

ANKARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ MECMUASI

The Journal of the Faculty of Medicine University of Ankara



cilt: 43 • *sayı:* 3'e ek

1990

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MECMUASI

The Journal of the Faculty of Medicine University of Ankara

İÇİNDEKİLER

Prof. Dr. Kâmile Şevki, 1906 - 1987 Anısına Saygıyla (<i>Meral Tekelioğlu</i>)	I
Değerli Hocamız Prof. Dr. Kâmile Şevki Mutlu'yu Anarken (<i>Fikret Mutlu</i>)	IX
Konfokal Mikroskopu : Işık Mikroskopu Teknolojisinde Son On Yıldaki En Önemli Gelişme (<i>Alp Can - Meral Tekelioğlu</i>)	717
Gerilmiş Pozisyondaki Sıçan İskelet Kasının İnce Yapı Düzeyinde İncelenmesi (<i>Yüksel Saran - Canan Akbay - Cengiz Güven - Nurşen Sayın</i>)	727
Retiküler Hücrelerin Metalofilik Bir Yöntemle (ÇİO) İncelenmesi : Işık ve Elektron Mikroskopu Düzeyinde Çalışma (<i>Atilla Dağdeviren - Ülken Örs</i>)	735
Işık ve Elektron Mikroskopik Bulgularıyla İki Herediter Sensorimotor Nöropati Vakası (Tip II) (<i>Esra Tan - Ersin Tan - Kubilay Varlı - Abdurrahman Ciger - Cengiz Güven - Gülay Nurlu - Turgut Zileli</i>)	749
Resin Bağlantılı Periodontal Protez (Vaka Raporu) (<i>Hüsnü Yavuzylmaz - Bengül Yurdukoru - Dilek Nalbant</i>)	757
Deksametason Kullanıldığında Myoblastlar Yüzeyindeki Değişikliklerin Scanning Elektron Mikroskopu ile İncelenmesi (<i>Melih Zeytinoglu - Ergin Açıkalin</i>)	767
Lenfoid Doku Retiküler Hücreleri (<i>Atilla Dağdeviren - Ülken Örs</i>)	773
İn Vitro Fertilizasyon'a Genel Bir Bakış (<i>Nadir Çıray</i>)	783
Deksametazonun Sıçan Karaciğer Hücrelerine Etkisinin İnce Yapı Düzeyinde İncelenmesi (<i>Müfide Güngör - Yüksel Saran</i>)	795
Atrial Natüretik Polipeptidlerin Kalp ve Başka Organ Hücrelerindeki Dağılımının İmmunhistokimyasal Değerlendirilmesi (<i>Nurşen Sayın</i>)	803
Otozomal Resesif Siklops Malformasyonu : Bir Vakanın Prenatal Tanısı ve Postmortem İncelemesi (<i>Sevim Balcı - Behsan ÖnoI - Emin Alp Niron - Muzaffer Eryılmaz - M. Derya Erça</i>)	809
Lösemi Hücrelerinde Diferansiyasyon Yapan Metil Prednizolon Tedavisinin Ultrastrüktürel Bulguları (<i>Esra Tan - Gönül Hiçşönmez - Meral Tekelioğlu - Nilüfer Karadeniz</i>)	817
Fototerapinin Hücre Kinetiği Üzerine Etkisi (<i>A. Tükün - N. Kuyucu - A. Sunguroğlu - G. Öcal I. Bökesoy</i>)	825
Anadolu'nun Genetik Yapısı Üzerine Araştırmalar : XXVI. 8. Akraba Evliliklerine İlişkin Ek Bulgular (Hocam Prof. Dr. Kâmile Şevki Mutlu'nun Silinmeyen Hatırasına) (<i>Bekir Sıtkı Şaylı</i>)	831
Anovulatuvar Kadınlarda Menotropin İndüksiyonuyla Oluşan Endometriyumun Premenstrual Evredeki Yapısı (<i>Alp Can</i>)	841
İnsan Miyometriyum Dokusunda Gebelik Dışı ve Gebeliğin Farklı Dönemlerinin Ultrastrüktür Düzeyinde Karşılaştırılmalı İncelenmesi (<i>Nadir Çıray</i>)	857

YAYINLANAN KİTAPLAR
A. Ü. TIP FAKÜLTESİ TARAFINDAN

- 414 - TÜRK İSTİKLAL SAVAŞI VE CUMHURİYET TARİHİ
(Doç. Dr. Yücel Özkaya) 335 Sayfa 2.000 TL.
- 415 - TIPTA İSTATİSTİK YÖNTEM VE UYGULAMALARI
(Dr. Yaşar Heperkan) 890 Sayfa 3.000 TL.
- 416 - SİNDİRİM FİZYOLOJİSİ
(Dr. Fikri Özer) 1.500 TL.
- 423 - DERİ HASTALIKLARINDA ÖN BİLGİLER (PROPEDÖTİK)
(Prof. Dr. Atıf Taşpınar) 154 Sayfa 1.000 TL.
- 426 - FİZİK I
(Dr. Ziya Güner) 1.500 TL.
- 427 - SİNİR HASTALIKLARI SEMİYOLOJİSİ
(Prof. Dr. Sami Gürün, Prof. Dr. Adnan Çüvener, Prof. Dr. Öge, Prof. Dr. V. Kırçak, Prof. Dr. İ. Çağlar, Prof. Dr. K. Bilgin, Prof. Dr. Korkut Yaltkaya) 608 Sayfa 2.000 TL.
- 430 - TEMEL MEDİKAL GENETİK
(Prof. Dr. Bekir Sıtkı Şaylı) 494 Sayfa 2.000 TL.
- 433 - GEBELİK ve SİSTEMİK HASTALIKLAR
(Prof. Dr. Ahmet Esendal) 728 Sayfa 2.500 TL.
- 433 - GENEL ŞİRÜRJİDE KARIN YARALANMALARINI
(Prof. Dr. İsmail Ş. Kayabalı) 469 Sayfa 2.000 TL.
- 434 - ANATOMİ TERİMLERİ (NOMINA ANATOMICA)
(Prof. Dr. Kaplan Arıncı, Doç. Dr. Alaittin Elhan) 275 Sayfa 1.500 TL.
- 435 - ORTOPEDİ-TRAVMATOLOJİ ve CERRAHİSİ
(Prof. Dr. Zeki Korkusuz) 206 Sayfa 1.500 TL.
- 436 - GENİTAL SİSTEM PATOLOJİSİ
(Prof. Dr. Orhan Bulay) 181 Sayfa 1.000 TL.
- 437 - GASTROENTEROLOJİYE GİRİŞ PROPEDÖTİK
(Prof. Dr. Züfer Paykoç, Prof. Dr. Hamdi Aktan) 208 Sayfa 1.500 TL.
- 438 - LENFATİK SİSTEM
(Prof. Dr. Kaplan Arıncı, Doç. Dr. Alaittin Elhan) 75 Sayfa 1.000 TL.
- 440 - TESTİS TÜMÖRLERİ TEŞHİS ve TEDAVİLERİ
(Prof. Dr. Mahmut Kafkas) 102 Sayfa 1.000 TL.
- 441 - İŞ SAĞLIĞI ve MESLEK HASTALIKLARI
(Dr. Cahit Erkan) 534 Sayfa 2.000 TL.
- 442 - DOĞUM OPERASYONLARI
(Prof. Dr. Ali Gürgüç) 504 Sayfa 2.000 TL.
- 443 - KÜÇÜK CERRAHİ TEKNİĞİ
(Prof. Dr. Demir A. Uğur) 113 Sayfa 1.000 TL.
- 444 - Eklemler
(Prof. Dr. Demir A. Uğur) 88 Sayfa 1.000 TL.
- 445 - Temel Odyoloji
(Prof. Dr. Nimetullah Esmer) 78 Sayfa 1.000 TL.
- 448 - Acil Psikiyatri
(Dr. Işık Sayıl) 149 Sayfa 1.000 TL.

Yukarıdaki Kitaplar A.Ü. Tıp Fakültesi Kitap Satış Bürosundan Temin Edilebilir.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ MECMUASI
A.Ü. Tıp Fakültesinin yayın organıdır.

YAYIN KOMİSYONU
BAŞKANI

Prof. Dr. Yücel KANPOLAT

YAYIN KURULU

Prof. Dr. Orhan Seyfi ŞARDAŞ

Prof. Dr. Sevgi GÖZDAŞOĞLU

Prof. Dr. Nuri KAMEL

Prof. Dr. Abdülkadir DÖKMECİ

Prof. Dr. Fikri İÇLİ

Doç. Dr. Çetin EROL

Yılda 4 sayı olarak yayınlanır. Beher Sayısı 1.500,- TL. dir. Senelik Abone 5.000,- TL. Araştırma görevlisi, öğrenci, mecburi hizmetlilere % 50 indirimlidir.

EDİTÖR : Prof. Dr. Meral TEKELİOĞLU

Profesör Kâmile ŞEVKİ ek sayısındaki değerli işbirliği için Yayın Komisyonu Başkanı Prof. Dr. Yücel KANPOLAT'a Histoloji-Embriyoloji Akademisyenleri teşekkür ederler.

YAZIŞMA ADRESİ :

A. Ü. Tıp Fakültesi Yayın Komisyonu Başkanlığı

Sıhhiye - ANKARA

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ MECMUASINDA YAZI YAYINLAYACAKLARIN DİKKATİNE

1 — A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası, A.Ü. Tıp Fakültesi tarafından üç ayda bir, yılda dört sayı (bir cilt) olarak yayınlanır.

2 — Yazılar A.Ü. Tıp Fakültesi Yayın Komisyonu Başkanlığına üç kopya halinde gönderilmelidir. Yazı ve resimlerin kaybından Fakülte sorumlu tutulamaz; bu nedenle araştırmacıların bunlara ait bir kopyayı alıkoymaları tavsiye edilir.

3 — Mecmua'da yayınlanmak üzere gönderilen yazıların daha önce başka yerde yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere gönderilmemiş olması gerekir. Daha önce Kongrede tebliğ edilmiş ve özeti yayınlanmış çalışmalar, bu husus belirtilmek üzere kabul edilebilir. Yayın için gönderilmiş çalışmalarını gecikme veya diğer bir nedenle başka bir yerde bastırmak isteyen yazarların Fakülteye yazılı olarak bilgi vermeleri gerekir. Yayın Komisyonu, A.Ü. TIP FAKÜLTESİ MECMUASI için gönderilmiş yazılarda makale sahiplerinin bu maddeye uymayı kabullendiklerini varsayar.

4 — ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ MECMUASINDA yayınlanacak yazılar metin, şekil, tablo, kaynakça dahil 15 dergi sayfasını geçemez. Olgu bildirileri için üst sınır 5 dergi sayfasıdır.

5 — Mecmua'da yayınlanmış her makalenin yazarlarına 50 adet ücretsiz ayrı baskı verilir.

6 — MAKALE BAŞLIĞI : Seksen harf ve fasılayı (80 daktilo vuruşu) geçmemelidir. Eğer yazı başlığı 40 harf ve fasıladan fazla ise, Mecmuadaki tek sayfalar başına konulmak üzere ayrıca kısaltılmış yazı başlığı (en çok 40 vuruş) makaleye eklenmelidir.

Yazı başlığının altına yazarların ad ve soyadları yan yana yazılmalıdır. Soyadları üstüne konulacak yıldız işaretleri ile sayfa altında araştırmacıların akademik ünvanları dip not halinde belirtilebilir.

Çalışmanın yapıldığı ve yazarların çalıştıkları yer. yazarlarının altına yazılmalıdır.

GİRİŞ : Araştırmanın amacı belirtilmeli, diğer benzer çalışmalara işaret etmeli. ancak geniş bir revü (Literatürün gözden geçirilmesi) önlenmelidir.

METOD : Daha önce literatüre geçmemiş yeni bir yöntem denemişse geniş surette verilmeli. aksi halde sadece literatüre atıf yapmakla yetinmelidir.

METİN YAZIMI : ANKARA TIP FAKÜLTESİ MECMUASINDA yayınlanmak üzere gönderilen yazılar 21 X 30 cm boyutlarında standart daktilo kağıdına çift aralıklı olarak daktilo ile yazılmalı, sayfa sol yanında 3 cm. sağ yanında ise 2 cm. boşluk bırakılmalıdır. Her sayfa üst-sağ köşesine yazar (birden fazla kişiye ait makalelerde ilk yazar) adı, soyadı yazılmalıdır.

Yazıların Türk Dil Kurumu sözlüğü ve yeni yazım (imlâ) kılavuzuna uygun olarak hazırlanması gerekir. MECMUA basımında metnin arasında büyük veya esase dizime başvurulmayacağından daktilolu kopyada tüm kapital veya aralıklı yazım kullanılmamalıdır.

Aynı satırda değişik puntolu veya karakterli dizime (Beyaz-italik-siyah) çoğu basımevinde olanak bulunmadığından metin arasında ad tümce veya satırların altı, farklı kasa ile dizim için, çizilmemelidir. Ara başlıkları (MATERYEL VE METOD, BULGULAR, TARTIŞMA, KAYNAKLAR) kapital olarak yazılmalı ve ortalanmalıdır.

Olanak varsa bir cümlele rakamla başlamaması tercih edilmelidir, zorunluk olan hallerde rakam nümerik değil, yazı ile yazılmalıdır (Örnek : 48 hasta ve 50 sağlam kontrolden oluşan materyel.. yerine Bu araştırmanın materyeli 48 hasta ve 50 sağlam kontrolden oluşmaktadır veya Kırk sekiz hasta ve 50 sağlam kontrolden oluşan materyel...). Genellikle I-10 arasındaki rakamlar metin içinde de olsa yazılmalıdır (Örnek : Bu seri içindeki hastalardan 4 ü.. yerine Bu seri içindeki hastalardan dördü...). Ancak bu sayılar diğer bir rakamla karşılaştırmalı olarak kullanılmışsa rakamla yazılabilir (Örnek : Bu yöntemle tedavi ettiğimiz 26 hastadan 7 si tam düzelmeye göstermiş olup...).

ŞEKİLLER : Fotoğraf, grafik, çizim ve şemaların tümü (İllüstrasyonlar) Şekil olarak kabul edildiğinden buna göre birbiri izleyerek numaralanmalıdır. Grafik ve şemalar kuşe kâğıdı veya beyaz kartona siyah, teroihan çini mürekkeple çizilmelidir. Fotoğraflar klişede ayrıntıların görülebilmesini sağlayacak derece kontrast olmalı ve parlak kâğıda basılmalıdır.

Her şekil altında açıklayıcı kısa bir le'and bulunmalıdır. Şekil numaraları Arabik olarak (1, 2, 3...) yazılmalı ve le'and a'afıdaki örnekteki benzer şekilde roktalanmalıdır :

Şekil 4 : Hastanın ameliyat öncesi dönemde yapılmış karaciğer sintigrafisinde sol lobde hipoaktif bölge görülüyor.

Şekil altı yazılarının tümü ayrı bir sayfaya ve alt alta yazılarak metne eklenmelidir.

Klişe yapılacak Şekillerin tümü ayrı bir zarf içinde sunulmalı, hiçbir şekil monte edilmemelidir. Şekillerin arkasına yazar ve makale kısa adı, şekil numarası yumuşak kurşun kalemle yazılmalı, klişenin üste gelecek yanı ÜST yazılarak işaretlenmelidir.

Şekillerin makalede konulması gereken yerler metin sol kenarına (Şekil 1, Şekil 2) şeklinde yazılarak belirtilmelidir.

ANKARA TIP FAKÜLTESİ MECMUASI'nın sayfa enj muhtemel olarak 28 katrat (12 cm) olacaktır. Şekillerin boy ve en oranı yönünden bu husus dikkate alınmalıdır.

TABLolar : Her biri ayrı bir sayfaya yazılıp Romen rakamı ile (I,II,III...) numaralanmalıdır. Tablo kapsamının kısa tarifi, açıklaması başlık olarak konulmalıdır. Başlığın noktalanması a'afıdaki örneğe göre yazılmalıdır :

Tablo IV : Karaciğer absesinde mortalite oranları

Araştırmaya ait bulgu ve sonuçların sunuluşu ya metinde yazılı olarak verilmeli veya şekil yahut tablo ile takdimi tercih edilmelidir. Aynı bulgu ve sonucun bu araçlardan birden fazlası ile ve tekrarlanarak sunuluşundan kaçınılmalıdır.

Tablolar Dergi normal metin harfleri ile dizilince eni 12 cm. yi geçmeyecek genişlikte ve yarım sayfayı aşmayacak derinlikte, kondanse bilgi ile düzenlenmeli; Tablo adedi metin hacmi ile orantılı olmalıdır. Sayfaya dik değıil yan olarak monte edilmek üzere düzenlenmiş Tablo'lar kabul edilemez. Tabloların konulaçağı yerler metin sol kenarına işaretlenmelidir.

TÜRKÇE ÖZET : Ortalama 50-100 kelime dolaylarında olmalı ve İngilizce özetten önde gelmelidir. Makale başlığının bu bölümde tekrarı gerekmez.

YABANCI DİLDE ÖZET : Araştırmanın amacı, bulgular ve sonuçları kısa olarak içeren, en çok 100 kelime olmak üzere üç batı dilinden (İngilizce, Fransızca, Almanca) birinde hazırlanmış bir özet makale sonuna gelecek şekilde yazılmalıdır. Makale başlığının tümü de aynı yabancı dile çevrilerek bu özet üstüne yazılmalıdır.

KAYNAKLAR : Metin içinde numaralanıp parantez içinde yazılmalıdır. Superior rakam dizimine basımevlerinin çoğunluğunda olanak bulunmadığından metinde kaynak numaraları yazı üstüne konulmamalıdır. Aslı görülmeden diğeri bir kaynak aracılığı ile bilgi edinilen makaleler mümkünse Kaynaklar arasına alınmamalı, zorunlu hallerde ise bilgi alınan ara kaynak parantez içinde belirlenmelidir.

Araştırma sonuçlarını sunan makalelerde tezlerdeki gibi gözden geçirilen tüm kaynakların verilmesi yerine en önemli, yeni ve çalışmayı doğrudan ilgilendirenlere yer verilmelidir. MECMUA'da yayın için kabul edilecek yazılardan araştırmalarda kaynak adedi en çok (25), olgu bildirilerinde ise (10) olarak sınırlandırılmıştır.

Kaynaklar yazı sonunda ve ayrı bir sayfaya, alfabetik olarak sıralanıp numaralanarak yazılmalıdır. Kaynak yazımı ve noktalaması makale ve kitaplar için a'afıdaki örneğe uygun olmalıdır :

7. Fulton EF : Treatment of Bowen's disease with topical 5-FU, Arch Derm 97 : 178, 1968.
 8. Özer K, Kaya Z, Ayan B : Meigs sendromunda laparoskopinin değeri, A. Ü. Tıp Fak. Mec. 24 : 110, 1971.
 9. Oberman A ve ark. : Natural history of coronary artery disease, Bull N Y Acad Med. 48 : 1109, 1972.
 10. King EJ, Armstrong AR : A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Canad med Ass J 31 : 376, 1934 (Sherlock zikrediyor. Disease of the liver and biliary system. 3. bası, 1963 Blackwell Pob, Oxford, sayfa : 47).
 11. Shehadi WH : Clinical radiology of the biliary tract, 2. bası, 1963, Mc Graw - Hill Co. N Y, sayfa : 41
- Üç veya daha az olan yazar adlarının tamamı, üçden fazla olanlarda ise sadece ilk ad yazılıp ve ark. şeklinde devam edilmelidir. İbidem (İbid.) kısaltması ancak bir yazarın aynı mecmuada yayınlanmış, birini izleyen yazıları referans olarak gösterilirse kullanılmalıdır.



PROF. DR. KÂMİLE ŞEVKİ, 1906 - 1987
ANISINA SAYGIYLA

«Şu halde tıp bilgisinde sıra ile ilkönce Morfoloji bilgileri, sonra tecrübe ve müşahade bilgileri ve en sonra klinik gelmektedir. Yanlış anlaşılmasın, en önemli morfoloji bilgileri, en önemsizi de klinik bilgileri demek değildir. Her işte olduğu gibi bir ilmi öğrenmek için de muayyen plân, muayyen teşkilâta ihtiyaç vardır. Teşkilât ilmin hem öğrenilmesini kolaylaştırır, hem de öğrenilmesi için gereken zamanı kısaltmaya yarar...»

«Morfoloji bilgisine de Histoloji ile başlamak gerekir. Çünkü Histolojinin bize öğrettiği hücre, vücudun en küçük bu parçası hayat faaliyetlerinin hepsine maliktir. Her canlı gibi o da doğar, büyür, yer, içer, çoğalır, hastalanır yahut ihtiyarlar ve nihayet ölür.

Onun da kendisine mahsus işi, gücü, karakteri, mizacı, komşu hücrelerle ve bütün organizma hücreleri ile münasebetleri vardır. O da yabancı maddeler, alışmadığı tesirler karşısında zaman ve zemine göre değişen hususi reaksiyonlar gösterir. Hücreyi tanımak demek hayatın felsefesini yapmak demektir. Çünkü hücre aslında tek hücre ile başlayan hayatımızın felsefesidir. Tıp alanında temeli teşkil eden morfoloji bilgilerine atılan ilk temel taşıdır» (1).

Yukarıdaki üç paragraf Profesör Kâmile Şevki'nin 19 Ekim 1945 günü Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinin açılışı nedeniyle Gülhane Büyük Dersanesinde verdiği ilk "Tıp Dersi Metninden" seçildi. O dönemin Cumhurbaşkanı, Meclis Başkanı, Başbakan ve Hükümet üyeleri, Danıştay, Yargıtay ve Sayıştay üyeleri ve Genelkurmay temsilcileriyle kalabalık Hastahane hekimleri, Tıp mensupları ve İstanbul'dan gelen Tıp öğrencilerinin karşısında tıp fakültesi eğitimini başlatmayla onurlandırılmıştı. Hocaların hocası ve hocamız Kâmile Şevki'nin 3 Ekim 1987'de aramızdan ayrılışından sonra üçüncü yıl doldu.

Profesör Kâmile Şevki Ankara Tıp Fakültesinde klinik öncesi öğretim ve eğitimi başlatmakla kalmadı, bugün de geçerliliğini koruyan klâsik normlarıyla yerleşik düzenine oturmasını sağladı. «Hücre aslında tek hücre ile başlayan hayatımızın felsefesidir» diye özetlediği günümüzü de aşan yorumu doku bilgisini zekice bir bilim düşüncesine oturtma kıvraklığını kanıtlar.

Ankara bilim medyasının Histoloji-Embriyoloji öğretici ve araştırmacıları Kâmile Şevki damgasını taşır. Oluşturduğu bilim ortamı onunla çalışanların aracılığıyla Anadolunun yeni gelişen Üniversitelerine doğru yayılmasını sürdürüyor. Dr. Kâmile Şevki, Ankara Üniversitesinde Tıp Fakültesinin kurulması sürecinde ilk ataması yapılan Profesörlerden biriydi :

«Histoloji Profesörlüğü için bir aday vardı; Dr. Kâmile Şevki (Aygün). Dr. Kâmile Şevki hakkında komisyon tetkikine göre bu aday esasen Nümune Hastahanesi anatomi-patoloji mütehassısıdır. Evvela uzun zaman İstanbul Tıp Fakültesinde Prof.

Dr. Hamdi Suat yanında çalışmış, sonra Almanya'da Meşhur Profesörler yanında () uzun müddet ihtisasını derinleştirmiştir. Halen kendisi anatomi-patoloji Profesörü olmak istiyor. Fakat Histoloji ve Embriyoloji Profesörlüğünü de yapabilecek en liyakatli bir mütehasstır fikrinde bulunuyordu. Şahsen bende Dr. Kâmile Şevki ile görüştüm; bir hanım için Histoloji Profesörlüğünün anatomi-patolojiye tercih edilecek çok temiz ve verimli bir meslek olacağını izah ederek histoloji hocalığının kabulüne taraftar olmasını temin ettim. İleride anatomi-patoloji enstitüsü açıldığında oraya adaylığını koma hakkını muhafaza etmek kaydı ile Dr. Kâmile Şevki histoloji ve embriyoloji profesörlüğüne oya kondu. Bu sırada mevcut 13 profesörden 10 müsbet, 3 menfi oy kazandı» (2).*

Profesör Kâmile Şevki Histoloji-Embriyoloji Kürsüsünü öylesine benimsedi ki Patoloji Kürsüsü kurulduğunda atanması için saklı tutulan hakkını anımsatmaya herhangi girişimde bulunmadı. Türkiye Cumhuriyetinin ikinci Tıp Fakültesinde Klinik Öncesi Temel Kürsülerinin kurulmasında bu önemli bir şansını oluşturdu.

Ankara Tıp Fakültesi'nin ilk öğretim üyeleri toplandıkları 'Üniversite Akademi Platformu' üzerinde düzeyli çalışmalarıyla seçkinleştiler :

«Gülhane kökenli ve öteki kurucu hocaların hemen hepsi bu getirildikleri yerlerine lâyıktılar. Abdülkadir Noyan, Kâmil Sokullu, Süreyya Gördüren, Zeki Hakkı Pamir, Kâmile Şevki, Muhittin Dilemre, Şükrü Yusuf Sarıbaş hocalarla gelen akademi ortamı Avrupa düzeyinde sayılabilirdi. 40'li yılların başından fakültenin başladığı 45 yılına ve 50'li yılların başlarına kadar her hafta düzenle «Gülhane Tıp Müsamereleri» oldu. Tıp Fakültesi, Nümune, Gülhane Hastahaneleri hocalarıyla dış ülkelerden buralarda görevlendirilmiş bilimciler değerli Tıp Bildirilerini bu müsamerelerde sundular. Kâmile Şevki her toplantıya önce Nümune hastahanesi Patoloğu, sonra Tıp Fakültesi hocası olarak katıldı; getirdiği konularına bihakkın vakıf bir genç bilim insanı, hevesli bir araştırmacı olarak hep takdir topladı. Toplantılar sırasındaki münakaşalar bazan sıcak ve hatta kırıcı olurdu. Ama toplantıların sonrasında yemeğe birlikte giden hocalar kolkola gezerlerdi (3).

Kırk yılı aşan bir süre içinde birlikte çalıştığı akademisyenleri etkiledi; bilim ve sosyal kişiliğiyle övgü aldı :

'Beni en çok etkileyen Kâmile hocanın Tıp Fakültesi açılış töreninde verdiği dersi dinlemektir. Açılışımızda Cumhurbaşkanı İsmet İnönü, Milli Eğitim Bakanı Hasan Âli Yücel, Tevfik Sağlam Paşa, Profesör Schwartz ve başka önemliler hazır bulundular. Kâmile hoca durumuna çok uyan kusursuz siyah bir tayyör - beyaz blüz ve ufak şık bir şapka giymişti. Bence kadının toplumda nasıl yeri olması gerektiğinin en mükemmel örneğiydi.

(*) Robert Roessle ve Robert Meyer (1933-35), Patoloji Kürsüsü, Tıp Fakültesi, Berlin Üniversitesi, Berlin-Almanya.

Kollajen hastalıkların varlığını ilk defa Kâmile hoca'dan duydum. Çevresindekilerin bilim ortamında yükselmelerini gerçekten ister, kıskanmaz, baltalamazdı. Fakültenin yayın organı olan Tıp Fakültesi Mecmuasının çıkarılmasını da o üstlenmişti. Kliniklerde kapı kapı dolaşarak makaleler ister, bulamazsa makaleleri hazırlamaya teşvik ederdi.

Emekli olduğunda kutlamak için Kızılay, Yüksel Caddesindeki evine gittim. Gençliğinde yapamadıklarına emekliliğinde başladığını söyledi. Boş oturamayan, hayatının her anını dolu değerlendiren biriydi.

Son diploma törenindeki () konuşmasından da etkilendim. Tören sonrasında kutlarken beyin korteksinin hepimizden geniş alanlı olduğunu söylememi hoşgörülü gülümseyişiyle karşıladı' (4).*

'Kâmile hocayı 1946 yılında Ankara'ya gelişimle tanıdım. Yanında ihtisas yaptığım Profesör Marchionini temel eğitimim için histolojide bir süre çalışmamı istedi; üç ay içinde Kâmile hocadan çok şeyler öğrendim ve değerini yakından anladım. Doçentlik sınavına girerkenki jürimde yine Kâmile hoca üyeydi. Doçent ünvanını aldıktan sonra dermatolojiye kalıcı öğretim üyesi olarak yerleşmemde onun büyük teşvikinin de etkisi oldu.

Kâmile Şevki hoca 1959 yılında Philadelphia, Amerika'ya gitmeden altı ay önce Ankara Tıp Fakültesi Kurulundan dış memleketlerdeki öğretim üyeleri görevlendirmeleri sürelerini kısıtlayan bir karar çıktı; öğretim üyelerine ihtiyaç olduğu nedeniyle profesörlerin kalışı altı ay, doçentlerinkiyse bir yıla sınırlandı. Kâmile hocanın Philadelphia'da altı ayı dolunca araştırmalarının sürmekte olduğu ifadesiyle kalış süresinin uzatılması için izin isteyen dilekçesi kurula gelince ben karşı çıkanların başını çektim, önceden alınmış prensip kararının Kâmile hoca için bile bozulmamasını istedim. Sonradan bana yazdığı mektupta karşı çıkışımı samimiyetle övdü; öyle davranmasaydım beni sevmeyeceğini ifade etti. Süresini doldurup fakülteye döndüğünde bana karşı olan tavrı en ufak şekilde değişmedi. Osmanlı hanımefendiliğinin katıksız temsilcisiydi.

Ben kalıcı öğretim üyesi olarak eylemli doçentliğe tayin edilecek akademisyenlerde önce kişilik kalitesine değer veririm. Bu varsa bilim namusluluğu da olabilir. Bilgi miktarındaki eksiklik telâfi edilebilir. Kâmile hocayı annem gibi telâkki ediyor yüksek gönüllü bir hanımefendiydi diyorum' (5).

Profesör Kâmile Şevki'nin seksen yılı aşan yaşamı önemli işlerin ilk başlatıcısı olmakla yücelir, özgünleşir (6). Çalışmalarının bütünü yayınlarıyla belgelenmiştir :

(*) 2 Ekim 1987 tarihindeki Ankara Tıp Fakültesi diploma töreni. Profesör Kâmile Şevki bu törene katıldıktan bir gün sonra vefat etti.

YAYIN LİSTESİ

- 1) Lymphogranulomatose : Tıp Fakültesi Mecmuası, cilt 10, Kasım 1928.
No. : 11-12 (Tıp öğrencisi iken).
- 2) Lymphogranulomatose (Tecrübi araştırmalar) : IV. Milli Türk Tıp Kongresi, 22-24 Eylül 1931, s. 169.
- 3) Cümlei Asabiye Uurları : Tıp Fakültesi Mecmuası XIII. yılı No: 7-8 Ağustos, 1931, s. 311.
- 4) Resultats Des Recherches Histobacteriologique Sur La Granulomatose Maligne (Prof. Hamdi Suat ile birlikte) : Schweizer. mediz. woch., 61, No: 2, s. 43, 1931.
- 5) Cilt Guddelerinin Anomalilerine Dair : Tıp Fakültesi Mecmuası, 1932, sup.
- 6) Über Eine Besondere Granulation Der Chromaffinen Markzellen Der Nebenniere, ihre Beziehung Zur Chromaffinitat Und Ihr Vorkommen in Phaeochromozytom : Virchows Archive, Bd. 294, Haft I, s. 65, 1934.
- 7) Über Einen Fall Wom Bösartigen Hypernephrom : III. Congres International de Pathologie Comparée, Tome II, s. 248, 1936.
- 8) H. Hamdi (1873 - 13.III.1936) : Verhandlung Der Deutschen Pathologischen Gessellschaft, 29 tagung, Braslau, 27-29 September 1936, Kitabın neşri 1937, s. 367.
- 9) Autopsi (Section) Metodu : 1937 (kitap). Sümer Basımevi.
- 10) Kanserin Esbabı ve Dünya Üzerinde ve Memleketimizdeki Durumuna Bir Bakış : Anadolu Kliniği, Yıl. 7, Ocak 1939.
- 11) Türkiye'de İlk Defa Tesadüf Edilen ve Şimdiye Kadar Tanınmamış Bir Şekil Gösteren Karaciğer Echinococcus Alveolaris Vakası : Sıhhiye Mecmuası, Cilt XV, sayı 96, s. 640, Nisan 1939.
- 12) Nadir Cilt Kanserlerine Dair Histolojik Demonstration : Deri Hastalıkları ve Frengi Kliniği Arşivi, Cilt V. No: 33-34, Mayıs-Temmuz 1939.
- 13) Sialodochitis Verminosa Vakası : Anadolu Kliniği, Yıl 8, sayı 2, s. 81, 1940.
- 14) Untersuchungen Über Kolloid Milium in Anatolien (Prof. Alfred Marchionini ile beraber) : Dermatologische Wochenschrift, Bd. 113, No: 44, s. 897, 1941.
- 15) Anadolu'da Müşahede Edilen Beş Vaka Üzerine Kolloid Miliuma Dair Muayeneler (Prof. Alfred Marchionini ve Kemal Turgut ile beraber) : Deri Hastalıkları ve Frengi Kliniği Arşivi, Cilt VIII, No: 47-48, 1941.

- „ „ „ „ „ 16) Louis Pasteur'un Hayatı : Türk Veterinerler Cemiyeti Dergisi, sayı II, s. 25-30, 1942, 19 Nisan 1942 de radyoda konferanste de edilmiştir.
- 17) Experimentelle Und Pathologisch-Anatomische Studien Über Pleuropneumonia Contagiosa Capraes in Anatolien Und Ihre Beziehungen Zur Menschlichen Grippe : Schwetzerische Zeitschrift für Pathologie und Bakteriologie, Vol. V, Fasc. 3-4, s. 216, 1942, (Süreyya Aygün ile beraber).
- „ „ „ „ „ 18) H. Hamdi Suat'ın Biographie'si : Türk Tıp Tarihi Arşivi, Cilt V., No: 12-20, 1942 (13. III. 1942 de Gülhane Askeri Tıp Akademisi müsameresinde okunmuştur).
- 19) Merkezi Anadolu'da Echinouoccus Vaziyeti : 8. Milli Türk Tıp Kongresi, 18-20 Ekim 1943.
- 20) Corpus Callosum Agenesis'i Vakası : Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı Dergisi, Cilt III, No: 29, 1944.
- 21) Anatomi Kitabı : Gönüllü Hastabakıcılık Kursu İçin Yayınlanmıştır. Başbakanlık Devlet Matbaası, 1945.
- „ „ „ „ „ 22) Hekimlik Sanatı : 14 Mart 1945 Tıp Bayramında Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi'nde söylendi ve 16 Mart 1945 günlü Ulus Gazetesi'nde yayımlandı.
- 23) Bu seneki Grip Epidemisinden Elde Ettiğimiz Materyel Arasında Nadir Komplikasyonlar : Anadolu Kliniği, Yıl 12, Ağustos 1945.
- 24) Morfoloji Bilimlerinin Tıpta Önemi : 19 Ekim 1945 Ankara Tıp Fakültesi açılış töreninde verilen ilk ders, Sümer Matbaası, Ankara, 1945.
- „ „ „ „ „ 25) Hamdi Suat Aknar'ın 10. Yıldönümü İçin Telgraf : Pratik Doktor, No: 3, s. 27, 1946.
- 26) Türkiye'de Görülmüş Bir Histoplasmosis Vak'ası ve Bu Hastalığın Genel Olarak Histopatolojisi Hakkında : X. Milli Türk Tıp Kongresi, 1948, kongre zabıtları kitabı, s. 155, 1950.
- 27) Ankara Numune Hastanesi Patoloji Laboratuvarında 10 sene zarfında muayene edilen tüberküloz vakalarının istatistik mahiyetinde incelenmesi; (Dr. Ayhan Kara ile birlikte). XI. Milli Türk Tıp Kongresi Zabıtları, s. 173, 1951, 16-19 Ekim 1950.
- 28) Chromaffine Hücrelerinde Chromaffine Reaction'u Devamı ve Özel Bir Boyama Metodu Üzerine Çalışmalarımız (Dr. Aliye Erkoçak ile beraber). XI. Milli Türk Tıp Kongresi Zabıtları, s. 331, 16-19 Ekim 1950.

- 29) Bir Echonococcus Alveolaris Vakası ve Memleketimizde Neşredilmiş Vakalar Üzerinde Kritik (Dr. Şeref Yazgan ile birlikte). Anadolu Kliniği, Yıl 17, Aralık 1951.
- „ „ „ „ „ 30) Hekimlik Mesleğinde Türk Kadını : İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, cilt 16, sayı I, s. 98, 1953.
- 31) Nasopharyngeal Scleroma Vakası ve Hastalık Amilinin Uzun Latansına Dair : Anadolu Kliniği, Yıl 19, No: 2, s. 54, 1953.
- „ „ „ „ „ 32) Türkiye’de İlk Kanserci : Malul Gaziler Dergisi, Sayı 4, sahife 4, 1956.
- 33) Histoloji (Genel Bölüm) : Ders Kitabı, 1955 (I. Baskı), 1958 (II. Baskı).
- 34) Embriyolojinin Genel İlimde ve Tıp’ta Mevkii (4 Kasım 1958 de Ankara Üniversitesinin açılışı münasebetiyle ilk ders olarak verilmiştir). Ankara Üniversitesi yayınları, 44, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1958-1959. 1964, Ankara Tıp Dergisi, sahife 3.
- 36) Antigen (Ferritin) and Antibody Distribution in the Rat Lymph Node After Primary and Secondary Responses and After Prolonged Stimulation. (Dr. A. PePe ve Doç Dr. İlhan Büyükozer ile). American Journal of Anatomy Vol. 117, No: 3, p. 385, November 1965.
- „ „ „ „ „ 37) Vatan Hasreti. 14 Mart Tıp Dergisi 1966, sayfa 21.
- „ „ „ „ „ 38) İbret Verici Anılarımdan Biri. 14 Mart 1967 Ankara Tıp Dergisi.
- „ „ „ „ „ 39) Bizim Kuşakların Ahn Yazısı. 14 Mart Tıp Bayramı, Diyarbakır Tıp Fakültesi, No: I, sayfa 3, 1969.
- . - . - . - 40) Elektron Mikroskobun Memleketimizde Uygulanışı, Türkiye I. Ulusal Elektron Mikroskopi Simpozyumu, s. 5-10, 11-12 Mayıs 1970, Ankara.
- . - . - . - 41) Thyroid Bezinin Histolojisi. Ankara Üniversitesi, Diyarbakır Tıp Fakültesinde “Thyroid Bezi ve Hastalıkları” Symposium’u. 26-27 Nisan 1971, sayfa 32.
- 42) Türkiye Cumhuriyetinin 50. yılında Tıpta Türk Kadını. Cumhuriyetin 50. yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi yayınları No: 30. Ankara Üniversitesi Yayın No: 300, 1973.
- „ „ „ „ „ 43) Ankara Tıp Fakültesinin Kuruluşuna İlişkin Anılarım. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası Vol. XXIX, sayı III, 523-528, 1976.
- „ „ „ „ „ 44) Türkiye’de İlk Kanserci Prof. Dr. Hamdi Suat Aknar. Mimar Sinan, Yıl 1977, sayı 24, sahife 83.
- Araştırma
- Observasyon
- „ „ „ „ „ Medikososyal, sosyal
- Telif, monografi
- . - . - . - Simpozyum

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuasının 1190 yılı 43. cilt 3'e ek sayısının bu eki Profesör Kâmile Şevki'yi anmak için hazırlandı. Tıp Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Hayati Ekmen'in kişiliğinde bütün ilgili görevliler istekle destek verdiler. Anma sayısına makalelerini veren Ankara, Hacettepe ve Gazi Üniversitelerinin değerli akademisyenlerine ve aile adına katılan Prof. Dr. Fikret Mutlu'ya teşekkürler. Onlar ve bizler Profesör Kâmile Şevki'nin bu çabalara değdiğine birlikte inanıyoruz. Hocamızı saygıyla anıyoruz.

Prof. Dr. Meral TEKELİOĞLU
Histoloji - Embriyoloji Profesörü
Kasım 1990, Ankara

KAYNAKLAR

1. Noyan A : Ankara Tıp Fakültesi Kuruluş Tarihçesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınlarından. Sayı : 76, s. 33-44, Ajans Türk Matbaası, Ankara, 1959.
2. Noyan A : Ankara Tıp Fakültesi Kuruluş Tarihçesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınlarından. Sayı : 76, s. 23, Ajans Türk Matbaası, Ankara, 1959.
3. Prof Dr Ahmet S Esendağla Kişisel Görüşme : Ağustos 1990, Ankara (Ankara Üniversitesi Emekli Kadın Hasatlıkları ve Doğum Profesörü).
4. Prof Dr Orhan Bumin'le Kişisel Görüşme : Ekim 1990, Ankara (Ankara Üniversitesi Emekli Genel Cerrahi Profesörü).
5. Prof Dr A Lütfi Tat'la Kişisel Görüşme : Ekim 1990, Ankara (Ankara Üniversitesi Emekli Dermatoloji Profesörü).
6. Tekelioğlu M : Prof. Dr. Kâmile Şevki, 1906-1987, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1987.

**DEĞERLİ HOCAMIZ
PROF. DR. KÂMİLE ŞEVKİ MUTLU'yu
ANARKEN**



Prof. Dr. Kâmile Mutlu tarafından Doçentlik Cübbesinin giydirildiği ve diplomamın verilmesine ait bir hatıra

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi 4. sınıf öğrencisi idik. Ankarada yeni kurulmuş olan Tıp Fakültesinin 4. sınıfını teşkil etmek üzere İstanbulda bulunduğumuz Askeri Tıbbiye Okulundaki bizim 4. sınıfı Ankaraya nakletmişlerdi.

Ankara Tıp Fakültesi, O zamanlar Cebecide bulunan Gülhane Askeri Tıp Akademisi içinde kurulmuştu. Gülhane, kendi bünyesinde klinik ve hocaları ile bir Tıp Fakültesi teşkil etmişti. Bizler de bu fakültenin 4. sınıfı oluyorduk.

İstanbulda bana verilen bazı patoloji preparatlarını, Ankarada Prof. Dr. Kâmile Mutlu'ya götürüp teslim etmekle görevlendirilmiştim. Prof. Dr. Kâmile Mutlu Ankara Numune Hastahanesinde çalışıyordu. Kendisini görmek için Numune Hastahanesine gidip odasını buldum. Oradaki görevliler bana doktor hanımın otopside bulunduğunu, odasında beklememi söylemişlerdi. Bir saate yakın odasında beklemiştim. Bir köşede masası ve yanında kü-

çük bir gardrop bulunuyordu. Askıda asılı olan mantosu beyaz bir örtü ile örtülü idi. Odanın diğer tarafında üzerlerinde mikroskop bulunan iki uzun masa vardı. Mikroskopların üstleri beyaz tülbentle örtülmüştü.

Vakit geçtikçe boş beklemekten canım sıkılmış olacak ki mikroskoplardan birinin başına geçtim ve orada bulunan preparatlardan birini incelemeğe başlamıştım. İşte tam o sırada arkamdan bir hanım bana şöyle sesleniyordu :

— Oğul sen orada ne yapıyorsun bakim?

Başımı mikroskoptan kaldırıp baktığımda, Prof. Dr. Kâmile Mutlu hanımın karşısında olduğumu hemen anlamıştım. Yanında iki doktor ve bir erkek hademe bulunuyordu. Ellerini önlerinde kavuşturmuş, sessiz ve saygılı bir durumda ayakta ve kenarda duruyorlardı. Hemen aayğa kalktım. Üzerimde Askeri Tıp öğrencisi üniformam vardı. Askerce bir selam vererek kendimi tanıtmıştım. İstanbuldan getirdiğim emaneti sağlam bir şekilde kendilerine teslim ederek görevimi yerine getirmiş olmanın sevincini duyarcasına rahat bir nefes almıştım ki aynı suali bana tekrar sordular.

— Oradaki mikroskopla ne yapıyordun? diye tekrarladı. Yüzü çok ciddi ve sert bakıyordu. Erkek hademe geri geri çekilerek odadan çıktı ve yanında iki doktor kalmıştı.

— Mikroskop çalışmasını sevdiğimi, tıp öğrencisi olarak merak ederek mikroskoptaki preparata baktığımı, bekleyerek geçen zamanı değerlendirmek istediğimi söylemişim.

İşte o zaman, bir tıp öğrencisi olarak Prof. Dr. Kâmile Mutlu'dan ilk dersimi almıştım. Bana ait olmayan bir mikroskopa dokunmak, bilmediğim preparatlara izin almadan bakmak, bu sebeple işlediğim kusurun büyüklüğü ve mahzurlarını anlatarak epey azarlanmıştım. İşte Prof. Dr. Kâmile Mutlu hanım ile ilk tanışmamız böyle olmuştu. Çok şaşırılmıştım. Hiç cevap vermeden onu dinlemiştim. İstanbul'dan Ankara'ya göç etmenin verdiği üzüntü ve moral çöküklük yetmiyormuş gibi gelirlenmez hemde hanım bir doktorun haşlamasına maruz kalmak, Ankaraya ilk gelişimizin ve kendileri ile tanışmamızın unutulmaz hatırası oldu.

