub Corp*, 51- 68.
- Russ JC, Dehoff RT (1999). Practical stereology. Second edition. *Plenium Press*, New York.
- Sahin B, Aslan H, Ünal B, Canan S, Bilgiç S, Kaplan S, Tümkaya L (2001). Brain volumes of the lamb rat and bird do not show hemispheric asymmetry: a stereological study. *Image Anal Stereol*, 20, 9-13.
- Sahin B, Emirzeoglu M, Uzun A, Incesu L, Bek Y, Bilgic S, Kaplan S (2003). Unbiased estimation of the liver volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Eur J Radiol*, 47, 2, 164-170.
- Schmitz C, Hof PR (2000). Recommendations for straight forward and rigorous methods of counting neurons based on a computer simulation approach. *J Chem Neuroanat*, 20, 93-114.
- Schmitz C, Korr H, Heinsen H (1999). Design-based counting techniques: the real problems. *Trends Neurosci*, 22, 345-346.
- Schmitz C, Korr H, Perl DP, Hof PR (2001). Advances use of 3-D methods for counting neurons. *Trends Neurosci*, 24, 377-380.
- Schoenen J, Faull RLM (2004). Spinal cord cyto and chemoarchitecture. In: George Paxinos JKM, editor, The human nervous system, 2th ed. London, *Elsevier academic press*, 190-228.
- Sisson S, Hillmann DJ (1975). Porcine Osteology. In: Sisson S, editor. Sisson and grossman's the anatomy of the domestic animals vol 2, 5th ed, *WB Saunders Co*, Philadelphia, 1216-1253.
- Slomianka L, West MJ (2005). Estimators of the precision of stereological estimates: An example based on the CA1 pyramidal cell layer of rats. *Neuroscience*, 136, 3, 757-767.
- Sonmez O, Odaci E, Bas O, Colakoglu S, Sahin B, Bilgic S, Kaplan S (2010). A stereological study of MRI and the Cavalieri principle combined for diagnosis and monitoring of brain tumor volume. *J Clin Neurosci*, 17, 12, 1499-1502
- Sterio DC (1984). The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J Microsc*, 134, 127-136.

- Tanyolaç A (1993). Özel Histoloji, 23-24.
- Thomas C, Combs CM (1965). Spinal cord segments. B. Gross structure in the adult monkey. *Am J Anat*, 116, 1, 205-216.
- Turgut M, Turkkanitunc A, Aslan H, Yazici A, Kaplan S (2007). Effect of pinealectomy on the morphology of the chick cervical spinal cord: A stereological and histopathological study. *Brain Res*, 1129, 166-173.
- Unur E, Ülger H, Ekinci N (2002). Anatomi, *Ufuk Kitabevi*, Kayseri.
- Ünal B, Aslan H, Canan S, Şahin B, Kaplan S (2002). Biyolojik ortamlardaki objelerin sayımı yapılırken kullanılan eski (tarafı) metotların önemli hata kaynakları ve çözüm önerileri. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22, 1-6.
- Waibl H (1973). Zur Topographie der Medulla spinalis der Albinoratte (*Rattus norvegicus*). *Adv Anat Embryol Cel*, 47, 5-42.
- Waschke J, Böckers TM, Paulsen F (2016). Sobotta. Çeviri, Sargon MF, *Güneş Kitabevi*, Ankara.
- Weibel ER (1969). Stereological principles for morfometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol*, 26, 235-302.
- West MJ (1993). New stereological methods for counting neurons. *Neurobiology Aging*, 14, 275-285.
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ (1991). Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec*, 231, 4, 482-497.
- Williams RW, Rakic P (1988). Three-dimensional counting: an accurate and direct method to estimate numbers of the cells in sectioned material. *J Comp Neurol*, 278, 344-352.
- Yıldırım M (2000). Temel Nöroanatomi, 1th ed. *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul, 39-52.
- Zeman W, Maitland JM (1963). Cragie's Neuroanatomy of the Rat (Revised and expanded). *Academic Press Inc, In New York*, 230.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Şırnak'ın Cizre ilçesinde doğdu. İlkokul eğitimini Mardin'de, orta ve lise öğrenimini ise Cizre'de tamamladı. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Ebelik Bölüm'den 2011 yılında mezun oldu. 2012 Ocak ayında Erciş Devlet Hastanesi'nde ebe olarak çalışmak üzere göreve atandı. 2012 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2014 yılından itibaren Sağlık Bakanlığı Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde ebe olarak çalışmaktadır.