Odasından çıkıp giderken asistanları beni teselli etmeye çalışmışlardı. Doktor hanımın çok titiz ve disiplinli olduğunu, ara sıra kendilerini bile azarladıklarını söyleyerek gönlümü almak istemişlerdi.

Daha sonraları Prof. Dr. Kâmile Mutlu hocanın takdirlerini kazanmış bir öğrenci oldum. Mikroskop sevgimi, histoloji ve patolojiye olan düşkünlüğümü görüp anladıkları için, yerli

geldikçe, ilk tanıştığımız günü daima hatırladıklarını ve bana az da olsa hak verdiğini söyler ve gönlümü alırdı.

Ankara Tıp Fakültesi son sınıf öğrencisi idik. Patoloji imtihanına hazırlanıyorduk. Çetin bir imtihan jürisi olmuştu. Çünkü jüride Prof. Dr. Kamile Mutlu hoca da bulunuyordu. Bu yüzden arkadaşlarımızın yarısı imtihandan başarısız not alarak çıkıyorlardı. Zor bir imtihan geçiriyorduk. Teksir edilmiş ders notlarından çalışarak hazırlanıyorduk. Mahçup olmamak için gereğinden fazla çalışarak çok iyi hazırlanmıştım. Kâmile hocanın imtihan jürisinde bulunuşu benim için de zorluk yaratıyordu. Kendilerine güvenerek değil, herşeyi çok iyi bilerek bileğimin hakkı ile başarılı olmak mecburiyetinde idim. Jüride Prof. Dr. Necati Eranıl ve Prof. Dr. Süreyya Tanay hocalarımız da bulunuyorlardı. İmtihan odasına alınmıştım. Hocalarımın ayrı ayrı sordukları bütün soruları çok iyi bilerek cevaplandırmıştım. Çok memnun olduklarını bildirip artık çıkabilirsin demişlerdi ki Prof. Dr. Kâmile Mutlu hocamız bir soru daha sormak istediğini söyledi ve beni otutturdu. Bana bir tüberkülozun teşekkülünü, bunu yapan hücrelerin hangi yolla nereden geldiklerini sordu. Bildiklerimi güzel güzel anlattım, kemik iliğinden çıkıp kan yolu ile geldiklerini vurgulayarak söylemiştim. İki hocam, çok iyi bildi, başka soru sormaya gerek yok, çıkabilirsiniz dedikleri halde, Kâmile hoca, benden bir kelimecik cevap beklediğini, istediği bu ismi söylemediğim takdirde bu ders-ten geçecek not veremeyeceğini ısrarla tekrar etti. Sorunun cevabını çok iyi anlatmış oldu fakat istediği ismi söylemediğimi ileri sürerek beni geçiremeyeceğini bildirince diğer hocalarla sert ve gürültülü bir tartışmaya girdiler. Onlar aralarında sert münakaşa ederlerken ben karşılarında sinmiş durumda akibetimi bekliyordum. Kâmile hoca bana dönerek

— Oğlum, bu hücrelerin çıktığını söylediğin kemik iliğinde bir sistem vardır, ben bu sistemin adını söylemeni istiyorum. Bunu söylemezsen seni geçirmem dediler.

Biliyordum ve hemen retikülo endotelial sistem olduğunu söyledim. Bunun üzerine gülerek ayağa kalktı ve :

— Hah işte ben demindenberi senden bu sistemin adını söylemeni istiyordum. Şimdi oldu. Yoksa geçirmezdim seni. Şimdi çıkabilirsin» demişlerdi.

İmtihan odasından çıktım, geçtiğimi de anlamıştım ama bu çetin imtihanımı hiç unutamıyorum. Çünkü en çok sevdiğim patoloji dersinden, bir isim yüzünden Kâmile hocanın ısrarı ile dönmüş olacaktım.

Ondan sonraki yıllar içinde Kâmile hoca bu imtihanımı yeri geldikçe hatırlardı. «O imtihanımı unutamıyorum derdi. Nekadar güzel cevaplar vermiştin, sen anlatırken iftihar edi-

yordum, ama ille de o sistemin adını söylemeni istiyordum. Onu kafama koymuştum. Söylemediğin takdirde geçirmemeye kesin kararlıyım. Çünkü bu çok önemli bir sistemdir. Bu yüzden hoca arkadaşlarla münakaşaya girdik» derdi.

Prof. Dr. Kâmile Mutlu gerek fakülte gerek özel hayatında çok titiz ve prensip sahibi bir hoca idi. Disiplinli ve otariter bir karakteri vardı. Tıp öğrencilerinin iyi yetişmesine çok fazla önem verirdi. Şöyle söylerdi :

«İnsan yetiştirmek zordur, fakat bir insanı doktor olarak yetiştirmek çok daha zordur. Mademki doktor yetiştirmek için çalışıyoruz, ideal doktor yetiştirmek için en iyi şartlarda bütün zorlukları yüklenerek bilgili doktor yaratmak mecburiyetindeyiz. Bizler hoca olarak kendimizi ve hayatımızı bu işe adanmış insanlarız. Bunun tek yolu budur, başka türlü olamaz» derdi.

Fakülteadaki görevi, Kâmile hocanın hayatında en değerli bağlantısı idi. Pekçok rahatsızlıkları olmasına rağmen kendini ihmal eder fakat görevini aksatmazdı. Hasta olduğu günlerde dahi ilaç ve kuvvetli gıda ile kendini takviye ederek evden çıkıp fakültenin yolunu tutardı. Ufak tefek rahatsızlıklar için görevine geç gitmek veya gitmemek gibi fikirler onu çok üzer ve yapanları hiç affetmez ve onlara çok kızardı. Bu konuda hocamız

«Oğlum, bizler yetişkin hocalar olarak herkese örnek olmalıyız. İşimize zamanında gidişimizle, programlarımızı günü gününe uygulamakla, davranışlarımızla, giyim kuşamımızla, yememiz ve içmemizle, hülasa herşeyimizle büyüğünden enküçüğüne kadar hepsine örnek olmak mecburiyetindeyiz» derdi.

Prof. Dr. Kâmile Mutlu hanım evinde de çok titiz, düzenli ve tertipli bir ev hanımı idi. Evin temizliği ve eşyaların tertibi onun için çok önemli idi. Hele mutfak tertibinin değiştirilmesine hiç tahammülü olmazdı. Yemek yapmaktan çok zevk alırdı.

Her akşam yemek masasının düzenli ve zevkli hazırlanmasına çok önem verirdi. Çocuklarına küçük yaştan itibaren sofraya kaidelerini iyi öğrenmeleri için aşırı derecede itina gösterir, en ufak kusurlarına hiç müsamaha göstermez ve onları çok iyi yetiştirmek için bütün gayretini gösterirdi.

Prof. Dr. Kâmile Mutlu Amerikada, Philadelphia'daki Pensylvania Üniversitesinde çalıştığı 1959 - 1962 yıllarında buradaki prensiplerini hiç bozmadı. Hatta kendini zorlayarak aşırı bir çalışma temposu uyguluyordu. Hem evini hemde görevini hiç ihmal etmeden ama büyük gayret göstererek yürütüyordu. Birlikte çalıştığı doktorlar onun çalışma azmine ve gay-

retlerine hayran oluyorlar ve çok takdir ediyorlardı. Anatomi enstitüsünde gündüz çalışmaları tamamladıktan sonra diğer fakültelerdeki gece konferanslarına da katılmayı ihmal etmezdi. Bilimsel çalışmalarının dışında sosyal faaliyetler de çok meşgul ediyordu kendisini. Müziği çok severdi. Philadelphia flarmoni orkestrasının konserlerini çok severdi ve kaçırmazdı. Çok aktif geçen bir haftanın yorgunluğunu gidermek için hafta sonlarını kısa seyahatler ve ziyaretlerle değerlendirirdi.

Amerikadan ayrılacakları gün, Philadelphia hava alanına 50 ye yakın üniversite hocası eşleri ile birlikte kendilerini uğurlamak için gelmişlerdi. Bu inanılmayacak bir olaydı. Çiçek ve hediye pakeltilerini koyacak yer bulamıyorlardı. Amerikada yolcu uğurlamak adeti pek sade olmaktadır, fakat o gün hayret edilecek bir sevgi gösterisi oluyordu. Prof. Dr. Kâmile Mutlu hanımın çalıştığı üniversite Pennsylvania ile eşi Prof. Dr. Nusret Mutlu'nun çalıştığı Jafferson Tıp Fakültesi ile Naval Hospital hocaları ve doktorları sanki hepsi orada idi.

Prof. Dr. Kâmile Mutlu çalıştığı üniversite muhitinde çok sevilmişti. Herkesi şaşırtan ve hayretler içinde bırakan çok derin bilgisi ile, fedakarca çalışması ve buluşları ile etrafını kendisine bağlamış ve hayran bırakmıştı. Kendilerini uğurlamak için gelen üniversite hocaları hislerini şöyle ifade ediyorlardı.

«Bizler işimize çok bağlı insanlarız, vaktimiz çok kıymetlidir. Yolcu olan dostlarımızı daima evden veya iş yerimizden iyi yolculuklar dileyerek uğurlarız. Hava alanlarına hiç gidemeyiz. Zaten bunu yapacak vaktimiz de olmaz. Fakat çok sevdiğimiz dostlarımız ve meslektaşlarımız çok değerli çalışmaları ile bizleri hayran bıraktılar ve bizi kalpten bağladılar. Bu çok değerli bilim sahibi insanları yani Dr. Mutlu'ları uğurlamak için herşeyi bırakıp buraya hava alanına geldik. Birbirimizden habersiz olarak buraya geldik. Hemen hemen bütün fakülte buradaydı. Hepimizi ayrı ayrı kalpten bağladıklarını burada daha iyi anlamış olduk» demişlerdi.

Prof. Dr. Kâmile Mutlu gittiği yabancı fakültelerde çok iyi intibalar yaratmıştı. Derin bilgisi, geniş kültürü, çok iyi bildiği yabancı dili ile girdiği her ortamda kendisini kabul ettirmiş ve insanlar üzerinde müsbet etkisini göstermiştir.

Bilimsel yeteneği ve gücü ile hanımefendiliği en üst seviyede bulunduran Prof. Dr. Kâmile Şevki Mutlu, vatan sevgisi ve üstün görev aşkını son nefesine kadar dilinden düşürmemiştir. Kendisini sevgi, saygı ve rahmetle anmak ve onu yaşatmak Türk Tıp Alemi ve bizler için kutsal bir görevdir.

Prof. Dr. Fikret MUTLU

KONFOKAL MİROSKOBU : IŞIK MİKROSKOBU TEKNOLOJİSİNDE SON ON YILDAKİ EN ÖNEMLİ GELİŞME

Alp Can*

Meral Tekelioğlu**

Çeşitli isimlerle anılan ve bu mikroskop tekniği, son birkaç dekat ele alındığında ışık mikroskobu teknolojisindeki en büyük yeniliktir (15). İsimlendirme konusunda genellikle bugüne kadar kesin bir görüş birliğine varılamamışsa da 1989 yılında Londra'da, Fizik Elektron Mikroskopi ve Analiz Grubu ile Kraliyet Mikroskopi Derneği'nin ortaklaşa düzenledikleri konferansta kullanılan terim «konfokal mikroskobu» dur (5).

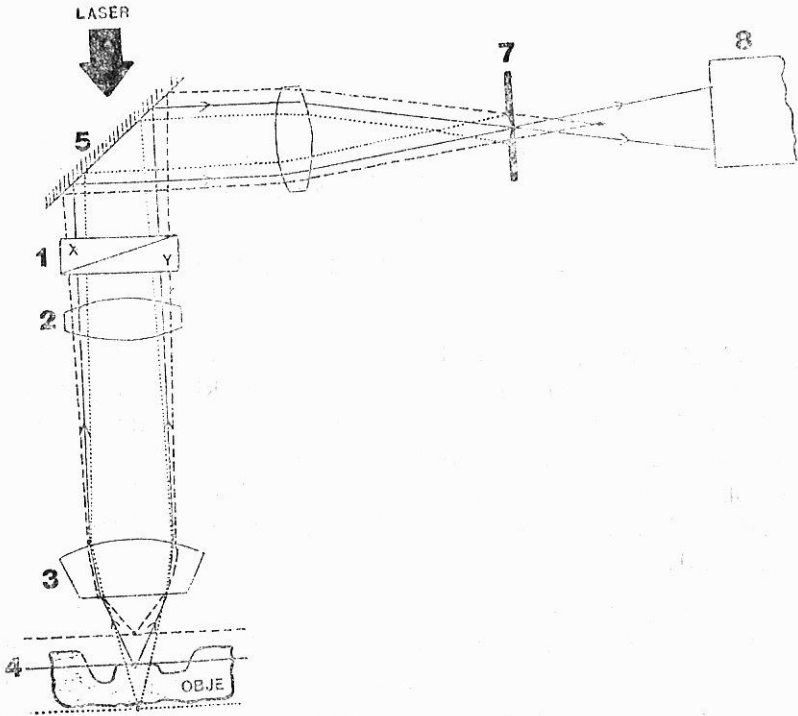
Bu mikroskobun son 3-4 yılda bu denli ilgi görmesinin altında yatan en önemli faktör ise, mikro yapılarda üç boyutlu (3D) görüntü oluşturulabilmesi ve incelenecek materyalin herhangi bir düzleminden gelen ışınları ayırıp bunun önünden veya arkasından gelenleri görüntü dışı bırakarak son derece yüksek kontrast ve rezolusyona sahip görüntü oluşturmasıdır (14). Gerçi üç boyutlu görüntü oluşumu konvansiyonel ışık mikroskobu tekniğinde de çok sayıda seri kesitin alınıp kamera lüsida çizimi v.s. gibi işlemler yardımıyla ampirik olarak yapılabilir, fakat bu işlem hem çok zaman alıcı hem de yeterince güvenilir değildir. Bazen de seri kesit alma gibi işlemler intrinsek veya bilimsel açıdan sakıncalı olabilir (arkeolojik parçalar veya fosiller gibi). Ayrıca, bu mikroskop, kesit alınması mümkün olmayacak veya kesit alındığında yapısı kısmen bozulacak kompleks veya frajil materyallerin non-invazif şekilde incelenmesine de olanak tanır (1).

GÖRÜNTÜ OLUŞTURMA PRENSİBİ VE AVANTAJLARI

Bu mikroskobu normal ışık mikroskobundan farklı kılan en önemli özellik, ışığın doku üzerinde istenilen düzlemde odaklanabilmesi ve

* A. Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Araştırma Görevlisi.

** A. Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Profesörü.



Şekil 1 : Konfokal mikroskobunun laser eşliğindeki çalışma prensibi şematik olarak gösterilmiştir. Yukarıdan gelen laser ışını, tarama ünitesi (1) ve tüp lensini (2) geçtikten sonra objektif (3) yardımıyla obje üzerinde belirli bir düzlemde odaklanır (4). Bu düzlemde yansıyan ışınlar yukarı doğru önce objektif lensini, sonra sırayla tüp lensini ve tarama ünitesini geçerek 45 derecelik bir ayna (5) ile, iğne deliği diyaframa (7) ve fotodedektöre (8) ulaştırılmak üzere yansıtılır. Konfokal modunda devrede bulunan iğne deliği diyafram, sadece laserin obje üzerindeki odaklanmış düzleminden gelen ışınları (düz çizgi) geçirir. Objede farklı planlardan gelen ışınlar ise (.....ve——) iğne deliği diyafram üzerindeki delikte odaklanmadığı için arkaya geçemezler. Böylece görüntü, sadece istenilen odak düzleminden gelen ışınların iğne deliği diyaframı geçerek fotodedektörü ulaştırılması ile oluşur. Görüntüyü bozacak odak dışı ışınlar ise diyafram tarafından engellenmiştir.

sadece bu düzlemdeki cisimlerden gelen görüntüleri yansıtmasıdır (Şekil 1). Bu düzlemin üstünde veya altında bulunan cisimlerin görüntüsü (fokus dışı) ise tamamen devre dışı bırakılmaktadır (13,14). Bu işlemin önemi şudur; konvansiyonel ışık mikroskobunda, görüntü kalitesini (rezolüsyon ve kontrast) etkileyen en önemli faktör, farklı

planlardan gelen çok sayıdaki görüntünün birarada izlenmesi sonucu istenmeyen bir flu görüntünün oluşmasıdır. Oysa konfokal mikroskopu bunu tamamiyle önlemektedir. Bu tekniğin tıbbi alanlardaki yararları aşağıda anlatılmıştır.

İstenmeyen cisimlerin görüntüsünün fokus dışı bırakılma mekanizması kısaca şöyledir; bu mikroskop ışık kaynağı olarak nokta ışık kaynağı kullanır (10), bu amaçla son birkaç yıldır ışık kaynağı olarak laser ışın demeti kullanılmaktadır. Nokta ışık kaynağı, incelenecek cisim üzerinde nokta şeklindeki alanı aydınlatarak son derece keskin bir görüntünün oluşmasına katkıda bulunur. Bir başka ve önemli özellik ise, gelen görüntünün çok sayıda küçük delik içeren bir diyaframdan geçmesidir. Bu diyafram, sadece odaklanan plandan gelen görüntüyü arkasına geçirmekte, bunun dışındaki istenmeyen görüntüleri ise geçirmemektedir (3,15). İşte temelde bu iki özellik yardımıyla konfokal mikroskopu, çok yüksek rezolüsyona (lateral düzlemede 0.2 mikron, uzaysal düzlemede 0.4 mikron) ve kontrasta sahip görüntü oluşturur.

Bir başka avantajı, yukarıdaki özellikleri yardımıyla dokuyu uzaysal düzlemede de inceleme olanağı sağlamasıdır. Böylece, klasik ışık mikroskopunda incelenen doku kesitlerinin yaklaşık 100 katı (500 mikron) kalınlığındaki dokular incelenebilir. Bu avantajı, özellikle floresan modunda çalışırken çok önem kazanır. Zira kalın bir doku parçasında, farklı planlardan gelen zayıf floresan işaretli objelerin de görüntüsü alınabilir (3,10,14). Bu işlem bugün klâsik ışık mikroskopunun sağlayamadığı son derece gereksinim duyulan bir özelliktir.

Son beş yılda, daha iyiye doğru yapılan çalışmalar sonucunda bugün, artık konfokal mikroskop mükemmele hemen hemen ulaşmış durumdadır. Günümüzde kullanılan mikroskoplarda ışık kaynağı, çok ince ve düz bir ışık olan laser (light amplification by stimulated emission of radiation)'dir. Böylece objenin noktasal aydınlatılması sağlanır. Bir başka üstünlük tarama ünitesidir. Yani görüntü, laserin objeyi nokta nokta taramasıyla oluşur ki, bu da üç boyut oluşumundaki önemli farktörlerden biridir. Bu tarama işlemi insan gözünün bir simülasyonu şeklinde cisimleri 7-10 derecelik açı farkıyla iki kez tarar ve daha sonra, bu iki açıdan gelen görüntüleri bilgisayar eşliğinde bir-

leştirerek önemli bir özelliğimiz olan «binoküler stereopsis» gibi son derece yüksek işlem kapasitesi gerektiren olayı başarmış olur (11).

Konfokal mikroskoba uygulanabilen çok yararlı bir başka özellik, bilgisayar eşliğinde kullanılabilir olmasıdır. Bunun en önemli avantajı, çok sayıdaki görüntüyü hafızada saklayabilme ve daha sonra saklanan tüm görüntülerin çağırılarak üç boyutlu görüntü oluşturmasıdır (15). Bu işlemlerle aynı zamanda kantitatif çalışma yapmak da mümkündür. Bir başka avantajı da istenirse kolayca, laseri ve iğneliği diyaframı devre dışı bırakarak non-konfokal modunda (klasik işık mikroskobu karşılığıdır) çalışma yapmaya olanak tanınmasıdır.

KULLANILDIğI TIP ALANLARI

Genel kapsamda, bu mikroskobu kullanarak çalışma yapılan tıp alanları; hücre biyolojisi, patoloji, immünoloji, genetik, nöroloji, farmakoloji ve toksikoloji, mikrobiyoloji ve biyofizik ile bu alanlara ilişkin çalışmaların yapıldığı konulardır.

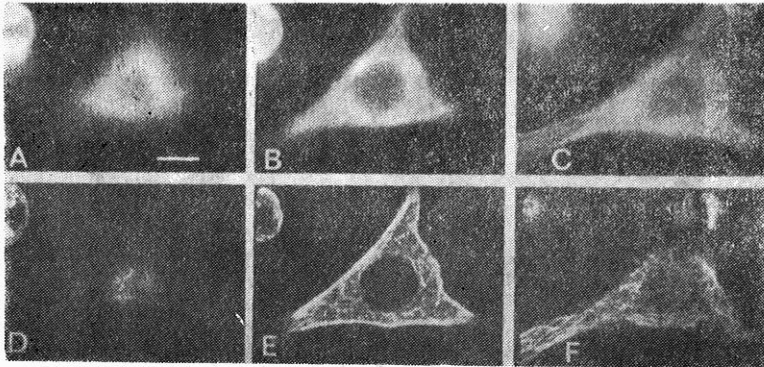
Günümüzde en çok kullanılan konfokal mikroskobu modu, floresan olanıdır (3,4). Bunun dışında, yansıtılan işık (reflected light) ile geçirilen işık (transmitted light) modunda da kullanım mümkündür (3,7). Tıbbi alana yönelik çalışmaların çoğunluğu, bir takım floresan (immün floresan veya doğal floresan) boyalar ile floresan modunda yapılmaktadır. Bunun yanında, transmitted işığın kullanıldığı çalışmaların başında kromozomlara yönelik kalitatif ve kantitatif çalışmalar gelmektedir.

şimdi, bir örnekle üç boyutlu görüntü oluşumunu açıklayalım : İnceleme yapılacak hücre, insan beyni kortikal nöronlarından biri olsun. Bu hücrenin boyutları yaklaşık 150x150x80 mikron kadardır. Gözlem sırasında rezolüsyon gücü 0.5 mikron olan bir objektif kullanıyoruz ve bu nedenle hücremizde, her kesit en fazla 0.5 mikron olacak şekilde bir dizi optik kesit olarak incelememizi yapıyoruz. Hücrenin düşey eksende tümünü inceleyebilmek için (80 mikron) toplam 160 adet görüntü topluyoruz. Topladığımız görüntüler mikroskoba bağlı bilgisayardaki basit bir program ile hafızada saklanıyor. Görüntü toplama işlemi bittiğinde tümünü hafızadan çağırıp üç boyutlu final görüntümüzü oluşturuyoruz.

Bu bölümde, bu mikroskop yardımıyla yapılmış bazı tipik çalışmalarından da örnekler vermek istiyoruz.

Bunlardan bir bölümü diagnostik patolojiye yönelik olanlardır. Bu alanda en çok çalışma, tümör hücreleri üzerinde olmuştur. Tümör hücrelerinin proliferasyonunu sağlayan anormal diferansiasyona neden olan onkogenler izlenerek bunlardaki translokasyon ve transkripsiyon anomalileri ortaya konmuştur. Tümör hücrelerine ilişkin, bir başka araştırma da tümörün invazyonu ve metastazına ilişkin döneme aittir. Son yıllarda bazı tümör türlerinde hücre çekirdek şekli ile tümörün invazyonu arasında bir ilişki olduğunu gösterilmiştir (6,12, 16). Örneğin lenf nodu metastazı olan bir meme kanser hücresi ile granülosa hücreli tümörlerde hücre şeklinde kantitatif bir takım değişimler gözlenmektedir. İşte bu değişimleri üç boyutlu ortaya koyması açısından konfokal mikroskopu seçilecek tek mikroskoptur. Böylece elde edilen bulgu ile tümör prognozu hakkında direkt bir ilişki saptanmış olur.

Konfokal mikroskopunun floresan işaretleyiciler ile birlikte kullanıldığı çalışmalar arasında, hücre bölünmesi sırasında özgün bir dizilim gösterdiği varsayılan mikrotubulinin ve mitoz iplikçiklerinin topografik şeklinin antitubulin antikorları ile işaretlenerek floresan yöntemlerle gösterilmesi (Şekil 2) (17), plazmasitom hücre kültürlerinde endoplazma retikulumunun hücre içi üç boyutlu dizilimi (8), nematod embriyonlarının blastosist safhasındaki pluripotent hücrele-

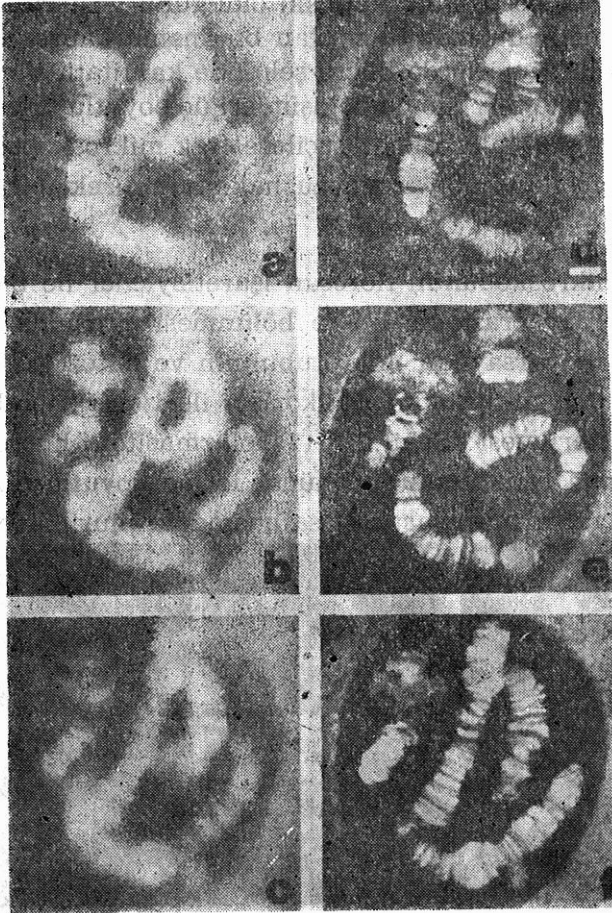


Şekil 2 : İmmün floresan yöntemiyle antitubulin antikorları ile işaretlenmiş HeLa hücrelerinin interfaz dönemindeki mikrotübül yapısı, konvansiyonel ışık (A-C) ve konfokal (D-F) mikroskopları ile gözlenmiştir. Konfokal görüntülerdeki yüksek kontrast ve fokus dışı görüntünün bulunmaması dikkati çekiyor. Beyaz çubuk = 10 mikron. (Kaynak No : 17)

rin bölünme mekanizmalarının incelenmesi (17), normal olarak endoplazma retikulumuna bağlı olan bir grup hücre içi proteinin hücre içi sitoplazmik dağılımı (9) gibi değerli çalışmalar vardır.

Genetik alanındaki çalışmalar, klasik ışık mikroskopunun çözüm gücünün üstünde olan kromozom üzerindeki enine bantların lokalizasyonunda kullanılmıştır (10) (Şekil 3).

Bir başka grup araştırmacı, insan polimorfonükleer lökosit kültürlerinde floresan konjuge antokorlar ile bu hücrelerin kemotaksi özelliğini sağlayan reseptörlerin identifikasyonunu ve bunların kemo-



Şekil 3 : «Chironomus thummi»den alınan politen kromozomlarının nonkonfokal (a-c) ve konfokal (d-f) floresan görüntüleri izlenmekte. Konfokal modundaki görüntülerdeki yüksek kontrast ve rezolüsyon belirgin olarak izleniyor. Optik kesitler 4 mikron aralıklarla hücre çekirdeği düzeyinden alınmıştır. Beyaz çubuk = 10 mikron. (Kaynak No : 10)

taksi sırasındaki davranışlarını hücre yüzeyinde üç boyutlu olarak göstermişlerdir (2).

Yukarıda sözü edilen çalışmalarda bulgular klasik ışık mikroskopu sonuçları ile kıyaslanarak, bunun sağlayamadığı yönler konfokal mikroskopu ile gösterilerek bu tekniğin üstünlüğü ortaya konmuştur.

SONUÇ

Konfokal mikroskopu, hücresel çalışmalarda kullanılan çok güçlü ve yeni bir araç olup konvansiyonel ışık mikroskopunun tüm modelleri ile uyumludur. Özel doku hazırlama tekniği gerektirmemesi yanında son derece kısa bir süre içinde canlı veya henüz alınmış bir dokuda inceleme yapma olanağı sağlar.

Teknolojinin son yeniliklerinin kısa süre içinde adapte edilebildiği bu mikroskop tipi, bu konuda yayımlanan makalelerin sayısındaki hızlı artıştan da anlaşılacağı gibi, gerek üç boyutlu görüntü, gerekse belli düzlemdeki görüntüyü çok net oluşturabilmesi açısından, biyolojik yapılarda bugüne kadar öne sürülen bazı hipotezlerde köklü değişikliklere neden olmaktadır.

Ülkemiz açısından değerlendirirsek, hücre araştırmalarını zor ve pahalı kılan doku hazırlama ve değerlendirme işlemlerini en az insan hatası ile minimuma indirmesi yönü ile bile konfokal mikroskopunu, kullanmamız gereken bir araç olarak görmekteyiz. Bu yöntem kullanılarak yapılacak çalışmaların bilimsel dayanağının diğer tekniklere kıyasla daha fazla olması da getireceği bir başka ve belki de daha önemli avantajdır. Rutin laboratuvar çalışmalarında olmasa bile yapılacak her türlü mikroskopik araştırmada, özellikle immünoloji, genetik, patoloji ve nörolojik bilimlerde başvurulması gerekli bir araçtır. Yapılan çalışmalar, bazı durumlarda konfokal mikroskopun geçirim ve tarama elektron mikroskopuna üstünlük sağladığını da göstermiştir.

ÖZET

Konvansiyonel ışık mikroskopu ile kıyaslandığında konfokal mikroskopu, özellikle ışık kaynağı olarak laserin kullanıldığı durumlarda ışık duyarlığında ve uzaysal düzlemdeki çözüm gücündeki artış ile ka-

rakterizedir. Bu özellikler, hücre ve dokulardaki ince yapıyı daha spesifik, hassas ve kesin şekliyle üç boyutlu olarak ortaya çıkarma ve değerlendirme olanağı tanır. Bu mikroskobun en önemli özelliklerinden birisi de fokus dışı görüntülerin, düzlem kesit alma özelliği ve iğne deliği diyafram yardımıyla final görüntüyü etkilemesini önlemesidir. Bu özellikleri ile bu mikroskobun klinik alanlardaki kullanım potansiyeli tartışılmış ve etkisinin son derece yararlı olduğu sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

Confocal Microscope :

Most Important Improvement On Light Microscopy In The Last Decade

Compared with conventional light microscopy (LM), confocal microscopy (CM) is characterized in part by increased light sensitivity and higher spatial resolution particularly in using the laser beam as a light source. These characteristics permit the detection and discrimination of minor structures in cells and tissues in three dimensions with a more specific, sensitive and accurate way. One of the most important feature of this microscope is to avoid the effects of out-of-focus images in the final image by means of object plane sectioning and pin-hole diaphragm. Potential clinical applications related to these characteristics of confocal microscopy are discussed and concluded that its clinical impact is obvious.

KAYNAKLAR

1. Baak JPA ve ark : Potential clinical uses of laser scan microscopy. *Appl Optics* 26 : 3414, 1987.
2. Bultmann B ve ark : Lateral diffusion of chemotactic peptide receptors within the cytoplasmic membrane of human PMNs demonstrated by Laser Scan Microscopy. *Adv Biosci* 66 : 47, 1987.
3. Cogswell CJ Sheppard CJR : Imaging using confocal brightfield techniques. *Inst Phys Conf Ser No* : 93, 633, 1989.

4. Dixon AJ : Principles and applications of confocal fluorescence microscopy. Inst Phys Conf Ser No : 98, 643, 1989.
5. Elder HY, Goodhew PJ : Three dimensional microscopy and confocal microscopy. In EMAG-MICRO 89., 1989, Eastern Press, sayfa : 609-642.
6. Epstein JI Berry SJ Eggleston JC : Nuclear roundness factor : A predictor of progression in untreated stage A2 prostate cancer. Cancer 54 : 1666, 1984.
7. Jorgens R Godecke U : The second generation LSM more than merely cosmetic correction. Mikro express : 31, 1989.
8. Koch GLE, Macer DRJ Smith MJ : Visualisation of the intact endoplasmic reticulum by immunofluorescence with antibodies to the major ER glycoprotein, endoplasmin. J Cell Sci 87 : 535, 1987.
9. Monro S Pelham HRB : A C-terminal signal prevents secretion of luminal ER proteins. Cell 48 : 899, 1987.
10. Nicoud M-R ve ark : 3-D Imaging of cells and Tissues Usin Confocal Laser Scanning Microscopy and Digital Processing. Eur J Cell Biol 47 : 234, 1988.
11. Pawley JB : The micro world has three dimensions and sometimes four. Inst phys Conf Ser No : 98, 609, 1989.
12. Sassen RCI Baak JPA : Morphometry in the differential diagnosis of granulosa-cell tumors of the ovary. Anal Quant Cytol Histol 8 : 245, 1986.
13. Shotton DM : The current renaissance in light microscopy. I. Dynamic studies of living cells by video enhanced contrast microscopy. Proc Royal Microscopical Soc 22 : 37, 1987.
14. Shotton D : The current Renaissance in Light Microscopy. II. Blur-Free Optical Sectioning of Biological Specimens by Confocal Scanning Fluorescence Microscopy. Proc Royal Microscopical Soc 25 : 289, 1988.
15. Siegel A Hellmuth T Seidel P Geist A : Generation of 3-D Images via Laser Scanning Microscopy. Eur J Cell Biol Scppl 25, Vol 48, 35, 1989.

16. Van der Linden HC Baak JPA Lindeman J Hermans J Meijer CJLM : Morphometry and breast cancer II. Characterisation of breast cancer cells with high malignant potential in patients with spread to lymph nodes : Preliminary Results. *J Clin Pathol* 39 : 603, 1986.
17. White JG Amos WB Fordham M : An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *J Cell Biol* 105 : 41, 1987.

GERİLMİŞ POZİSYONDAKİ SIÇAN İSKELET KASININ İNCE YAPI DÜZEYİNDE İNCELENMESİ

Yüksel Saran*

Canan Akbay*

Gengiz Güven**

Nurşen Sayın**

İskelet kası lifinin gerilmesinin, kas ve sarkomerin uzunluğunda ve sayısında artmaya, Z bandının genişlemesine, band düzeninde bozulmaya neden olduğu ileri sürülmüştür (15,17). Gerilmiş pozisyon-
daki kaslarda uygulanan immobilizasyon deneyleri, kas tonusunun arttırılması ve kasın periyodik aralıklarla çekilip bırakılması gibi deney-
lerin kas dokusunun yapısında farklı etkilere neden olduğu açıklan-
mıştır (2,14). Bu çalışma, çizgili kas lifinin farklı sürelerde gerilmeye
bağlı olarak ince yapı düzeyindeki değişimleri incelemek amacıyla
ele alındı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney için ortalama 200 gr. ağırlığında 14 erkek sıçan kullanıldı. Dört tanesi kontrol gurup olarak incelendi. Deneysel olanlar 2 gruba ayrıldı. Birinci gurupta 5 hayvanın sağ m. soleus'u ligatüre edilerek 2 hafta süreyle, haftada üçer defa, 15'er dakika; 2. gurupta ise diğer 5 hayvanın sağ m. soleus'u aynı şekilde, 4 hafta, üçer defa 30'ar da-
kika gerilerek sabitleştirildi (8,12). Lokal anestezi altında, operasyon sırasında ezilmemelerine özen gösterilerek, kontrol ve deney hayvan-
larının sağ m. soleus'undan yaklaşık 5 mm. en ve 10 mm. boyunda parçalar alındı.

Elektron mikroskobu için kesitlerin hazırlanması : Ön tespit işle-
mi 0.1 M, 7.2 pH'daki fosfat tamponunda hazırlanan % 2.5'luk gluta-
raldehit karışımında 2 saat süreyle, +4 derecede yapıldı. Küçültülen
doku parçaları +4 derecede, 3 saat, 0.1 M fosfat tamponda yıkandı. Son tespit 0.2 M fosfat tamponla % 1'lik hazırlanan osmiyumtetroksit
karışımında +4 derecede 1 saat süreyle yapıldı. Uranilasetatla karan-
lık odada 1 saat blok boyaması yapıldıktan sonra derecesi artan alkol-
lerden geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Propilen oksit-
ten geçirilen doku parçacıkları, içinde araldit-M bulunan kapsüllere
gömüldü. Bloklardan, LKB Reichert UHM ultramikrotomunda, önce

* A. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Profesörü

** A. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Yardımcı Doçenti

yarı ince kesitler alınıp toluidin mavisi ile boyandı. Sonra gerekli dokü bölümleri saptanarak ince kesitler alındı. Kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat boyaması yapıldıktan sonra Zeiss 10 A elektron mikroskopunda incelendi ve mikrofotografları çekildi.

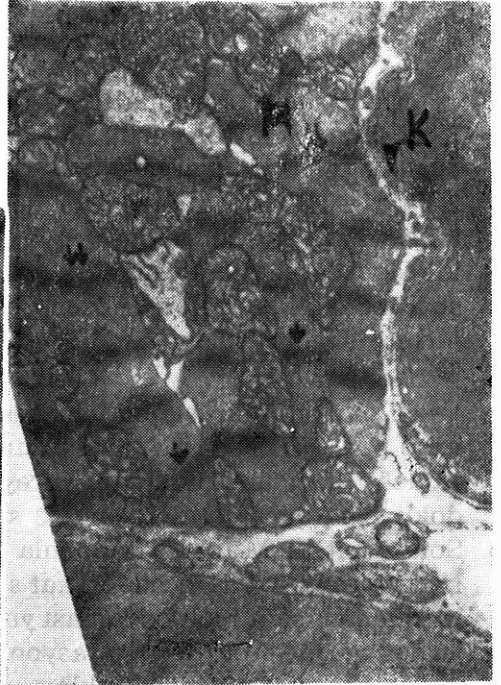
BULGULAR

Kontrol gurubu hayvanlardan elde edilen kas lifinin uzunlamasına geçmiş kesitleri incelendiğinde, miyofibrillerin düzenli bir yapı gösterdiği gözlemlendi. Seyrek olarak Z-bandı düzeninde çok hafif kaymaya rastlanabildi. Mitokondriyonlar, miyofibriller arasında tek sıra halinde düzenli olarak sıralanmışlardı. Miyofibril genişliğinin genelde birbirine yakın düzeyde olduğu gözlemlendi (Resim : 1).

Birinci gurup deney hayvanlarından alınan uzunlamasına geçmiş kesitlerde miyofibril düzeninde, özellikle Z-bandı düzeyinde, bozulmalar gözlemlendi. Aynı düzeyde olması gereken Z-bandı düzeninde kaymalar saptandı. Z-bandı yoğunluğu daha kalınlaşmıştı ve bazıları eğik pozisyondaydı (Resim : 2,3). M bandı düzeninde de bozulmalara rast-



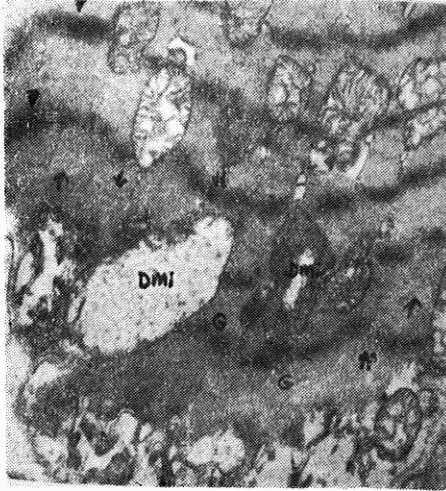
Resim 1 : Kontrol gurubu sıçan iskelet kasının uzunlamasına geçmiş kesiti. M : miyofibril, Z : Z-bandı, Mi : mitokondriyon X 8000



Resim 2 : Birinci deney gurubuna ait sıçan iskelet kası kesiti. Z-bandı düzeninde kaymalar (ok) ve eğrilik (çift ok) gözleniyor. K : kapiller, Mi : mitokondriyon X 8000

landı (Resim : 3). Bu değişmeler hem sarkolemma altında hem de kas lifinin iç kısımlarında gözlemlendi. Yer yer Z-membranına komşu gruplar halinde glikojen granüllerine ve dejeneratif mitokondriyon yapılarına rastlandı (Resim : 3).

İkinci grup deney hayvanlarından elde edilen kas liflerinde Z-bandı değişiklikleri daha belirgin olarak gözlemlendi. Komşu miyofibrillerde Z-bandı düzeyinde kaymalar daha sık ve belirgindiler. Sarkomer uzunluğu her iki grupta da kontrollere oranla fark göstermedi. Ancak bazı miyofibrillerde yer yer kopma olasılığına bağlı, sarkomer uzunluğunun arttığı alanlara rastlandı (Resim : 4). Z-bandı düzeyin-



Resim 3 : Bir önceki gruptan daha kuvvetli büyütme ile iskelet kası kesiti. Z bandında eğrilik (çift ok) ve Z bandı yoğunluğunda kalınlaşma (ok başı), M bandı düzeninde bozulmalar (ok) seçiliyor. G : glikojen granülleri, Mi : mitokondriyon, DMI : dejeneratif mitokondriyon X 12000



Resim 4 : İkinci deney gurubu sıçan iskelet kası kesiti. Z-bandı düzeyinde kaymalar (ok), gerilmeye bağlı miyofilamentlerdeki kopma olasılığındaki alan (ML) ve buna bağlı boyu uzamış sarkomer (S) seçiliyor. Zf : Kayan Z-bantları arasındaki bağlayıcı filamentler. X 11000

de kayma olduğu gözlenen bölgelerde Z-bandları arasında uzanan ve bunları birbirine bağlayan filamentlere rastlandı (Resim : 4). Bazı kesitlerde miyofibril yapısında daha ileri derecede bozulmalar görüldü. Bunlar Z-membranı hizasında miyofilamentlerin kopması ve sarkomer içinde parçalanmış miyofilamentlerin yerinde açık alanların bu-

lunması şeklindeydi (Resim : 5). Bu evrede lizozomal yapılara oldukça sık rastlandı (Resim : 5). Her iki deney gurubunda kas liflerine komşu kapillerlerin yapısı normal görünümdeydi (Resim : 5).



Resim 5 : İkinci deney gurubu sıçan iskelet kası kesiti. Z membranı seviyesinden ayrılan miyofilamentler (ok), sarkomer içinde parçalanmış miyofilamentlerin yerindeki açık alanlar (çift ok) gözleniyor. Li : lizozom, K : kapiller. X 13000

TARTIŞMA

Farklı kuvvetlerde gerilme stimulusuna bağlı olarak, iskelet kası liflerinin yapı değişmelerini inceleyen araştırmalarda farklı bulgular öne sürülmüştür (1,2,14,15,16). Kas lifi gerilmesinin kas boyunun uzaması ile sonuçlandığı görülmektedir (1,2,16,17). Buna karşın kas uzunluğu immobilizasyona bağlı olarak azalabilmektedir (8). Denervasyon-

dan sonra kasın pasif olarak gerilmesi atrofiyi önleyebilmekte yada geciktirebilmektedir (7). Ekzantrik kontraksiyon çalışmalarında ileri derecede kuvvet uygulanarak kas gerilmesi deneyleri ele alınmıştır (5,10). Bu deneyler, kontraksiyon sırasında kasın uzamasıyla karakterizedir. Bu tür çalışmada mekanik etkiye bağlı olarak miyofibriler materyelde düzen bozukluğu meydana gelmektedir (4,5,6,10). Bunun yanısıra farklı Z-bandı değişiklikleri, Z-bandı yoğunluğunun genişlemesi, Z-bandı materyelinde ve sarkomerde genişleme gözlenmektedir. Kas dokusundaki aşırı gerilmeye bağlı aktin ve miyozin filamentlerinin birbirinden ayrılmış olabileceği öne sürülmektedir. İnce filamentler eski pozisyonuna dönemediğinden sarkomerde yapı bozukluğu gözlenir (4,6). İntermediyer filamentlerin mekanik olarak yırtılması, Z çizgisinin aynı düzeyde olmasını bozacağından, sarkomerin yapı bütünlüğü kaybolur. Ancak uzun periyodik zaman içinde sarkomerler rejeneratif aktivite gösterebilirler (4). Çok sayıdaki glikojen partikülleri ve ribozomlar protein sentezinde artma olduğunu açıklar. Nitekim immünohistolojik tekniklerle desmin sentezinin arttığı ve hücre iskeleti sisteminin reorganize olduğu saptanmıştır (6). Desmin filamentleri sarkomerin tamiri için mekanik tamamlayıcı olarak etkindir. Bunun yanısıra lizozomal aktivitenin arttığı gözlenir. Bu gözlemler sarkomerogenezisin varlığını açıklar (9,11,13). Z-bandı anomalileri iskelet kası yanısıra kalb kasında da gözlenmiştir (3,12). Her iki kas türünde gözlenen değişikliklerin esas olarak Z-bandı düzeyinde görülmesinin biyolojik nedeni tam açıklanamamaktadır.

Bu çalışmada her iki grupta deney hayvanı kas liflerinin kesitlerinde farklı derecede olmak üzere Z-bandı anomalileri gözlemlendi. İkinci grupta sarkomer yapısı ve Z-bandı düzeyindeki düzensizlikler daha sık ve belirgindi. Bazı miyofibrillerde miyofilamentlerin mekanik olarak yırtılma olasılığına bağlı sarkomer uzunluğunun arttığı alanlara rastlandı. Z-membranına komşu glikojen ve ribozomal guruplar gözlemlendi. Bu gözlemler Friden'in (4) çalışmasındaki bulgulara uymaktadır. Sözü geçen çalışmada immünohistolojik tekniklerle sarkomerogenezis sonucunda reorganizasyon olabileceği ileri sürülmektedir. Reorganizasyon oluşumunu kanıtlayabilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim olduğu kanısındayız.

ÖZET

Bu çalışmada 14 adet erkek sıçanın m. soleus'undan alınan kas liflerinin ince yapısı incelendi. Bunlardan 4 tanesi kontrol olarak ele alındı. Deney gurubunda olan 10 tanesinde ise kas lifleri 15 ve 30'ar gün süreyle belirli yönde gerilmeye tabi tutuldu. Kontrollerden alınan kas liflerinde miyofibrillerin band düzeninin iyi korunmuş olduğu gözlemlendi. Deney guruplarında ise miyofibril düzeninde ve yapısında değişimler saptandı. Bunlar Z-bandında eğrilik, Komşu miyofibrillere oranla kayma ve sarkomer kalınlığında farklılık, Z-bandı genişlemeleri, bol ribozom ve glikojen granülleri olarak belirlendi. Sonuç olarak, kas dokusuna uygulanan mekanik etkiye bağlı aşırı gerilmenin ince yapıda belirgin değişimlere neden olabileceği kanısına varıldı.

SUMMARY

Ultrastructural Changes of Stretch-Induced Skeletal Muscle

The fine structure of muscle fibres from m. Soleus of 14 rats was investigated. Four individuals constituted nonstretched controls while 10 subject participated in 4 and 8 weeks muscular stretching program. Specimens from the control showed a well-preserved, regular myofibrillar band pattern while changes in the myofibrillar architecture were found in specimens taken after the experimental group. These changes consisted of Z-band alterations, Z-band being out of register, Z-band density extensions. Just beneath the Z-membran abundant glycogen particles and ribosomes were observed. In second experimental group, muscle fibres were predominantly affected. Contrary to the controls the experimental individuals showed a greater variation in sarcomer structure and lengths. It is concluded that muscular work of high tension can induce fine-structural alterations.

KAYNAKLAR

1. Ashmore CR Summers PJ : Stretch-induced growth in chicken wing muscles : myofibrillar proliferation, Am J Physiol 51 : 93-97, 1981.
2. Barnett JG Holly RG : Stretch-induced growth in chicken wing muscles : biochemical and morphological characterization, Am J Physiol 239 : 38-46, 1980.

3. Bishop SP Cole CR : Ultrastructural changes in canine myocardium with right ventricular hypertrophy and congestive heart failure, *Lab Invest* 20 : 219-229, 1969.
4. Friden J Sjöström M Ekblom B : A morphological study of delayed muscle soreness, *Experientia* 37 : 506-507, 1981.
5. Friden J Spöström M Ekblom B : Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man, *Int J Sports Med* 4 : 170-176, 1983.
6. Friden J Kjorell U Thornell L : Delayed muscle soreness and cytoskeletal alterations. An immunocytological study in man, *Int J Sports Med* 4 : 177-183, 1983.
7. Goldspink G Tabary C Tardieu C Tardieu G : The effect of denervation on the adaptation of sarcomere number and muscle extensibility to the functional length of the muscle, *J Physiol* 236 : 733-742, 1974.
8. Hayat A Tardieu C Tabary JC Tabary C : Effects of denervation on the reduction of sarcomere number in cat soleus muscle immobilized in shortened position during seven days, *J Physiol* 74 : 563-567, 1978.
9. Kelly DE : Myofibrillogenesis and Z-band differentiation, *Anat Rec* 163 : 403-426, 1968.
10. Komi PV : Relationship between muscle tension, EMG and velocity of contraction under concentric and eccentric work, *Electromyography and Clinical Neurophysiology*, 1 : 591-606, 1973.
11. Legato M : Sarcomerogenesis in human myocardium, *J Mol Cell cardiol*, 1 : 425-437, 1970.
12. Rowe RWD Morton DJ Weidemann JF : Irregular Z-bands occurring in rat soleus muscles, *J Ultrastruct Res* 36 : 205-210, 1971
13. Schmalbruch HZ : Noniusperioden und langenzwachstum der guergestreiften muskel faster, *Z Mikrosk Anat Forsch* 79 : 493-507, 1968.

14. Tabary JC ve ark : Physiological and structural changes in the cat's soleus, muscle due to immobilization at different lengths by plaster casts, J Physiol 224 : 231-244, 1972.
15. Tardieu C Tabary JC Tabary C : Composition of the sarcomere number adaptation in young and adult animal, J Physiol 73 : 1045-1055, 1977.
16. Williams PE Goldspink G : The effect of immobilization on the longitudinal growth of striated muscle fibres, J Anat 116 : 45-55, 1973.
17. Williams PE Goldspink G : Changes in sarcomere length and physiological properties in immobilized muscle, J Anat 127 : 459-468, 1978.

RETİKÜLER HÜCRELERİN METALOFİLİK BİR YÖNTEMLE (ÇİO) İNCELEMESİ : IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBU DÜZEYİNDE ÇALIŞMA

Atila Dağdeviren**

Üiken Örs*

Dalak, lenf düğümü gibi periferik lenfoid organlar histolojik olarak büyük ölçüde bölmelenme (kompartmantalizasyon) gösterirler (4,16,22). Her bölmenin kendine özgü bir lenfoid ve nonlenfoid hücre içeriği vardır. Son yıllarda tanımlanan nonlenfoid yardımcı hücre grubunun bağışıklık sisteminde önemli rolleri üstlendiklerine dair pek çok bulgu elde edilmiştir (23,31,36). Lenfoid dokularda bugüne kadar tanımlanan başlıca yardımcı (nonlenfoid) hücreler şunlardır :

- * Fibroblastik retiküler hücreler,
- * Folliküler dentritik hücreler (dentritik retiküler h.ler)
- * Interdigitating hücreler ve
- * Makrofajlar.

Makrofajlar da kendi içinde doku makrofajları (histiyositik retiküler hücreler), sinus makrofajları (subkapsüler ve trabeküler sinüslerde yerleşik makrofajlar), medulla makrofajları, marginal bölge makrofajları gibi alt gruplara ayrılmışlardır (12). Histiyositik retiküler hücreler olarak da adlandırılan doku makrofajlarının, lenf folliküllerinde yerleşmiş olanları ise özel olarak «tingible body» (boyanabilen csiim) makrofajları olarak adlandırılmışlardır.

Bu hücrelerin enzim histokimyasal, immunohistokimyasal özelliklerini ve ince yapılarını belirlemek amacıyla sayısız araştırma yapılmış ve yapılmaktadır (2,12,17,29,33,34,38,42). Folliküler dendritik hücre (FDH) ve interdigitating hücrelerin (IDH) tanımlanması için ışık ve elektron mikroskobu özel bulgularının çok sınırlı olması, araştırmacıların çabalarını bu hücreleri özel olarak işaretleyen immunohistokim-

* Hacettepe Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Profesörü.

** Hacettepe Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Yardımcı Doçenti.

yasal yöntemle geliştirmeye yöneltmiştir (29,34,38). Bugün bu hücreleri tanımlayan bir kaç monoklonal antikör elde edilmiş bulunmaktadır (34,38). Ancak bu yöntemler gerek teknik uygulamadaki güçlükler gerekse laboratuvar ve parasal koşulların sağlanma zorluğu ve yetersizliği nedeniyle bir çok laboratuvarında uygulanmaktan henüz uzaktır.

Bu nedenle daha önce benzer bir amaçla Crocker ve Hopkins (1984) tarafından parafin tekniğiyle uygulanmış olan çinko iyodit osmiyum tetroksit (ÇİO) yöntemiyle ilgili kaynak taraması yaptık (7). Gerek ışık mikroskobu düzeyinde daha ayrıntılı tanımlama olanağı vereceğini, gerekse elektron mikroskobu incelemelerine olanak tanıyacağını gözönüne alarak bu metalofilik yöntemin plastik gömme maddesi kullanılarak uygulanan bir varyasyonunu (Niebauer 1969) çeşitli lenfoid dokuları ilk olarak incelemek amacıyla uygun bir teknik olarak seçtik (32,35).

MATERYAL VE METOD

Çalışmada çeşitli insan ve sıçan lenfoid doku örnekleri kullanılmıştır.

İnsan lenf düğümü ve tonsilla palatina doku örnekleri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz ve Genel Cerrahi Anabilim Dallarınca gerçekleştirilen ameliyatlardan elde edilen ameliyat materyalleri arasında patoloji göstermeyen dokulardan izin verilen ölçülerde sağlanmıştır. Hayvan doku örnekleri için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında yetiştirilen Swiss albino sıçanlar cins ayrılmadan kullanılmıştır.

Ameliyatlardan ve sıçanlardan alınan taze doku örnekleri, daha önce Niebauer tarafından epidermisi incelemek amacıyla kullanılmış olan yöntemle tespit edilmiştir (35). Buna göre dokular metalik iyot, metalik çinko ve % 2'lik osmiyum tetroksit içeren solusyonda 24 saat karanlıkta bekletilerek hem tespit edilmiş hem de metalofilik boyanmaları sağlanmıştır. Daha sonra örnekler rutin elektron mikroskobu yöntemleriyle takip edilmiş ve araldit (CY 212)'e gömülerek bloklanmıştır.

Piramitomla alınan yarı ince kesitler, metilen mavisi-azur II boyasıyla ikinci kez boyanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir (30).

Aynı bloklardan ultra mikrotomla alınan 600 A'luk ince kesitler boyasız ya da Sato'nun tanımladığı yöntemle göre kontrastlanarak Karl Zeiss 9S2 elektron mikroskobunda incelenmiş ve resimleri çekilmiştir

(40). Yarı ince kesitlerin resimlerini elde etmek için Zeiss fotomikroskop III kullanılmıştır.

Kontrol grubu olarak, aynı doku örnekleri yalnızca osmiyum tetroksit ile 24 saat karanlıkta bekletilerek tespit edilmiş ve yukarıda belirtilen rutin yöntemlerle izlenerek, kesitleri alınmış ve incelenmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda çinko iyodit-osmiyum tetroksit (ÇİO) yöntemiyle izlenen tüm doku örneklerinde ÇİO (+) reaksiyon veren hücrelerin varlığı saptanmıştır. Kontrol grubunun incelenmelerinde ise pozitif reaksiyona rastlanmamıştır.

İnsan tonsilla palatinasından alınan yarı ince kesitler küçük büyütmelelerde incelendiğinde, organ içindeki dağılımları değişmekle birlikte genel olarak organın tüm bölümlerinde izlenen ÇİO (+) hücre uzatısı ağı dikkati çekmiştir. ÇİO (+) hücrelerin yapılarını daha ayrıntılı gözleyebilmek için kesitler metilen mavisi-azur II zıt boyasıyla boyandıktan sonra daha büyük büyütmelelerde incelendiğinde, ÇİO (+) boyanan başlıca iki grup hücre olduğu anlaşılmıştır. Bunlardan birincisi, bir ya da iki çekirdekçikli, yuvarlak-oval ince sitoplazmik uzantılarıyla tanınan dendritik retiküler hücrelerdir. Zıt boya ile boyanan lenfositler, bu hücrelerin ÇİO (+) ince sitoplazmik uzantıları arasında tek tek ya da gruplar halinde yuvalanmış olarak izlenmişlerdir. İkinci grup ÇİO (+) hücreleri ise tingible body makrofajları (TBM) ve diğer makrofajlar oluşturmaktadır. Sitoplazmaları geniş ve heterofajik vakuollerle dolu olarak gözlenen ve yine sitoplazmik uzantıları olan TBM,ler kolaylıkla ayırt edilmişlerdir. Fagosite edilmiş lenfositlere ait kromatin artıklarının zıt boya ile boyanmış olması bu hücrelerin diğer makrofajlardan ayrılmalarını sağlamıştır.

İnsan ve sıçan lenf düğümü kesitlerinin incelenmesinde, bu iki hücre grubunun yine ÇİO (+) boyandıkları belirlenmiştir. Tüm periferik lenfoid doku örneklerinde izlenen DRH ve TBM'ler aynı yapısal özellikleri göstermektedirler. Ek olarak sıçan lenf düğümlerinde, DRH uzantılarının oluşturduğu ağsı çatı ve merkezde yerleşik TBM'lerin varlığı sekonder folliküllerin çok kolay tanımlanmasını sağlamıştır.

Lenf düğümlelerinde derin kortekste (parakorteks) izlenen yüksek endotelli venül (YEV) duvarlarında ya da bu damarlara komşu ÇİO (+) hücreler ve uzantıları dikkati çekmiştir. Medulla makrofajları, sinüs makrofajları ve subkapsüller bölge (marjinal zon) makrofajları da yine (ÇİO pozitif olarak boyanmaktadır. Bu makrofajların bazılarının sitoplazmalarında TBM'lerinde olduğu gibi boyanmış kromatin artıkları içeren heterofajik vakuollerin bulunduğu görülmüştür.

Elektron mikroskobu düzeyinde yaptığımız ince yapı incelemelerinde, sekonder folliküllerde lenfosit halkasını oluşturan küçük lenfositlerin arasında ÇİO (+) sitoplazmik uzantılarıyla tanınan DRH'lerin varlığı saptanmıştır. Bu hücrelerin retiküler liflerle komşuluğu dikkati çekmiştir. Tipik makrofaj ince yapı özelliklerini gösteren geniş sitoplazmalı hücrelerin de yine komşu lenfositlerden çarpıcı biçimde ÇİO (+) olmalarıyla ayrıldıkları belirlenmiştir. Büyük büyütmelerdeki ince yapı gözlemlerimiz ÇİO (+) boyanmanın hücrenin tüm zar yapılarında gerçekleştiğini ortaya koymuştur.

TARTIŞMA

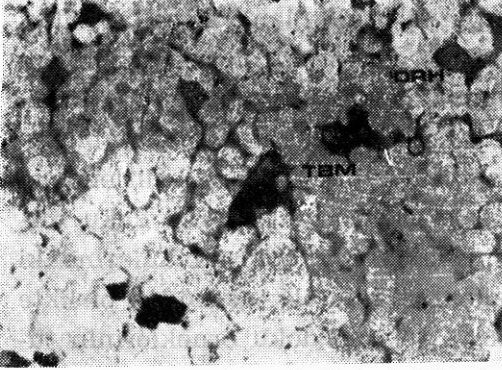
1968'de folliküler dendritik hücrelerin (Nossal ve ark.),1970'te interdigitating hücrelerin (Veldman) tanımlanmasıyla, son yirmi yılda lenfoid doku retiküler hücreleri yoğun olarak araştırma alanına girmiştir (37,43). Başlangıçta çok sınırlı olan bu hücrelerle ilgili bilgiler giderek çoğalmış, enzim histokimyası tekniklerinin yanında immunohistokimyasal yöntemler de kullanılarak bu hücrelerin antijenik yapıları belirlenmiş ve işlevlerine ait pek çok ipucu elde edilmiştir (4,5,15,18,19,23,27,40,42). Gerek ışık gerekse elektron mikroskobu düzeyinde bu hücreleri tanımlamaya yardımcı kriterler çok sınırlı olduğundan, bu hücreleri tanımlamak için özel yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır (3,6,20,21,44). Retiküler hücre tiplerini ayırt etmek için ilk başvurulan otoradyografik yöntemlerden sonra bir grup araştırmacı bu hücrelerin enzim histokimyasal özelliklerini bildirmişlerdir (2,33). Diğer bir grup araştırmacı ise çabalarını immunohistokimyasal alanda yoğunlaştırmış ve FDH ile IDH'leri tanımlayan monoklonal antikolar elde etmişlerdir (34,38). Son beş yılda FDH'lerin izolasyonu da gerçekleştirilerek konuyla ilgili daha ayrıntılı bilgiler elde edilmesi sağ-

lanmıştır (29). Retiküler hücrelerin tanımlanmasının yanında işlevleri ve kökenlerinin belirlenebilmesi amacıyla da kullanılan tüm bu yöntemler teknik ve parasal güçlükleri beraberinde getirdiğinden çalışmalar yalnızca bir kaç merkezde yürütülebilmektedir (4,11,12,17,23,29,34,38,42). Aynı amaçla uygulamada daha kolay ve ucuz olan metalofilik yöntemlerin de çeşitli araştırmacılar tarafından kullanıldığı dikkati çekmiştir (7,9,32). Daha önce Crocker ve Hopkins (1984) tarafından çeşitli lenfoid dokuları incelemek amacıyla kullanılan CİO (Çinko iyodit-osmiyum tetroksit) yönteminin bu hücrelerin ışık mikroskopu düzeyinde tanımlanmasına yardımcı olabileceği görüldüğünden, yöntemin değişik varyasyonları araştırılmış ve Niebauer ve arkadaşlarının (1969) epidermisteki Langerhans hücrelerini incelemek için uyguladıkları bir tanesi çeşitli lenfoid dokuları incelemek amacıyla seçilmiştir (7,35).

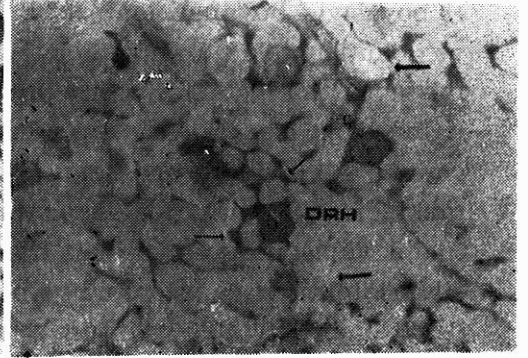
Çalışmada uyguladığımız plastik gömmeli metalofilik yöntem birkaç avantajı beraberinde getirmiştir. Bunlardan ilki, yarı ince kesitlerin daha ayrıntılı histolojik incelemelere olanak tanınmasıdır. Tespit sırasında ÇİO (+) boyanan retiküler hücreler ile metilen mavisi-azur II boyasıyla boyanan lenfositlerin birbirleriyle olan yapısal ilişkileri ve doku içindeki düzenlenmeleri kolayca ve çarpıcı olarak gözlenebilmiştir. Enzim histokimyası ve immunohistokimyasal yöntemlerin özelliğine bağlı olarak işaretlenen hücrelerin kolaylıkla tanımlanabilmesine karşın öteki normal doku elemanları aynı ayrıntıyla belirlenememektedir. Çalışmamızda incelemelerde ise normal lenfoid doku histolojik yapısı korunduğundan, organların çeşitli kompartmanlarındaki sitoarkitektürel yapı lenfoid ve nonlenfoid hücreler açısından birlikte değerlendirilebilmiştir. İnsan ve sıçan lenfoid doku örneklerinin tümünde ÇİO (+) hücre ağının yardımıyla lenf follikülleri kolayca tanımlanmış, korteks, derin korteks ve medulla ayrımı yapılmıştır. Lenfoid dokulara özgü damar yapılarının (yüksek endotelli post kapiller venüller vs.) tanımlanması ÇİO (+) hücrelerin de yardımıyla kolaylıkla yapılabilmektedir. Örneklerde ÇİO (+) olarak izlenen başlıca retiküler hücreler, FDH'ler, tingible body makrofajları ile diğer makrofaj grupları ve yüksek endotelli venüllerin duvarına komşu yerleşik pe-

risitler olarak belirlenmiştir. Sinus makrofajları dışında yaygın ve nodüler lenfoid dokuda yerleşik olarak izlenen bu retiküler hücrelerin hepsi ince, uzun sitoplazmik uzantılarının bulunmasıyla karakterizedir. Komşu hücrelerin uzantıları üç boyutlu bir ağ oluşturacak biçimde birbirleriyle bağlantı göstermektedir. Lenfositler bu uzantıların arasına yuvalanmış olarak görülmüşlerdir. Bu görünüm daha önceki araştırmacılar tarafından bildirilen FDH'lerin B lenfositlerin farklılaşması için uygun bir hücresel ortam oluşturdukları görüşünü desteklemektedir (16,21,27,31,36). Sitoplazmalarındaki fagosite edilmiş lenfositlere ait kromatin artıklarının boyanmaları ve kendilerinin de ÇİO (+) olmalarıyla çok kolay ayırt edilen lenf düğümlerinin öteki bölümlerinde de izlenmiş olması çalışmamız sonuçlarına ait özgün bir bulgudur.

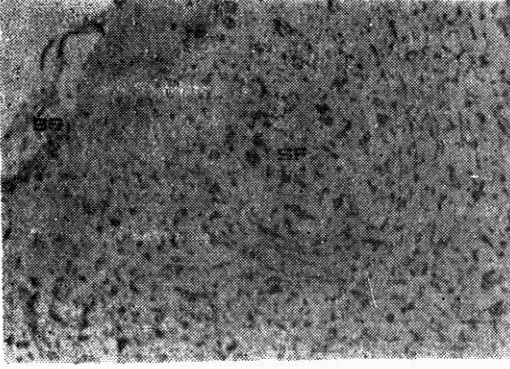
Plastik gömme maddesi kullanılmış olması aynı bloklardan ince kesit alınarak elektron mikroskobu incelemelerinin yapılmasına olanak vermiştir. Yöntemin diğer bir avantajı olan bu özellik sayesinde-



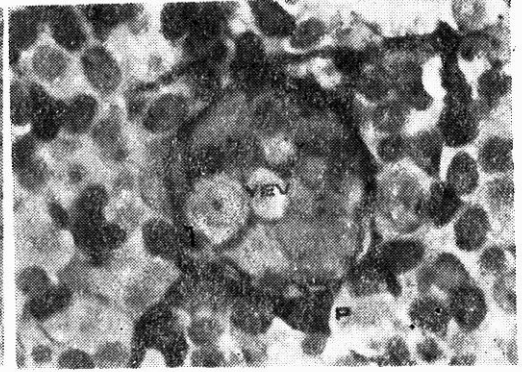
Şekil 1 : Sıçan submandibüler lenf düğümü kesiti. Çinko iyodit-osmiyum tetroksit (ÇİO) pozitif boyanmış dendritik retiküler hücreler (DRH) ve tingible body makrofajları (TBM) ve her iki hücrenin sitoplazmik uzantıları izlenmektedir. Boya : Metilen mavisi-azur II, X 640.



Şekil 2 : İnsan tonsilla palatinasından bir kesit. Dendritik retiküler hücrelerin uzantıları (tek ok) ile bunların lenfositlerle olan ilişkileri daha büyük büyütmede izlenmektedir. Aynı alanda ÇİO (—) retiküler hücrelerin (kalın ok) de bulunduğu dikkati çekmektedir. Boya : Metilen mavisi-azur II. X 1000.



Şekil 3 : Sıçan lenf düğümü korteksinden geçen bir kesitte, subkapsüler sinüs (SS) ve bir sekonder follikül (SF) izlenmektedir. Boya : Metilen mavisi-azur II, X 160.



Şekil 4 : Sıçan lenf düğümü derin korteksinden geçen bir kesitte bir yüksek endotelili venül (YEV) görülmektedir. P : Perisit. L : lenfosit. Boya : Metilen mavisi-azur II, X 1000.

de, FDH'lerin ve TMB'lerin ince yapı düzeyinde de ÇİO (+) boyandıkları belirlenmiştir. Bu, uygulanan metalofilik yöntemin elektron mikroskobu düzeyinde de ayırt edici bir teknik olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Rutin elektron mikroskobu yöntemleriyle yalnızca ince zar katlantılarından oluşan sitoplazmik uzantıları ve bunların üzerine çökmüş elektron yoğun madde varlığıyla tanımlanan FDH'ler, ÇİO yöntemiyle gerek hücre gövdelerinin gerekse uzantılarının açık bir biçimde pozitif boyanmış olması ayırt edilmelerini çok kolaylaştırmıştır.

Yöntemin üçüncü bir avantajı enzim ya da immunohistokimyasal tekniklerin aynı kesit üzerinde birlikte uygulanabileceğine dair bazı ipuçlarının bildirilmiş olmasıdır (2,7). Çeşitli araştırmacılar plastik kesitler üzerinde enzim histokimyası ya da immunohistokimyasal tekniklerin kullanılabildiğini bildirmişlerdir (2,14,29). Başka bir çalışmada metalofilik yöntemlerle enzim histokimyasal yöntemlerin birlikte

uygulanabileceği gösterilmiştir (14). Çalışmamızda yaptığımız hücre tanımlamaları başlıca bu hücrelerin yerleşimine bağlı olarak yapıldığından, ileride birleşik yöntemler kullanılarak yapılacak çalışmalar değerli bilgiler verebilecektir.

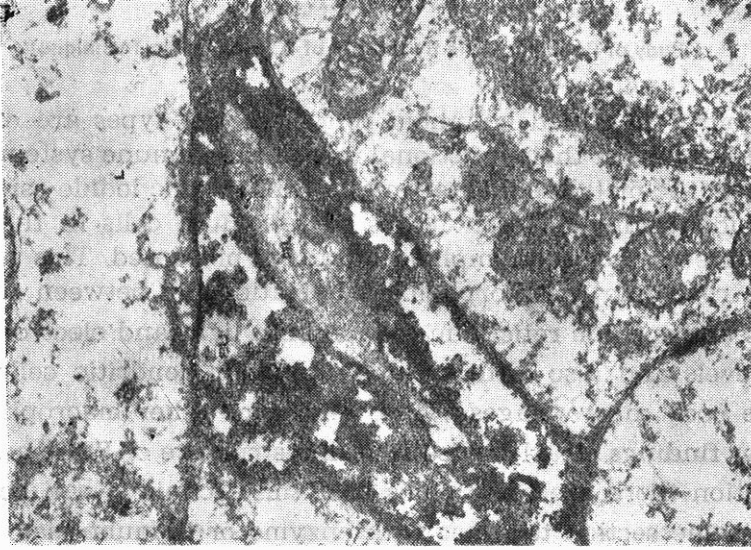
Rutin histoloji laboratuvarlarında uygulanması oldukça kolay ve göreceli olarak ucuz olan uyguladığımız yöntem, konuyla ilgili olarak gerçekleştirilecek ontogenetik çalışmalar ve özellikle histopatolojik değerlendirmeler için yaygın olarak kullanılmaya aday olabilir (1,2, 10,13,14,39,42,45).



Şekil 5 : Sıçan lenf düğümü kesitinde, medullada ÇİÖ (+), geniş sitoplazmalı ve uzantılı bir makrofajın ince yapısı. Çeşitli büyüklükte ve iç yapıda heterofajik vakuoller (HV) ve fagosite edilmek üzere sitoplazma içine alınmakta olan bir plazma hücresi (*) görülmektedir. Ç : Çekirdek, PH : Plazma hücresi. X 6500.



Şekil 6 - Ergin sıçan lenf düğümünde, sekonder follikül koronasından geçen kesitte, ÇİÖ (+) DRH sitoplazma uzantıları (---SU) arasında lenfositler (L) görülmektedir. (*) : DRH zar katlantısı, X 12000.



Sekil 7 : Sıçan lenf düğümünde, sekonder follikülde yerleşik bir DRH sitoplazmik uzantısında (SU), zar katlantısı ve arada retiküler lifler (RL) izlenmektedir.

L : Lenfosit, x 20000.

ÖZET

Yeni tanımlanan lenfoid retiküler hücre tipleri bağışıklık sistemindeki işlevsel rolleri nedeniyle büyük önem kazanmışlardır. Lenfoid dokuların normal sitoarkitektürü içinde retiküler hücre tiplerini ayırt eden bir metalofilik (ÇİO = Çinko iyodit-osmiyum tetroksit) plastik gömme tekniği sunulmuştur. Bu teknik ışık ve elektron mikroskopu düzeyinde lenfositler ve retiküler hücreler arasındaki yapısal ilişkiyi açığa çıkarmakta; folliküler dendritik hücreler (FDH), tingibile body makrofajları (TBM) ve diğer makrofaj gruplarının tanımlanmasını sağlamaktadır. Bulgularımız FDH ve TBM'lerin ince yapı özelliklerini ortaya koymaktadır. Ek olarak retiküler hücrelerin tanımlanması amacıyla kullanılan enzim histokimyası ve immunohistokimyasal yöntemlerin aynı kesitler üzerinde birlikte uygulanabileceğine dair ipuçları vardır. Sunulan teknik bu özellikleriyle ontogenetik ve histopatolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaya aday olup göreceli olarak kolay ve ucuz bir yöntemdir.

SUMMARY

(Study of Reticular Cells By the Aid of A Metallophilic Technique)

Recently identified lymphoid reticulum cell types are of special interest because of their functional role in the immune system. A plastic embedding metallophilic technique (ZIO = zinc iodide-osmium tetroxide) identifying different types of reticulum cells in the normal cytoarchitecture of the lymphoid organs is presented. This technique enables revealing the morphological relationship between the lymphocytes and specific reticulum cells in both light and electron microscopic levels and also differentiates follicular dendritic cells (FDC), tingible body macrophages (TBM) and some other macrophage groups. Our findings clearly reveal the fine structure of FDCs and TBMs. In addition there are some clues that this technique can be applied on the same section together with enzyme or immuno-histochemical methods. We hope that the presented technique will be used in many laboratories, being relatively easier and cheaper, in ontogenetic and histopathological studies.

KAYNAKLAR

1. Bailey RP Weiss L : Ontogeny of human fetal lymph nodes. *Am. J. Anat.* 142 : 15-28, 1975.
2. Beckstead JH : Evaluation of human lymph nodes using plastic sections and enzyme histochemistry. *Am. J. Clin. Pathol.* 80 : 131-139, 1983.
3. Belisle C Saint-Marie G : Tridimensional study of the deep cortex of rat lymph nodes. III : Morphology of the deep cortex unit. *Anat. Rec.* 199 : 61-72, 1981.
4. Van der Berg TK Döpp EA Breve JJP Kraal G Dijkstra CD : The heterogeneity of the reticulum of rat peripheral lymphoid organs identified by monoclonal antibodies. *Eur. J. Immunology* 19 : 1747-1756, 1989.
5. Brooks CF Moore M : Differential MHC class II expression on human peripheral blood monocytes and dendritic cells. *Immunology* 63 : 303-311, 1988.

6. Chen, LL Adams JC Steinman RM : Anatomy of germinal center in mouse spleen, with special referance to «follicular dendritic cell». *Cell Biology* 77 : 148-164, 1978.
7. Crocker J Hopkins M : Histiocytic and dendritic reticulum cells shown by a ZIO technique. *J. Clin. Pathol.* 37 : 620-627, 1984.
8. Curran RC Jones EL : The lymphoid follicles of the human palatine tonsil. *Clin. Exp. Immunol.* 31 :251-259, 1978.
9. Dağdeviren A : Lenfoid doku retiküler hücrelerinin çinko iyodit-osmiyum tetroksit yöntemiyle ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi. Uzmanlık tezi, H.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı, 1986.
10. Dijkstra CD Dopp EA : Ontogenetic development of T- and B-lymphocytes and nonlymphoid cells in the white pulp of rat spleen. *Cell Tissue Res.* 229 : 351-363, 1983.
11. Dijkstra CD Kamperdijk EWA Dopp EA : The ontogenetic development of the follicular dendritic cells. An ultrastructural study by means of intravenous injected HRP-anti-HRP complexes as marker. *Cell Tiss. Res.* 236 : 203-206, 1984.
12. Dijkstra CD Dopp EA Joling P Kraal G : The heterogeneity of mononuclear phagocytes in lymphoid organs : Distinct macrophage subpopulations in the rat recognized by ED1, ED2 and ED3. *Immunol.* 54 : 589-599, 1985.
13. Dijkstra CD van Rees EP Dopp EA : Ontogeny of rat macrophages and dendritic cell of the rat. *Adv. Exp. Med. Biol.* 237 : 731, 1988.
14. Eikelenboom P : Dendritic cells in the rat spleen follicles. *Cell Tiss. Res.* 190 : 79-87, 1978.
15. Friess A : Interdigitating reticular cells in the popliteal lymph nodes of rat : An ultrastructural and cytochemical study. *Cell Tiss. Res.* 170 : 43-60, 1976.
16. Fossum S Ford WL : The organization of cell populations within lymph nodes, life history and fuctional relationships. *Histopathology* 9 : 469-499, 1985.
17. Gerdes J Stein H : Complemet (C3) receptors on dendritic reticular cells of normal and malignant lymphoid tissue .*Clin. Exp. Immunol.* 48 : 348-352, 1982.
18. Gerdes J Stein H Mason DY Ziegler A : Human dendritic reticular cells of lymphoid follicles : Their antigenic profile and their identification as multinucleated giant cells. *Virch. Arch. (CP)* 42 : 161-172, 1983.

19. Grey HM : Mechanisms of antigen processing and presentation. Immunobiol. 168 : 202-212, 1984.
20. Groscurth P : Nonlymphatic cells in the lymph node cortex of the mouse. Path. Res. Pract. 169 : 212-234, 1980.
21. Heusermann UK Zurborn H Schroeder L Stutte HJ : The origin of the dendritic reticulum cell. Cell Tiss. Res. 209 : 279-294, 1980.
22. Humphrey JH : Microenviroments in haemapoietic and lymphoid differentiation Ciba Foundation-Symposium 84. Pitman. p : 236-335, 1981.
23. Humphrey JH Sundaram V : Origin and turnover of follicular dendritic cell and marginal zone macrophages in the mouse spleen. Adv. Exp. Med. Biol. 186 : 167-170, 1985.
24. Kamperdijk EWA Raaymakers EM de Leeuw JHS Hoefsmit ECM : Lymph node macrophages and reticulum-cells in immune response. Cell Tiss. Res. 192 : 1-23, 1978.
25. Katz IS Tamaki K Sachs DH : Epidermal lymphatic cells originating in bone marrow. Nature 282 : 324-327, 1979.
26. Katz DR : Differences in accessory-cell functions. Immunobiol. 168 : 134-140, 1984
27. Klaus GGB Humphrey JH Kunkl A Dongworth DW : The follicular dendritic cells : Its role in antigen presentation in the generation of immunological memory. Immunological Rev. 53 : 3-27, 1980.
28. Klinkert WEF la Badie JH Bowers WE : Accessory and stimulating properties of dendritic cells and macrophages isolated from various rat tissue. J. Exp. Med. 156 : 1, 1982.
29. Kosco MH Tew JG Szajal AK : Antigenic phenotyping of isolated and in situ rodent follicular dendritic cells (FDC) with emphasis on the ultrastructural demonstration of la antigens. Anat. Rec. 215 : 201-213, 1986.
30. Lewis PR Knight DP : Staining methods for sectioned material. Ed. ; Audrey M. Glauert. Elsevier/North Holland Inc., p : 27, 1977.
31. Mandel TE Phipps RP Abbot A Tew JG : The follicular dendritic cells : Long term antigen retention during immunity. Immunological Rev. 53 : 28, 1980.

32. Marshall AHE : A method for the demonstration of reticuloendothelial cells in paraffin sections. *J. Pathol. Bact.* 60 : 515-517, 1956.
33. Müller-Hermelink HK : Characterization of the B-cell and T-cell regions of human lymphoid tissue through enzyme histochemistry. Demonstration of ATPase and 5-nucleotidase activities. *Virch. Arch. (CP)* 16 : 371-378, 1974.
34. Naiem M Gerdes J Abdulaziz Z Stein H Mason DY : Production of a monoclonal antibody reactive with human dendritic reticulum cell and its use in the immunohistological analysis of the lymphoid tissue. *J. Clin. Pathol.* 36 : 167-175, 1983.
35. Niebauer G Krawczyk WS Kidd RL Wilgram GP : OZI reactive sites in the epidermal Langerhans cells. *J. Cell Biol.* 43 : 80-89, 1969.
36. Nieuwenhuis P Opstelten D : Functional anatomy of germinal center. *Am. J. Anat.* 170 : 424-435, 1984.
37. Nossal GJV Abbot A Mitchell J Lummus Z : Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. *J. Exp. Med.* 127 : 277-289, 1968.
38. Parwaresch MR Radzun MJ Hansmann ML Peters K P: Monoclonal antibody K1-M4 specifically recognizes human dendritic reticulum cells (Follicular dendritic cells) and their possible precursor in blood. *Blood* 62 : 585-590, 1983.
39. von Rees EP Dopp EA Dijkstra CD Sminia T : The postnatal development of cell population in the rat popliteal lymph node. *Cell Tiss. Res.* 242 : 391-398, 1985.
40. Sato T A: A modified method for lead staining of thin sections. *J. Electronmicroscopy*, 16 : 133, 1967.
41. Steinman RM Cohn ZA : Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J. Exp. Med.* 137 : 1142-1162, 1973.
42. van der Valk P van der Loo EM Jansen J Daha MR Meier JCLM : Analysis of lymphoid and dendritic cells in human lymph nodes, tonsil, spleen. A study using monoclonal and heterologous antibodies. *Virch. Arch. (CP)* 45 : 169-185, 1984.
43. Veerman AJP van Ewijk W : White pulp compartments in the spleen of rats and mice. A light and electron microscopic study of lymphoid and non-lymphoid cell types in T and B areas. *Cell Tiss. Res.* 136 : 417-444, 1975.

44. Veldman JE : Histophysiology and electron microscopy of the immune response. Thesis. Groningen Boekdrukkerij Dijkstra-Niemeijer., 1970.
45. Villena A Zapata A Rivera-Pomar JM Barrutia MG Fonfria J : Structure of non-lymphoid cells during the postnatal development of the rat lymph nodes. Cell. Tiss. Res. 229 : 219-232, 1983.

İŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK BULGULARIYLA İKİ HEREDİTER SENSORİMOTOR NÖROPATİ VAKASI (TİP II)

Esra Tan** Ersin Tan* Kubilay Varlı* Abdurrahman Çiğer* Cengiz Güven**
Gülay Nurlu* Turgut Zileli*

Hereditör sensorimotor nöropati (HSMN), genellikle hereditör geçişli, yavaş progresyon gösteren ve simetrik motor tutulumla ortaya çıkan kronik seyirli bir hastalıktır (1). Histopatolojik ve klinik çalışmalarında çeşitli tiplere ayrılmıştır. Tip I, segmental demyelinizasyon, soğan-zarı formasyonu ve % 50 vakada iletim hızında azalma ile karakterize dominant geçişli bir bozukluktur. Tip II de ise aksonal dejenerasyon, hafif demyelinizasyon ile normal veya hafif azalmış iletim hızı mevcut olup genellikle dominant geçişlidir. En nadir görülen form olan ve erken bebeklik döneminde görülen resessif geçişli tip III de ise soğan-zarı oluşumu, ağır segmental demyelinizasyon mevcut olup iletim hızı oldukça yavaşlamıştır ve hızlı progresyon gösterir (1,4-5). Ayrıca tip IV (Refsum hastalığı), spastik paraplejiyle seyreden tip V, optik atrofiyle birlikte görülen tip VI ile retinitis pigmentosa'nın olduğu tip VII HSMN'nin diğer nadir formlarıdır (1).

Bu çalışmamızda HSMN tip II olarak kabul ettiğimiz anne ve babası birinci dereceden akraba olan iki erkek kardeşi klinik, elektrofizyolojik ve histopatolojik bulguları ile takdim etmekteyiz.

Vaka 1 : 18 yaşında erkek hasta bacaklarında 6 yıldır olan güçsüzlük ve uyuşma şikayetleriyle Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi nöroloji departmanına başvurdu. Yapılan nörolojik muayenesinde her 2 alt ekstremitenin distallerinde % 20 - 30 kuvvet kaybı ile çorap tarzında hipoestezi, aşıl reflekslerinin alınmaması ile alt ekstremitelerde pozisyon ve vibrasyon hissiyetinde kayıp tesbit edildi. Ru-

** A.Ü.T.F. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı

* H.Ü.T.F. Nöroloji Anabilim Dalı

II. Milli Nöroloji Kongresinde Poster olarak sunulmuş ve özeti yayınlanmıştır (22 - 25 Ekim 1989).

tin idrar ve kan tetkikleri, serum kreatin fosfokinaz değeri normal olarak bulundu. EMG'de, alt ekstremitelerin distal kaslarında kronik parsiyel denervasyon mevcuttu. (Tablo I). Sural sinir aksiyon potansiyeli normal bulunmuştu. Hastadan sural sinir biyopsisi alınarak histopatolojik olarak incelenmiştir.

Tablo I : Birinci vakanın elektromyografi sonuçları.

Ön	R	L	İncelenen Kaslar	Tam Kası		Spontan Aktivite			M.U.A.P.	
				Amplitüd	Şekil	Fibri-	PKD	Fasikü-	Süre	Poli-
				mV		lasyon		lasyon		fazi
x			Ext. Dig. Br.	3	T.O.	++	++	—	Nİ	Nİ
x			Tib. Ant.	2	Mixt	—	—	—	Nİ	N
x			Per. Longus	2	Mixt	—	—	—	Nİ	N
x			Gastrok.	2	Mixt	+	—	—	Nİ	N

Vaka 2 : Vaka 1'in erkek kardeşi olan 14 yaşındaki hastamız da ağabeyi gibi bacaklarında 1 yıldır ortaya çıkan güçsüzlük ve uyusukluk şikayetleriyle başvurdu. Nörolojik muayenesinde her 2 alt ekstremitede distallinde ve özellikle ayak dorsifleksiyonunda belirgin % 30-40 kuvvet kaybı ile çorap tarzında hipoestezi ile vibrasyon ve pozisyon hislerinde kayıp, patella ve aşıl reflekslerinde azalma tesbit edildi. Rutin idrar ve kan değerleri ile kreatin fosfokinaz seviyesi normal bulundu. EMG'de alt ekstremitelerin distal kaslarında belirgin olmak üzere ağır kronik parsiyel dejenerasyon ve motor ünit kaybı bulundu. Peroneal sinir distalde uyartılamadı, sural sinir duyu potansiyel amplitüdü normalden düşük kaydedildi (Tablo II). Sural sinir biyopsisi alınarak histopatolojik olarak incelendi.

Tablo II : İkinci vakanın elektromyografi sonuçları.

Ön	R	L	İncelenen Kaslar	Tam Kası		Spontan Aktivite			M.U.A.P.	
				Amplitüd	Şekil	Fibri-	PKD	Fasikü-	Süre	Poli-
				mV		lasyon		lasyon		fazi
x			Tib. Ant.	3	T.O.	+	+	—	Nİ	Nİ
x			Peroneal Long	3	T.O.	+	—	—	Nİ	Nİ
x			Gastrok.	2.5	Mixt	+	—	—	Nİ	N
x			Ext. Dig. Br.		İstemli Kasılma Yok	++	++	—	—	—

Her iki hastada alt ekstremitelerde distal kaslarındaki denervasyon mevcudiyeti ve sinir iletim hızlarının normal veya hafif düşük bulunması, aksonal kayıplı seyreden tip II HSMN ile uyumlu olarak değerlendirildi.

MATERYAL VE METOD

Her iki vakanın sural sinirinden alınan biyopsi örnekleri +4 C'de 0.2 M (pH = 7.4) fosfat tampon içindeki % 3 gluteraldehitte 4 saat süreyle tesbit edildi. Daha sonra 0.1 M fosfat tamponla yıkanarak oda ısısında 90 dakika % 1 OsO₄'le ikinci tesbit yapıldı. Doku blok halinde uranil asetatla boyandı ve dereceli etanollerde dehidrate edildi ve araldite CY 212 (Glavert, 1974) materyaline gömüldü.

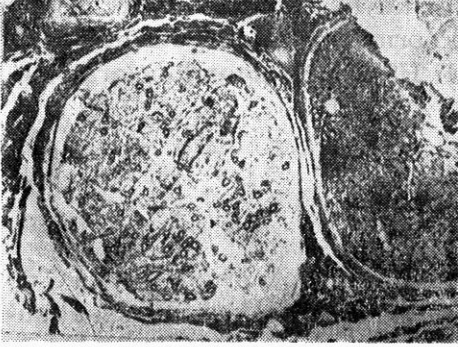
LKB ultratome III'da cam bıçakla 1 µm'lik yarı ince ve 0.5-0.6 µm'lik ince kesitler alındı. Yarı ince kesitler toluidin mavisiyle boyanıp, Carl-Zeiss fotomikroskopunda çekilen resimlerle incelendi. İnce kesitler ise, uranil asetat ve kurşun sitratla boyanıp Zeiss EM 9S elektron mikroskobu altında alınan fotoğraflarla değerlendirildi.