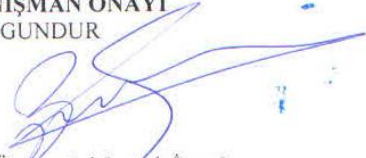
EKLER

EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Belgesi

T.C. YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ																	
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Araştırmancının Adı</td> <td>Bir Aylık ve Beş Aylık Erkek Ratlarda Medulla Spinalis'in Servikal Segmenti Üzerine Morfolojik ve Stereolojik Bir Çalışma</td> </tr> <tr> <td>Araştırmancının Yürütücüsü</td> <td>Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK</td> </tr> <tr> <td>Yardımcı Araştırmacılar</td> <td>Mesude CANDAN</td> </tr> <tr> <td>Kurumu</td> <td>Veteriner Fakültesi</td> </tr> <tr> <td>Araştırmancının Tahmini Süresi</td> <td>24 Ay</td> </tr> <tr> <td>Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı</td> <td>Sıçan 12 Adet</td> </tr> <tr> <td>Destekleyecek Kuruluş (lar)</td> <td>YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı</td> </tr> <tr> <td>Başvuru Tarihi</td> <td>03.12.2013</td> </tr> </table>	Araştırmancının Adı	Bir Aylık ve Beş Aylık Erkek Ratlarda Medulla Spinalis'in Servikal Segmenti Üzerine Morfolojik ve Stereolojik Bir Çalışma	Araştırmancının Yürütücüsü	Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK	Yardımcı Araştırmacılar	Mesude CANDAN	Kurumu	Veteriner Fakültesi	Araştırmancının Tahmini Süresi	24 Ay	Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 12 Adet	Destekleyecek Kuruluş (lar)	YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı	Başvuru Tarihi	03.12.2013
Araştırmancının Adı	Bir Aylık ve Beş Aylık Erkek Ratlarda Medulla Spinalis'in Servikal Segmenti Üzerine Morfolojik ve Stereolojik Bir Çalışma																
Araştırmancının Yürütücüsü	Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK																
Yardımcı Araştırmacılar	Mesude CANDAN																
Kurumu	Veteriner Fakültesi																
Araştırmancının Tahmini Süresi	24 Ay																
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 12 Adet																
Destekleyecek Kuruluş (lar)	YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı																
Başvuru Tarihi	03.12.2013																
KARAR BİLGİLERİ	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Karar No:2014/02</td> <td style="width: 50%;">Tarih:30.01.2014</td> </tr> <tr> <td colspan="2"> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği / oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi. </td> </tr> </table>	Karar No:2014/02	Tarih:30.01.2014	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği / oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.													
Karar No:2014/02	Tarih:30.01.2014																
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği / oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.																	
ETİK KURUL ÜYELERİ																	
BASKAN Prof. Dr. İdris TÜREL <i>(Signature)</i> Prof. Dr. Duran BOLAT Doç. Dr. Fatma İLHAN Yrd. Doç. Dr. Birkan Taha ÖZKAN Yrd. Doç. Dr. Atilla DURMUŞ Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)	BASKAN YARDIMCISI Prof. Dr. Hasan ÜLKER ÜYELER Doç. Dr. Fazıl ŞEN Doç. Dr. Sıddık KESKİN Yrd. Doç. Dr. M. Fatih GARÇA Yrd. Doç. Dr. Barış Atalay UŞLU Vet. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN																

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.

EK-2. Tez Orijinallik Raporu

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU	
Tarih: 15/11/2017	
Tez Başlığı / Konusu: "Bir Aylık ve Beş Aylık Erkek Ratlarda Medulla Spinalis'in Servikal Segmenti Üzerine Yapılan Morfolojik ve Stereolojik Bir Çalışma"	
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 50 sayfalık kısmına ilişkin, 15/11/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 14 (ondört) tür. Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Tarih ve İmza 15/11/2017 	
Adı Soyadı: Mesude CANDAN Öğrenci No: 12930110008 Anabilim Dalı: Anatomi Anabilim Dalı Programı: Sağlık Bilimleri Enstitüsü Statüsü: Y. Lisans X Doktora ☐	
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR  (Ünvan, Ad Soyad, İmza) Yrd. Doç. Dr. Gamze ÇAKMAK	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Ünvan, Ad Soyad, İmza)