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

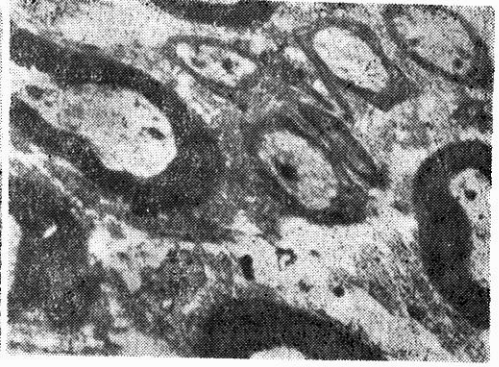
Işık mikroskopik incelemede; transvers kesitlerde myelinli liflerde azalma (Resim 1), akson çapına uymayacak oranda myelin kılıfının ince olması (remyelinizasyon) (Resim 1,4), rejenerasyon kümeleri (Resim 4,5) ve belirgin endoneural kalınlaşma gözlemlendi.

Elektron mikroskopik incelemelerde de ışık mikroskopik verileri destekler şekilde myelinli liflerde azalma, kollagen demetlerde artış ve endoneural kalınlaşma (Resim 2,5) izlendi.

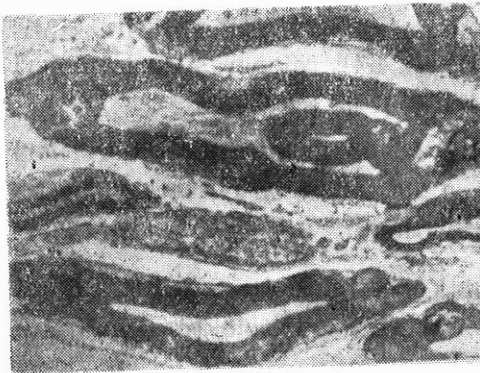
Işık mikroskopik ve elektron mikroskopik fotoğraflarda dikkat çekecek ölçüde demyelinizasyon, remyelinizasyon, elektron yoğunluğunda değişiklik ve konfigürasyon bozukluğu vardı (Resim 3-5). Normal görünümde myelinli liflerin yanında hatalı myelin yapımına ve yıkımına bağlı olarak (dismyelinizasyon) dejenere lifler ve myelin kılıfta yer yer ayrılmalar gözlemlendi (Resim 3,5). Myelinsiz lifler morfolojik olarak normal görünümde ancak sayıca azalmıştı (Resim 3-4).



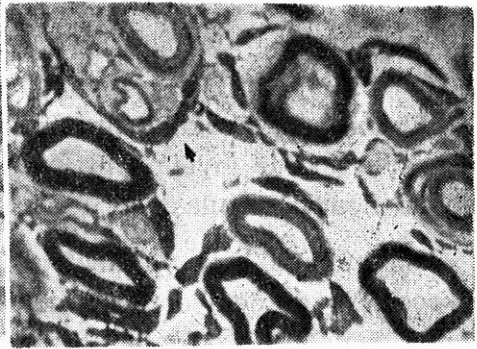
Resim 1 : 1. vakanın sural sinir biyopsi materyalinde, ışık mikroskop altında transvers kesitte myelinli liflerde azalma görülüyor.



Resim 2 : 2. vakaya ait bir elektronmikrograf; myelinli ve myelinsiz lifler görülüyor. Miyelinsiz lifler normal görünümde, sol alt köşede myelinli lifde dejenerasyon görülüyor. Endoneural bağ dokusunu yapan kolla- jen liflerde artış izlenmektedir.



Resim 3 : 1. vakaya ait x1900 büyütme de bir elektronmikrograf. Myelinli liflerde kon- tur bozukluğu hatalı myelin sentezine bağlı, kılıfta yer yer ayrılmalar görülmekte.



Resim 4 : 2. vakaya ait ışık mikroskopik fotoğrafta etrafı bağ dokusu ve Schwann hücre uzatılarıyla çevrelenmiş, 3-4 ince myelinli lif içeren rejenerasyon demetleri görülüyor (okla işaretli).



Resim 5 : 1. vakaya ait x1600 büyütmede bir elektronmikrograf rejenerasyon demeti (ok); hatalı myelin yapımına bağlı, kılıfta ayrılmalar, endoneural kalınlaşma ve para-aksonal myelin yapımı (dismyelinizasyon) (ok başı) görülüyor.

TARTIŞMA

Hereditör sensorimotor nöropati tip II'de semptomlar genellikle 2 ile 5. dekatlar arasında ortaya çıkmaktadır. Otozomal resessif vakalar bildirilmişse de genellikle otozomal dominant olarak geçiş göstermektedir. Kas güçsüzlüğü ve/veya atrofi daha çok alt ekstremitelerin distalinde ortaya çıkar, patella ve aşil reflekslerinde azalma veya kayıp mevcuttur. Hastalık sinsi seyirli olup semptomlar ortaya çıktıktan sonra yavaş gidiş gösterir ve prognozu iyidir, motor kaybın yanında sensoriyel tutulum da görülür (7). HSMN tip II'nin bu klinik bulguları her 2 vakamızdaki bulgular ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca bu vakalarda sinir iletim hızları normal veya azalmış olabilir ve sural sinir biyopsilerinde soğan-zarı formasyonu yoktur (1,5).

Sural sinir biyopsilerinin incelenmesinde HSMN'lerin tüm tiplerinde myelinli ve myelinsiz sinir liflerinde değişik oranlarda azalma görülmektedir (demyelinizasyon). HSMN tip I'de özellikle 8 μ m'nin

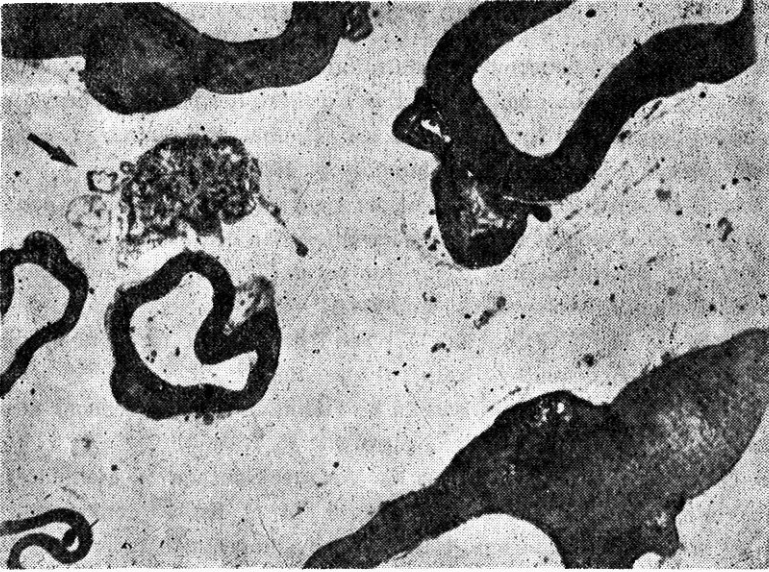
üstündeki büyük myelinli liflerde olmak üzere myelinli liflerde azalma, segmental demyelinizasyon-remyelinizasyon vardır. Myelinsiz lifler normal görünümde (1-2,4-6). Tip II'de özellikle distalde myelinli lifler azalmıştır. Küçük myelinli lifler rejenerasyon demetlerini yaparlar (1-5). Myelinsiz lifler bir miktar azalır. En ağır kayıp tip III de gözlenir. Çapı en fazla 5 μm olan küçük myelinli aksonlar kalmıştır (1,4-5) ve myelin kılıfı çok incedir.

HSMN'de, demyelinizasyon ve onu takiben remyelinizasyon aynı anda olmaktadır. Remyelinizasyonu gösteren iki kriterden biri, akson çapına göre myelin kılıfının ince olmasıdır. İkincisi ise, akson çapının kalınlığına oranla internodal mesafelerin normalden kısa olmasıdır. Ancak bunu tesbit etmek güçtür. Liflerin tek tek uzunlamasına kesitlerle incelemesi gerekir. İki vakamızda da myelinli liflerde ileri derecede azalma yani demyelinizasyonun yanında yeniden yapımı gösteren, akson çapına uymayan incelikte myelin kılıfı içeren, remyelinize lifler görüldü. Rejenerasyon kümelerini oluşturan ince myelinli 3-4 lifin Schwann hücre uzantıları ve kollagen demetlerle çevrelenmesi (3-5) resim 4,5 de gösterilmiştir.

Aynı aksondaki tekrarlayan demyelinizasyon ve remyelinizasyon atakları soğan-zarı formasyonuna neden olur. Soğan-zarı formasyonu, birden fazla Schwann hücresi uzantısının basal lamia (eksternal lamina) ve kollagen demetleriyle birlikte aksonu çevrelemesidir. HSMN tip I'de fazla olmak üzere tip III'de de soğan-zarı formasyonu gözlenir. Tip II'de ise genellikle görülmez. Yaşla birlikte soğan-zarı formasyonu artar (1,3-7). Takdim ettiğimiz 2 vakada da soğan-zarı formasyonuna rastlamadık.

Endoneurium ve perineuriumu yapan bağ dokusunda HSMN'de kalınlaşma vardır ve bu artış en çok tip I'de vardır (1-2,4-6). Myelin yıkımından artakalanları temizleme fonksiyonu olduğu düşünülen vakuollü fibroblastlar ve makrofajlar görülebilir (4-5). Her iki vakanın elektron mikroskopik incelemelerinde, iri eukromatin nükleuslu, kromatin ağı nükleus membranı etrafında yoğunlaşmış, sitoplazmasında vakuoller bulunan fagozom içermeyen hücreler gördük (Resim 6) ve bunların vakuollü fibroblast olduğunu düşündük.

Sonuç olarak takdim ettiğimiz bu iki vaka klinik, elektrofizyolojik ve histopatolojik bulgular eşliğinde HSMN tip II olarak kabul edilmiştir. HSMN'li vakaların tedavisinde kortikosteroidler ve diğer immunosüpresif ajanlar kullanılmasına rağmen yüz güldürücü sonuç-



Resim 6 : Vakuoller içeren fibroblast olduğunu düşündüğümüz iri eukromatin nukleuslu hücre okla gösterilmiştir.

lar alınmaması nedeniyle (1) her iki vakamıza ve ailelerine genetik danışma verilmiş ve hastalar rehabilitasyon programına alınmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada alt ekstremitelerde distal adelerde kuvvet kaybı ve çorap tarzında hipoestezi, derin duyu kaybı ile alt ekstremitelerde azalma tesbit edilen ve histopatolojik tetkiklerle Tip II hereditör sensorimotor nöropati teşhisi konan 2 erkek kardeş, elektron mikroskopik bulguları ile birlikte takdim edilmektedir.

SUMMARY

Hereditary Sensory And Motor Neuropathy - Electron Microscopy A report of two cases with electron microscopic findings

In this paper, we present two brothers with distal weakness of lower extremities. They had also a marked decrease in pin sensation with a marked diminution in perception of joint position and vibration in a stocking distribution. Electrophysiologic and electron microscopic findings were compatible with hereditary sensory and motor neuropathy (type II).

KAYNAKLAR

1. Dyck PJ : Inherited neuronal degeneration and atrophy affecting peripheral motor, sensory, and autonomic neurones. In *Peripheral Neuropathy, Volume 2. Second edition.* Edited by P.J. Dyck, P.K. Thomas, E.H. Lambert and R. Bunge, Philadelphia and London : W.B. Saunders p : 1600.
2. Hughes JT Brownell B : Pathology of peroneal muscular atrophy (Charcot-Marie-Tooth disease). *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 35 : 648, 1972.
3. Ludwin SK : Remyelination in the central nervous system and the peripheral nervous system. *Adv Neurol* 47 : 215, 1987.
4. Ouvrier RA McLeod JG Conchin TE : The hypertrophic forms of hereditary motor and sensory neuropathy. *Brain* 110 : 121, 1987.
5. Rossi LN Lütschig J Meier C Vassella F : Hereditary motor sensory neuropathies in childhood. *Develop Med Child Neurol* 25 : 19, 1983.
6. Ruiz C Rivas F Ramirez-Casillas G Vazquez-Santana R Mendoza-Chalita B Feria-Velasco A Tapia-Arizmendi G Cantu JM : A distinct congenital motor and sensory neuropathy (neuronal type) with dysmorphic features in a father and two sons. A variant of Charcot Marie-Tooth disease. *Clin Genetics* 31 : 109, 1987.
7. Vogel P Gabriel M Goebel HH Dyck PJ : Hereditary motor sensory neuropathy type II with neurofilament accumulation : New finding or new disorder? *Ann Neurol* 17 : 455, 1985.

RESİN BAĞLANTILI PERİODONTAL PROTEZ (Vaka Raporu)

Hüsnu Yavuzylmaz* Bengül Yurdukoru** Dilek NALBANT***

Periodontal protez; dişlerin periodontium'una lokalize travma ve çeşitli patolojik nedenlerin sonucunda desteğini kaybeden ya da profilaktik olarak stabil halde kalması arzu edilen dişlerin, fizyolojik şeklini korumak ve kazandırmak amacı ile uygun periodontal, ortodontik veya cerrahi tedavilerden sonra uygulanan bir protetik tedavi türüdür (5,6).

Periodontal protezler geçici ve sürekli olarak iki ana gurup altında toplanabilir.

Geçici periodontal protezler, dişlerin periodontium'u ya da buna komşu bölgelerde mevcut patolojinin tedavisi süresince dişlerin sabitleştirilmelerini amaçlar.

Sürekli periodontal protezler ise, tedavisi tamamlanmış tedavi sonrası olumlu sonuç alınmış diş ve destek diş dokularının stabilizasyonu amacı ile arkadaki eksik dişleride tamamlayarak uygulanan türlerdir (6).

Sürekli periodontal protezler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir (5) :

- A — Hareketli sürekli periodontal protezler
- B — Sabit sürekli periodontal protezler,
- A — Hareketli sürekli periodontal protezler :
 - a) Devamlı kroşeli periodontal protezler,
 - b) Lingual yüzey destekli periodontal protezler
 - c) Weissenfluh bağlantısı
 - d) Swing-lock bağlantısı.

* G. Ü. Diş Hek. Fak., Protetik Diş Ted. Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi, Prof. Dr.

** A. Ü. Diş Hek. Fak., Protetik Diş Ted. Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi, Doç. Dr.

*** G. Ü. Diş Hek. Fak., Protetik Diş Ted. Anabilim Dalı, Öğretim Görevlisi Dr.

B — Sabit sürekli periodontal protezler :

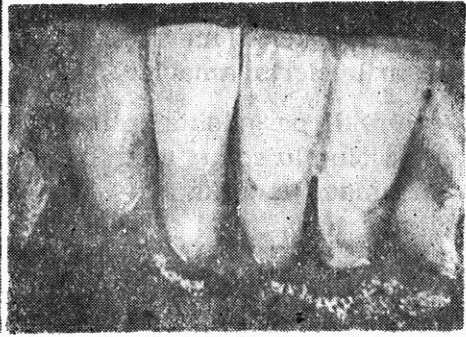
- a) U şeklinde telli bağlantılar
- b) A bağlantılar
- c) Diş kronları içinde seyreden sürekli bar bağlantısı
- d) Bağlı inleyler
- e) Bağlı onlaylar
- f) Bağlı 3/4, 4/5, 7/8 kronlar
- g) Pinley ya da pinledge destekli periodontal protezler
- h) Resin bağlantılı periodontal protezler.

Tablodan da izlendiği gibi resin bağlantılı periodontal protezler; sabit periodontal protezler arasında en son uygulanan tür olarak belirmektedir (1,2).

Resin bağlantılı periodontal protez; desteği problemlili dişlerin sürekli sabitleştirilmeleri ile birlikte arkda mevcut eksik dişlerinde tamamlanmasını amacı ile uygulanan, desteklere doğrudan ya da dolaylı olarak resin tutucular yardımı ile bağlanan bir periodontal protez türü olarak tanımlanabilir (Resim 1-2).



Resim 1 : Resin bağlantılı periodontal protezin lingual yüz görünümü.



Resim 2 : Resin bağlantılı periodontal protezin labial yüz görünümü.

1962 yılında Dr. Raphael Bowen tarafından tanımlanan kompozit resinler, 1973 yılında ilk olarak Rochette tarafından önce splint sonra köprü protezi yapımında kullanılmaya başlanmış, 1980'de Livaditis posterior dişlerde uygulama tekniklerini açıklamıştır (3). Türkiye'de ilk olarak 1978 yılında Yavuzylmaz H., Yurdukoru B. ve Arıkan A. tarafından resin bağlantılı periodontal protez ve köprü protezi çalışmaları başlatılmış, konu ile ilgili ilk yayın ve kongre tebliği 1981 yılında, ilk yurtdışı yayın 1983 yılında sergilenmiştir (4,7,8,9).

Resin bağlantılı periodontal protezlerin avantajları aşağıdaki şekilde dizelenebilir.

- 1 — Diş kesimi mine dokusu içinde ve minimum düzeydedir.
- 2 — Kenar sonlanmaları dişeti üstünde olduğundan periodontium'a yönelik periodontal ve cerrahi tedaviler protez tarafından engellenmeden yürütülür.
- 3 — Mine dokusu içinde çalışıldığından, diş pulpasında irritasyon oluşturmaz.
- 4 — Sistemin uygulanması süresinde anestezi gerekmez.
- 5 — Hekim ve teknik eleman yönünden laboratuvar ve klinik çalışma süreleri kısadır.
- 6 — Üstün estetik avantajı mevcuttur.
- 7 — Ekonomiktir (11).

Resin bağlantılı periodontal protezlerin planlanmasında; tek bir giriş yolu sağlanması, karşıt temas bölgelerinin kesimi, ön dişlerde cingulum restinin arka dişlerde okluzal restin hazırlanması, kanat uzantılarının destek dişleri 130° den fazla sarmaları, yapıştırıcı üzerine minimum stress uygulanması önemli prensiplerdir (10,12).

Vaka

Adı, Soyadı : G.Y.

Yaşı : 46

Protokol No. : 00422

Müracaat Tarihi : 16.4.1990

Cinsiyeti : Kadın

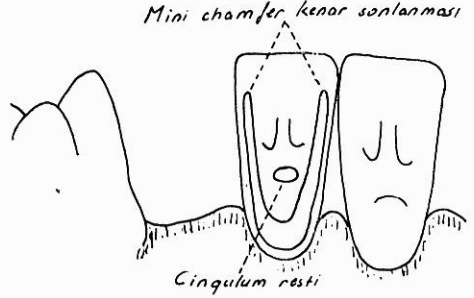
Mesleği : Devlet Memuru

Sağ alt orta kesici dişinin aşırı mobil ve destek doku yıkımı nedeni ile çekimine karar verilen hastanın alt ön gurup dişlerine uzun süreli periodontal tedavi uygulaması planlanmış, sonuçta; ön gurup dişlerin periodontal tedaviyi engellemeyecek bir protez ile sabitleştirilmeleri bu arada eksik ön kesici dişinde protetik olarak tamamlanması amaçlanmıştır.

Klinik, radyolojik muayene ve teşhis modellerinden elde edilen veriler hastadan alınan anemnez ve kayıt bilgilerinin ışığı altında değerlendirilerek, resin bağlantılı bir periodontal protez yapımına karar verilmiştir (Resim 3).



Resim 3 : Periyodontal ve protetik tedavi öncesi hastanın durumu.



Resim 4 : Lingual görünümde kesim bölge-leri.

MATERYAL VE METOD

Resin bağlantılı periodontal protezin uygulanmasında aşağıdaki materyaller kullanılmıştır :

1 — Teşhis modeli için ölçü materyali (Bu amaçla Teledyne Dental Product firmasının Key-To-Aljimat irreversible hydrocolloid ölçü maddesi kullanılmıştır).

2 — Esas ölçü için ölçü materyali olarak (Bayer firmasının Optosil Xantrophen silikon esaslı elastomerik ölçü maddesi).

3 — Model yapım alçısı olarak (Ernst Hinrichs GmbH firmasının Hinrızit B sert alçısı).

4 — Destek Metal yapı şekillendirmesi için (Bego firmasının Cr-Co-Mo metal alaşımı).

5 — Köprü gövdesinin estetik materyali için (Biodent firmasının K-B Plus akrilik resin materyali).

6 — Diş Kesimi için (Meissinger firmasının 6 No.lu ront elmas ve 24 no.lu silindir metal aerotor frezleri).

7 — Dişeti ve gingival embrasure bölgesinin korunması ve şekillendirilmesi için Rubber Dum ve plastik üçgen kürdanlar.

8 — Kompozit yapıdırma materyali (P D Dental firmasının Monticom marka Hybrid Composit materyali) kullanılmıştır.

Metod :

İşleme önce, hastadan aljimat ölçü maddesi ve laboratuvar alçısı ile elde edilen teşhis modelinde plânlama ile başlandı. Teşhis modelinde karşıt ve komşu diş ilişkileri, kontakt bölgeleri, desteklere uza-

nacak metal kanatların lokalizasyonu ve kenar sonlanmaları ile şekillendirilecek gövdenin formu ve lokalizasyonu belirlendi.

Planlama prensiplerinde açıklandığı gibi amaç vertikal yönde proteze tek bir giriş yolu sağlamaktır. Bu amaçla resim 3'de görülen cingulum resti ve minichampfer tarzında kenar sonlanması kesimleri gerçekleştirildi. Uygulama alt kesici dişlere yapıldığından karşıt temas yüzeyi kesimi yapılmadı. Resim 4'de sagittal kesitte izlendiği gibi cingulum resti tıpkı 3/4 kronların insizal oluğunda olduğu gibi, vertikal metali askılayacak şekilde dik olarak şekillendirildi.

Kenar sonlanması kesimi, serbest dişeti seviyesinin 1 mm üstünde gerçekleştirildi.

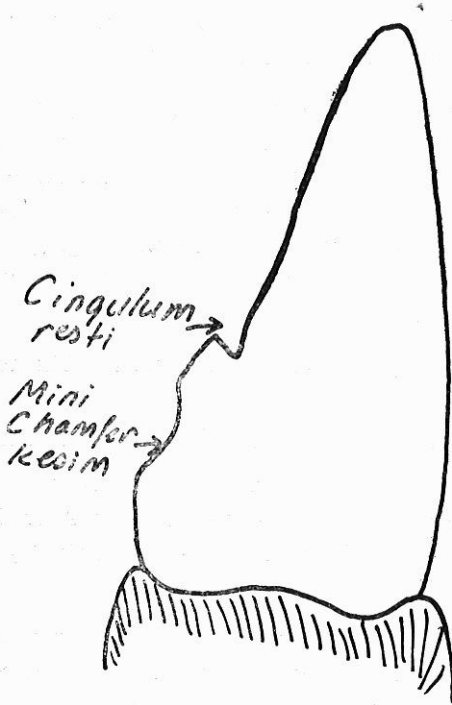
Mine dokusu içinde yapılan kesimlerden sonra kesilen ve karşıt arkdan, standart kaşık ve silikon esaslı elastomerik ölçü maddesi yardımı ile alınan ölçülerden sert alçı modeller elde edildi. Oklüzal mum ölçüsü ile artikülasyona alınan modeller üzerinde protezin uygulama sınırları ince uçlu bir kalemle çizilerek belirlendi.

Laboratuvarda gövde kısmı ridge-lab tarzında planlanan ve mum örneği şekillendirilen resin bağlantılı periodontal protez Cr-Co-Mo metal alaşımı ile döküldükten sonra, model üzerinde denendi, hastadan saptanan uygun dişrengi dikkate alınarak gövde bölümü mufla tekniği ile şekillendirildi ve periodontal protez önce modelde (Resim 6), sonra hasta ağızında uyum yönünden kontrol edildi (Resim 7).

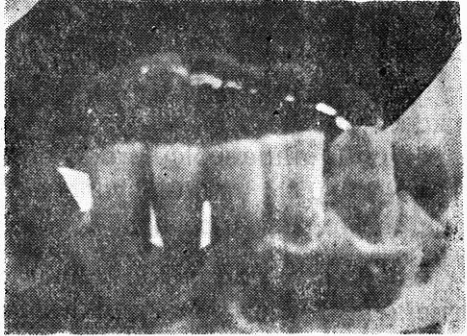
Gövde bölümü ve polisajlı bölümler bant ya da mumla kaplanarak metal destek plakların dişlere gelen yüzleri pürüzlendirildi. Bu amaçla kumlumu cihazında 30 saniye sürede 50 mikron çapındaki Al_2O_3 kristalleri ile pürüzlendirilen protez iç yüzeyi, ultrasonik temizleyicide artıklarından arındırıldı.

İkinci randevu için çağırılan hastanın kesilen ve buna komşu dişleri polisaj fırça ve lastikleri kullanılarak artıklardan temizlenip parlatıldı.

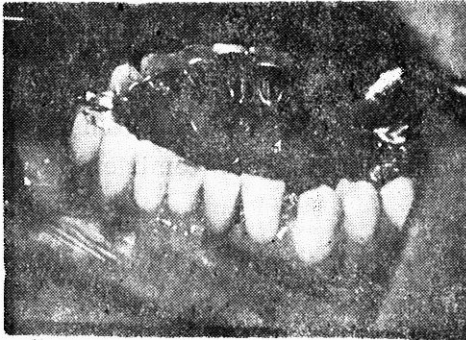
Alt dişakı üzerine rusber dum uygulandıktan sonra kesim yapılan diş yüzeylerine pamuk bir palet ve presel yardımı ile basınçla ortofosforik asit uygulayarak etching yapıldı. Asit uygulama süresi son araştırma bulgularının ışığı altında 20 saniye olarak sınırlandırıldı (Resim 8). Asitle dekalsifiye edilen mine yüzeyi basınçlı su ile yıkandıktan



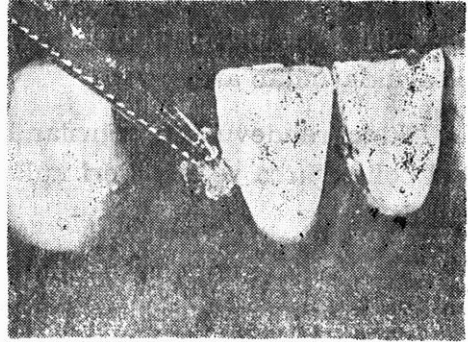
Resim 5 : Sagittal kesitte cingulum resti ve minicamfer tarzındaki kenar sonlanması kesitlerinin görünümü.



Resim 6 : Resin bağlantılı periodontal protezin modelde uyumunun kontrolü.



Resim 7 : Resin bağlantılı periodontal protezin uyum yönünden hasta ağızında kontrolü.

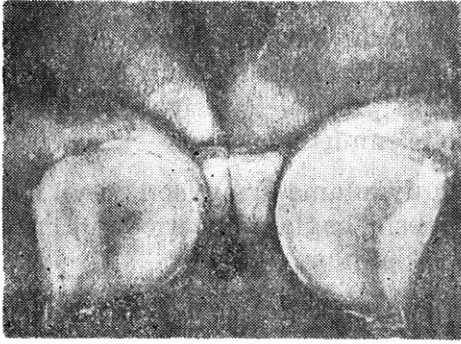


Resim 8 : Dişlerin kesim bölgelerine ve protezin uyumlanacağı bölgeye tampon ile asit uygulanması.

sonra ılık hava ile kurutuldu. Etching işleminin klinik gözlemi olan uygulama bölgesinde opasite (matlaşma) izlendikten sonra bu bölgelere inorganik katkısız kimyasal bağlayıcı olan Bonding Agent fırça yardımı ile uygulandı. Aynı bağlayıcı protez iç yüzeyinde sürüldü. Hybrid kompositin her iki patı eşit oranda karıştırıldıktan sonra uygulanacak diş ve metal yüzeylerine taşındı.

Periodontal protez komposit resin ile birlikte hasta ağızına uygulandı. Uygulama öncesi gingival embrasure bölgelerine plastik üçgen kürdanlar yerleştirildi. Protezin ağıza uygulanmasını takiben komposit şekilleninceye kadar parmak basıncı ile labio lingual yönde baskı uygulandı (Resim 9).

Artık komposit ve gingival bölgeye yerleştirilen kürdanlar uzaklaştırıldıktan sonra yüzey polisajı yapıldı (Resim 10).



Resim 9 : Resin bağlantılı periodontal protezin yapıştırılması; protezin ağıza uygulanmasını takiben komposit materyali şekilleninceye kadar parmak ile labio-lingual yönde ve tersinde baskı uygulaması.

Resim 10 : Sağ alt kesici dişin protez olarak tamamlandığı resin bağlantılı periodontal protezin yapıştırıldıktan sonraki durumu.

Hasta protez uygulamasını takiben 1 hafta, 1 ay ve 3 aylık periyotlarda kontrol altına alındı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Resin bağlantılı periodontal protezin uygulanmasını takiben 1 hafta, 1 ay ve 3 aylık periyotlarda değerlendirilen klinik bulgular aşağıdaki tabloda özetlenmiştir :

Süre	P. Protezin Retansiyonu	Desteklerden Ayrılma	Hasta Uyumu
1 Hafta	Retantive	Yok	+ —
1 Ay	Retantive	Yok	+
3 Ay	Retantive	1 destekten	+

Tablodanda izlendiği gibi 1 haftalık periyotta protezin retansiyonu yeterli kalmış, desteklerden ayrılma olmamış ancak hasta alt dişlerin lingual yüzüne yerleştirilen lokal protez plağının rahatsız olduğunu ve fonasyon yönünden bazı problemleri olduğunu belirtmiştir.

1 aylık süre sonunda klinik bulgular da başarılı sonuçlar saptanmış, hastanın protezi fonetik ve psikolojik olarak kabullendiği izlenmiştir.

3 aylık süre sonunda protezin eksik diş kısmına komşu üç desteğininde retantif olduğu ancak sol alt kanin dişine olan uzantının destekten ayrıldığı saptanmıştır. Hastanın proteze fonksiyon estetik ve fonetik uyumunun yeterli olduğu belirlenmiştir.

Resin bağlantılı köprülerin klinik uygulamalarının son on yıl içinde rutin pratiğe girmesine karşılık resin bağlantılı periodontal protezler ile ilgili çalışmalar son derece kısıtlıdır.

Gerek komposit materyallerinin gerekse metal ve bağlantı sistemlerinin süreli gelişmesine paralel olarak pek çok modifiye uygulama tekniği önerilmekte ancak bunların klinik uygulama sonuçları ile ilgili vaka raporlarının azlığı dikkati çekmektedir.

Bu verilerin ışığı altında periodontal problemlerle dişlerin sabitleştirilmeleri amacı ile kullanılan en yeni periodontal protez tekniği olarak kabul edilen resin bağlantılı periodontal protezi yine en gelişkin komposit türü olan hybrit komposit kullanarak vaka raporu halinde sergiledim. Amaç, tekniğin klinik uygulama etaplarının ve uygulama sonucu klinik bulguların daha çok sayıda tedavi sonucu değerlendirilmesine bir ışık tutmaktır.

Uygulanan periodontal protezde destekten ayrılan ünite kesilerek çıkarılmak yerine bir vidalı pinle destek diş üzerine sabitleştirile-

bilir. Hastada tek bir alt kesici eksik olduğundan kalan üç destek plak tutuculuk yeterli görülmüş ve ayrılan distal uzantı kesilerek metal yüzeyi polisajlanmıştır. Bu tür protezlerin en önemli avantajı başarısızlıkta rutin köprü yapımına dönebilmektir.

SONUÇ

Resin bağlantılı periodontal protezler; periodontal dokuları irrite etmeksizin, eksik dişleride tamamlayarak uygulanabilen, başarısızlığı halinde kolaylıkla parsiyel yada full kronlu tutucular ile modifiye edilebilen hasta, hekim ve teknik eleman yönünden uygulanması kabul edilmesi kolay alternative sabit bir periodontal protez olarak kabul edilebilir.

ÖZET

Bu makalede alt ön dişlere uygulanan döküm metal, resin bağlantılı bir periodontal protezin klinik uygulaması açıklanmıştır. Bu tür protezler sabit köprülerin avantajlarının yanısıra, tedaviye imkan vermesi, estetik, ekonomik ve dönüşebilirlik özelliklerine sahiptir. Endike olduklarında resin bağlantılı periodontal protezler, konvansiyonel sabit periodontal protezleri alternative olarak kabul edilebilirler.

ABSTRACT

Resin Bonded Periodontal Prosthesis (Case Report)

In this case report, a cast metal resin bonded periodontal prosthesis for lower anterior teeth have been clinically applied. In addition to having the qualities of a fixed bridges, these type of periodontal prosthesis enable the therapeutic procedures to be conservative, esthetic, economic and reversible. When indicated, these resin bonded periodontal prosthesis provide an alternative to the usual fixed periodontal prosthesis.

LİTERATÜR

1. Cuningham PJ : The Composite Bridge, Aust. DJ : 24 (3) : 150-152, 1979.
2. Denehy GE Howe DF : A Conservative Approach to Missing Anterior Teeth, Quintessence Int., 10 (7) : 22-28, 1979.
3. Livaditis GJ : Cast Metal Resin-bonded Retainers for Posterior Teeth, J.A.D.A., 101 : 926-929, 1980.
4. Rossein K : Die Alternative Brücke, Quintessence, 10 : 1933-1941, 1982.
5. Yavuzylmaz H : Periodontal Protezler, Doktora Tezi, A.Ü. Tıp Fakültesi Diş Hek. Yük. Okulu, 1972, Ankara
6. Yavuzylmaz H : Ön Gurup Dişlere Uygulanan Parelel Olmayan Horizontal Pinli Periodontal Protezler Üzerinde, Koyunlarda; Klinik ve Histopatolojik, İnsanda fotoelastik metodlar ile yapılan araştırmalar, Doçentlik Tezi, A.Ü. Diş Hek. Fak. 1976, Ankara.
7. Yavuzylmaz H Yurdukoru B Arıkan A : Ön Gurup Dişlere Uygulanan Tutuculuğu Minenin Asitle Pürüzlendirilmesi ve Komposit Tekniği ile Sağlanan Metal Destekli Köprü Yapımı, I. Türk Dişhekimliği Kongresi, İzmir, 7 Ekim 1981.
8. Yavuzylmaz H Arıkan A Yurdukoru B : Ön Dişlere Uygulanan Tutuculuğu minenin asitle pürüzlendirilmesi ve komposit resin tekniği ile sağlanan metal destekli köprü yapımı, A.Ü. Diş Hek. Fak. Der., 9 (3) : 1-12, 1981.
9. Yavuzylmaz H Yurdukoru B Arıkan A : Kontrolluntersuchungen an 16 Incorporierten Komposit-Atz-Brücken mit Metallpattenverbindung, Z.W.R., 92 (2) : 18-20, 1983.
10. Yavuzylmaz H Arıkan A Yurdukoru B : Tutuculuğu Komposit Resin ile Sağlanan Metal Destekli Köprülerin Değerlendirilmesi, Prosthodonti ve İmplantoloji Derneği III. Bilimsel Kongresi, Silifke, 23 Mayıs 1982.
11. Yavuzylmaz H Yurdukoru B Arıkan A : Adhesive Köprülerin Klinik Değerlendirilmesi (2 yıl süreli klinik çalışma) A.Ü. Diş Hek. Fak. Der., 10 (2-3), 213-213-220, 1983.
12. Yavuzylmaz H Yurdukoru B Arıkan A : Prostęrior Bölgede Adhesive Köprü Yapımı, Olgu Bildirimi, G.Ü. Diş Hek. Fak. Der., I (1) : 149-156, 1984.

DEKSAMETASON KULLANILDIĞINDA MYOBLASTLAR YÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN SCANNİNG ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELENMESİ

Melih Zeytinoğlu*

Ergin Açıklan**

Günümüzde kanserleşmeye giden dokuların önceden tespiti, böylece erken teşhis ve tedavisi konusunda çalışmalar hızla sürmektedir. Bu amaçla bizim kullandığımız ve aynı zamanda yaygın olan yöntemde : İncelenmek istenen dokudan alınan ve doku kültürü yöntemiyle üretilen hücrelerin genetik yapılarına, yapı ve özellikleri bilinen bazı onkogenler ilave edilerek kansere eğilimli hücreler haline getirilirler. Daha sonra kültür ortamına kanserojen maddeler eklenerek hücrelerde meydana gelen yapı değişiklikleri incelenir.

Yaffe ve Saxel adlı iki araştırmacı fare iskelet kasından alınan dokudan ilk kez C2 adı verilen myoblastları izole etmişlerdir (5). Daha sonra Gosset ve arkadaşları plazmid kullanarak bu C2 kültür hücrelerine N-ras memeli onkogenini yerleştirmeyi başardılar ve bu yeni hücreye CO25 kültür hücresi adı verildi (5).

Günümüze kadar ras onkogeni grubundan onkogenlerin N-ras (Neuroblast), H-ras (Harvey) ve K-ras (Kristen) olarak üç çeşit protoonkogenik formu tanımlanmıştır (3). Ras onkogeni taşıyan hücre ortamlarına kanserojen madde ilave edildiğinde hücrelerde P21 proteini üretimi artmakta ve artan bu protein GTP ase gibi iş görerek GTP yi inaktive ettiğinden hücre devamlı çoğalmaya ve farklılaşmaya itilmektedir (6).

Günümüze kadar CO25 kültür hücreleriyle yapılan bu tür bir çalışmaya rastlamadık. Bu nedenle tercih ettiğimiz CO25 kültür hücrelerinin ortamına deksamethasone ilave ederek hücre yüzeyinde meydana gelebilecek değişiklikleri Scanning elektron mikroskop tekniği ile incelemeyi amaçladık.

* Anadolu Ü. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Araştırma Görevlisi

** Anadolu Ü. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Doçenti

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışma İngiltere, Norwich John Innes enstitüsü hücre biyolojisi bölümünde yapılmış olup kullanılan CO25 kültür hücreleri (Fare çizgili kasından elde edilmiş ve N-ras onkogeni taşıyan myoblast) East Anglia Üniversitesi moleküler biyoloji bölümünden temin edilmiştir.

Doku kültüründe dört farklı içerikli ortam kullanıldı. Birinci besiyeri için FCS (% 10 Foetal calf serum, Gibco, Cat. no : 011-62290H) içeren DMEM (Dulbecco's Modifed Eagle Medium, Gibco, Cat. no : 042-02501 H). İkinci besiyeri için FCS ve Deksametazon (200 mM, 9 alphafluoro-16 alpha-methyl-prednisolone, Sigma, Cat. no : D-1756). Üçüncü besiyeri için HS (% 10 Horse serum, Gibco, Cat. No : 034-06050) içeren DMEM. Dördüncü besiyesi için HS ve Deksametazon (200 mM) içeren DMEM kullanıldı (1,4). Hücrelerin konuldukları besiyerleri 5 ml olarak hazırlandı ve hücreler % 10 CO₂ ve % 90 O₂ içeren ortamda 37°C de inkübe edildiler.

Özel lamalar üzerine yerleştirilen hücreler PBS (Phosphate Buffer Saline : 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.5 mM KH₂PO₄, 8 mM Na₂HPO₄, pH 7.3) ile 30 saniye ve üç kez oda sıcaklığında yıkandıktan sonra % 2.5 lik glutaraldehit (% 97.5 PBS) ile 15 dakika tespit edildiler. PBS ile 15 dakika yıkanan hücreler % 1 Osmiumtetroksit (OsO₄, % 99 PBS) ile 10 dak. post-fiksasyon işlemine tabi tutuldular ve daha sonra distile su ile 1 dakika yıkandılar. % 30, % 50, % 70, % 90 ve % 100 lük alkol (Ethanol) serilerinden 7.5 dakika geçirilerek dahidrate edilen hücreler CPD (Critical Point Dryer) işlemine tabi tutularak 200 angstrom kalınlığında altın ile kaplandılar. (Sputher Coating) (7).

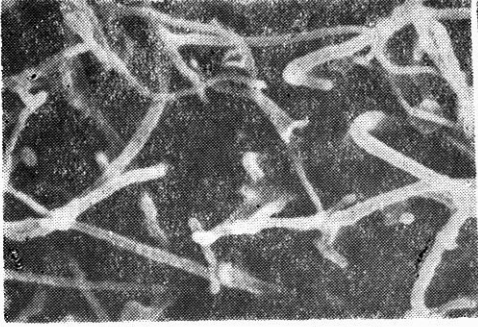
Preparatlar daha sonra scanning elektron mikroskop (CAM SCAN MK4) ile incelendiler (20 kV).

BULGULAR

Fötal dana serumu içeren ortamdaki myoblastların ortama konulduktan sonra bir gün içindeki incelemelerinde hücre yüzeyinin genelde oldukça düzgün olduğu gözlemlendi. Yüzeyde ince uzun mikrovilli yapısının arasında daha az miktarda kısa ve künt mikrovilli yapısının da bulunduğu saptandı (Resim D).

Fötal dana serumu içeren ortama deksametazon ilavesinden bir gün sonraki incelemelerde yüzey yapısını oluşturan mikrovillusların yaparaksı yapılara dönüştüğü gözlemlendi. Bunların arasında kısa künt

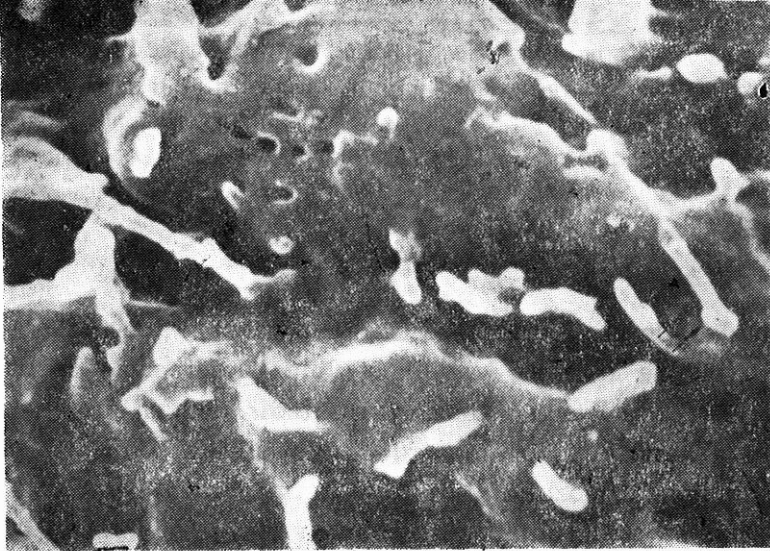
mikrovilli yapısında artış tespit edildi (Resim 2). Yine bazı myoblastların yüzeylerinde gruplaşmış çapları eşit olmayan küçük deliksi yapılar rastlandı (Resim 5).



Resim 1 : Fötal dana serumunda 1 gün sonra myoblast yüzeyi. Düzgün yüzey ve mikrovilli yapısı x 25000



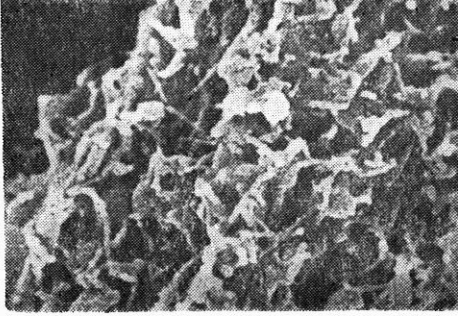
Resim 2 : Fötal dana serumunda deksametazondan bir gün sonra myoblast yüzeyinde yapraksı mikrovilli yapısı x 25000



Resim 5 : Fötal dana serumunda deksametazondan bir gün sonra yüzeydeki delikli görünüm (okla işaretli), ucu baloncuk yapmış mikrovillus (çift okla işaretli) x 25000

At serumu içeren kültür ortamında bir gün bekletilen myoblastlar incelendiğinde hücre yüzeylerinin bozulduğu dikkati çekiyordu. Hücre yüzeyi kıvrıntı, çıkıntı, kabartı, katlantı şeklinde görüntülerle kaplı idi. Ayrıca hücre yüzeyinde kısa, küntü mikrovilli yapısı da gözlemlendi (Resim 3).

At serumu içeren ortama deksametazon ilavesinden bir gün sonra myoblastların incelenmesinde hücre yüzeyinin pürüzlenme gösterdiği, kıvrıntı, çıkıntı, kabartı, katlantı şeklindeki yüzey bozukluklarının arttığı tespit edildi. Mikrovilli yapısının arttığı ayrıca bunların yapraksı mikrovilli şekline dönüştüğü ve apikal uçlarında balonsu yapılar oluştuğu gözlemlerimiz arasında idi (Resim 4).



Resim 3 : At serumunda bir gün sonra myoblast yüzeyi. Pürüzlü görünüm ve mikrovilli yapısı x 15000



Resim 4 : At serumunda deksametazondan bir gün sonra katlantı tarzında deformasyon (okla işaretli). Kısa, küntü mikrovilli (çift okla işaretli) x 30000

TARTIŞMA

Çalışmada her iki ortamda da deksametazon ilavesinden sonra hücre yüzeylerinde katlantı, kıvrıntı şeklindeki deformasyon belirtilerinin ileri derecede arttığı dikkati çekmektedir. Benzer bir çalışmada Linstead ve arkadaşları dexametazon kullandıktan sonra fibroblast yüzeylerinde benzer bozuklukları tespit etmişlerdir (7). Gene Bar. Sagi ve Feramisco çalışmalarında ras aktivitesinin membran bozukluklarına sebep olduğunu bildirmişlerdir (2). Bu çalışmada at serumu ortamdaki hücre yüzey yapısı gerek dexametazon ilavesinden evvelki

grup gerekse deksametazonlu grup fetal dana serumu ortamındaki hücrelerle kıyaslandığında daha fazla deformasyon göstermektedir. Bu durumda fetal dana serumu serumun myoblastlar için daha uygun bir ortam oluşturduğu kanaatini doğurmaktadır.

RNA ve protein ihtiyacının hücrelerde arttığı durumda hücrenin ortamdan madde alımını arttırmak için yüzeyde buna uygun yapı geliştirmesi beklenir. Hücre içine madde alımıyla ilgili membran özelliklerinin birisi mikrovilli yapısıdır (8). Özellikle dexametazon ilavesinden sonra mikrovilli sayısındaki artış yaprak şeklinde genişlemeler bu amaca yönelik yapı gelişmesini düşündürmektedir.

Hücre içine madde alımıyla ilgili bir özellikte pinositatik veziküllerdir (8). Bar, Sagi ve arkadaşları fibroblastlarla yaptıkları çalışmada Transmisyon elektron mikroskobu ile N-ras onkogeni taşıyan fibroblastların dexamethasone ilavesinden sonra sitoplazmalarında pinositatik veziküllerin arttığını gördüler (2). Bu çalışmada hücre yüzeyinde delik şeklindeki görüntüler ise micropinositoza ait membran özelliği kanaatini doğuruyorsa da bu konu henüz çalışmalara ve tartışmaya açıktır.

ÖZET

Hücreler fonksiyonlarına bağlı bazı yüzey özelliklerine sahiptir. Metabolizması değişen hücrelerin yüzeyinde de bazı değişiklikler beklenir. Bu çalışmada fareden elde edilen N-ras Onkogeni bağlanmış myoblastlar değişik kültür ortamlarında üretildi. Ortama deksametazon eklenerek değişik kültür ortamının ve deksametazonun etkileri sonucu hücrelerin yüzeylerindeki değişiklikler scanning Elektron Mikroskop ile incelendi. Değişik kültür ortamında üretilen hücrelerin yüzeylerinde bazı farklılıklar tespit edildi. Ortama deksametazon eklenmesinden sonra hücrelerin yüzeylerinde mikrovilli artışı yanı sıra düzensiz kıvrıntı, kabartı, katlantı gibi deformasyon özellikleri tespit edildi.

SUMMARY

Scanning Electron Microscopical Observations of the Effects of Dexamethasone in Surfaces of Myoblastic Cells

Cells have certain surface characteristics depending on their functions. When the metabolism of the cells changes, some differences on their surfaces are also expected. In this study, the myoblasts, given

N-ras oncogen were produced in different cultur media. Dexamethasone was added to the medium and the effects of media and dexamethasone on the surfaces of these cells were examined by a scanning electron microscopy. Certain differentiations were determined on the surface of cells grown in different cultur media. The increases of microvilli and some deformation characteristics such as ruffling and swelling were determined after adding dexamethasone to the cultur medium.

KAYNAKLAR

1. American type culture collection : Media hand book; cell culture media and reagent cell culture media formulations, American type culture collection catalogues, 1984.
2. Bar-Sagi D and Feramisco JR : Induction of membrana ruffling and fluid-phase pinocytosis in quiescant fibroblast by ras proteins, *Science*, 233 : 1061-1068, 1986.
3. Chardin P Touchot N Zaahraoni A Pizon V Lerosey I Olofsson B and Tavitian A : Structure and organization of the ras gene family in human, *Proceeding of a NATO advanced research workshop on ras oncogenes*, Plenum Press, Newyork, November : 1-9, 1989.
4. Freshney RI : *Culture of animal cells a manual of basis technique*, Second Edition, Alan R. Liss Inc., Newyork, 1987.
5. Gossett LA Zang W and Olson EN : Dexamethosone depend inhibition of diferantiation of C2 myoblasts bearing steroid- inducible N-ras oncogenes, *Journal of Cell Biology*, 106 : 2127-2137, 1988.
6. Hall A Morris JDH Price B Lloyd A Hancock JF Gardener S Houslay MD Wakelam MJO and Marshall CJ : The function of the mammalian ras proteins. *Proceeding of the NATO advanced research workshop on ras oncogenes*, Plenum Press, Newyork, November, 1-9, 1989.
7. Linstead P Jennings B Presscott A Hawley P Warn R and Gibson I : Scanning electron microscopy and the transformed phenotype, *Micron and Microscopica Acta*, 19 (3) : 155-162, 1988.
8. Weiss L : *Cell and tissue biology, A texbook of histology*, Sixth edition, Urban and Schwarzenberg, Inc., Baltimore, Munich, 1988.
9. Yaffe D and Saxel O. : Serial passaging and differential of myogenic cell isolated from dystrophic mouse muscle, *Nature*, 270 : 725-727, 1977.

LENFOİD DOKU RETİKÜLER HÜCRELERİ

Atilla Dağdeviren**

Ülken Örs*

Organizmayı antijen özelliğindeki her türlü yabancı organizma, doku ya da maddeye karşı koruma görevini üstlenen bağışıklık sistemi, vücutta dağınık olarak bulunan hücreler ile lenfoid organ ve dokulardan oluşmuştur. Kan ve lenfte serbest olarak dolaşan hücreler sistemin bütünlüğünü sağlarlar.

Lenfoid dokunun varlığına ait ilk bulgular, 1645'te Marko Severino tarafından, daha sonraki yıllarda Peyer plakları olarak tanımlanacak olan yapıların gözlemlenmesi ile elde edilmiştir. 1677'de Peyer bu yapılarla ilgili ilk ayrıntılı çalışmayı yapmış ve yaklaşık iki yüzyıl bunların mukus salgılanmasından sorumlu yapılar olduğuna inanılmıştır. 1687 yılında Malpighi dalak beyaz pulpasında daha sonra kendi adıyla da anılan lenf folliküllerini (folliculus lymphaticus) tanımlamıştır. Ondokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında Peyer plakları ve lenf düğümlerinde lenfosit çoğalmasıyla ilgili oldukları sanılan bazı bölgelerin bulunduğu anlaşılmış. Bruecke 1851 yılında bu bölgeleri sü-tümsü beyaz alanlar (milky white area) olarak bildirmiştir. 1862 yılında His lenf folliküllerindeki bu açık renkli alanları vakuol olarak tanımlamıştır (24).

Gözlenen yapıların işlevsel olarak bugünkü anlamda değerlendirildiği ilk çalışmalar 1884 - 85 yıllarında Flemming tarafından yapılmıştır (14,15). Mitotik aktivite gösteren bu yapıları «germinal merkez» olarak tanımlayan araştırmacı bunların geçici ve değişken yapılar olduğunu gözlemlemiş ve bildirmiştir. Konuyla ilgili bilgiler Hellman'ın 1921 - 1943 yılları arasında gerçekleştirdiği bir dizi araştırma ile geliştirilmiştir. Bu araştırmacı çeşitli antijenik toksinler enjekte edildiğin-

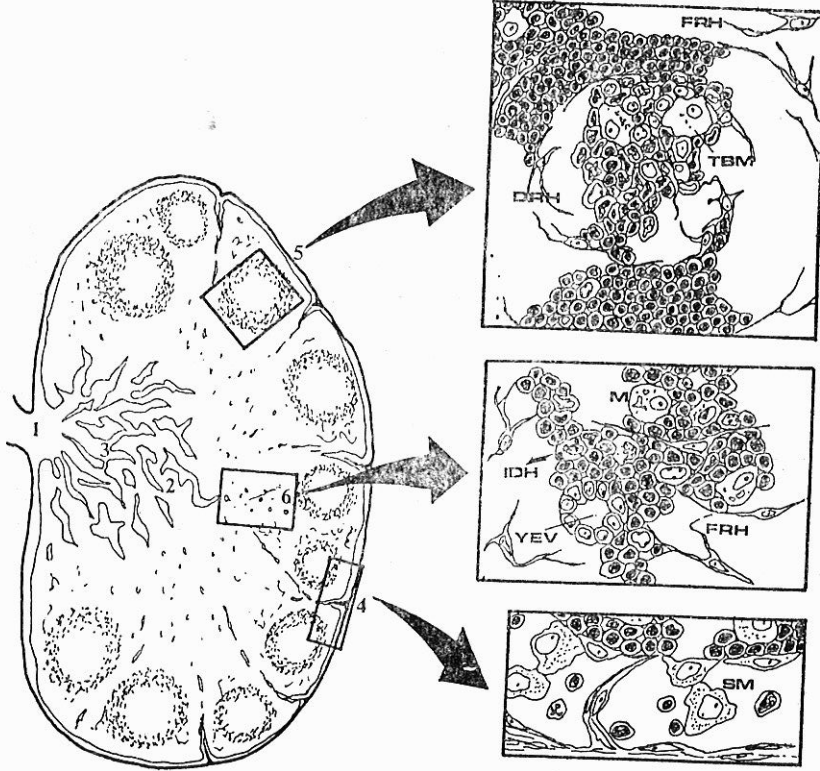
* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Profesörü.

** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı Yrd. Doçenti.

de germinal merkez oluşumunun hızlandırılabilceğini göstermiştir. Bu bulgu araştırmacının germinal merkez yerine reaksiyon merkezi teriminin kullanılmasının daha uygun olacağı savını ileri sürmesine neden olmuştur. 1936'da Sjövall'ın bulguları da bunu desteklemiştir (24, 34).

Atılan bu ilk adımlardan sonra lenfoid dokularla ilgili sayısız araştırma gerçekleştirilmesine karşın bağışıklık sistemi bugün dahi aydınlatılmayı bekleyen sırlarla doludur (5,23,34). Başlangıçta rutin ışık mikroskobu yöntemleriyle sınırlı olan histolojik araştırmalar, 1930'larda enzim histokimyası ve 1950'lerde elektron mikroskobu ve otoradyografik ve immunohistokimyasal yöntemlerin de kullanım alanına girmesiyle değişik bir boyut kazanmıştır. Doku ve hücre kültürü tekniklerinin geliştirilmesi ve bundan yararlanılarak hücre tiplerinin ayırt edilmesini sağlayan özgül monoklonal antikoların elde edilmesiyle lenfoid dokuları oluşturan lenfoid ve lenfoid diziye ait olmayan nonlenfoid hücrelerin pek çok alt gruplarının olduğu anlaşıldığı gibi, bunların doku içindeki dağılımlarının da bazı özellikler gösterdiği belirlenmiştir (1,2,5,10,12,13,16,17,21-23,26-31,34,36,37,40-43,45). Sistemi oluşturan hücrelerin çoğunun hareketli olması ve organizma içinde sürekli dolaşmaları nedeniyle bu hücre gruplarının işlevsel ilişkilerini açıklayabilmede monoklonal antikolarla yapılan çalışmaların tartışmasız çok büyük yeri ve önemi vardır. Radyoaktif ve immun işaretleyicilerle sürdürülen bu çalışmalar lenfoid hücrelerin dolanımıyla ilgili bilgiler vermenin yanı sıra ontogenetik çalışmalarda da önemli ipuçları elde edilmesini sağlamışlardır (4,8,9,24,33,34).

Bağışıklık yanıtının oluşması sırasında farklı hücre tiplerinin birbirlerinin işlevlerini yönlendirdikleri uzun yıllardır bilinmektedir (23, 27,30). Hücreler bunu doğrudan yapabildikleri gibi salgıladıkları bazı maddeler aracılığıyla da gerçekleştirmektedirler. Bu bulguların ortaya çıkması araştırmacıların dikkatini sistemin ana hücreleri olan lenfositlerin yanında nonlenfoid hücrelere (makrofaj ve retiküler hücrelere) çekmiştir. Son yirmi yılda konuyla ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. Gerek lenfositlerin gerekse nonlenfoid hücrelerin alt gruplarının ayırt edilmesine bağlı olarak lenfoid organların histolojik olarak ileri derecede bölmelenme (kompartmantalizasyon) gösterdikleri (Şekil 1) ve bunun lenfositlerin işlevleri açısından son derece önemli olduğu anlaşılmıştır (23,34).



Şekil 1 : Lenf düğümü histolojik bölmelerini ve daha büyük büyütmelerde bölgesel hücrelerini gösteren şematik resimdir.

1 : Hilus, 2 : Medülla kordonu, 3 : Medülla sinüzidi,

4 : Subkapsüler sinus ve yüzeyel korteks.

5 : Sekonder follikül, 6 : Derin korteks.

DRH. : Dendritik retiküler hücre,

TBM. : 'Tingible body' makrofajı,

FRH. : Fibroblastik retiküler hücre,

M. : Makrofaj,

IDH. : Interdigitating hücre,

YEV. : Yüksek endotelli venül,

SM. : Sinus makrofajı.

Önceleri retiküler hücrelerin lenfositlere dönüşebildikleri ve başlıca işlevlerinin lenfoid doku stromasının oluşturulması olduğuna inanılmaktaydı. Bu hücrelerle ilgili ilk değişik bilgiler, 1968'de Nossal ve arkadaşları tarafından antijen-antikör komplekslerinin lenf folliküllerinde lenfositler arasında dendritik biçimde tutulduğunun gösterilme-

siyle ortaya çıkmıştır (35). Bu bulguya dayanılarak yoğunlaştırılan çalışmalar sonucunda, immun komplekslerin folliküllerde yerleşik özel bazı hücrelerin zarlarında tutulduğu belirlenmiştir. Fagositoz yapma yeteneğinin olmadığı gösterilen bu hücreler bazı araştırmacılar tarafından yapısal özelliklerini tanımlar biçimde 'dendritik retiküler hücre' (DRH) olarak adlandırılmıştır (19,20,23,32,36). Diğer bir grup araştırmacı ise bu hücrelerin yerleşme yerlerini de belirten 'folliküler dendritik hücre' (FDH) adını benimsemişlerdir (9,24). Son yıllardaki çalışmalarda FDH'lerin enzim histokimyasal özellikleri ve ince yapıları ile ilgili çeşitli veriler elde edilmiş olmasına karşın bu veriler yine de sınırlı kaldığından bulgular immunohistokimyasal tekniklerle de desteklenmiş, farklı laboratuvarlarda bu hücreleri tanıyan monoklonal antikolar (R4/23, KiM4 vs) geliştirilmiştir (33,36). İnce yapı düzeyinde ancak çok ince hücre zarı katlantısı paketlerinden oluşmuş ince sitoplazmik uzantılarıyla tanınan bu hücrelerin ışık mikroskopunda tanımlanmasını kolaylaştıran yöntemler de geliştirilmeye çalışılmaktadır (1,6,7,32). Bugünkü veriler B-bağımlı alanların özgül retiküler hücreleri olan FDH'lerin lenf folliküllerinde B lenfositlerin ileri farklılaşması için uygun bir hücre ortam (microenvironment) oluşturduklarını ve büyük olasılıkla bellek (memory) hücrelerinin oluşumunda yardımcı olduklarını ortaya koymaktadır (23,30). FDH'lerin kökenleriyle ilgili araştırmaların verilerine göre henüz konu kesinlik kazanmamış olmasına karşın yaygın olan kanı bu hücrelerin yerel retiküler hücrelerden farklı olduğu yönündedir (9).

1970 yılında Veldman tarafından önde gelen özelliği yine sitoplazmik uzantıları olan ikinci bir retiküler hücre tanımlanmıştır (44). İlk yıllarda bu hücrelerle, FDH'lerin farklı hücreler olup olmadıkları belirlenmeye çalışılmış, yürütülen araştırmalarda elde edilen bulguların immunohistokimyasal verilerle de desteklenmesiyle bu ikinci hücre grubunun T-bağımlı alanlarda yerleşik farklı bir retiküler hücre türü olduğu saptanmıştır (43). Interdigitating hücre (IDH) ya da interdigitating retiküler hücre (IRH) olarak adlandırılan bu hücrelerin sitoplazmalarında, epidermisteki Langerhans hücrelerinin sitoplazmalarında tanımlanmış olan Birbeck granüllerinin görülmesi, iki hücre grubu arasında bir bağlantı olabileceğini düşündürmüştür (18,23). Derideki lenfatikler ve bu lenfatiklerin açıldığı lenf düğümlerinin subkapsüler (marjinal) sinüslerinde de göç eden benzer hücrelere rast-

lanması bu bağlantıyı güçlendirmiştir. Bu gözlemler işaretleme çalışmalarıyla da desteklenmiş ve bugün bu hücrelerin en azından aynı hücre dizinine (cell-lineage) ait hücreler oldukları bu nedenle IDH'lerin de kan monositlerinden köken alan yaygın mononükleer fagosit sistemin (Mononuclear phagocyte system=MPS) üyesi oldukları kabul edilmiştir (18,25). Fagositoz yapma yeteneklerinin normal koşullarda çok sınırlı olduğu belirlenen IDH'lerin, sitoplazmik uzantıları daha kabadır. İnce hücre zarı katlantıları izlenmez. IDH'lerin T-bağımlı bölgelere özgü retiküler hücreler oldukları, T-lenfositlerin gelişmesi için uygun bir hücresel ortam sağladıkları kabul edilmektedir (18,23).

FDH ve IDH'ler dışında retiküler hücre grubunda incelenen başka bir grup hücre, fibroblastik retiküler hücrelerdir. Gerek ince yapı gerekse enzim ve immunohistokimyasal özellikleri bakımından öteki dokuların fibroblastlarından farklı olmadıkları belirlenen bu hücreler, lenfoid dokuları iskeletini oluşturan retiküler liflerin yapımından sorumludurlar.

Açıklanan bu retiküler hücrelerle ilgili yoğun araştırmalar sürmektedir. Araştırmacılar tanımlanan bu hücrelerin yanında, yüzey antijen özellikleri farklı olan yeni retiküler hücre tiplerinin bulunabileceği konusunda bulgular bildirmektedirler. Ancak yalnızca yüzey antijenlerini tanıyan monoklonal antikorlarla yürütülen çalışmalar, konuyla ilgili pek çok değerli bilginin ortaya çıkmasını sağlamalarına karşın, yeni hücre tiplerinin ve bunların kökenlerinin ortaya konması için tek başına yeterli kabul edilmemektedir.

Bağışıklık sistemindeki yardımcı rolleri nedeniyle çoğu araştırmacı tarafından özellikle sabit olan türleri retiküler hücre grubu içinde değerlendirilen makrofajlar da, lenfoid dokuların lenfositler ve retiküler hücrelerle birlikte önemli bir başka grubunu oluşturmaktadırlar. Tipik makrofaj ince yapı özelliklerini gösteren sabit makrofajlar histiyositik retiküler hücreler olarak adlandırılmışlardır. Bunların lenf folliküllerinde yerleşmiş olanları, sitoplazmalarındaki sindirilmiş lenfositlere ait kromatin artıkları nedeniyle 'tingible body' (Boyanabilen cisim) makrofajları (TBM) olarak tanımlanmışlardır. Bugün makrofajların fagositoz işlevlerinin yanı sıra antijenleri lenfositlerin tanıyabilecekleri biçimde olgunlaştırdıkları ve antijen sunucu hücreler ola-

rak bağışıklık yanıtının gerçekleşmesinde önemli bir görevi üstlendikleri bilinmektedir. Lenfoid dokularda gerek yerleşimleri ve gerekse immunhistokimyasal özellikleri farklılıklar gösteren pek çok makrofaj alt grubu tanımlanmıştır. Sinüs makrofajları, medulla makrofajları, marjinal bölge makrofajları, tingible body makrofajları bunların başlıcalarıdır.

Lenfositlerin çeşitli lenfoid doku bölgelerindeki işlevlerinin tanımlanan bu retiküler hücre grupları ve makrofajlar tarafından denetlendiğine ait pek çok yeni bulgu elde edilmiştir ve edilmektedir. Örneğin, dalak dışında çoğu lenfoid organa özgü yapılar olarak tanımlanan yüksek endotelli venülleri (post kapiller venül=PKV) döşeyen endotel hücrelerinin de özel reseptörler aracılığıyla lenfosit göçünde önemli belirleyici rollerinin olduğu saptanmıştır (3,38). Özel histolojik görünüşleriyle kolayca tanınan bu damarların işlevlerini komşu lenfositler ya da retiküler hücrelerin yardımıyla gerçekleştirdikleri düşünülmektedir.

Histolojik gözlemlerden yola çıkılarak başlatılan ve derinleştirilen bu araştırmalarda elde edilecek yeni bulgular bağışıklık sisteminin işlevini aydınlatılabilir de kuşkusuz önemli bir yer tutacaktır.

ÖZET

Lenfoid doku retiküler hücrelerinin stroma oluşturmanın yanı sıra bağışıklık sisteminde önemli işlevleri yerine getirdikleri bilinmektedir. Son yıllarda ayrıntılı tanımlamaları yapılan bu hücrelerden folliküler dendritik hücrelerin (FDH) B-bağımlı alanlarda; interdigitating hücrelerin (IDH) T-bağımlı alanlarda yerleştikleri ve lenfositlerin, ileri farklanmaları için uygun hücre ortamı oluşturdukları kabul edilmektedir. Makrofajlar ve retiküler hücre gruplarının aynı zamanda bağışıklık yanıtının oluşabilmesi için antijenleri olgunlaştırarak lenfositlere tanıyabilecekleri biçimde sundukları saptanmıştır. Çeşitli lenfoid organların belirli bölgelerinde yerleşmiş olan bu lenfoid ve yardımcı (nonlenfoid) hücrelerin, sistemin çalışmasında çok önemli rolleri üstlendikleri konusundaki kanı ortaya çıkarılan yeni verilerle her gün biraz daha güçlenmektedir.

SUMMARY**(Reticular Cells of Lymphoid Tissue)**

In addition to the formation of the stroma, reticulum cells of the lymphoid tissues are known to have specific functional roles in the immune system. Among these recently identified reticulum cells it is generally accepted that follicular dendritic cells (FDC) of the B-dependent areas and interdigitating cells (IDC) of the T-dependent areas form a special microenvironment for the further differentiation of B and T lymphocytes respectively. As the macrophages these cells also act as antigen processing and presenting cells during the generation of immune response. There is a growing evidence for the interaction between specific lymphoid and nonlymphoid cell populations of certain compartments of lymphoid organs arising from recent works.

KAYNAKLAR

1. Beckstead JH : Evaluation of human lymph nodes using plastic sections and enzyme histochemistry. *Am. J. Clin. Pathol.* 80 : 131-139, 1983.
2. Van der Berg TK Döpp EA Breve JJP Kraal G Dijkstra CD : The heterogeneity of the reticulum of rat peripheral lymphoid organs identified by monoclonal antibodies. *Eur. J. Immunology* 19 : 1747-1756, 1989.
3. Berg EL : Homing receptors and vascular addressins : Cell adhesion molecules that direct lymphocyte traffic. *Immunological Rev.* 108 : 5-18, 1989.
4. Brooks CF Moore M : Differential MHC class II expression on human peripheral blood monocytes and dendritic cells. *Immunology* 63 : 303-311, 1988.
5. Chen LL Adams JC Steinman RM : Anatomy of germinal center in mouse spleen, with special reference to follicular dendritic cells. *Cell Biology* 77 : 148-164, 1978.
6. Crocker J Hopkins M : Histiocytic and dendritic reticulum cells shown by a ZIO technique. *J. Clin. Pathol.* 37 : 620-627, 1984.
7. Dağdeviren A : Lenfoid doku retiküler hücrelerinin çinko iyodit-osmiyum tetroksit yöntemiyle ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi. *Uzmanlık tezi. H.Ü. Tıp Fak. HistolojiEmbriyoloji Bilim Dalı*, 1986.
8. Dijkstra CD Dopp EA : Ontogenetic development of T-and B-lymphocytes and nonlymphoid cells in the white pulp of rat spleen. *Cell Tissue Res.* 229 : 351-363, 1983.

9. Dijkstra CD Kamperdijk EWA Dopp EA : The ontogenetic development of the follicular dendritic cells. An ultrastructural study by means of intravenous injected HRP-anti-HRP complexes as marker. *Cell Tiss. Res.* 236 : 203-206, 1984.
10. Dijkstra CD Dopp EA Joling P Kraal G : The heterogeneity of mononuclear phagocytes in lymphoid organs : Distinct macrophage subpopulations in the rat recognized by ED1, ED2 and ED3. *Immunol.* 54 : 589-599, 1985.
11. Dijkstra CD van Res EP Dopp EA : Ontogeny of rat macrophages and dendritic cell of the rat. *Adv. Exp. Med. Biol.* 237 : 731, 1988.
12. Eikelenboom P : Dendritic cells in the rat spleen follicles. *Cell Tiss. Res.* 190 : 79-87, 1978.
13. Erb P et al : Heterogeneity of accessory cells. *Immunobiol.* 168 : 141-153, 1984.
14. Flemming W : Studien uber regeneration der gewebe. *Arch. Mikrosk. Anat* 24 : 50, 1885a.
15. Flemming W : Studien uber die zell vermehrung in den lymphoiden drusen. *Arch. Mikrosk. Anat.* 24 : 335, 1885b.
16. Friess A : Interdigitating reticular cells in the popliteal lymph nodes of rat : **An ultrastructural and cytochemical study.** *Cell Tiss. Res.* 170 : 43-60, 1976.
17. Fossum S Ford WL : The organization of cell populations within lymph nodes, life history functional relationships *Histopathology* 9 : 469-499, 1985.
18. Van Furth R : Current view on the MPS. *Immunobiol.* 161 : 178, 1982.
19. Gerdes J Stein H : Complement (C3) receptors on dendritic reticular cells of normal and malignant lymphoid tissue. *Clin. Exp. Immunol.* 48 : 348-352, 1982 .
20. Gerdes J Stein H Mason DY Ziegler A : Human dendritic reticular cells of lymphoid follicles : Their antigenic profile and their identification as multinucleated giant cells. *Virch. Arch. (CP)* 42 : 161-172, 1983.
21. Grey HM : Mechanisms of antigen processing and presentation. *Immunobiol.* 168 : 202-212, 1984.
22. Groscurth P : Nonlymphatic cells in the lymph node cortex of the mouse. *Path. Res. Pract.* 169 : 212-234, 1980.
23. Humphrey JH : Microenvironments in haemopoietic and lymphoid differentiation. *Ciba Foundation Symposium* 84. Pitman. p : 236-335, 1981.
24. Humphrey JH Sundaram V : Origin and turnover of follicular dendritic cell and marginal zone macrophages in the mouse spleen. *Adv. Exp. Med. Biol.* 186 : 167-170, 1985.
25. Katz I.S. Tamaki K Sachs DH : Epidermal lymphatic cells originating in bone marrow. *Nature* 282 : 324-327, 1979.
26. Katz DR : Differences in accessory cell functions. *Immunobiol.* 168 : 134-140, 1984.
27. Klaus GGB Humphrey JH Kunkl A Dongworth DW : The follicular dendritic cells : Its role in antigen presentation in the generation of immunological memory. *Immunological Rev.* 53 : 3-27, 1980.

28. Kelly RH et al : Functional anatomy of lymph nodes II : Peripheral lymphborne mononuclear cells. *Anat. Rec.* 190 : 5-21, 1978.
29. Klinkert WEF la Badiğ JH Bowers WE : Accessory and stimulating properties of dendritic cells and macrophages isolated from various rat tissue. *J. Exp. Med.* 156 : 1, 1982.
30. Mandel TE Phipps RP Abbot A Tew JG : The follicular dendritic cells : Long term antigen retention during immunity. *Immunological Rev.* 53 : 28, 1980.
31. Milicevic NM Milicevic Z Colic M : Ultrastructural study of germinal center macrophages in peripheral lymphoid organs of the rat. *Anat. Anz. Jena.* 170 : 39-47, 1990.
32. Muller-Hermelink HK : Characterization of the B-cell and T-cell regions of human lymphoid tissue through enzyme histochemistry. Demonstration of ATPase and 5-nucleotidase activities. *Virch. Arch. (CP)* 16 : 371-378, 1974.
33. Naiem M Gerdes J Abdulaziz Z Stein H Mason DY : Production of a monoclonal antibody reactive with human dendritic reticulum cell and its use in the immunohistological analysis of the lymphoid tissue. *J Clin Pathol* 36 : 167-175, 1983.
34. Nieuwenhuis P Opstelten D : Functional anatomy of germinal center. *Am J. Anat.* 170 : 424-435, 1984.
35. Nossal GJV Abbot A Mitchel J Lummus Z : Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. *J. Exp. Med.* 127 : 277-289, 1968.
36. Parwaresch MR Radzun MJ Hansmann ML Peters KP Monoclonal antibody K1-M4 specifically recognizes human dendritic reticulum cells (Follicular dendritic cells) and their possible precursor in blood. *Blood* 62 : 585-590, 1983.
37. Von Rees EP Dopp EA Dijkstra CD Sminia T : The postnatal development of cell population in the rat popliteal lymph node *Cell Tiss. Res.* 242 : 391-398, 1985.
38. Roska AK : Immunoregulation by vascular endothelial cells *Immunobiol.* 168 : 470-482, 1984.
39. Steinman RM Cohn ZA : Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J. Exp. Med.* 137 : 1142-1162, 1973.
40. Takeya M Hsiai L Shimokawa Y Takasahi K : Heterogeneity of rat macrophages recognized by monoclonal antibodies : An immunohistochemical and immunoelectron microscopic study. *J. Histochem. Cytochem.* 37 : 635-641, 1989.
41. Tew JG Thorbecke J Steinman JM : Dendritic cells in the immune response : Characteristics and recommended nomenclature. *J. Reticuloendothelial Soc.* 31 : 371, 1982.

42. van der Valk P van der Loo EM Jansen J Daha MR Meier JCLM : Analysis of lymphoid and dendritic cells in human lymph nodes, tonsil, spleen. A study using monoclonal and heterologous antibodies. *Virch. Arch. (CP)* 45 : 169-185, 1984.
43. Veerman AJP van Ewijk W : White pulp compartments in the spleen of rats and mice. A light and electron microscopic study of lymphoid and non-lymphoid cell types in T and B areas. *Cell Tiss. Res.* 136 : 417-444, 1975.
44. Veldman JE : Histophysiology and electron microscopy of the immune response. Thesis. Groningen Boekdrukkerij Dijkstra-Niemeijer, 1970.
45. Villena A Zapata A Rivera-Pomar JM Barrutia MG Fonfria J : Structure of non-lymphoid cells during the postnatal development of the rat lymph nodes. *Cell. Tiss. Res.* 229 : 219-232, 1983.

İN VİTRO FERTİLİZASYON'A GENEL BİR BAKIŞ

Nadir Çıray*

İnsan vücudunun dışında oluşan ilk bebek olan Louise Brown, Temmuz 1978'de doğduktan, 1987 yılına kadar, 6.000 klinik gebelik sonucuna gelindi (6).

IVF süreci üç tekniğin bileşiminden oluşur :

- 1 — Birçok oosit elde edebilmek için ovülasyon indüksiyonu,
- 2 — Laboratuvarda oositlerin döllenişmesi ve erken embriyoların geliştirilmesi,
- 3 — Embriyoların rahim içine transferi (embriyo transferi : ET).

Bu basamaklardan herhangi birinden kaynaklanan sorunlar, IVF programının başarısını düşürecektir.

IVF programına alınan hastalar, önceleri Fallop tüpleri hasarına bağlı sekonder infertiliteli çiftlerdi. Günümüzde bu programa en sık alınan ve en başarılı sonuç veren grup da tubal infertilitelilerdir. Gerçekte kapalı Fallop tüplerinin açılmasına ilişkin ilk cerrahi yaklaşım, 1895'de Morris adlı bir Amerikalı tarafından over dokusunun rahim içine greftlenmesiyle uygulanmıştır (4). Sonraları, 1922'lerde bu cerrahi yaklaşımın modifiye şekilleri, Estes operasyonu olarak anılmaya başlanmıştır. Son 40 yıldır bu operasyon gene moda olmuştur. Günümüzde bu metodu IVF'e tercih eden merkezler vardır.

Tubal infertilite, artık IVF için tek endikasyon olmaktan çıkmış, buna, nedeni açıklanamayan infertilite, hafif endometriozis ve zayıf semen kalitesi gibileri eklenmiştir (Tablo 1).

Bazı otörler IVF prosedürünün infertil çiftlerde son çare olarak kabul edilmesinden yakınmaktadırlar (3). Gerçekten de koca spermikle tekrarlanan suni dölleniş (AIH), tüplerin mikrocerrahisi ve hatta işi zamana bırakmak gibi yöntemlerden fayda umanların sa-

* A. Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalında Uzman Doktor

Tablo I : IVF Endikasyonları

Endikasyon	Döllenen Yumurta Oranı (%)
Tubal	95.2
İdiopatik	85.2
Erkek infertilitesi	58.3
İmmünolojik	90.0
Endometriozis	85.7
Servikal nedenli	91.3
Diğer	93.2

yısı az değildir. Doğal olarak olduğu gibi, IVF programında da gebelik oranı, 35 yaşın üzerinde oldukça düşmektedir. Dolayısıyla IVF merkezleri, hasta seçiminde çeşitli kriterleri gözönüne almak zorundadırlar (Tablo II).

Tablo II : Hasta Seçiminde Norfolk Laboratuvarı Endikasyonları.

1. Genel olarak sağlıklı bir çift (evli)
2. Cerrahi operasyona uygun overler
3. Normal fonksiyon gören bir rahim
4. Normal yada düzeltilebilir menstrual fonksiyon
5. 40 yaşın altında olmak
6. Düzeltilecek bir problem. (bkz. Tablo I)

KLİNİK UYGULAMALAR : OVULASYON İNDÜKSİYONU

Patrick Steptoe ve Dr. Robert Edwards'ın çalışmalarının sonucu 1978'de doğan ilk IVF bebeği, bir spontan (doğal) siklusun ürünü idi. Daha sonraları spontan sikluslarla varolan zorluklar, otörlerin IVF'de stimülasyonun gerekliliğine inanmalarına yol açtı. 1981'de Trounson ve arkadaşları, ilk defa stimüle siklusu başarıyla uyguladılar (=ovulasyon indüksiyonu).

Günümüzde insan IVF'inde başarının artımı, büyük oranda over uyarımının sağlanmasında uygulanan metodların gelişimine bağlıdır.

IVF - ET için ovulasyon indüksiyonunda üç amaç vardır (2) :

- 1 — Mümkün olduğunca fazla oosit elde etmek; birçok otör 3 ya da 4 embriyo elde etmenin takip eden basamaklarda gebelik oranını artırdığını ispatlamıştır,

- 2 — Oosit olgunluğunda asenkronizasyondan kaynaklanan başarısızlığı minimale indirmek; uyarılmış ya da doğal bir siklusta, follikül havuzundan olgunlaşacak oositler değişik fazlarda olurlar. Sorunun endojen gonadotropik aktiviteden kaynaklandığı ileri sürülmektedir.
- 3 — Elde edilen oositlerin iyi kalitede olmasını sağlamak, dejenere ve atretik oositlerin miktarını düşürmek.

Ovulasyon indüksiyonunun neden olduğu follikül asenkronizasyonu, değişik büyüklük ve olgunluktaki folliküllere sebep olur. Daha büyük bir follikülde daha olgun bir oositin bulunacağı tezi doğru değildir (2). Optimum ovum kalitesi yumurtanın iyi döllenebilme ve gelişimine rahim içinde devam edebilme karakterine sahip olması demek olduğuna göre, ovum kalitesini geliştirmek en önemli bir faktördür.

Oosit toplanması sırasında başlıca üç tip yumurta elde edilir; olgun olmayan, ara ve olgun. Bu sınıflandırma, korona ve kumulus hücrelerindeki musifikasyon ve yayılıma göre yapılmıştır. Çünkü ooplasm ve perivitellin mesafe direk olarak incelenemez. Olgun olmayanlar birkaç sıkı korona ve kumulus hücre tabakasına sahipken, olgunlaşma ile korona ve kumulus hücreleri yayılır ve sperm geçişine imkan tanırırlar. Dr. DeCherney, Yale protokolünde % 6 olgun olmayan, % 66 ara ve % 28 olgun ovum toplandığını belirtiyor (2). Trounson ve ark. 1982'de, Veeck ve ark.'da 1983'de preovulatuvar (ara ve olgun) oositlerin, spermatozoa ile karşılaştırılmalarından önce 6 saat inkübe edilmelerinin, dölllenme oranlarını yükselttiğini ileri sürdüler. Öte yandan bu süre olgunlaşmamış oositler için 24 saattir. Korona ve kumulus hücrelerinin uzaklaştırılmasından sonra, oosit sınıflaması yapılabilir. Bu durumda germinal vezikül olgunlaşmamış bir yumurtayı, bu vezikülün parçalanması ara fazı ve kutup cisimciğinin atılması ise olgun bir yumurtayı belirtir.

OOSİT TOPLANMASI :

Uyarılmış bir siklusta, ilk amacın gelişimini tamamlamış maksimum sayıda oosit toplamak ve aynı zamanda, çok sayıda follikülün büyüme ve gelişiminden doğan asenkroniyi minimale indirmek olduğunu belirtmiştik. Prensip olarak bunu sağlamak siklusun erken folliküler fazında, yani negatif feed-back mekanizmasının FSH düzeyini aşağıya çekmesinden önceki 4. - 5. günlük «FSH penceresi» denen zamanda, yüksek FSH düzeylerine çıkabilmekle başarılabilir (7).

Öyle görünmektedir ki, FSH penceresi sırasında yapılacak hiperstimulasyonlar, birçok follikülleri değişik safhalarda gelişime başlatacak, bu da asenkroniyi arttıracaktır. Asenkroni ne kadar geniş olursa, folliküllerdeki oositler için o kadar farklı endokrin çevre oluşacak, bu da, o kadar farklı dölleme, yarıklanma ve implantasyon oranları ile bunlara sebep sayılabilecek hasarlı veya asenkron bir luteal çevreye yol açacaktır. Hangi protokol kullanılırsa kullanılsın, oosit toplanması sırasında üç ya da dört, 16-18 mm çapında yumurta elde edilmelidir. Oosit toplanması, HCG verimini takiben 34-36. saatlerde, ya da idrar LH yükselmesini takiben 26-28. saatte yapılmalıdır. Protokol mükemmel bile uygulansa, oosit toplanma zamanlaması da çok iyi olsa, bazı oositler gene de asenkron olacaktır, bundan dolayı son olgunlaşma için, inseminasyondan önce bir miktar inkübe edilir.

Günümüzdeki verilere göre (4) toplanan oositlerle dölleme oranı çoğu programla % 70-80 dolaylarındadır. Gebelik oranlarındaki % 16-20 oranı ise embriyo transferi sırasındaki kayıplara bağlanmaktadır.

Oosit toplanmasında dört faktör gözönüne alınmalıdır :

- 1 — Folliküllerden mümkün olan en çok sayıda oosit toplamak,
- 2 — Oosit çevresine minimal hasar vermek,
- 3 — Hasta riskini minimale indirmek,
- 4 — Kullanılan teknik basit ve ucuz olmalıdır.

Laparotomi ile oosit toplanması, morbiditesi ve daha üstün tekniklerin gelişmesi nedeniyle, kısıtlı bazı endikasyonların dışında kullanılmamaktadır. Günümüzde, laparoskopi ya da ultrason gözleminde oosit aspirasyonu en sık kullanılan metodlardır.

Laparoskopi eşliğinde aspirasyon endikasyonları açısından da bazı sınırlamalar vardır; şiddetli pelvik yapışıklığı olan vakalarda kullanılamaz. Oysa IVF/ET programına dahil olan vakaların çoğu önceden çeşitli pelvik operasyonlar geçirmiş ve bu özelliğe sahip vakalardır. Üstelik laparoskopik hâlâ invaziv bir metod sayılıp, genel anestezi gerektirmektedir. Bu nedenle ultrason eşliğinde aspirasyon yöntemi geliştirilmiştir.

Ultrason eşliğinde aspirasyonda iğne yerleşimi üç yoldan olur :

- 1 — Transvezikal yol : abdominal bir transduser ile,
- 2 — Transvajinal yol : abdominal veya vajinal bir transduser ile,
- 3 — Transuretral yol : abdominal bir transduser ile.

Transvezikal yol, lokal ya da spinal anestezi ile yapılır. Mesane 300-500 ml FTS ile doldurulur. Aspire edilecek follikül yerleşimi saptanır, ultrason ile en iyi kalitede görüntü sağlanır. Transduser aspirasyon hattının, follikülün en büyük çapını çaprazlayacak şekilde ayarlanır. Aspiratör kontrol edildikten sonra, iğne hızla ve kuvvetlice mesaneye sokulur, ultrason ile iğne takip edilir. İğne follikül yüzeyine getirilir. Folliküle hızla batırılır, hemen aspirasyona başlanır, bu sırada iğne daire şeklinde ve yukarı aşağı hareket ettirilir. Sabit emiş devam ederken, iğne hızla çekilir ve medium ile çalkalanır.

Follikül içi küretaj, teflon tüpe kanlı sıvı gelene kadar devam ettirilmelidir. Ancak follikül sıvısı kanlanmadan önce alınacak bir miktar sıvı, embriyolojistin işine yarayacaktır. 8 mm'yi geçen her follikül, birer birer aynı yöntemle aspire edilmelidir. Aspire edilen folliküller sıvı hemen tetkik edilmeli, eğer hiç oosite rastlanmazsa, tekrar girilmelidir. İşlem follikülün içi kanla dolana kadar sürdürülmelidir. Transvezikal yol ile başarı oranı % 70-90 arasındadır. Hasta karın içi kanama yada hematürinin kontrolü açısından operasyondan sonra 2-3 saat hastanede tutulur.

Transvajinal yolda, aspirasyon vajina yolu ile yapılır. Avantajı, daha kısa bir mesafe katedilmesi ve mesanenin önceden doldurulmasına ihtiyaç olmamasıdır.

Transuretral yol, gene abdominal bir transduser ile ve dolu bir mesane ile yapılır. İğne mesaneye bu kez uretra yolu ile ulaştırılır. Bu yöntemin avantajı, ultrason ile iğnenin kolay görülür olmasıdır. Zorluğu ise, tecrübeli bir el gerektirmesi ve rahimin arkasında kalan ya da pelviste çok yukarılarda yerleşik overlere ulaşamamasıdır.

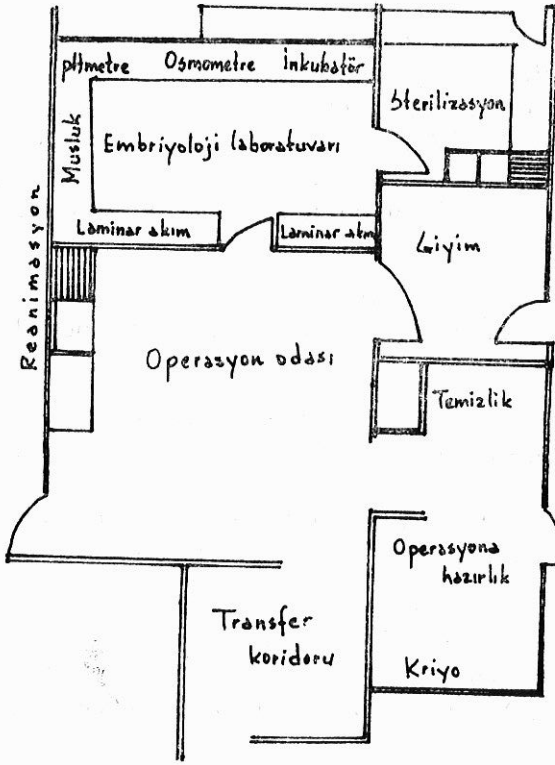
IVF programına alınan hasta önceden herhangi bir nedenle tubal cerrahi geçirmiş, yada şüphelenilen bir tubal hastalığı olmuş ise, oosit toplanmasına geçilmeden önce bir kez laparoskopiye tabi tutulmalıdır. İleride ektopik gebelik riskine girilmemesi açısından bu tetkik çok önemlidir.

IVF LABORATUVARI :

IVF laboratuvarına ilk gerekli olan iyi bir embriyolojistir. Çünkü yukarıda da bahsedildiği gibi, yüksek bir gebelik oranı, iyi kalitede birkaç oosit ile mümkündür ve bu kalite değerlendirmesini de iyi bir embriyolojist yapabilir. Zira günümüzde oosit kalitesini değerlendirme kriterlerinde, klinik bulguların (östrojen değerleri) morfolojik bul-

gular kadar iyi sonuç vermediği anlaşılmıştır. Embriyolojist, gereğinde henüz olgunlaşmamış oositleri saptayarak, koca spermeleriyle inseminasyona geçmeden 6 - 8 saat daha inkübasyona karar verebilir.

Programın başarısı laboratuvar koşullarıyla da çok ilgilidir. En iyi IVF laboratuvarı, kültür odasının veya embriyoloji laboratuvarının, cerrah ile embriyolog arasında direk sözlü ve görsel temasına imkan verecek şekilde, operasyon odasının komşuluğunda olduğu şekildedir (Şekil 1). Diğer bir deyimle IVF laboratuvarında oosit, follikül ve kültür plağı arasında, embriyo da kültür plağı ile hasta arasında en kısa mesafeyi katetmelidir.



Şekil 1 - IVF laboratuvarının şeması

Laboratuvar, değişik tipte mikroskop sistemleri ve kontrollü inkübasyon sistemleri içermelidir. Çoğunlukla yumurta, sperm ve embriyo kültüründe standart herhangi bir ısı kontrollü CO₂ inkübatorü yeterlidir. Kullanılan gaz karışımı çoğunlukla 90 % nitrojen, 5 % CO₂ ve 5 % O₂ şeklindedir. Bazıları ise 5 % CO₂ - hava karışımını kullan-

makta ve diğerlerinin gereksiz ve masraflı olduğunu söylemektedirler (4). Oositin folliküler sıvı aspiratında kolay ve çabuk görülebilmesi çok önemli olduğundan, diseksiyon mikroskobu gerekecektir. Oosit görüntülenmesinde 5-50 arası büyütme yeterlidir. Oositlerin olgunlaşmanın değişik fazlarında olmaları, oosit olgunluğunun tespiti açısından sitoplazmik yapıların kolay görüntülenmesini, dolayısıyla da faz-kontrast mikroskobunu gerektirir. Semen ayırımından önce ve sonra değerlendirilmesi ve sayımı açısından ışık mikroskoba ihtiyaç vardır. Laboratuvarında laminar hava akımı sistemleri gereklidir, ancak mikroskop sistemlerinin bu akım içinde olmaması lazımdır. Çünkü bu akım, ısıyı düşürerek kültür ortamındaki oosit kalitesini bozabilir. Sperm ayırımı için, değişik hızda santrifüjlere ihtiyaç vardır. Diğer ihtiyaçlar arasında medium osmolaritesinin kontrolünde kullanılacak osmometre, pH kontrolü için pH metre ve çeşitli plastik malzeme sayılabilir.

Kullanılacak media için bir sınıflama yoktur. Çeşitli merkezler değişik media kullanmaktadır (Tablo III). Media içeriği açısından en önemlisi kullanılan suyun saflığıdır. Çoğu merkezler 2-5 kez distile edilmiş deiyonize su kullanırlar. Herhangi bir kültür mediumu için en önemlilerinden biri, kalite kontrol tayınidir. Bu açıdan en basit

Tablo III : IVF'de Kullanılabilen Kültür Media'sı.

Earle'ün Dengeli Tuz Solüsyonu	Hoppe ve Pitts
Ham'ın F - 10	B ₂ (Menezo)
B ₃ (Menezo)	Modifiye T ₆
CMRL 1066	HTF (Quinn, Warnes)
Tyrode'ün (ve modifiye şekilleri)	

test, sperm yaşam sürdürmesidir. İnsan spermatozoası yıkandıktan sonra kültüre alınır, 72 saat süresince spermin yaşamını ve motilitesini devam ettirmesi, kültür mediumunun oosit-embriyo kültürüne uygun olduğunu gösterir. Kimi otörlerde, in vivo döllendirilen fare embriyolarının iki hücreli dönemde alınıp, 96 saat kültür ortamında blastosist oluşumunun gözlenmesini önerdiler.

Mediumun besin kaynağı içerdiği protein ile ilişkilidir. Protein kaynağı hasta serumu olabileceği gibi (4), fetal kordon serumu da olabilir. Birinin diğerine üstünlüğü kanıtlanmamıştır (7). Fetal kordon serumu üzerinde yapılan fraksinizasyon çalışmaları, tek hücreli embriyolarda 1000-5000 mol. a.g. arası proteinlerin destekleyici, 1000'-

den az ve 30.000'den fazla mol.ağ.lı proteinlerin ise inhibitör etkili olduklarını göstermiştir (7). Kültür mediumu içinde ayrıca sodyum piruvat, penisilin, sodyum bikarbonat gibi maddeler çeşitli oranlarda bulunabilir (4).

OOSİT-SPERM KÜLTÜR TEKNİKLERİ, İN VİTRO BÜYÜME VE EMBRİYO TRANSFERİ :

Operasyonda alınan follikül sıvısı özel toplama havuzları ile laboratuvara getirilip, petri plağına boşaltılır.

IVF kültür prosedürlerinde ilk basamak, elde edilen folliküler sıvı aspiratında preovulatar oositi saptamaktır. Folliküler sıvı alımı ve kumulus - korona oosit kompleksini ayırmada çeşitli teknikler vardır. Folliküler aspiratı alır almaz 1 - 2 ml'lik parçalar halinde kültür tabakalarına ayırıp, düşük büyütme diseksiyon mikroskobu ile taramak bir yöntemdir. Görüntülenen kumulus kompleksleri, içlerinde oosit olup olmadığını saptamak için yüksek büyütmede gözlenir. Oosit varsa, tabaktan folliküler sıvı uzaklaştırılır. Bu işlem, folliküler sıvının uzaklaştırılması sırasında oosit-kumulus kompleksinin bu sıvı ile yıkanması ve petri plağı içindeki bir kültür damlasına «döllene mediyumu»nun yerleştirilmesi şeklinde olur. Petri plağı 37°C'deki bir ısıtıcı tabaka üzerinde olmalı ve bir ters filtre bacası ile gaz faz sağlanmalıdır. Yıkama mediyumu yada folliküler sıvının ısıtıcı tabaka üzerinde parafin ile kaplanmadıkça bırakılmamasına dikkat etmelidir, aksi halde buharlaşma ile osmolarite artacaktır. Bu işlem kumulus - korona kompleksinde gerilmeye neden olur. Kumulus kitlesi gerilince, korona hücreleri üzerine odaklaşma gerçekleştirilebilir ve I. kutup cisimciğini içeren II. metafaz oositi görüntülenebilir. İlk görüntüleme kullanılan petri plaklarının altı, oosit varsa işaretlenir, böylece diseksiyon mikroskobundan ters faz-kontrast mikroskoba geçilirken tanınır.

Bundan sonra oosit sınıflaması yapılır. Çeşitli yöntemlerin kullanıldığı bu basamakta çoğunlukla sitoplazmik olgunlaşma gözlenir. Kumulus kitlesinin yaygınlığına göre yapılacak sınıflama kullanılan protokoldeki ilaçlara göre değişeceğinden yanlış olabilir. Oysa sitoplazmadaki germinal vezikülün yada I. kutup cisimciğinin faz-kontrast mikroskobu ile saptanması, daha kesin bir yöntemdir. Sitoplazmanın,

korona-kumulus kompleksinin kalınlığı ya da yayılmaması nedeniyle seçilemediği durumlarda hyaluronidaz enzimi dilue edilerek kullanılabilir. Oosit 300 IU/ml Ham'ın mediumu, 7.5 % serum ve hyaluronidaz içeren solüsyonda, Pasteur pipeti ile çekilip bırakılarak bu işlem yapılır. 60 saniye içinde, hücreler ayrılmış olur.

Oositler bu işlemlerle sınıflandırıldıktan sonra, iki kez yıkayıp kültür mediumunu içeren dölleme plaklarına alınır. Aspirasyondan bu basamağa kadarki işlemler 60 - 90 saniye sürer. Kısa gibi görünen bu süre yeterlidir çünkü oosit folliküler sıvının ya üst 1 ml'lik kısmında yüzer yada dibe çöker. Eğer her ikisinde de yoksa diğer kısımların hızlıca taranması gerekir (4).

IVF programına başlarken, semen analizi ve seminal plazmada bakteriyolojik kültür yapılmalı, mediumun kontaminasyonu önlenmelidir. Sperm, oosit toplanmasından yarım saat önce toplanmalıdır. Son anda bir aksilik ihtimaline karşı, önceden bir miktar sperm örneği alınıp dondurulmalıdır (4).

Farklı sperm hazırlama teknikleri içinde en çok kullanılan seminal plasma dilüsyonu ve motil spermatozoa toplanması için santrifugasyonunu takiben yüzdürme tekniğidir (7). Serum desteğindeki medium ile üç defa yıkanan spesimen, x 300 g'de santrifuj edilir, üstte kalan kısım atılır, 2 ml taze medium'da yeniden yayılır ve x150 g'de 10 dakika tekrar santrifuj edilir. Üstte kalan kısım tekrar atılır, alttaki sperm pıhtısı 1 ml santrifuj tüpündeki mediaa yayılıp 30-45 dakika inkübe edilir. Bu sürenin sonunda üstteki kısım atılır, altta sperm kalite tayini yapılır. Kalite tayini için, sperm profili incelenmesinin yeterli olmadığı bilinmektedir. Yapılması gereken, sperm fonksiyonel kapasitesini, yani dölleme yeteneğini saptamaktır. Kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve sperm-oosit füzyonu, zona'sız hamster oosit penetrasyonu testi ile anlaşılır. Sperm hareketinin direk analizi, zamanlı fotomikrografi ile yapılır. İndirek olarak da servikal mukus reaksiyonu ile tayin edilir. Bu test domuz ya da insan servikal mukusunun insan spermatozoa'sı ile penetrasyonunu ifade eder ve sperm başının yansal yer değişimlerinin yeterliliği ile ilgilidir. Yansal yer değişim hareketine «hiperaktive motilite» de denir ve sperm zonayı delerken yaptığı harekettir. Bu test, kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve vitellin zar ile kaynaşma hakkında bilgi vermez. Bu bilgi için, zona'sız hamster oosit penetrasyonu testi gerekir. Testin biyolojik anlamı,

sperm-oosit kaynaşmasının, yalnızca spermatozoonun kapasite olup, akrozom reaksiyonuna gittiği halde gerçekleşmesidir. Bu test ile % 10 un altında oosit penetre olursa, insan oositinin penetre olamadığı saptanmıştır.

İnseminasyonda kullanılacak sperm sayısı 20.000 - 1.000.000 motil sperm/oosit olmalıdır. Eğer erkek kaynaklı bir infertilite sözkonusu değilse, bu sayı 50.000'e kadar inebilir. Erkek problemine bağlı olarak sperm ayırım metodu değişebilir. Zona'sız hamster oosit testi ile penetrasyon yeteneği olmadığı ve motilitesinin azlığı saptanan spermeler, Percoll'ü gradient olarak kullanan ayırım tekniklerine maruz bırakılırlar. Percoll, yüksek motiliteye sahip, dolayısıyla gelişmiş penetrasyon yeteneğine sahip spermatozoayı ayırdeden bir gradienttir. Bu yöntemle bile çok az motil spermatozoa toplanırsa, sperm konsantrasyonunu artırıcı metodlar uygulanır. Motil spermatozoa içeren medium mikrodamları, kültür plagının dibine konur ve oosit direk bu mikrodamla üzerine bırakılır. Ardından parafin içinde kültür işlemi yapılır. Oositler spermatozoa ile karşılaştırıldıktan sonra, 12-18 saat pronukleus oluşumunun kontrolü açısından gözlenir. Bu 12-18 saat süresinde oosit-sperm karışımı ellenmez. Sonra diseksiyon mikroskobu ve Pasteur pipeti yardımı ile kalan kumulus-korona kompleksi temizlenir. Oositin pronukleer fazını görüntülemek iki nedenle çok önemlidir, ilki döllenmenin olduğunu anlamaktır. İki pronukleus ve II. kutup cisimciğinin saptanması bunu gösterir. İki pronukleus oluştuysa, normal bir döllenme beklenir. Ancak ikiden fazla ise polispermik döllenme olmuştur. Polispermik döllenmede normal bir morfolojik gelişme çoğunlukla gerçekleşir (4). Bu riski azaltmak için motil spermatozoa sayısının 20.000/ml'ye indirmenin bir çözüm olacağı iddia edilmektedir (4). Rastlanabilen diğer anomaliler, blastomer ebadlarındaki düzensizlik ve sitoplazmik fragmanlardır. Eğer tüm embriyolar aynı morfolojik özelliklere sahip ise, gelişmenin en ileri safhasındaki veya en çabuk yarıklananlar seçilmelidir (4).

Döllenme olmamışsa, taze bir semen örneği ile 18-24 saat içinde yeniden inseminasyon denenirse, % 40-50 döllenme ve yarıklanma şansı vardır. Döllenmenin 24 saat içinde olmaması büyük oranda oositin yeterli olgunluğa ulaşmamasından kaynaklanır ve «gecikmiş döllenme» adını alır (4). Ancak 36 saati geçen sürede olmaması, oositin fazla yaşlı olmasına bağlanmaktadır (7).

Döllenme olduktan sonra medium, taze ve serum konsantrasyonu daha yüksek olanı ile yenilenir. Embriyo transferinden önce, 24-48 saat bu ortamda kalır. Döllenme olduktan sonra yarıklanma durması olabilir. Kromozom anomalileri de sık rastlanan ancak çoğunlukla implantasyondan önce kaybolan olgulardır.

Günümüzde ciddi IVF merkezlerinde kriyo üniteleri vardır. Gamet dondurulması rutin hale gelmiştir. Oositin elde edilip, kocanın taze sperm üretmediği hallerde, ya da annenin durumunun ET için uygun olmadığı hallerde, bu işlemin faydası vardır. Aynı zamanda elde edilen embriyo adedinin, transfer edilecekten fazla olduğu hallerde de kriyo ünitesine ihtiyaç vardır.

Embriyo kriyoprezervasyonunda, gliserol, dimetilsulfoksit ve propanediol gibi kriyoprotektanlar kullanılır. Embriyolar, 4 ya da 8 hücreli safhada dondurulabileceği gibi, blastosist oluşumundan sonra da dondurulabilir.

Embriyo transferinde Wallace kanülü kullanılır. Önceden ultrason ile uterus ebadı hakkında fikir edinilirse, kanül eksternal os'tan sokulduğunda kavite tepesinden 1 cm aşağıda embriyo zerki kolaylaşır. Kanül çıkarılınca embriyolojist tarafından mikroskopik olarak parça kalmaması için kontrol edilir.

Multipl implantasyon yapılan hastalar, fetuslarının bir ya da daha fazlasını, diğerlerinin gelişimi sırasında kaybederler. Bunlara «kaybolan fetuslar» denir (3).

IVF ile gebelik tayininde beta-HCG tayini yanıltıcı sonuç verebilir (1,5). 100 siklus ile yapılan bir çalışmada, hassas beta-HCG tayinleri ile 60 gebelik saptanmış, bunlardan klinik olarak 25 gebelik meydana gelmiştir.

SUMMARY

IVF : A Brief Overview

In this article, an introduction to in vitro fertilization has been made, followed by the clinical management, oocyte pick-up, IVF laboratory and oocyte-sperm culture techniques, growth of human conceptus in vitro and finally, embryo transfer.

The importance of this process is tried to emphasize with particular attention on the presence of the embryologist in the procedure.

KAYNAKLAR

1. DeCherney AH : IVF and Embryo Transfer : A brief overview. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 59 : 409-414, 1986.
2. DeCherney AH Tarlatzis BC Laufer N : Follicular development : Lessons learned from human in vitro fertilization. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 153 (8) : 911-923, 1985.
3. Edwards RG : IVF : past and future. *Annals of Biological Clinics*, 45 : 321-329, 1987.
4. Fishel S Symonds EM (ed) : *In vitro fertilisation, past, present, future*. IRL Press, Oxford, Washington DC, 1986.
5. Jones HW ve ark : What is a pregnancy? A question for programs of in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 40 (6) : 728-733, 1983.
6. Li-zhu Z ve ark : Pregnancies following IVF and ET and following GIFT. *Chinese Medical Journal*, 101 (5) : 303-304, 1988.
7. Marrs RP (ed) : *Human IVF. Clinical Obstetrics and Gynecology*, 29 (1) : 117-188, 1986.
8. Tesarik L Testart J : Human sperm-egg interactions and their disorders : implications in the management of infertility. *Human Reproduction*. 4 (7) : 729-741, 1989.
9. Tesarik L : Ultrastructural and autoradiographic observations on multinucleated blastomeres of human cleaving embriyos obtained by IVF. *Human Reproduction*. 2 (2) : 127-136, 1987.

DEKSAMETAZONUN SIÇAN KARACİĞER HÜCRELERİNE ETKİSİNİN İNCE YAPI DÜZEYİNDE İNCELENMESİ

Müfide Güngör*

Yüksel Saran**

Karaciğer epitel hücrelerinin ince yapılarıyla ilgili araştırmalarda granüler endoplazmik retikulum ile glikojen granülleri arasında yakın bir morfolojik ilişkinin varlığı saptanmış (2,3,8,11,12) ayrıca metabolik hormonların da (somatotropin, kortizon, insülin, epinefrin, glükagon ve tiroksin) karaciğer metabolizması üzerine etkileri araştırılmıştır (1,4,5,6,9,10,11). Ancak bu çalışmalarda fonksiyonel sonuçlar yeterince açıklanamamıştır. Bu çalışma sentetik bir glikokortikoid olan deksametazon verilmesinden sonra karaciğer hücrelerindeki ince yapı değişikliklerini incelemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda 30 ergin sıçan kullanıldı. On sıçan kontrol gurubu olarak ayrıldı. On sıçan 24 saat aç bırakıldıktan sonra öldürülerek karaciğerleri alındı. Diğer on sıçan 24 saat aç bırakıldıktan sonra dekadron (deksametozan sodyum fosfat, merk) vücut ağırlığının 100 gr/2 mg. olacak şekilde periton içine enjekte edildi. Bu guruptaki deney hayvanları deksametazon verilmesinden 3 saat ve 6 saat sonra gündüz (aydınlıkta) öldürülerek karaciğerleri alındı ve doku parçaları veronal asetat tamponla pH-7,4'e ayarlanmış %2'lik osmiumtetroksit ile 1 saat tespit edildi ve vestopale yatırıldı. Ultra ince kesitler, kontrast vermesi için uranil asetat ile boyanıp elektron mikroskopunda incelendi.

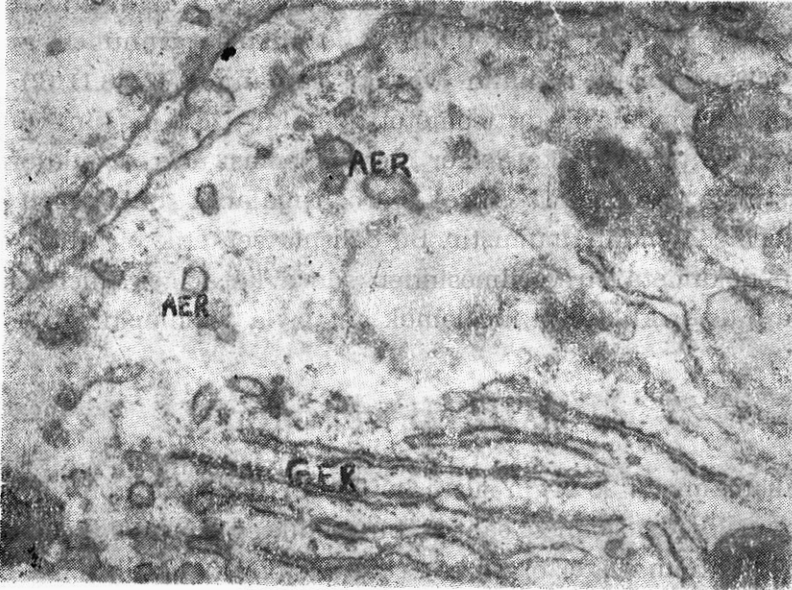
* G.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Öğretim Görevlisi Doktoru

** A. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Profesörü

BULGULAR

Sıçan karaciğer hücrelerinin ince yapısı bir çok araştırmacı tarafından önceden incelendiğinden (2,3,5,8,9,10,11,12) ve bu çalışma kontrol hepatositler benzer normal ince yapı özelliklerini gösterdiğinden tekrarlamaya gerek görülmedi.

24 saat aç bırakılan sıçan karaciğer hücrelerinde kontrol guruplarına göre agranüler endoplazma retikulum keselerinde azalma izlenmiş, glikojen granülleri çok seyrek olarak görülmüştür. Granüllü endoplazmik retikulum tubulusları oldukça genişlemiş ve paralel biçimde sıralar oluşturmuşlardı. Seyrek olarak ribozom taneciklerine rastlanıldı.



Resim 1 : 24 saat aç bırakılan sıçan karaciğer hücrelerinde glikojen granülleri izlenmiyor. Az sayıda agranüler endoplazmik retikulum (AER) keseleri görülüyor. Granüllü endoplazmik retikulum (GER) birbirine paralel sıralar halinde düzenlenmiş olarak görülmekte

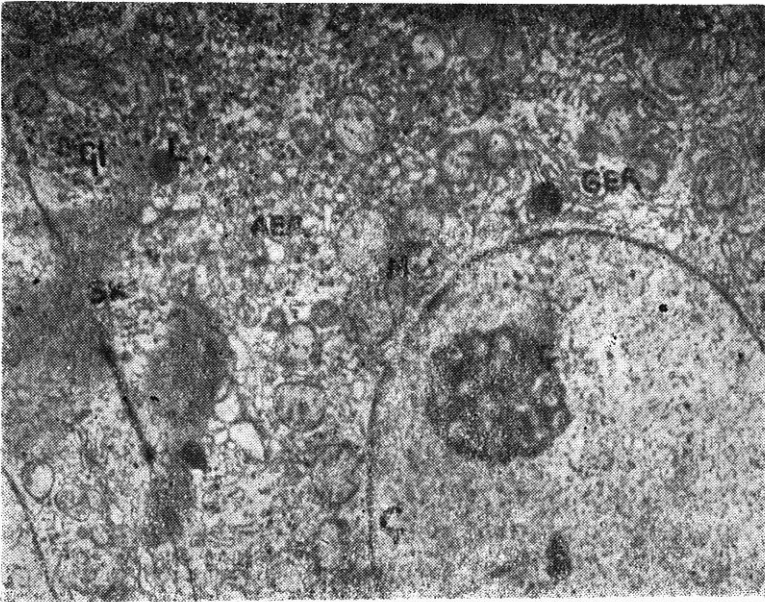
Ribozom (ri) x 37.000

24 saat aç bırakılıp dekzametazon verilmesinden 3 saat sonra elde edilen kesitlerde glikojen miktarında artma belirgin olarak izlendi. Glikojen granülleri arasında çok sayıda agranüler retikulum keseleri gözlemlendi. Agranüler retikulum keseleri ile glikojen granülleri arasında sıkı ilişki belirgindi. Granüllü endoplazmik retikulum tubulusların-

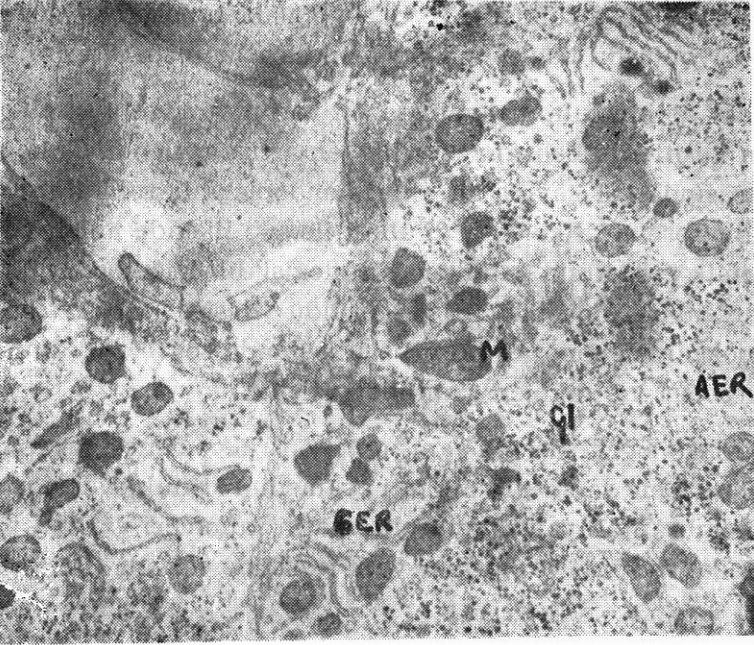
da bir değişiklik görülmedi. Ayrıca golgi kompleksinde, lizozom ve mitokondriyonlarda belirgin bir değişiklik izlenmedi (Resim 2).

24 saat aç bırakılıp deksametazon verilmesinden 6 saat sonra elde edilen kesitlerde belirgin bir glikojen artışı gözlemlendi. Glikojen granülleri arasında çok sayıda agranüler endoplazmik retikulum keseleri izlendi. Bu keseler glikojen granülleri ile sıkı ilişkide idiler. Granüler endoplazmik retikulum tubuluslarında değişiklik izlenmedi. Mitokondriyonların miktarında biraz artış görüldü (Resim 3). Fakat bazı hücrelerde deksametazona az yanıt verir biçimde seyrek agranüler retikulum keseleri ve glikojen granülleri izlendi.

Çekirdek ve çekirdekçik yapısında kontrol ve deney gurupları arasında belirgin bir değişiklik dikkati çekmedi. Perinükleyer bölgede çekirdek membranına yakın heterokromatin kümeleri vardı. Çekirdekçik ise tipik granüler ve fibriller yapı içeriğine sahipti (Resim 2).



Resim 2 : Deksametazon verilmesinden 3 saat sonra sıçan karaciğer hücrelerinde agranüler retikulum keselerinde (AER) ve glikojen granüllerinde (gl) artış izleniyor. Çekirdek (Ç), çekirdekçik (c) mitokondriyonlar (M), lizozom (L), safra kanalikülü (SK) x 14.000



Resim 3 : Dekzametazon verilmesinden 6 saat sonra karaciğer hücrelerinde glikojen (gl) ve agranüler endoplazma retikulum keselerinde (AER) artış belirgin. Mitokondriyonlar (M), granüler endoplazmik retikulum tubulusları (GER) x 14.000

TARTIŞMA

Bu çalışmada 24 saat aç bırakılmış sıçan karaciğerlerinin ince yapılarıyla 24 saat açlık periyodundan sonra sentetik bir glukokortikoid olan dekzametazon verilmesinden 3 ve 6 saat sonraki sıçan karaciğerlerinin ince yapısı arasındaki yapı farklılıkları araştırıldı.

Glikojen metabolizması ile agranüler endoplazma retikulum keselerinin ilişkili olduğunun belirgin olmasına rağmen, glikojen miktarı ile agranüler endoplazma retikulum keseleri miktarı arasındaki bildiriler farklıdır (9,10,12,13). Karbonhidratlarla beslenme ile ilgili olarak sıçan karaciğerlerinin ince yapısında bir seri çalışmalar yapılmıştır (7,8,9,11). Bu araştırmalarda beslenmeden iki saat sonra glikojen miktarında çok fazla artış bildirilmiş, bunlarla ilişkili agranüler endoplazma retikulum keseleri tanımlanmıştır. Ayrıca karbonhid-

ratla beslenmeden 2 saat sonra granüler endoplazmik retikulum tubuluslarında artış bildirilmiş, bunların düzenli bir şekilde paralel sıralar oluşturduğu, ribozom ve polizomların miktar olarak arttığı açıklanmıştır (10). Karbonhidratla beslenmeden 15 saat sonra sıçan karaciğer hücrelerinde glikojen granüllerinin miktarının önemli ölçüde azaldığı bildirilirken, agranüler endoplazma retikulum keselerinde artış izlenmiştir. Beslenmeden 40 saat sonra ise, glikojen granülleri görülmemiş, agranüler retikulum keselerinde artış bildirilmiştir. Granüler endoplazmik retikulum tubulusları ise açlık periyodu uzadıkça, miktar olarak azalmış ve paralel düzenlenme, giderek dağınık bir düzenlenme şekline dönüşmüştür (7,10,11).

Bizim araştırmamızda 24 saat aç bırakılan sıçan karaciğer hücrelerinde, kontrol guruplarına nazaran belirgin agranüler retikulum keselerinde azalma gözlenirken, glikojen granülleri çok seyrek olarak görülmüştür. Granüler endoplazmik retikulum tubulusları ise, düzenli paralel sıralar halinde gözlenmiştir.

Somototropin, kortizon, insülin, glukagon ve epinefrin gibi metabolik hormonların sıçan karaciğer hücrelerinde glikojen metabolizmasını değiştirdiği bildirilmektedir (10). Ayrıca bu hormonların glukoz-6 fosfataz enzimini uyardığı, bunun da hepatik glikogenesise neden olduğu ve agranüler retikulum keselerinin proliferasyonunun arttırarak glikojen sentezine sebep olduğu belirtilmiştir (3,9,10,12,13,14).

Hipofizi çıkartılan sıçanların 15 saat sonra karaciğer hücrelerinin glikojen içermediği ve agranüler retikulum keselerinin azaldığı gözlenmiştir. Bu hayvanlara somatotropin verildikten 2 saat sonra agranüler retikulum keselerinde ve glikojen granüllerinde artış izlendiği, ayrıca granüler endoplazmik retikulum tubuluslarında düzenli paralel sıralar meydana geldiği bildirilmiştir (9). Gene sıçanlarda adrenal bez çıkarıldıktan 15 saat sonra karaciğer hücrelerinde glikojen partiküllerinin görülmediği ve agranüler retikulum keselerinin azaldığı bildirilirken, bu hayvanlara kortizon verilmesinden 2 saat sonra karaciğer hücrelerinde glikojen partiküllerinin görüldüğü, buna ilişkili olarak agranüller retikulum keselerinin de arttığı bildirilmiştir. Ayrıca gliko-

kortikoidlerin granüler endoplazmik retikulum tubuluslarının paralel ve düzenli sıralar halinde düzenlenmesine sebep olduğu bildirilmektedir (3,12).

Bizim çalışmamızda 24 saat açlık periyodundan ve dekzametazon verilmesinden 3 saat sonra, karaciğer parankim hücrelerinde belirgin bir glikojen artımı ve agranüler retikulum keseleri artımı vardı. Dekzametazon verilmesinden 6 saat sonra, agranüler retikulum keseleri ve glikojen partikülleri artımı oldukça belirgindi. Granüler endoplazmik retikulum tubuluslarında ise paralel sıralanmalar görüldü, fakat miktar olarak bir artış izlenmedi.

Çekirdek ve çekirdekcik yapısı, kontrol ve deney gurupları arasında bir değişiklik göstermedi.

Sonuç olarak, sentetik bir glikokortikoid olan dekzametazonun etkisi ile agranüler retikulum keseleri ve glikojen partikülleri arasındaki ilişki açıklanmıştır. Karbonhidratla beslenme olmadığı zaman glikokortikoidlerin glikojen deposuna etkisinin varlığı açıklanmaya çalışılmıştır ve morfolojik olarak karaciğer hücrelerinde glikojen miktarında ve agranüler retikulum keselerinde belirgin bir artışa neden olduğu gösterilmiştir.

ÖZET

Sıçan karaciğer hücreleri 24 saatlik bir açlık periyodundan ve bunun sonunda dekzametazon verilmesinden sonra ince yapı düzeyinde incelendi ve kontrol gurupları ile karşılaştırıldı. Aç bırakılan hayvanların karaciğer hücrelerinde agranüler retikulum keseleri az sayıda ve glikojen tanecikleri çok seyrek görülürken, dekzametazon verilmesinden sonra agranüler retikulum keseleri ve glikojen granülerinde belirgin artış gözlemlendi.

SUMMARY

Fine Structural Observations of Rat Liver Cells Treated With Dexamethasone

After 24 hour unfed period, rat liver cells treated with dexamethasone and cells then observed for fine structural level and compared with control groups. In liver cells of the unfed animals, agranular endoplasmic reticulums were a few and glycogen particules were

scarce. After the dexametasome treatment, considerable increase in agranuler reticulums and abundant glycogen particules were observed.

KAYNAKLAR

1. Carolyn D : Role of glucocorticoids in the regulation of lipogenesis. *Fasep J* : 3 : 2179-2183, 1989.
2. Carlo MD Keit R Porter PD : The fine structure of the parenchymal cell of the normal rat liver *Am J pato* 46 : 691, 755, 1935.
3. Deman JCD Blocak APR : Relationship between glycogen and agranuler endoplasmic reticulum in rat hepatit cells. *Histo and cyto.* 14 : 135-144, 1966.
4. Grill V Runfeldt M : Abnormalities of inculin responses after ambient and previous exposure to glikose in streptozocin-diabetic and dexametazone treated rats. *Diabetes.* 35 : 44-51, 1986.
5. James AG Theresa AR : Desensitization of primary cultures of adult rat liver paranchymal cells to stimulation of adenosine 3',5' -monophosphate production by glucagon and epinephine *Endoc.* 107 : 1309-1319, 1930.
6. Odette M Claire N : Long-term maintenance of hepatocyte functional activity in co-culture : Requirements for sinusaidal endothelial cells and dexametasone. *J cell physiol.* 129 : 103-110, 1986.
7. Margolis RN Cardell RR Cumow RT : Association of glycogen synthase phosphatase and phosphorylase smooth endosplasmic reticulum. *J cell biology,* 83 : 348-356, 1979.
8. Muriel B Robert R Cardell JR : Fine structure of hepatocytes from fasted and fed rats *Am J. Anat.* 143 : 399-438, 1974.
9. Robert R Cardell JR : Action of metabolic hormones on the fine structure of ratliver cell's *Am J Anat.* 139 : 49-80, 1947.
10. Robert R Cardell JR : Action of metabolic hormones on the fine structure of ratliver cells *Am J Anat.* 131 : 21-54, 1971.
11. Robert R Cardell JR ve ark : Correlation between structure and glycogen content of livers from rats on a controlled feeding schdule. *Anat. Rec.* 177 : 23-38, 1979.

12. Robert R Cardell JR : Action of metabolic hormones on the fine structure of rat liver cells *Anat. Rec.* 180 : 309-330, 1974.
13. Ronald NM Robert R Cardell JR : Effects of actinomycin D on dexamethasone induced hepatic glycogen accumulation. Morphological and biochemical observations. *Am J Anat.* 158 : 365-386, 1980.
14. Takash S Hiroshi T : Specific binding sites for natural glucocorticoids in plasma membranes of rat liver. *Endoc.* 96 : 1499-1508, 1975.

ATRİAL NATÜRETİK POLİPEPTİDLERİN KALP ve BAŞKA ORGAN HÜCRELERİNDEKİ DAĞILIMININ İMMUNHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRİLMESİ

Nurşen Sayın*

Atriumda kalp kası hücrelerinde büyük bir çoğunluğu yuvarlak 0,3 - 0,4 mikrometre çapında membranla çevrili merkezi homojen elektron yoğun yapıya sahip granüllerin varlığı ışık, elektronmikroskopik ve immunohistokimyasal olarak değişik araştırmacılar tarafından insan ve bazı memelilerde gösterilmiştir (4,6,7,15).

İlk olarak Kish (10) tarafından yorumlanan bu özel granüller Golgi kompleksine yakın, paranukleer bölgede bulunurlar. Plazma membranı altında ve miyofibriller arası sarkoplazmada daha az sayıda görülürler.

Önceki çalışmalarda bu tip granüllerin yalnızca atriumda bulunduğu belirtilmesine karşın (2,4,8) immunohistokimyasal çalışmalar sonucu kalpte ventriküllerde, beyin, pulmoner ren, vena kavalalar, adrenal bez, böbrek ve tükürük bezlerinde de geniş bir dağılım gösterdikleri anlaşılmıştır (4,5,9,11,16).

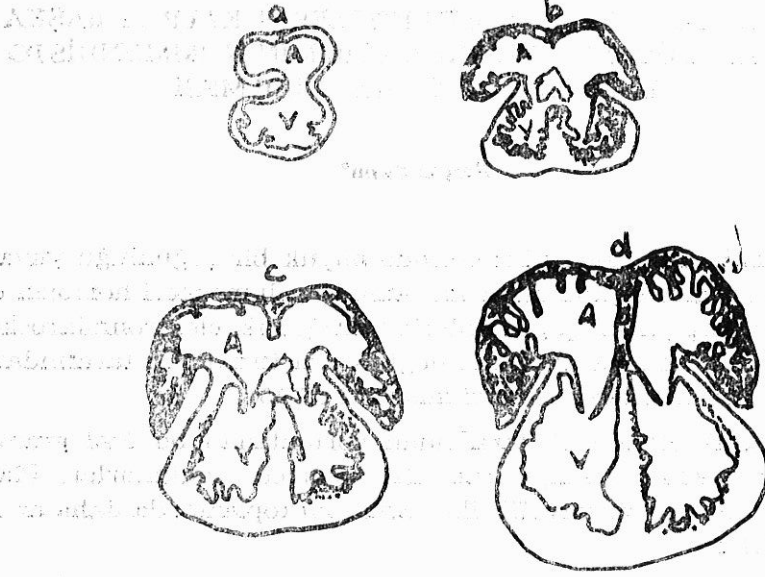
Peptid salgılayan endokrin hücre granüllerine benzeyen bu granüllerin özellikleri değişik sayıda amino asit ile kombine, natriüretik, diüretik (kardionatrin) ve vazodilatator etkili (kardiodilatin) polipeptidler oldukları belirtilmiştir (2,4,5,6,7,15).

Atrial granüllerin deneysel olarak su ve tuz dengesiyle, kan basıncı değiştirilerek yapılan çalışmalarda hücre içi miktarındaki değişiklikleri gösterilmiş olup natürezis ve diurezisle bağlantısı belirtilmiştir (2,5,11).

Sıçan ve diğer memelilerin kalplerinde yapılan ontogenetik immunohistokimyasal çalışmalar ANP ve ANP granülü benzeri yapıların 10 mm'lik 14 günlük embriyonda yokluğunu, buna karşın 15 mm'lik 16 günlük embriyonda varlığını göstermiştir (13).

* A.Ü. Tıp Fak., Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Yard. Doç.

Matsuo ve arkadaşlarının yaptığı yeni bir araştırmada α - hANP anti - serumla sıçanlarda ANP'lerin dağılım ve gelişimi açıklanmıştır (Şekil 1). Bu granüllerin görülmesi post koital 11. günden itibaren



Şekil 1 : Şemada sıçan kalbinde ANP immunoreaktif hücrelerin ontogenetik gelişimi görülmektedir.

a) Post koital 11. günde, b) 14. günde, c) 17. günde, d) 5. ve 15 günlük yeni doğanda.

mümkün olmaktadır, 14. ve 17. günlerde giderek artan, atriumda ventriküle oranla daha geniş bir alanda immunreaktivite gözlenmektedir. 5 günlük ve 15 günlük yeni doğanda benzer olarak her iki atrial duvar homojen reaksiyon göstermekte, ventriküllerde immunreaktif hücrelerin dağılımı inter ventriküler septumun sol tarafında dar bir bölgede bulunmaktadır.

Sıçanlarda Bompiani (1) tarafından belirtilen ventrikül duvarındaki granül içeren hücrelerin lokalizasyonu immunhistokimyasal çalışmalarda özellikle impuls ileten sistemde (A.V. nodul, His bandı, Purkinje lifleri) pozitif reaksiyon gösteren bölgelere uymaktadır (11, 12,14).

İmmunreaktivitenin her iki atriumde yaygın, ventriküllerde özellikle Purkinje liflerinin lokalizasyonuna uygunluk göstermesi, impuls ileten bu yapının ANP içeren atrium kas hücrelerine benzer şekilde endokrin rolünü düşündürmektedir.

Paroksizmal atrial taşikardi, atrial fibrilasyon ve atrial flutter gibi klinik tablolarıda ANP plazma seviyesi yüksek olarak belirtilmektedir. ANP'nin impuls iletimiyle bağlantısı bilindiği halde bu sistemin hücreleriyle nasıl etkileşip hipersekresyon gösterdiği kesin bilinmemektedir.

α - h. ANP anti serumla yapılan kalp ve damarlarındaki immunreaktivite çalışmalarında, kalp kasının ANP içeren hücrelerine benzer olarak pulmoner venin ve vena kavanın ilk parçasında immunreaksiyon pozitif hücreler gözlenmiştir (Şekil 2). Bu bölgelerin ANP üretimine katkısı belirtilmiştir (4,11).

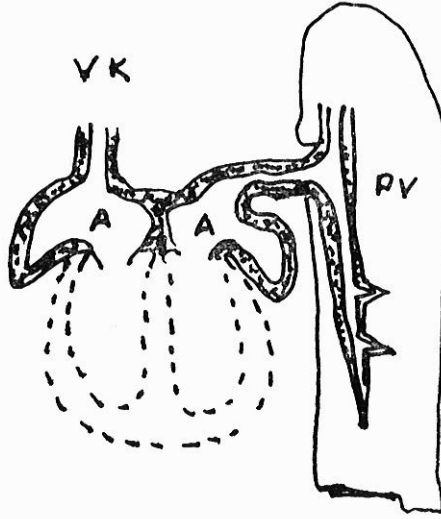
İmmunreaktif hücrelerin yeri pulmoner ven ve vena kavada iç sirküler düz kas tabakasında dar bir bölge olarak belirlenmiştir.

Bu hücrelerin lokalizasyonunun değişen kan basıncının ayarlanması için uygun olduğu düşünülürse sayıları ve ANP içeriklerinin az oluşu endokrinolojik düzenleyiciliklerine kesinlik kazandırmaz. Diğer taraftan otoradyografik çalışmalarda I^{125} -ANP bağlanma yeri endotelde ve kan damarlarının düz kas hücrelerinde gösterilmiş ve ANP nin vazodilatator etkisinin endotel orijinli olacağı tartışılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalar ANP'nin vasküler düz kasta özel reseptörlere bağlılığını belirtmiştir. Pulmoner vende ANP içeren hücrelerin endotel veya düz kas hücrelerine bitişik reseptörlere bağlı olma ihtimali vardır. Bu hücrelerin endotel altındaki yerleşimleri immunohistokimyasal olarak, pulmoner ven ve vena kavada belirtilmiştir (Şekil 2).

Kalp ve damarlardan başka immunpozitif hücrelerin varlığı tükürük bezlerinde, böbrekte toplama kanallarında, surrenal medullada ve adenohipofizde gösterilmiştir. İmmunreaksiyon en belirgin olarak parotiste asiner hücrelerde sublingual bezde yalnız seroz hücrelerde, submaksiller bezde kapsül altındaki hücrelerde gözlenmiştir (3,11).

Sodyum ve su eksikliğinde ANP içeren hücrelerdeki granüllerin artışı gösteren deneysel çalışmalar bu hücrelerin vücut sıvısının ayarlanması ve sodyum emilimindeki rollerinde ANP'nin katkısını açıklar.



Şekil 2 : Şema ANP immunreaktif hücrelerin kalp, pulmoner ven ve akciğerdeki dağılımını göstermektedir.

Ayrıca sıçanlarda preoptik sahada sinir lifleri ve hücre gövdelelerinde hipotalamusta mezensefalonda ve ponsta ANP varlığı gösterilmiştir. ANP'nin beyinde bir nörohormon veya nörotransmitter gibi etkili olabileceği veya lokalize olduğu diğer organlarda olduğu gibi sıvı ve elektrolit dengesini sağlamada rol aldığı şeklinde açıklanabilir (6,9,11).

ÖZET

Memelilerin atrium kas hücrelerinde çoğunlukla yuvarlak, elektron yoğun granüller bulunmaktadır. Bu granüller natriüretik ve vazodilatator etkili bir çeşit peptidleri içerirler ve immunohistokimyasal yöntemlerle boyanırlar. Bu immunreaktif atrial natriüretik polipeptidler (ANP) aynı zamanda pulmoner venlerde, veya kavalarda, tükürük bezlerinde, böbreklerde, adrenal bez medullasında hipofiz bezinde ve beyinde de gözlenmiştir.

SUMMARY

The Immunohistochemical Evaluation of The Distribution of Cardiac And Other Organ Cells Atrial Natriuretic Polypeptides

Large population of spherical, electron-opaque granules are characteristically found in muscle fibers of mammalian atria. These granules have a variety of peptides with natriuretic and vasorelaxant activities, which can be stained by immunohistochemical methods. These immunoreactive atrial natriuretic factors (ANF) were also detected in ventricles, pulmonary vein, venae cavae, salivary glands, kidneys, adrenal medulla, pituitary glands and brain.

KAYNAKLAR

1. Bompiani GD Rouiller C and Hatl : Le tissue de conduction du coeur chez le rat Etude au microscope electronique Arch mal Coeur 52 : 1257-1274, 1959.
2. Bloom and Fawcet DW : A text book of Histology 1986 W.B. Saunders Company Philadelphia Sayfa : 265.
3. Cantin M Timm-Kennedy M El-Khatib E Huet M : Ultra structural cytochemistry of atrial muscle cells Anat. Rec. 193 : 55-70, 1979.
4. Cantin M Gut kowska J Thibault G Milne RW : Immunocytochemical localization of atrial natriuretic factor in the heart and salivary glands. Histochemistry 80 : 113-127, 1984.
5. Garcia R Cantin M Thibault M : Relation ship of specific granules to the natriuretic and diuretic aktivty of rat atria. Experienta 38 : 1071-1073, 1982.
6. Jacobowitz DM Scofitch G : Evidence for the existence of atrial natriuretic factor containing neurons in the rat brain. Neuroendocrinology 40 : 92-94, 1985.
7. Jamieson JD Palade GE : Specific granules in atrial muscl-cells. J. Cell Biol 23 : 151-172, 1964.
8. Kangawa K Fukuda A Matsuo H : Structural Identification of β -and γ -human atrial natriuretic polypeptides. Nature 313 : 397-400, 1985.
9. Kawata M Ueda S Nakao K : Immuno-histo chemical demonstration of α -atrial natriuretic poly peptide-containing neurons in the rat brain : Histochemistry 83 : 1-3, 1985.
10. Kisch B : Electron microscopy of the atrium of the heart I. Guinea pig. Exp. Med. Surg. 14 : 99-112, 1956.

11. Mc Kenzie JC Tanaka J Kunios S : Immuno cytochemical lokalization of atrial natriuretic factor in the kidney, adrenal medulla, pituitary, and atrium of rat. *J. Histochem and Cytochem* 33 : 828-832, 1985.
12. Toshimori H Toshimori K Oura G Matsuo H : Immuno histochemistry and immunocytochemistry of atrial natriuretic polypeptide in porcine heart. *Histochemistry*, 86 : 595-601, 1987.
13. Toshimori H Toshimori K Oura K Matsuo H : Immuno histochemical study of atrial natriuretic polypeptides in the embriyonic, fetal and neonatal rat heart. *Cell Tissue Res.* 248 : 627-633, 1987.
14. Toshimori H Nakazato M Toshimori K : Distribution of atrial natriuretic polypeptide (ANP) - containing cells in the rat heart and pulmonary vein. *Cell Tissue Res.*, 251 : 541-546, 1988.
15. Toshimori H Toshimori K Matsukura S : Atrial-Specific granules in the hearts of normal and deprived rats. *Cell Tissue Res.* 253 : 547-552, 1988.
16. Wharton J Gulbenkian S Merighi A : Immunohistochemical and ultrastructural localization of peptid containing nerves and myocardial cells in the human atrial appendage. *Cell Tissue Res.* 254 : 155-166, 1988.

OTOZOMAL RESESİF SİKLOPS MALFORMASYONU : BİR VAKANIN PRENATAL TANISI VE POSTMORTEM İNCELEMESİ

Sevim Balcı* Behsan Önel* Emin Alp Niron** Muzaffer Eryılmaz***
M. Derya Erça****

Siklopi, intrensek okuler yapıların değişen derecelerde duplikasyonu ile birlikte, santral lokalizasyonlu tek orbital fossayla karakterize median fasioserebral displazinin nadir ve şiddetli bir formudur. Genellikle gözlerin üzerinde kör uçlu bir probosis bulunur (1). Son zamanlarda De Meyer ve Zeman, alobar holoprosensefalinin spesifik bir tipi olarak sınıflamışlardır (2). Tıbbi literatürde, siklopinin kromozomal bozukluklarla, özellikle D grubu anormallikleri ile ilgisini belirten, maternal salisilat kullanımı ve sitomegalovirus enfeksiyonuyla gelişebileceğine ilişkin raporlar vardır (3-7). Kromozomal anomali olmaksızın familial siklops malformasyonu, eğer beraberinde holoprosensefali yoksa çok nadirdir.

Burada, normal kromozom varyant yapılı, siklops malformasyonlu çocukları doğan, ilginç bir aile sunulmuştur.

Vaka Takdimi :

Yakın zamanda, genetik danışma için kliniğimize başvuran, aralarında 1. dereceden akrabalık olan çiftin öyküsünden, 1. gebeliğinde spontan düşük olduğu, 2. ve 3. gebeliklerinde ise gözsüz, burunsuz,

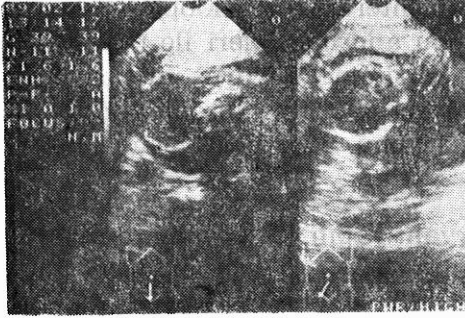
* H.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri-Geneitk, Patoloji ve Radyoloji Anabilim Dalı Profesörü.

** H.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri-Geneitk, Patoloji ve Radyoloji Anabilim Dalı Doçenti.

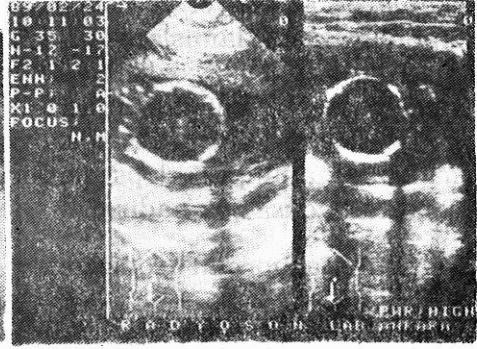
*** H.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri-Geneitk, Patoloji ve Radyoloji Anabilim Dalı Yrd. Doç. Dr.

**** H.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri-Geneitk, Patoloji ve Radyoloji Anabilim Dalı Uz. Dr.

ölü kız çocuklar doğurduğu öğrenildi. Yapılan kromozom analizinde annenin ve erkek kardeşinin, normal bir varyan olan, 9 nolu kromozomun perisentrik inversiyonu taşıdığı gösterildi. Prenatal tanı için yapılan tetkikler ile, annenin 4. gebeliğinde, ultrasonografi (USG) ve amniosentez yardımıyla fetusun 46, XX kromozom yapısında ve sağlam olduğu gösterilerek normal bir kız çocuğu doğurtuldu. 5. gebeliğin 18. haftasında USG'de holoprosensefalik bir fetus olduğu görülmesi üzerine ve birkaç kez tekrarlanan USG'de tanının belirginleşmesi nedeniyle 22. gebelik haftasında terapotik abortus yapıldı (Resim 1,2). Makroskopik olarak gözsüz ve burunsuz olan kız fetusun (Resim 3 a,b), yapılan BBT incelemesinde, primitif santral sinir sistemini temsil edebilecek opak bir dansitenin sıvı dolu bir boşlukta olduğu, tek bir bulbus okuli ve lensin varlığı görüldü (Resim 4,5). Kafayın grafisinde kraniofasiyal oran azalmıştır.



Resim 1 : 18. haftadaki USG

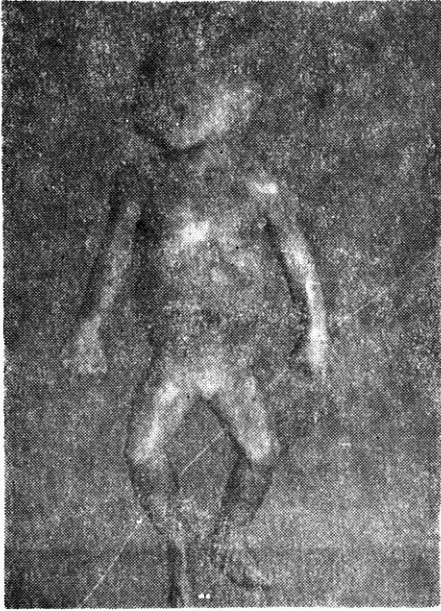


Resim 2 : 19. haftadaki USG

Postmortem makroskopik incelemede fetusun ağırlığı 480 gr, boyu 30 cm, baş çevresi 18,5 cm, göğüs çevresi 19 cm ve mikrosefalik idi.

Dikkatli bir diseksiyon sonrası, dışarıdan farkedilemeyen siklopik göz ortaya çıkarıldı (Resim 6). Kranium açıldığında rudimenter SSS'nin foramen occipitale magnumu doldurduğu ve sella tursikaya doğru uzandığı görüldü. Optik ve diğer kafa çiftleri yoktu. Bu primitif sinir dokusu, iyi gelişmiş bir medulla spinalis ile devam ediyordu. Kranium ölçüleri, gebelik haftası ile uyum gösteriyordu. Ön, orta ve arka fossalar, kranium tabanını oluşturacak şekilde iyi gelişmiş idi ve üzer-

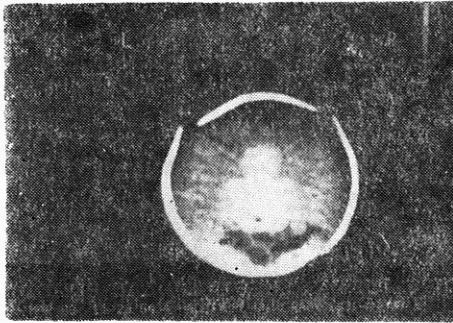
leri, içi Şeffaf sıvı dolu beyin zarları ile dōŐenmiŐti. Rudimenter SSS bu içi sıvı dolu zarların tabanına yerleŐmiŐti (Resim 7). Adrenaller ve bōbrekler hipoplastik, diğer iç organlar normaldi.



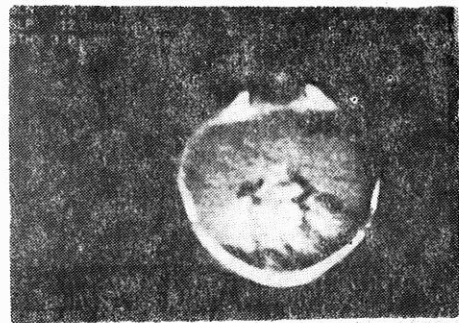
Resim 3 a : Fetusun genel gōrūnūŐi



Resim 3 b : Yūz gōrūnūŐi



Resim 4 : BBT'de, primitif SSS, ve ventrikūler yapıların olmayıŐı.

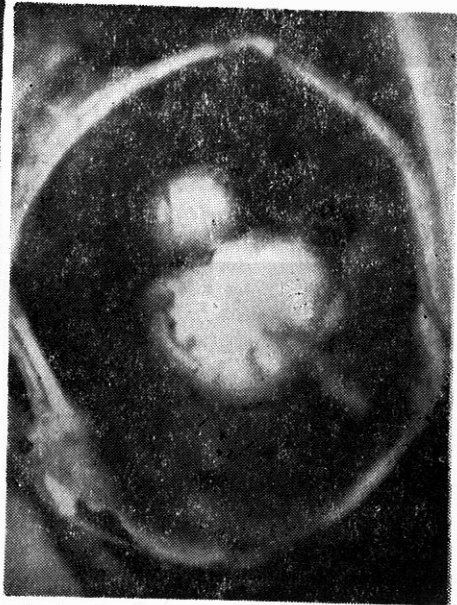


Resim 5 : BBT'de, tek bir lens ve bulbus okūli.

Mikroskopik Bulgular : Primitif 3. ventrikül, akuaduktus silvi, iyi gelişmiş pons, serebellar doku ve bunların arasında 4. ventrikül görüldü. Ventriküllerde koroid pleksus kalıntıları bulunmaktaydı (Resim 8). Daha aşağıdaki yapıların kesitlerinde, iyi gelişmiş medulla oblongata, nukleus olive inferior vardı. Mezensefalon kesitlerinde, substantia nigrayı temsil edecek pigmentli hücrelerin iyi gelişmediği fakat nukleus ruberin iyi geliştiği gözlemlendi (Resim 9). Fetus normal 46, XX kromozom yapısında idi.



Resim 6 : Fetustaki siklofik gözün diseksiyonu



Resim 7 : Rudimenter SSS ve beyin kıvrımları



Resim 8 : Ventriküllerdeki koroid pleksus kalıntıları.

Resim 9 : Mezensefalon ve nükleus ruber kalıntıları.

TARTIŞMA

Siklopi orta hatta tek bir göz ile karakterize çok ağır bir orta hat kraniofasial anomalisidir. İntrensek göz yapıları çeşitli şekillerde etkilenmiş olabilir. Holoprosensefalinin 1/16000 görülme sıklığına karşılık, siklopi 40,000 de bir olarak görülür (1). Siklopi vakalarına sıklıkla burun anomalileri ve/veya arinhia eşlik eder. Genellikle göz üzerinde probosis denilen kör bir uçla sonlanan yapı vardır. Mikrog-nathi ile birlikte olan siklopi vakalarında mandibula tam olarak bulunmaz. Probosis bu tip vakalarda pek görülmez (1).

Siklopi vakalarında kranium ön kenarı dramatik olarak kısalmış olduğundan kavitenin sadece tavanı mevcuttur. Etmoid kemik, sfenoid kemiğin orta kısmı yoktur. Nazal kemikler, vomer, lakrimal ve pre-maksiller kemikler yok olup, hepsi birlikte yuvarlak bir oluşum haline gelirler (1). Holoprosensefali ise, embriyolojik olarak forebrain (ön beyin) orta hat bölünme defekti sonucu oluşan ağır bir malformasyon

kompleksidir ve 11 - 12 haftalardan önce gelişir. Malformasyonun ağırlık derecesine göre, alobar, semilobar, lobar tipler olarak değerlendirilir. Holoprosensefali, siklops, etnosefali, sebosefali, premaksiller agenesis ve daha hafif yüz anomalileri olmak üzere çeşitli derecelerdeki yüz dismorfizmleri ile birlikte görülebilir. Alobar olanlar tamamen şurdan yoksun olup yaşamaları mümkün değildir. Semilobar olanların daha az mental defektleri olmakla birlikte, onlar da bebeklik döneminde yaşamazlar. Lobar olan hastalar ağır mental retardedir, bebeklik ve çocukluk döneminde hayatta kalabilirler (1,2).

Siklopi, genellikle alobar holoprosensefali ile birlikte görülür ve aynı spektrumda olduğu söylenir. De Meyer, holoprosensefalinin orta hat embriyonik ön beyin bozukluklarının bir spektrumu olduğunu ve siklopiyanın bunun en uç noktası olduğunu belirtmiştir (1,2,5,7-11).

Siklopi ve holoprosensefali genellikle kromozom anomalileri ile birlikte ve en sık trizomi 13 de görülür. Trizomi 13q-, 18p-, t 3/7, G grup kromozom anomalileri, 3 p duplikasyonu ile birlikte bildirilmiş vakalar vardır (1,3-5,12). Holoprosensefalinin otozomal resesif ve dominant şekilleri bildirilmiştir (8,9,10). Siklopiyanın ise maternal diabet, hamilelikte salisilat alımı ve konjenital sitomegalovirus enfeksiyonları ile ilişkisinden bahsedilmiştir (6,7,9). Hayvanlarda ise gebe koyunların «Verratum Californikum» adlı bitkiden yemeleri sebebiyle epidemik şekilde siklopik kuzular doğurdukları bilinir (13,14).

Vakamızda, akraba evliliğinin varlığı, kardeşlerinde benzer klinik hikayenin bulunması, fetusun normal kromozom yapısı, gebelik sırasında USG'de kraniumda sıvı dolu lakünlerin varlığı, postmortem muayenede prosensefalon benzeri primitif SSS görülmesi, otozomal resesif siklopi/holoprosensefali sendromu düşündürmüştür. Vakamız probosis'in olmayışı ile klasik siklopiden ayrılmaktadır. Literatürde familial siklopi vakaları bildirilmiştir. Genellikle bunlarda kromozom anomalisi yoktur, her iki cinste de görülür ve yalnızca birkaçında holoprosensefalinin görüldüğü sebosefali ve probosis eşlik eder. Vakada siklopiada görülebilen böbrek ve adrenal hipoplazisi de mevcuttur.

SSS bulguları, hidranensefaliye benzemekle birlikte, genellikle bu vakalarda falks serebri ve tentorium görülmektedir ve vakamızda yoktur.

Bilebildiğimiz kadarıyla, vaka otozomal resesif siklopa/Holoprosensefali sendromu tanısı alan ve en erken gebelik haftasında tanı konularak düşük yaptırılan ve patolojik incelemesi yapılan ilk vaka dır.

ÖZET

Genetik danışma için kliniğimize gönderilen, burunsuz ve gözsüz ölü kız çocuklar doğuran ve akraba olan bir çiftin, yapılan prenatal tanı çalışmalarında, annenin ve erkek kardeşinin tesadüfi, 9 no.lu kromozomun perisentrik inversiyonunu taşıdığı görüldü. Dördüncü gebelikte, ultrasonografi ve amniyosentez takipleri ile sağlam bir kız çocuğu doğurtuldu. Beşinci gebeliğinde ise, birkaç kez tekrarlanan USG'lerinde holoprosensefalik fetus olduğunun görülmesi üzerine, 22 ci haftada terapotik abortus yaptırılan fetus bilgisayarlı beyin tomografisiyle ve morfolojik olarak incelendi ve otozomal resesif siklopa/holoprosensefali sendromu tanısı konuldu.

SUMMARY

Autosomal Recessive Cyclopa Malformation; Prenatal Diagnosis and Postmortem Observation of a Single Case

A consanguineous couple who referred for genetic counselling for having two female stillbirths with absent eyes, nose and nostrils and a spontaneous abortion, were followed up for prenatal diagnosis and the mother and her abortion, were followed up for prenatal diagnosis and the mother and her brother exhibited a coincidental inversion of chromosome 9. Further at the fourth pregnancy, with the help of USG and amniocentesis, they had a healthy female baby. However, at the fifth pregnancy when we have detected an abnormal USG with a holoprosencephalic fetus at the 18th weeks, therapoetic abortion was performed at 22nd week and the fetus examined with computed tomography and morphologically with the diagnosis of autosomal recessive cyclopa/holoprosencephaly syndrome.

KAYNAKLAR

1. Cohen MM Jr. Craniofacial disorders. In; Emery AEH and Rimoin DL (eds). Principles and Practice of Medical Genetics (1st ed) Vol 1. London, Churchill Livingstone, 1983, pp 576-621.
2. De Myer W Zeman W Palmer CG : The face predicts the brain : Diagnostic significance of median facial anomalies for holoprosencephaly (Arhinencephaly) Pediatrics 34 : 256-263, 1964.

3. Cohen MM : Chromosomal mosaicism associated with a case cyclopia. *J Pediatr* 69 (5) : 793-798, 1966.
4. Burrig KF Gebauer J Terinde R et al : Case of cyclopia with an unbalanced 3/7 translocation. *Clin Genet* 36 : 262-265. 1989.
5. Tayşi K Tınartepo K : Trisomy D and cyclops malformation. *Am J Dis Child* 124 : 710-713, 1972.
6. Benawra R Mangurten HH Duffell DR : Cyclopia and other anomalies following maternal ingestion of salicylates. *J Pediatr* 96 (6) : 1069-1071, 1980.
7. Byrne PJ Silver MM Gilbert JM et al : Cyclopia and congenital cytomegalovirus infection. *Am J Med Genet* 28 : 61-65, 1987.
8. Warkany J : Cyclopia-Arhinencephaly Series. In : Warkany J (ed.) *Congenital Malformations*. Chicago, Year Book Medical Publishers Inc, 1971, pp 201-205.
9. Mc Kusick VA : Holoprosencephaly, Familial Alobar (Arhinencephaly; Cyclopia, included). In : Mc Kusick VA (ed), *Medelian Interitance in Man* (8 th ed). The John Kopkins University Press, Baltimore and London, 1988, p 987.
10. Smith DW Jones KL : Holoprosencephaly anomalad. In : Smith DW and Jones KL (eds). *Recognizable Pattern of Human Malformations* (Third ed). W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp 366-367, 1982.
11. Seidlitz G Kadow I Theel L et al : Genetische Aspekte und Humangenetische Beratung der Holoprosencephalie. *Dt Gesundh.-Wesen* 38 : 665-669, 1983.
12. Dalapiccola B Ferranti G : Duplication 3p and cyclopia. *Clin Genet* 36 : 490-491, 1989.
13. Canda MS Canda T Buldan Z ve ark : Siklopia. *Ege Univ. Tıp Fak. Dergisi* 26 (3) : 1285-1291, 1987.
14. Babbott FL Binns W Ingalls TH : Field studies of cyclopiian malformation in sheep. *Arch Environ Health* 5 : 109-113, 1962. (Cited at 9th ref.).

LÖSEMİ HÜCRELERİNDE DİFERANSİYASYON YAPAN METİL PREDNİZOLON TEDAVİSİNİN ULTRASTRÜKTÜREL BULGULARI

Esra Tan* Gönül Hiçsönmez** Meral Tekelioğlu* Nilüfer Karadeniz**

İnsanda kan hücreleri ve onların ana hücreleri ultrastrüktürel olarak defalarca çalışılmış, hatta normal kan elemanlarıyla beraber lösemi hücrelerinin de ultrastrüktürel yapısını gösteren Low ve Freeman tarafından 1958'de bir atlas hazırlanmıştır (3,4,16). Schumacher de akut lösemilerde hücreleri elektron mikroskopik olarak kalitatif ve kantitatif yönden incelemiştir (20). Ancak antilösemik tedavi sonrası ultrastrüktürel değişiklikleri gösteren çalışmalar çok azdır.

Lösemi tedavisinde şimdiye kadar genellikle sitostatikler kullanılmıştır ancak son yıllarda Dr. Hiçsönmez ve arkadaşları metil prednizolonun myeloid lösemik hücreyi normal matür granülosite diferansiye ettirdiğini göstermişlerdir (13). Bu nedenle çalışmamızda metil prednizolon tedavisiyle diferansiye olan myeloid lösemi hücrelerinin ultrastrüktürel bulgularını göstermek istedik.

MATERYAL VE METOD

12 yaşında akut nonlenfositer lösemi (ANLL) (M₂) tanısı almış bir kız hastada, tedaviden önce ve bolus tarzında birinci hafta 30 mg./kg./gün (iv), ikinci hafta 20 mg./kg./gün (iv) metil prednizolon verildikten sonra aldığımız kemik iliği aspirasyon materyallerini transmisyon elektron mikroskobu aracılığıyla ultrastrüktürel olarak inceledik.

* A.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı.

** H.Ü. Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı

Alınan kemik iliği + 4°C'de 0.2 M (pH : 7.4) fosfat tampon içindeki % 3 gluteraldehitte 15 dk. tesbit edildi. Daha sonra 10 dk. santrifüj yapılarak elde edilen çökelti 0.1 M fosfat tamponla yıkandı. Oda ısısında 90 dk. % 1 OsO₄'le ikinci tesbit yapıldı. Doku blok halinde uranil asetatla boyandı, dereceli etanoilerde dehidrate edildi ve araldit CY 212 materyaline gömüldü.

LKB ultramikrotomuyla alınan 0.6 µm'lik ince kesitler, uranil asetat ve kurşun sitratla boyanıp Zeiss EM 9S elektron mikroskobu altında çekilen mikrograflarla değerlendirildi.

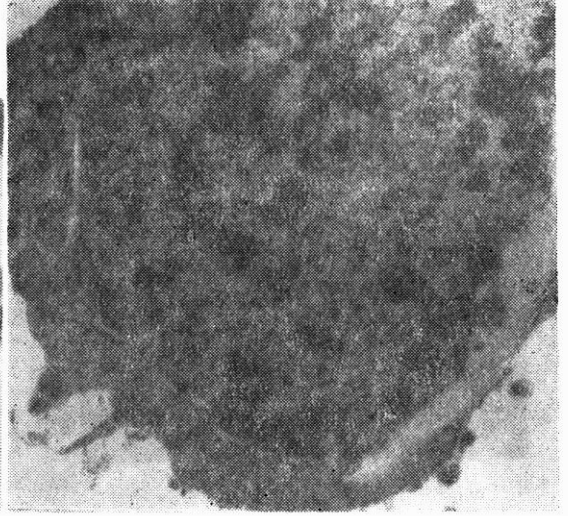
SONUÇLAR

Tedavi öncesi çekilen elektron mikrograflarda, blastik hücrede nükleus büyük, oval ve ökromatindi. Bazı hücrelerde özellikle nükleolemma altında ve buradan ortaya doğru yayılan ince yollar şeklinde koyu kromatin alanlar izlendi. Nükleolemma izlenebilir şekilde ve düzensizdi. Perinükleolar aralık bazı yerlerde artifisiyel olmakla beraber, genişlemişti. Nükleolus belirgin değildi. Sitoplazma açık renk ve kar yağdı manzarasındaydı. Sitoplazmada çok sayıda uzun veya yuvarlak şekilde kesilmiş genişlemiş granüllü endoplazma retikulumu (GER) sarnıçları, serbest ribozomlar ve vakuoller görüldü. Yuvarlak veya mekik şeklinde az sayıda granüller vardı. Mitokondriyonlar çok sayıda, küçük, yuvarlak veya oval şekildedeydi. Oksidatif fosforilasyondaki artış nedeniyle organel aktif durumdaydı ve kristalarda kıvrılmalar vardı (Resim 1). Sitoplazmada nükleusu çevreleyen fibriller demetler görüldü (Resim 2). Mikrograflarda, bol azurofil granülleriyle promyelosit olduğu düşünülen hücreler de tesbit edildi.

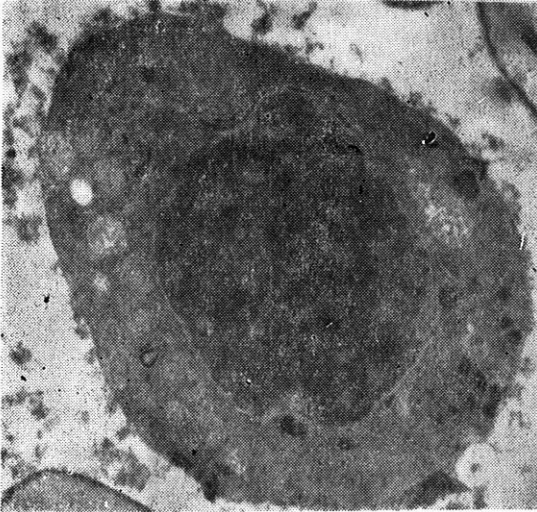
Tedavi sonrası incelenen kemik iliği örneklerinde, lösemi hücrelerinde hücre membranında villuslar ve monoblast kadar olmasa da parmaksı uzantılar vardı (Resim 4,7). Nükleustaki ökromatin heterokromatin oranı, heterokromatin lehine dönmüştü. Nükleus daha küçüktü, bazı hücrelerde nükleusta segmentasyon izlendi. Bazı hücrelerde nükleolemma belirgin değildi veya erimişti. Bu yüzden nükleolar materyalin bir kısmı sitoplazmada görülüyordu (Resim 3,4). Nükleolar ke-



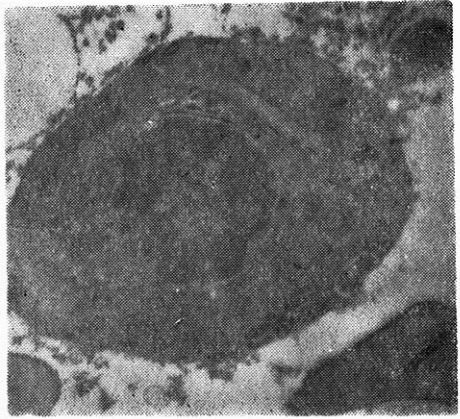
Resim 1 : Ökromatin nükleusu, aktif durumdaki bol mitokndriyonları ve genişlemiş yuvarlak ER sarnıcı kesitleriyle bir myeloblast görülmektedir X 6000.



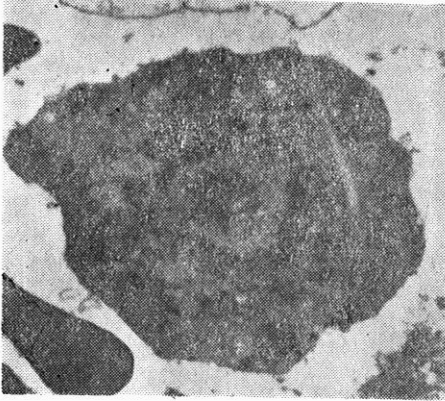
Resim 2 : Nükleusu saran fibriller yapı görülmekte X 11500.



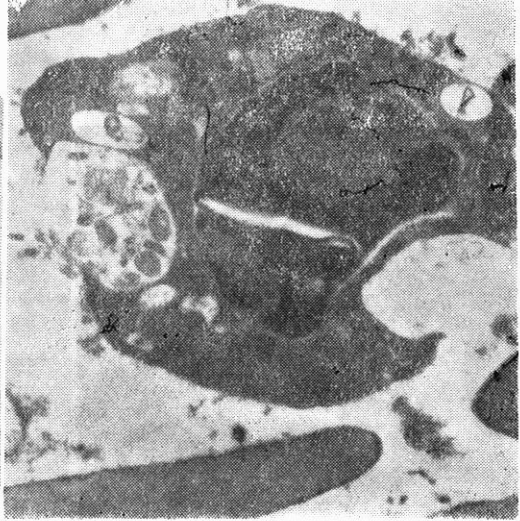
Resim 3 : Tedavi sonrasında nükleus heterokromatin, nükleolemmada meydana gelen eriyip kırılma neticesinde nüklear materyal sitoplazmaya dağılmıştır. Sitoplazmada elektron yoğun granüller, bol serbest ribozomlar ve dejenere mitokondriyonlar görülüyor X 9500.



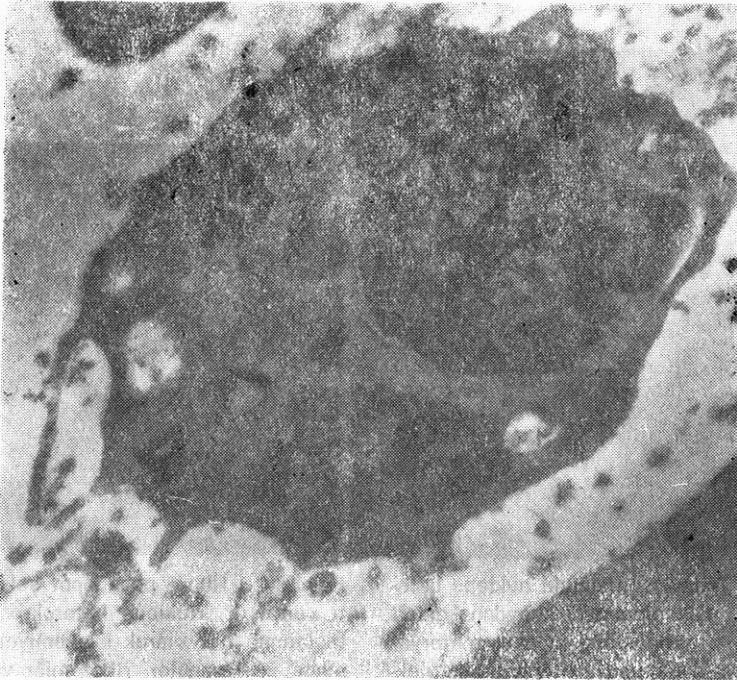
Resim 4 : Hücre pseudopot şeklinde uzantı vermiştir. Nükleus heterokromatin, nükleolemma net olarak izlenemiyor. Sitoplazmada ER, granüler, ribozomlar ve lameller inklüzyon izleniyor X 8000.



Resim 5 : Nükleus heterokromatin, nükleolus belirgin izleniyor. Nüklear cep, sitoplazmada fibriller yapı, fagozomlar ve serbest ribozomlar dikkat çekicidir X 6500.



Resim 6 : Sitoplazmasındaki dev fagozomuyla makrofaj benzeri özellik gösteren bir hücre X 9500.



Resim 7 : Hücrenin villus benzeri uzantıları, segmente heterokromatin çekirdek, vakvoller ve fagozomlar görülüyor X 9500.

seler izlendi (Resim 5). Nükleolus seçiliyordu ama çok belirgin değildi. Sitoplazma organelleri azalmıştı ve artmış serbest ribozomlar arasında yapıları net olarak seçilemiyordu (Resim 3,4,5,6,7). Mitokondriyonlar azalmış, şişerek dejenerasyona uğramıştı (Resim 3). Değişik büyüklükte ve elektron yoğunlukta granüller (Resim 3,4,5), vakuoller (Resim 3,6,7) ve büyük fagozomlar (Resim 5,6,7) vardı. Resim 4'de lameller inklüzyon ve resim 5'te fibriller demetler görüldü.

TARTIŞMA

Myeloblastta sitoplazma ve nükleus açık renktir. Ökromatin özellik immatüritenin bir göstergesidir. Matürasyon arttıkça nükleus küçülür ve heterokromatinleşir (16,20). Tedavi sonrası mikrograflarda ilacın etkisiyle matürasyonun arttığı, heterokromatin yapı ve hatta segmentasyonla gösterilmiştir. Lösemide, normal myeloblastta olmayan nükleer kese veya yarıklar görülebilir. Nükleer kesenin artışı, poliribozomlardaki artışa bağlanmıştır. Burns'e göre nükleer kese malign hücrelerde çoktur. Bunlarda büyüme hızı artmıştır, hücrede protein sentezi çok fazladır (20). Bu çalışmada tedavi sonrası da hücrelerde nükleer kese ve serbest ribozomlar artmış olarak gösterilmiştir. Buradaki artışın amacı ilacın etkisiyle hızla diferansiyasyona uğrayan hücrede spesifik granüllerin yapımı için gerekli protein sentezi olabilir. Nükleolus lösemi hücrelerinde belirgin ve bazen birden fazla olmasına karşın bizim çalışmamızda dikkat çekici nitelikte bulunmamıştır (16,20,21).

Akut lösemilerde hem myeloblast hem de promyelosit sitoplazmasında bol miktarda genişlemiş GER sarnıcı kesitleri yuvarlak veya uzun keseler şeklinde izlenir (2,16,20). Normal kemik iliğinde de bu hücrelerde yassı ve uzun kesitler şeklinde ER boldur ancak bu kadar fazla ve genişlemiş değildir (3,4). Lösemi hücrelerinde mitokondriyonlar küçük, yuvarlak veya uzun şekilde ve çok sayıdadır (2,16,20). Mitokondriyonlarda şişme, fragmantasyon, kristalarda kıvrılma vb. olabilir (2,21). Çalışmamızda lösemi hücrelerinde tedavi öncesi çok sayıda ve aktif fonksiyonda görülen mitokondriyonların tedavi sonrası şişip, kristalarının kaybolduğu görülmüştür (21). M₂ tip lösemide myeloblastlarda ve biraz daha fazla olmak üzere promyelositlerde yuvarlak, oval veya çubuk şeklinde granüller gözlenir. Granüller 0.2 - 0.6 µm. büyüklüğünde, myeloperoksidaz ve asit fosfataz pozitifdir (2,14,15,

16). Sitoplazmada bunların yanında mikrofibriller ve lameller inklüzyonlar çoktur (20,21). Fibriller demet yapıları, sitoplazmanın proksimalinde nükleusun kenarında bulunur. Büyüklüğü, kompleksitesi ve içerdiği ince laminar membranların sırası değişebilir. Bu yapının bir ER modifikasyonu olduğu düşünülmektedir. Monoblastta çok daha sık olmakla beraber myeloblastlar ve promyelositlerde de görülür (3,8, 16,20,21). Hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrasında nükleusu saran fibriller demet yapısı gösterilmiştir.

Auer cismi sitoplazmada, lizozomal yapıdaki azürofil granüllerin füzyonuyla oluşan bir inklüzyondur. ANLL'ler için spesifik bir bulgudur. Günümüzde bu inklüzyonun uzunlamasına kesitlerinde birbirine paralel membranöz lamellerden oluşan tübüler bir yapı olduğu, oluşumu ve histokimyasal özelliklerinin azürofil granüllere benzerliği bilinmektedir (1,5,22). Bu vakada tedavi öncesi ve sonrası, ışık ve elektronmikroskopik incelemelerde auer cismine rastlanmamıştır. Auer cismi bulunan vakalarda tedavi sonrası matür hücrelerde bu cismin yıkılması beklenirken, yüksek doz metil prednizolondan sonra auer cismin matür hücrelerde de var olduğu izlenmiştir. Auer cismi, hızlı matürasyon sırasında yıkılmadan kalmakta ve bir ölçüde blast hücrenin matürleştiğini görmemize yarayan bir işaret olmaktadır (13).

Akut lösemilerde kullanılan bazı kemoterapötiklerin etkileri; APL'de diferansiyasyona neden olan retinoik asitinin ultrastrüktürel olarak incelenmesi ve yine APL de phorbol diesterle makrofaj benzeri hücrelere diferansiyasyon daha önce gösterilmiştir (6,18,21). Bizde bu çalışmamızda Dr. Hiçsönmez'in metil prednizolonla elde ettiği başarılı sonuçlardan yola çıkarak incelememizi yaptık (9,10,11,12,13). İlaç tedavisinden sonra nükleusun küçülüp, heterokromatinleşerek matürasyona doğru gidişi, bunun yanında hücre yüzeyinin villuslar ve pseudopot gibi uzantılarla amoboid hareketleri olduğu ve içerdiği çok sayıda fagozomlarla makrofaj benzeri özellikler gösterdiği, tesbit edilmiştir ki bu bulgular Leo Sachs ve arkadaşlarının steroidin myeloid lösemik hücrede yaptığı diferansiyasyonu gösteren invitro çalışmalarına uymaktadır (14,15,19).

ÖZET

ANLL (M₂) tanısı almış bir hastada yüksek doz metil prednizolon tedavisinden önce ve sonra alınan kemik iliği örneklerinin ultrastrüktürel incelenmesinde matürasyon indüksiyonu ve makrofaj benzeri hücreler tesbit edilmiştir.

SUMMARY

Ultrastructural variations in AML after the treatment with methylprednisolone

We described the ultrastructural changes in ANLL before and after the treatment with high dose methylprednisolone. We examined that methylprednisolone differentiated the leukemic cells to macrophage like cells and induced maturation.

KEY WORDS :

ANLL - Methylprednisolone - Ultrastructure

KAYNAKLAR

1. Ackerman A : Microscopic and histochemical studies on the auer bodies in leukemic cells. Blood, 847-883, 1950.
2. Ackerman A Grasso Knouff : Morphological and histochemical studies of the leukemic cells from a patient with atypical myeloblastic leukemia. Blood, 16 : 1253-1267, 1960.
3. Bessis M Thiery : Electron microscopy of human white blood cells and their stem cells. International Review of Cytology. 12 : 199-241, 1961.
4. Capone R, Weinreb Chapmen : Electron microscope studies on normal human myeloid elements. Blood. 23-3 : 300-320, 1964.
5. Dixon B Tapen Mukherjee James : The ultrastructural identification of auer body precursors in a case of APL. A.J.C.P. Jan. 132-137, 1984.
6. Flynn P Miller, Weisdorf, Arthur ve ark : Retinoic acid treatment of APL. Blood. 62-6 : 1211-1217, 1983.
7. Freeman J : Origin of auer bodies. Blood. 27-4 : 499-510, 1966.
8. Freeman A Journey : Ultrastructural studies on monocytic leukemia. British Journal of Hematology, 20 : 225-231, 1971.
9. Hiçsönmez G Özsoylu : High-dose methylprednisolone for ANLL. Experimental Hematology. 17 : 1051-1056, 1989.
10. Hiçsönmez G Özsoylu : High-dose methylprednisolone in children with ANLL. American Journal of Hematology. 1990 (Baskıda).
11. Hiçsönmez G Özsoylu Gürgey Zamani İrken : High-dose methylprednisolone for remission induction in children with ANLL. Eur. J. Hematol. 42 : 498-500, 1989.

12. Hiçsönmez G Özsoylu Tuncer Erer : High-dose intravenous methylprednisolone in the treatment of ANLL with ocular involvement. The Turkish Journal of Pediatrics 30 : 181-183, 1988.
13. Hiçsönmez G Özsoylu Tuncer Ertürk Özbek Karadeniz : Direct morphological evidence of high-dose methylprednisolone induced maturation of leukemic cells in children with ANLL. Exp. Hematology. 1990 (Baskıda).
14. Lotem J Sachs : Control of Fc and C3 receptors on myeloid leukemic cells. The Journal of Immunology, 116,2 : 580-586, 1976.
15. Lotem J Sachs : Genetic dissociation of different cellular effects of interferon on myeloid leukemic cells. Int. J. Cancer. 22 : 214-220, 1978.
16. Low Freeman : Electron Microscopic Atlas of Normal and Leukemic human blood. Mc Graw-Hill book company inc. 195-232, 1958.
17. Maureen O Catovsky Costello : Ultrastructural cytochemistry of leukemic cells. British Journal of Haematology. 45 : 201-208, 1980.
18. Rovera G Santoli Damsky : Human promyelocytic leukemia cells in culture differentiate into macrophage-like cells when treated with a phorbol diester. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76,6 : 2779-2783, 1979.
19. Sachs L : The differentiation of myeloid leukemia cell. British Journal of Hematology, 40 : 509-517, 1978.
20. Schumacher H Szekely Park Rao ve ark : Acute leukemic cells. American Journal of Pathology. 73,1 : 27-44, 1973.
21. Shu-tong W Bao-wen : Ultrastructural study of leukemic cells before and after chemotherapy in acute leukemia. Chinese Medical Journal, 101 (4) : 245-248, 1988.
22. Tulliez M Gorius : Three types of auer bodies in acute leukemia Laboratory Investigations. 41 (5) : 419-425, 1979.

FOTOTERAPİNİN HÜCRE KİNETİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ*

A. Tükün**

N. Kuyucu***

A. Sunguroğlu**

G. Öcal***

I. Bökesoy**

İlk kez 1958'de; bazı sarılıklı çocukların gün ışığında kalan kanlarında bilirübinin kaybolduğunun gözlenmesinden sonra, ışık-bilirübin etkileşimi noktasından hareketle, Cremer ve Perryman tarafından tanımlanan fototerapi; 1968 yılından bu yana indirekt hiperbilirübinemi tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Fototerapinin gastroenterit, retina hasarı gibi klinik olarak saptanabilen hasarları dışında, uzun dalga boyunda bir radyasyon olması nedeni ile genetik maddeyi de etkileyebileceği tartışılmaktadır (3).

Mutajenitenin saptanması için tanımlanan çeşitli testlerden (4) bir tanesi de son yıllarda sıklıkla kullanılan Hücre Kinetik İndeksi (CKI)'dir (5). Bu testin temeli, mitoz sürelerinin tayinidir. Hücreler in vitro koşullarda, doku tipine de bağlı olarak belirli sürelerde mitoz girerler. Bu sürenin belirlenmesinde kişisel özellikler rol oynarken; fiziksel, kimyasal ve diğer çevresel etkiler hızı değiştirebilirler. Hücre siklusunda oluşan değişiklikler, mitozun çeşitli evrelerinde hatalara ve mutasyonlara neden olurlar (6). Bu nedenle hücrenin siklus hızının saptanması, mutajen etki hakkında bilgi verebilir.

Sunulan çalışmada; fototerapinin olası mutajenik etkisinin CKI ile araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Klinik özellikleri tablo I'de özetlenen 10 hiperbilirübinemik ve 10 sağlıklı yenidoğandan alınan periferik kan, % 20 FCS ve 10 mg/ml BrdU içeren M199 ile hazırlanmış vasatlarda 72 saat 37 C'da inkübe edilmiştir. Karanlıkta yürütülen kültür işleminden sonra hazırlanan preparatlarda Kohenber-Freedlender (7) yöntemi ile differensiyasyon sağlanmıştır.

* Bu çalışmada A.Ü.T.F. Araştırma Fonu tarafından desteklenen 87090001 proje no.lu çalışmamızda kullanılan materyalden yararlanılmıştır.

** A.Ü.T.F. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

*** A.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Tablo I : Hasta ve kontrol grubunun klinik özellikleri

	n	Gastasyon Yaşı (hafta)	Doğum Ağırlığı (gram)	Yaşı (gün)
Hasta	10	39.5+1.7	3160+358.9	3.5+1.18
Kontrol	10	40.0+0.0	3410+480.0	2.5+1.44

Bu işlem hasta grubunda; fototerapi bitiminde ve iki gün sonra yenilenmiştir.

Her kültür için sayılan 100 metafazdaki birinci, ikinci ve üçüncü mitozlar saptanmış ve $CKI = (M1+2.M2+3.M3)/100$ formülü ile hücre kinetik indeksi çıkarılmıştır (5).

Sonuçlar Mann-Whitney U ve Wilcoxon testleri ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmanın sonunda elde edilen CKI değerleri tablo II'de verilmiştir.

Tablo III'te gösterilen, gruplararası karşılaştırmalarda; hastadan elde edilen fototerapi öncesi, bitimi ve iki gün sonrası değerleri arasında olduğu gibi, bunlarla kontrol grubu değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo II : Kontrol ve hasta grubunun CKI değerleri

Kontrol Grubu	Hasta Grubu		
	FTÖ*	FTS**	2 Gün Sonra
1.80	1.99	1.88	2.00
1.88	1.91	2.14	1.95
1.84	1.94	1.88	1.86
2.02	1.84	2.03	1.87
2.00	2.02	1.79	1.83
1.92	1.89	1.94	1.99
1.88	1.90	1.92	1.88
1.82	1.88	1.80	2.15
1.89	1.88	1.87	1.85
1.98	1.91	1.83	1.82

* FTÖ : Fototerapi öncesi

** FTS : Fototerapi sonrası

Tablo III : Gruplararası karşılaştırma

	Kontrol	Fototerapi Öncesi	Fototerapi Sonrası	2 Gün Sonra
Kontrol		p>0.05	p>0.05	p>0.05
Fototerapi öncesi	p>0.05		p>0.05	p>0.05
Fototerapi sonrası	p>0.05	p>0.05		p>0.05
2 gün sonra	p>0.05	p>0.05	p>0.05	

TARTIŞMA

Hiperbilirubineminin başlıbaşına genetik materyal üzerinde hasar yapıcı etkisinin olabileceği düşünüldüğü için, çalışmamızda ilk olarak sağlıklı ve hiperbilirubinemik yenidoğanların CKI değerleri karşılaştırıldı.

Bu konuda Demirsoy ve arkadaşlarının 1987'de yayınlanan çalışmalarında; hiperbilirubinemik yenidoğanlarda SCE değerlerinin özellikle 1 numaralı kromozomda olmak üzere, fototerapi sonrasında anlamlı miktarda azaldığı bildirilmiş ve bunun hiperbilirubinemiye bağlı olabileceği tartışılmıştır (8).

Ancak bizim çalışmamızda, hiperbilirubinemik ve sağlıklı yenidoğanlar arasında CKI üzerinden yapılan değerlendirmelerde anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Fototerapinin DNA üzerindeki etkisinin araştırılması için hiperbilirubinemik yenidoğanların fototerapi öncesi ve sonrası CKI değerleri karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Sideris ve arkadaşlarının bir çalışmalarında ise fototerapide kullanılan 420-500 nm dalga boyundaki ışığın kromozom kırık ve SCE sayısını arttırdığı yani DNA üzerinde hasar yapıcı etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (9).

Bir mutajenle karşılaşan hücrede, mutajenik etkinin sürekli olmaması durumunda; oluşan hatalar, bu etkiyi izleyen siklus süresinde onarılır (4). Buna dayanarak; hasta grubunda, fototerapiden 48 saat sonra elde edilen değerler, fototerapinin bitimindekilerle karşı-

laştırılmış, ancak fark gözlenmemiştir. Bu sonuç da fototerapinin, hücre siklusunu değiştirmek yolu ile DNA üzerinde hasar yaratıcı etkiye sahip olmadığını desteklemektedir.

Hatcher doğum esnasında yüksek olan SCE sayısının, bunu izleyen günlerde giderek azalarak normale döndüğünü bildirmiştir (10). Bu nedenle çalışmamızdaki tüm yenidoğanların yaş ortalamalarının hemen hemen aynı olmasına dikkat edilmiştir. Bu nedenle, diğer çalışmaların bu yönden değerlendirilmesi gerektiği düşünülebilir.

Seçilen mutasyon testlerinin farklı olmasının, sonuçlardaki ilişkiye yol açtığı düşünülebilir. Daha önce yapılan çalışmalar, hücre kinetiğini değiştiren ajanların aynı zamanda kromozomlarda hataların artmasına yol açtığı yönündedir (5). Yaptığımız çalışma sonucunda; fototerapinin hücre siklusunu etkilemediği gözlenmiştir. Aynı preparatlar üzerinden yapılan diğer bir araştırmamızda; elde edilen SCE değerlerinde de anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Buna göre, fototerapinin hücre kinetiğinden bağımsız olarak da DNA'da hasar yaratmadığı düşünülebilir.

DNA hasarı yapıcı etkilerinin var olduğu bilinen X-ışını ve UV'nin (1,2) iyonize edici etkisine karşın, floresan ışığı cisimlerle fotokimyasal reaksiyona girer (3,9). Bu nedenle diğer ışıklardan farklı olarak değerlendirilerek, DNA üzerindeki etkisinin aydınlatılması için çalışmaların artırılması gerekmektedir.

ÖZET

Sağlıklı yenidoğanlardan doğumu izleyen ilk bir hafta içinde ve hiperbilirübinemik yenidoğanlardan fototerapi öncesi, sonrası ve iki gün sonrası alınan periferik kan, 10 mg/ml final konsantrasyonda BrdU içeren vasatlara ekilmiştir. Karanlıkta yürütülen kültür işlemi sonunda hazırlanan preparatlarda birinci, ikinci ve üçüncü mitozlar sayılmıştır. Hücre kinetik indeksi (CKI) $CKI = (M1 + 2.M2 + 3.M3)/100$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar fototerapinin CKI üzerinde çok belirgin bir etkisinin olmadığını düşündürmüştür.

SUMMARY

Effects of Phototherapy on Cell Kinetics

Blood cultures were obtained from healthy newborns at first week of life, newborns with hyperbilirubinemia before and after the phototherapy for the analysis of cell kinetics with a repeat two days later. Cultures were carried on dark with a final concentration of BrdU 10 mg/ml. Slides were screened for the first, second and the third mitotic division. Cell Kinetics Index (CKI) was evaluated with the formula of $CKI = (M1 + 2.M2 + 3.M3)/100$. Findings were suggested no obvious effect has phototherapy on CKI

KAYNAKCA

1. Das BC Sharma T : The fate of X-ray-induced chromosome aberrations in blood lymphocyte culture. *Mutat. Res.*, 176 : 93-104, 1987.
2. Balakrishna Murthy P Abdul Rahiman M Tulpule PG :UV-Induced Chromosome Aberrations, Sister-Chromatid Exchanges and Cell Survival in Cultured Lymphocytes from Malnourished Children. *Pediatr. Res.*, 16 : 663-664, 1982.
3. Vogel F Motulsky AG : Human Genetics, Problems and Approaches. Second ed. : Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, pp 330-359, 1982.
4. Kilbey BJ Legator M Nichols W Ramel C : Handbook of Mutagenicity Test Procedures : Elsevier Scientific Publishing Company, 1977.
5. Tucker JD Christensen ML : Effects of antikoagulants upon sister-chromatid exchanges, cell-cycle kinetics, and mitotic index in human peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.*, 190 : 225-228, 1987.
6. Mutchinick O Ruz L Gonsebatt ME Mauleon P Lisker R Garcia G : Frequency and Types of Induced Spontaneous Chromosome Aberrations in Relation to Cell Kinetics. *Hum. Genet.*, 59 : 137-140.
7. Korenberg IR Freedlender EF : Giemsa technique for the detection of SCE. *Chromosoma*, 48 : 355-360, 1974.

8. Demirsoy D Tunçbilek E Oran O : Fototerapinin kromozomlar üzerindeki etkisinin in vivo «Sister Chromatid Exchange» tekniği ile araştırılması. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 30 : 17-27, 1987.
9. Sideris EG Papageorgiou GC Charalampous SC Vitsa EM : A Spectrum Response Study on Single Strand DNA Breaks Sister Chromatid Exchanges, and Lethality Induced by Phototherapy Lights. Pediatr. Res., 15 : 1019-1023, 1981.
10. Hatcher NH Risemberg HM Powers MM Hook EB : Sister Chromatid Exchange and Phototherapy. Mutat. Res., 60 : 401, 1979.

**ANADOLU'NUN GENETİK YAPISI
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR : XXVI.
8. AKRABA EVLİLİKLERİNE İLİŞKİN EK BULGULAR
(Hocam Prof. Dr. Kâmile Şevki MUTLU'nun silinmeyen hatırasına)**

Bekir Sıtkı ŞAYLI*

Anadolu toplumundaki kan yakını evliliklerin sıklık ve çeşitlerini saptamak amacıyla başlattığımız çalışmalara ilişkin ilk bulgularımızı 1969 da yayınlamış, daha sonra, başkaları yanısıra, proband aileleri 5000 iken yeni bir saptama yapmıştık (Şaylı ve Arslanoz 1983), öteki kaynaklardan gelenlerle birlikte o yazıda irdelenen toplam aile sayısı 26,345 olmuştu. Şimdi sunulan makaleyle araştırma materyeli yaklaşık 8 yıl sonra 10.000 aileye çıktığından durumu yeniden gözden geçirmek ve insidansdaki kadar eğilimlerdeki değişimleri de belirlemek istedik; zira, 30-35 yıl kadar önce artan Anadolu toplumundaki hareketler bir kez daha doruktadır.

MATERYEL VE METOD

Materyel kaynaklarına göre şöyle verilebilir :

1. Ankara Ü. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Servisimize gönderilenler ya da doğrudan başvurular araştırma materyelini oluşturmuştur. Propozitus aileleri dediğimiz bu grupta 11 bini aşkın aile vardır ki ilk 5 bini yukarıda sözü edilen 1983 yayınlamamızda analiz edilmişlerdi. Yine kolaylık bakımından burada ikinci 5 bin dosya ele alınacaktır. Önceki yazılardaki gibi başvuru sebebi vb. noktalar üzerinde durulmayacaktır. Araştırma materyeline katılmanın tek koşulu soru anında sürdürülen bir evliliğin bulunmasıdır. Bilgiler her refere için açılan dosyalarından derlenmiş, adı ilk yazılan, eğer bekârsa, anne-babasından yine adı ilk yazılan proband sayılmıştır.

2. Dosyalarda kuşkusuz çeşitli demografik bilgiler, fizik ve laboratuvar muayene bulguları ve yapılabildiğince ayrıntılı aile ağacı (pedigri) ve elbet o kişilerin evlilikleriyle evlilik ürünleri hakkında

* A. Ü. Tıp Fakültesi Genetik, Profesörü.

ayrıntılara yer verilmektedir. Bu sonuncular, yani, propozitusun anne ve babasıyla kardeşlerinin, keza propozitusun eşinin anne ve babasıyla kardeşlerinin arasındaki evlilikler propozitus-ıçî aileler adıyla araştırmaya dahil edilmişlerdir. Hepsi 27,774 ailedir (Tablo 1).

3. Genel toplum aileleri : Gerek Ankara gerekse Ankara dışında gezi vb. fırsatlardan yararlanarak gelişi güzel soruşturulmuş ailelere ilişkin bilgileri kapsamaktadır. Bunlar arasında ziyaretçiler, fakülte - hastane personeli, öğrenciler, memurlar, işçiler... bulunmaktadır. Belli bir toplum kesiminden daha fazla örnek almamağa özen gösterilen bu grupta 18,858 aile vardır ki genel toplum örnekleme sayılıp kontrol toplumu gibi değerlendirilmişlerdir.

Aşağıda 1983 araştırmasıyla şimdiki 5 bin aile topluca verilmektedir (Tablo 1).

Tablo : 1

	1983 İrdelemesi	şimdiki İrdeleme	Toplam
Propozitus aileleri	5.000	5.000	10.000
Propozitus-ıçî aileler	17.614	27.774	45.388
Kontrol toplumu aileler	3.730	18.858	22.588
Toplam	26.344	51.632	77.976

BULGULAR

Bulgular 3 grup için ayrı ayrı verilecek ve kısaca ilk 5 bin aileden gelenlerle karşılaştırılacaktır.

1. Proband ailelerinde konsangüinite : Toplam 5.000 evlilik içersinde eş akrabalığı bulunanlar 1879 olup % 37,58 oranını verir. Geriye kalan 3121 evlilikte (% 62,42) kan bağı yoktur. Pedigrilerden saptanan akrabalık dereceleri probanda göre Tablo 2'de gösterilmektedir.

Sadece bir evlilikte (% 0,05) propozitus kardeşinin çocuğuyla evlenmişken 1221 aileyle (% 64,89) en fazla birinci yeğen evlilikleri gözlenmektedir. Bunların içersine çifte birinci yeğen (% 1,33) ve üvey birinci yeğen evlilikleri (% 1,54) dahildir; ayrıca 5 ailede birinci yeğen evliliğinin derecesi öğrenilememiştir. Eşler daha sonra birbuçuk yeğen evliliğinde yığılmaktadırlar; nitekim, 2 çifte birbuçuk (% 0,1) ve 9 üvey birbuçuk (% 0,47) yeğen evliliği dışında 171 (% 9,10) evlilikte

birbuçuk yeğen evliliği vardır. Üçüncü büyük yığılma ikinci yeğen evliliklerinde gözlenmektedir : 170 ailede (% 9.04) eşler ikinci yeğenken 1 ailede (% 0.05) çifte ikinci yeğenler ve 8 ailede (% 0.42) üvey ikinci yeğendirler.

Geriye kalanlardan 37 kişi (% 1.96) ikibuçuk yeğen evliliği yapmışken 21 kişi (% 1.11) üçüncü yeğen ve 1 kişide üçbuçuk yeğen evliliği yapıldığı anlaşılmıştır. Bu arada 18 birey (% 0.95) eş akrabalığını «çok uzak», 175 kişi (% 9.31) «uzak» diye adlandırmış ve 44 evlilikte (% 2.34) akrabalık derecesi belirlenememiştir. Bize göre bu son 3 kategoridekilerin büyük çoğunluğu da birbuçuk ve ikinci yeğen evlilikleri sayılsa önemli yanlılık yapılmış olmaz.

Tablo 2 : Propozitus ailelerinde akrabalık derecesi (propozitusa göre)

Akrabalık derecesi	No.	%	No.	%
Kardeş çocuğu	—	—	1	0.05
Birinci yeğenler	—	—	1221	64.98
Amca çocuğu	308	25.22	—	(16.39)
Hala çocuğu	275	22.52	—	(14.63)
Dayı çocuğu	256	20.96	—	(13.62)
Teyze çocuğu	323	26.45	—	(17.18)
Çifte birinci yeğen	25	2.04	—	(1.33)
Üvey birinci yeğen	29	2.37	—	(1.54)
Belirtilmeyen	5	0.40	—	(0.05)
Bir buçuk yeğenler			171	9.10
Çifte bir buçuk yeğenler			2	0.10
Üvey bir buçuk yeğenler			9	0.47
İkinci yeğenler			170	9.04
Çifte ikinci yeğenler			1	0.05
Üvey ikinci yeğenler			8	0.42
İki buçuk yeğenler			37	1.96
Üçüncü yeğenler			21	1.11
Üç buçuk yeğenler			1	0.05
«Çok uzak»			18	0.95
«Uzak»			175	9.31
Belirtilmeyen			44	2.34
Toplam			1879	100,00

Akraba evliliklerinde ilk sıra birinci yeğenlerce tutulmaktadır. Şöyle ki % 25.22 oranında amca çocukları, % 22.52 oranında hala çocukları, % 20.96 oranında hala çocukları ve % 26.45 oranında teyze çocukları birbirlerine gitmekteler. Aralarındaki farkların pek anlamlı olmadığı, kardeş çocuklarının herhangi tercih yapmaksızın evlendirildikleri açıkça ortaya çıkmaktadır; kaldı ki hala-dayı ayrımı bazı örneklerde sorulan kişiden kaynaklanabilir.

Böylece akraba evliliği deyince kardeş çocukları arasındaki evlilikler anlaşılabilir yerindedir. Şimdi verilen % 64.98 oranı ilk 5 bin için % 61.26 dır ki birbirine pek yakındırlar. Aynı şekilde ilk 5 bin kişi arasındaki konsangüinite oranıyla (% 31.24) şimdiki 5 bin arasındaki oran (% 37.58) temelde farklı değildir. Yurdumuzdaki eğilimin 8 yıl içerisinde pek değişmediği böylece vurgulanırken alternatif olarak genetik servislerine danışma için daha çok kişinin geldiği ileri sürülebilir.

2. Propozitus-ıçi ailelerde konsangüinite : Pedigri bilgilerinden yararlanıp proband ve eşinin akrabalığından ayrı ve bağımsız olarak kindreddeki öteki kan yakını evlilikler araştırılmıştır. Bazı ayrıntılardaki siliklik nedeniyle sadece oranların üzerinde durulmakla yetinilecektir (Tablo 3). Görüldüğü üzere örneklerin % 19.26 kadarında probandın anne-babası da akrabayken aynı kindreden herhangi başka bir evlilikte kan bağı % 44.83 örnekte gözlenmektedir. Bu oranlar probandın eşinin tarafında sırasıyla % 16.65 ve % 39.64 bulunur. Bulgular bilinmeyenlerin çokluğuna rağmen kan yakını evliliklerin Anadolu'da uzun bir süredir ve yaygın biçimde yapıldığını kanıtla-mağa yeter. Aralarındaki farka rağmen ilk 5 binlik serideki rakamlar da peşpeşe iki kuşakta eş akrabalığının sıklığını vurgular. Elbet, proband ve eşinin ailelerindeki total evlilikler verilmediği için gerçek prevalansı göstermez, ama yukardaki yargıyı kuvvetle destekler.

4. Tablo ise probandın eşitle akrabalığı esasen varken probandın ve eşinin anne - babasıyla iki ailede birden başka herhangi bir evlilikteki akrabalıkları göstermektedir. Bu göre % 25.10 vak'ada probandın anne ve babası, % 23.84 vak'ada eşinin anne-babası arasında akrabalık varken bu oranlar sırasıyla iki taraftan başka herhangi bir evlilik için % 59.13 ve % 54.07 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar için total aile sayısının bilinmediği dikkate alınmakla beraber bilinmeyenlere rağmen akraba evliliklerinin bazı yöre veya ailelerde yığıldığı ortaya çık-

Tablo 3 : Probandın eşiyle akrabalığından ayrı ve bağımsız olarak her iki taraftaki konsangüinite

Entite	Olanlar		Akrabalık Olmıyanlar		Bilinmeyen No.	Toplam
	No.	%	No.	%		
Probandın anne - babası arasında	819	19.26	3433	80.74	748 (4252) *	5.000
Probandın ailesinde başka bir evlilikte	1762	44.83	2168	55.17	1070 (3930)	5.000
Probandın eşinin anne - babası arasında	644	16.65	3223	83.35	1133 (3867)	5.000
Probandın eşinin ailesinde başka bir evlilikte	1359	39.64	2069	60.36	1572 (3428)	5.000
Toplam	4584	—	10,893	—	— —	20.000

* Parantezlerdeki rakamlar bilinenlerin toplamıdır.

maktadır. Son 2 Tablodaki rakamların homojenliği kadar birbirlerine benzemesi Anadolu toplumundaki yüksek konsangüiniteyi destekler ve uzun süredir yapılageldiğini kanıtlar.

Tablo 4 : Probandın eşiyle akrabalığı esasen varken iki taraftan öteki evliliklerdeki akrabalıklar

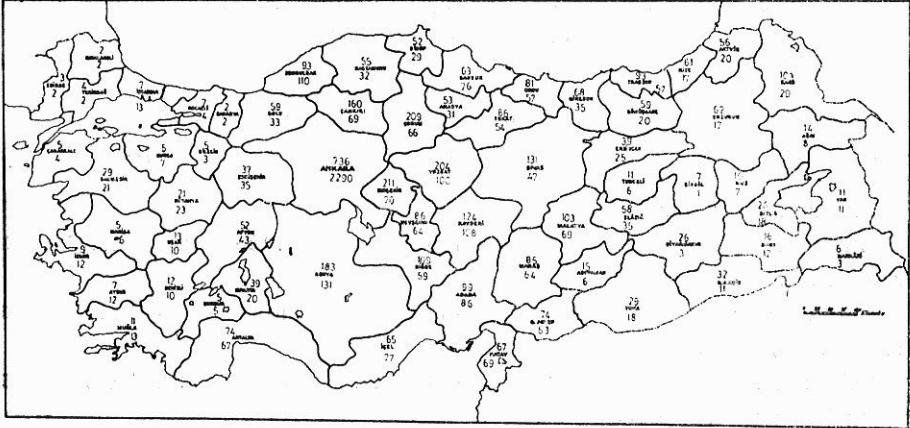
Entite	Olanlar		Akrabalık Olmıyanlar		Bilinmeyen No.	Toplam
	No.	%	No.	%		
Probandın anne - babası arasında	417	25.10	1245	79.90	217 (1662) *	1879
Probandın ailesinde başka bir evlilikte	884	59.13	611	40.87	384 (1495)	1879
Probandın eşinin anne - babası arasında	387	23.84	1236	76.16	256 (1623)	1879
Probandın eşinin ailesinde başka bir evlilikte	776	54.07	659	45.93	444 (1435)	1879
Toplam	2464	—	3751	—	1301 (6215)	7516

* Parantezlerdeki rakamlar bilinenlerin toplamıdır.

Nitekim, 5 entite birden dikkate alındığında 128 ailenin (% 6.81) «inbred» deneyecek nitelikte oldukları görülür; yani, proband eşiyile esasen kan bağıyla bağılyken anne - babası, eşinin anne - babası da kan yakınıdırılar hem her iki tarafta birden başka akraba evlilikleri vardır. Proband bu durumu çoğu kez «kabile, aşiret» diye tanımlamaktadır.

Şimdiye kadar sunulanlar populasyon dinamikleri açısından değerlendirildiğinde şu sonuçlara gelinir. Eş akrabalığı saptanan evliliklerde probandın doğum yeri 1172 örnekte (% 62.37) köy, 343 örnekte (% 18.25) kasaba - küçük ilçe ve 269 örnekte (% 14.31) (il merkezi) şehir doğumludur (Tablo 5). Geriye kalanlardan 23 örnekte (% 1.22) proband Türkiye'den başka bir ülkede doğmuş, 72 sindeyse (% 3.83) probandın doğum yeri belirlenememiştir. Öte yandan % 37.25 oranında (700 kişi) probandın eşinin doğum yeri aynıyken % 27.35 oranda yakın yerdir. Böylece yurdumuzdaki konsangüinitenin küçük yerleşim birimlerinden kaynaklandığı sonucuna gelinmektedir.

Nitekim, probandın doğum yeriyle eşlerin yaşadıkları yerleri gösteren harita incelenirse görülür ki Doğu, Kuzey Doğu ve Güney Doğu Anadolu yörelerinde, Orta Anadolu'nun bazı kesimleriyle büyük kentlerin gelişmekte olan yerlerinde ortalamanın çok üzerinde olacak biçimde en sıktır. Bununla beraber, Ankara Tıp Fakültesi materyeli arasında Marmara, Ege ve Btı Güneyden nispeten düşük sayıda materyelin bulunduğu göz önünde tutulmak gerekir (Resim 1).



BU ÇALIŞMA ESKİ İLLERE GÖRE YAPILMIŞTIR

Resim 1 : Propozitusa göre akraba evliliklerinin yurtiçi dağılımı :

Üstteki rakamlar : Propozitusun doğum yeri

Altteki rakamlar : Eşlerin yaşadıkları yerler

Haritada gösterilmeyenler :

- 1 Ankara doğumlu propozitusun eşiyle yaşadıkları yer?
- 139 Proband ve eşinin doğum yerleri belli değilken çiftler Ankara'da yaşamaktalar.
- 1 Proband ve eşinin doğum yeri belli değilken çift Artvin'de yaşamakta.
- 1 Proband ve eşinin doğum yeri belli değilken çift İstanbul'da yaşamakta.
- 1 Proband ve eşinin doğum yeri belli değilken çift İzmir'de yaşamakta.
- 1 Proband ve eşinin doğum yeri belli değilken çift Sakarya'da yaşamakta.
- 4 Ne doğum yerleri ne yaşadıkları yerler belli.
- 9 Ankara, Balıkesir, Kastamonu, Kırşehir, Nevşehir (2 aile), Rize, Trabzon, Uşak ve Yozgat doğumlu eşler soru anında Alman'ya'da yaşamaktalar.
- 1 Konya doğumlu eşler Hollanda'da yaşamakta.
- 2 Kayseri ve Yozgat doğumlu eşler Fransa'da yaşamaktalar.
- 1 Denizli doğumlu eşler Avusturya'da yaşamaktalar.
- 1 Yugoslavya doğumlu eşler Ankara'da yaşamaktalar.
- 1 Bulgaristan doğumlu eşler Tekirdağ'da yaşamaktalar.
- 3 Ürdün doğumlu eşler Ürdün'de yaşamaktalar.
- 1 Bulgaristan doğumlu aile Ankara'da yaşamakta.
- 3 Proband Kuzey Kıbrıs Türkiye Cumhuriyeti doğumlu
- 4 Eşler Kuzey Kıbrıs Türkiye Cumhuriyeti'nde yaşamaktalar.

Yeni bilgiler ilk 5 bin aileden gelenlerle uyuşma halindedir.

Araştırılan toplumların en büyüğü propozitusunkiyle anne - babası ve eşinin anne - babasının evliliklerinin dahil edilmediği fakat haklarında güvenilir bilgi bulunan öteki tüm evlilikleri kapsamaktadır ki böyle 27,774 çift vardır. Bunların arasında 3954 evlilikte kan yakınlığı saptanmıştır. ki konsangüinite oranı 14.23 eder. Proband başına 3.74 evliliğin düştüğü bu grup eğer 30 yaş ve yukarındakiler diye ikiye ayrılır, ilki proband kuşağına, ötekisi bir önceki kuşağa karşılık sayılırsa peşpeşe 2kuşak elde edilir ki yaklaşık aynı konsangüinite oranlarına gelinir. Bazı eleştiriler saklı kalaraktan kontrol materyeli saydığımız bu grup bize göre bir çeşit genel toplumdur ve % 14.23 rakamı yurdumuzdaki eş akrabalığı oranını yansıtmaktadır. 1983 yılında yayınladığımız 17,615 aileye göre bu rakam 10.18 olup son 7 - 8 yıla göre insidansda azalma olduğunu göstermeğe yetmez. Kaldı ki veriler 3 ve 4. Tablodakilere uygundur.

3. Genel toplumda konsangüinite :

Genel toplumdan 18,858 aileden 2179 tanesinde kan yakınlığı tanımlanmıştır ki % 11.55 oranına varılır. Örneğin küçüklüğüne rağmen az önce verilen propozitus aileleri oranına pek yakın oluşu, keza ilk incelenen 5 bin ailedeki % 11.28 rakamıyla hemen aynı çıkması bilgilerin güvenilirliğinin kanıtı sayılmak gerekir. Pedigriye başvurulmadan genellikle ifadeye dayanılarak yapılan sınıflamada akraba evliliği derecesinin Tablo 2 de verilene pek benzediği görülür.

Sonuç olarak denebilir ki :

1. Anadolu toplumunda akraba evlilikleri genelde % 12 dolaylarındadır. Bu oran herhalde uzun yıllardır sürdürülmektedir.
2. Eş akrabalıklarının kaynağı küçük yerleşim birimleri olup yurdumuzun çeşitli kesimlerinde prevalansda önemli farklılık yaratmaktadır. Ve son yıllarda yurt dışına kayma eğilimindedir.
3. Konsangüinite oranında düşme varsa bile henüz belirgin değildir.
4. Uzun süredir verilen danışmanlığa rağmen bu tür evliliklerin sürdürülmesinin değişik ve çok yönlü temelleri düşünölmek gerekir.

Tablo 5 - Propozitus ailelerinde proband ve eşinin doğdukları ve yaşadıkları yerler

Probandın doğum yeri	Köy		Kasaba- Küçük ilçe		Şehir- il merkezi		Öteki ülkeler		Bilinmiyen		Hepsi
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%	
	1172	62,37	343	18,25	289	14,31	23	1,22	72	3,83	1879
Eşinin doğum yeri	Aynı		Yakın		Uzak yer		Öteki ülkeler		Bilinmeyen		Hepsi
	1334	70,99	330	17,56	114	6,06	23	1,22	78	4,15	1879
Eşlerin yaşadıkları yer	Doğum yeriyle aynı		Yakın		Uzak yer		Öteki ülkeler		Bilinmeyen		Hepsi
	700	37,25	514	27,35	576	30,65	22	0,17	67	3,57	1879

TARTIŞMA

Bu çalışmayla sunulan son 5000 propozitus ailesine ilişkin ayrıntılar daha önce varılan yargıları destekler anlamdadır. Özetle söylenecek olursa Anadolu toplumunun büyük kesimi hâlâ kan yakını evlilikleri adeta ısrarla ve yaygın biçimde sürdürmektedir.

Yeni bilgilerin daha önceliklerle uyumluluğu araştırma ve verilerin sağlıklı ve güvenilirliğini vurgular. Kaldı ki başka araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla da aynı sonuçlara gelinmektedir. (4-10).

Araştırmaların genel amacı Türk toplumunun bazı özelliklerini ortaya çıkarmaksa da şimdilik propozitus aileleriye ilgili yakınmalar ve tanılar üzerinde durulmayacaktır. Bunlar ayrıca ele alınacaktır. Beklenir ki böylesine yüksek konsangüinite oranı «inbreeding» etkisi yaratır.

Anadolu halkının çeşitli özelliklerinin araştırılmamış olması yanı sıra konsangüinite oranı da hiç bilinmemektedir. O yüzden bir yandan propozitus ve eşinin anne-babası ayrıca irdelenirken öte yandan hem propozitus-içi aileler hem genel populasyon aileleri ikiye bölünerek peşpeşe iki kuşak yaratılmış ve bunlarda kan bağının oranları belirlenmiştir. İki grup bilgiler birbirleriyle uyduğu için Anadolu toplumunun belirli kesimlerinde kan yakını evliliklerin çok uzun süredir yapılageldiği sonucuna varılmıştır. Bulgular bugün için kan yakını evlenmelerde önemli bir azalmanın olduğunu ortaya koymaya yetmemektedir. Bu da bu tür evliliklerin toplumca benimsenip desteklendiklerini anlatmaya yeter (4-10).

ÖZET

1983 yılında yayınladığımız ilk 5000 kişilik aileden sonraki 5000 ailelik bu ikinci yayınla Anadolu toplumundaki kan yakını evliliklerin son durumları verilmektedir. 5000 propozitus ailesine göre konsangüinite % 37.58; 27.774 propozitus-içi aileye göre % 14.23 ve 18.858 genel toplum evliliğine göre de % 11.28 dir. Bulgular Anadolu'da konsangüinitenin önemli ölçüde azaldığını göstermeye yetmemiştir.

SUMMARY

Studies On The Genetic Make-Up of Anatolia : XXVI.

8. Recent Findings on Consanguineous Marriages

In this article related to a work aiming to reveal some of the characteristics of Anatolian population recent findings on consanguinity rates coming from a second-5-thousand-propositi families after publication of the first in 1983 are presented. Consanguinity rate is 37.58 percent with respect to 5000 propositi families, 14.23 percent to 27,774 within-propositi families and 11.28 to 18,858 general-population families which do not show any substantial reduction in blood relation.

KAYNAKLAR

1. Başaran N Şaylı BS Başaran A ve ark : Consanguineous marriages in the Turkish population, Clin Genet 34 : 339, 1988.
2. Güz K Dedeoğlu N Lüleci G ve ark : Antalya yöresinde akraba evliliği sıklığı ve tıbbi sonuçları, Birinci Ulusal Prenatal Tanı ve Anadolu'nun Genetik Yapısı Sempozyumu, Anadolu Üniversitesi, özetler, s. 256, 1989, Eskişehir.
3. Kaplanoğlu N Paydak F : Konya'da Akraba evliliklerinin sıklığı ve tıbbi sonuçları, aynı kaynak, s. 258.
4. Ökten G Elbistan M : Samsun yöresi kırsal alanda akraba evliliklerinin sıklığı ve toplum sağlığına etkileri üzerine bir ön çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Sempozyumu, özetler, s. 19, 1990, Samsun.
5. Tunçbilek E Ulusoy M : Consanguinity in Turkey in 1988, Turkish Journal of Population Studies 11 : 35, 1989.
6. Tümerdem Y Ayhan B Akın E : Ülkemizde kan akrabalığı evliliğinin kuşaklar farklılığı (epidemiolojik bir çalışma), Birinci Ulusal Prenatal Teşhis ve Anadolu'nun Genetik Yapısı Sempozyumu, özetler, s. 260, 1989, Eskişehir.
7. Şaylı BS : Anadolu'nun genetik yapısı üzerine çalışmalar : I. Kan yakını evlenmelerin çeşit ve sıklıklarına dair ilk bulgularımız, A.Ü. Tıp Fak. Mec. 22 : 207, 1969.
8. Arslanöz A : Anadolu'nun genetik yapısı üzerine çalışmalar : VI. 6. Akraba evliliklerine ilişkin yeni bulgular, aynı kaynak 36 : 313, 1983.
9. Anadolu'nun genetik yapısı üzerine çalışmalar : XXI. Anadolu toplumunun genetik yapısı üzerine bazı çalışmalar, Birinci Ulusal Prenatal Teşhis ve Anadolu'nun Genetik yapısı sempozyumu, özetler, s. 84, 1989, Eskişehir.
10. Köksal Y Korkmaz A Bilgin S : Anadolu'nun genetik yapısı üzerine çalışmalar : XXIII. 7. Genel toplumdan bir kesimde kan yakını evlenmeler, aynı kaynak s. 240, 1989, Eskişehir.

ANOVULATUVAR KADINLARDA MENOTROPİN İNDÜKSİYONUyla OLUŞAN ENDOMETRİYUMUN PREMENSTRUAL EVREDEKİ YAPISI

Alp Can*

Günümüzde endometriyal biyopsi ve bunun sağladığı günleme yöntemi gerek düzenli menstrüal sıklusa sahip kadınlarda kontrol amacıyla gerekse çeşitli nedenlerle meydana gelmiş menstrüal siklus bozukluklarının tanısında ve tedavi sonuçlarının değerlendirilmesinde en çok kullanılan ve en güvenilir yöntemlerin biri olarak kabul edilmektedir (21,26,28). Bugüne kadar düzenli sıklusa sahip kadınlardan alınan biyopsi örneklerinde endometriyumun 28 gün süresince geçirdiği değişim günlük gözlemlerle saptanarak gerek ışık (5,16) gerekse elektron mikroskopik (3,6,26) düzeylerde birçok kez ortaya konmuştur. Buna göre endometriyumun menstrüal siklusun kaçınıcı gününe uyduğu saptamak (endometriyal günleme) için bugüne kadar ortaya atılan klâsik ölçütler (16) kullanılarak histolojik tanı konup 1 ya da 2 günlük bir hata payına göz yumularak alınan doku, olması gereken gün ile «uyumludur» ya da «uyumsuzdur» şeklinde yorumlanır (4,5,12,13).

Her ne kadar bu ölçütler yeterince tanımlayıcı gibi görünmekteyse de özellikle siklusun son dönemleri olan menstrüal kanamaya yakın günlerde alınan doku örneğinde yoğun bir hücre farklanmasıyla birlikte yıkımın bulunması, göz önüne alınan ölçütlerin güvenilirliğini ve kesinliğini azaltmakta ve böylece parçanın normal sınırlar içinde olup olmadığını değerlendirmek güçleşmektedir. Bugüne kadar ortaya konmuş günleme ölçütlerinin bir çoğu büyük oranda kabul görmüşse de son yıllarda yapılan çalışmalarda bunların giderek geçerliliğini yitirmekte olduğu, yerine daha güvenilir ve kesin olanlarının kullanılması gerekliliği vurgulanmaktadır (4,7,10,12).

* A.Ü. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalında Uzman Doktor.

Histolojik tanı kriterlerinden başka hasta seçimi (7), biyopsinin alınma zamanının saptanması (2,12,27), alındığı uterus bölgesi (16, 19), doku hazırlama (16), örnekleme (3), gözlemler ve gözlemciler arasındaki değerlendirme farklılıkları (21) ayrı ayrı sonucu etkileyebilmektedir. Yukarıda sayılan bu değişkenler ideal olarak sağlansa bile yine de doku değerlendirme sonuçlarının kesin olarak doğru olduğunu söylemek olası olmayabilir.

Bu çalışmadaki amaç çeşitli düzeylerde hipotalamohipofiziyel yetmezliğe sahip primer ve sekonder anovulatuvar infertil ile ovulatuvar defektli oligomenoreik kadınlarda ovulasyonu sağlamak amacıyla gonadotropin hormonları (follikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) vererek geç luteal evre endometriyumlardaki doku ve hücre değişimlerinin ne oranda gerçekleştiğini ışık ve elektron mikroskopik olarak araştırmaktır. Bu yapılırken az tanımlayıcı klâsik ölçütlerin yerine birçoğu, araştırmacının kendi önerisi olan yeni ölçütler yarı - sayısal puanlama yöntemi kullanılarak uygulanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Olguların Seçimi, Tanı ve Tedavi Protokolü

Araştırma kapsamına ovulatuvar bozukluğu olan primer ya da sekonder amenoreik ve anovulatuvar kadınlarla fonksiyonel bir bozukluk sonucu gelişmiş anovulasyonu ve oligomenoresi olanlar alındı (Tablo 1). Kadınların ikisinde hipotalamohipofiziyel yetmezlik, birinde hiperandrojenik ovulatuvar defekt bulunmaktaydı. Olguların üçünde ek infertilite faktörü olarak önceden var olan tubal obstrüksiyon cerrahi olarak tedavi edilmişti.

Kadınlarda ve eşlerinde geniş kapsamlı bir laboratuvar çalışması yapılarak tanılar kondu. Daha sonra kişisel yanıtlara uygun olarak ayarlanabilen HMG + HCG tedavisine alındılar (54). Ampirik bir dozla 3. günde başlanan HMG uygulaması, iki günlük aralarla yapılan serum E₂ ve follikül çapı ölçümleriyle ovulasyon öncesi döneme kadar devam etti. Bu tedavi süresince verilen HMG miktarı toplam 10-36 ampul arasında değişti. Bu dönemde her bir kadına ortalama beşer kez ultrasonografi yapılarak follikül çapı ve serum E₂ ölçümleri alındı. Her ikisinin de yeterli olduğu bir dönemde tek doz 10.000 IU HCG verilerek luteal evreye girmeleri sağlandı.

Daha sonra luteal evre boyunca izlenen kadınlardan gerek ultrasonografiye dayalı ovulasyon gününden ileri sayarak gerekse bazal vücut ısısı (BBT) grafiplerine göre 25. - 26. günlerde uteruslarının fundus bölgesinden Novak küretiyle endometriyum biyopsisi alındı. Biyopsi gününü kesinleştirmek için alınan bir diğer referans noktası da biyopsiyi izleyen günlerdeki adet kanamasının ilk gününden (bu günü 28. gün kabul edip) geriye sayarak (NMP) biyopsi gününü bulmaktı (2,26).

Doku Hazırlama

Novak küretiyle uterusun fundus bölgesinden alınan birkaç mm³'lük biyopsi materyali, hızla serum fizyolojikte yıkandıktan sonra 0.1 M fosfat tamponlu % 3'lük glutaraldehit solusyonuna alındı. Bu solusyonda oda ısısında 1 saat kalan parçalar daha sonra stereomikroskobu altındaki mikromanüplasyonla ışık ve elektron mikroskopik olarak izlenmek üzere küçültüldüler. Bundan sonraki basamaklarda dokular paralel olarak rutin ışık ve geçirim elektron mikroskopik takip işlemlerinden geçirildi. Işık mikroskopik olanlar H E. ile boyandılar.

Endometriyal Günleme Tekniği

Bu çalışmada günleme iki araştırmacı tarafından yapıldı. Bunlardan birinsinin alınan parça hakkında herhangi bir ön bilgisi yoktu. Luteal evredeki bütün biyopsi materyallerini değerlendirmede kullanılacak belirli yapıdaki ya da farklı yapılar arasındaki ince yapı değişimlerini yansıtabilecek günleme ölçütleri seçildi. Çok özen gösterilen bu seçimde kullanılacak kriterler, başlıca salgı bezi ve stroma ile ilişkili olanlar diye ikiye ayrıldı. Bunlardan bez yapılarına ilişkin olanlar; salgı hücresi çekirdeklerinin tek sıralı dizilimi (G1), salgı hücrelerinin yalancı çok katlı dizilimi (G2), yuvarlak çekirdek (G3), ovoid çekirdek (G4), keskin luminal yüz (G6), kıvrıntılı bezler (G7), düz bezler (G8), lümendeki sekresyon miktarı (G9)'dir.

Stroma elemanlarına ilişkin seçilen kriterler ise; stroma predesidualizasyonu (S1), yüzeyaltı predesidualizasyonu (S2), arteriyol çevresi predesidualizasyonu (S3), stroma ödemi (S4), spiral arteriyol oluşumu (S5), endometriyum lökositleri (S6) ve fokal kanama odakları (S7)'dir.

Bütün bu kriterler 0 - 3 arası yarı - sayısal bir puanlama sistemi kullanılarak ölçüldü. Buna göre 0 = yok, 1 = hafif, 2 = ılımlı, 3 = şiddetli anlamındadır. Önce tüm doku örnekleri IM olarak incelenerek

bez ve stroma yapıları değerlendirildi, daha sonra bunları oluşturan hücre ve hücre dışı yapılar EM olarak tek tek ele alınarak ek bulgular ortaya kondu.

BULGULAR

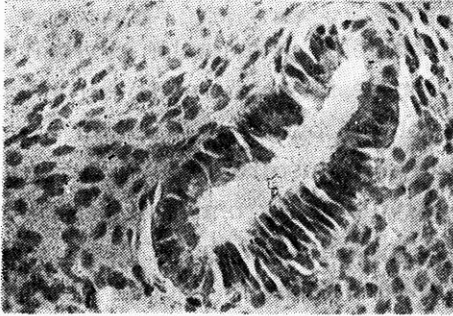
Biyopsi materyalleri üzerindeki gözlemler sonucunda, çalışma kapsamına alınan kişilerin % 50'sinde salgı bezi ve stroma yapılarında dengeli gelişme (uyumlu) saptanırken, geri kalanında endometriyumun bu iki temel bileşeninden birinde ya da her ikisinde düzensizlik gözlemlendi.

Salgı Bezleri

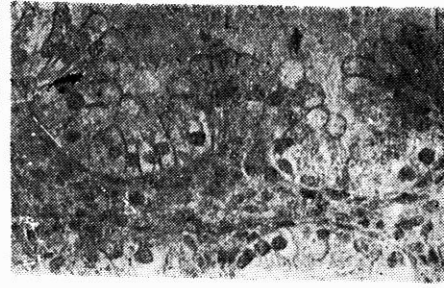
Dengeli gelişen endometriyum örneklerinde özellikle kompakt bölgelerde, bezlerin ileri derecede kıvrımlaşarak testere diş biçimlenmesi gösterdiği ve yoğun asidofil salgı materyalinin bez lümenlerinin merkezlerinde biriktiği dikkati çekti. Salgı hücreleri elektron mikroskopunda yüksek boylu, apikal yüzlerinde az sayıda kısa ve düzensiz mikrovillusların yanı sıra büyük sitoplazma çıkıntıları olan, kesintisiz bazal lamina üzerinde dizili hücreler olarak görüldüler. Sitoplazma çıkıntılarının bir bölümü lümeninde serbest olarak filâmanlı yapıyla birarada izlendiler. Hücrelerarası bağlantılar diğer epitel hücrelerdeki modelin benzeri olarak sıkı bağlantı ve desmozomlarla yan yüz zar katlantılarından oluştu. Çekirdekleri genellikle bazal duruşlu, kenarları düzensiz, oval biçimli ve ökromatikti. Heterokromatin zarın iç yüzünde ve nükleoplazmada küçük kümeler olarak gözlemlendi. Sitoplazmada salgılamayla ilgili organellerin kalabalık ve iyi gelişmiş oldukları saptandı. Yaygın salgı vezikülleriyle birlikte olan iyi gelişmiş Golgi kompleksi sarnıçları çevresinde yer yer genişlemiş granüllü endoplazma retikulumu, oval ve yuvarlak mitokondriya daha çok apikal sitoplazmada görüldüler. Bu bölgede glikojen tanecikleri kümeleri de kalabalıktı. Bu kümelerin bir bölümü lümenine atılmak üzere hücrenin apikal yüzündeki sitoplazma çıkıntılarında da bulundu. Seyrek olarak lizozomlar ve multiveziküler cisimciklere rastlandı. Yukarıdaki ince yapı özelliklerine bakarak kolayca 23. - 26. günler arası endometriyum tanısı kondu.

Dengeli bir gelişim içinde olmayan doku örneklerinde bezlerin biçimlenmeleriyle son bölüm salgı hücrelerinde çoklu değişkenlikler saptandı. Bu dokulardaki salgı bezleri anlamlı ölçüde birbirinden

farklıydılar; bazıları düz ve sağı materyali içermeyen (Şekil 1) komşularındaki bezlerde kıvrıntılı biçimlenmeyle yeterli salgılama işlevleri belirgindi. Benzer heterojenite salgı hücreleri arasında da görüldü. Salgı bezi hücreleri arasındaki farklılıkların yanı sıra aynı salgı bezindeki hücrelerde de biçim ve işlevler farklıydılar. Bazı hücrelerde salgı materyali lümeneye atılmak üzere apikal bölgede birikmişken ötekilerde glikojen kümeleri henüz bazal sitoplazmada yer alıyordu. Bir olguda yukarıdakinin tersine, ileri salgılama aktivitesi gösteren dev salgı hücrelerinin buldukları ilgiyi çekti. Bunlar şeffaf sitoplazmaları, apikal çıkıntıları ve yuvarlak çekirdekleriyle az sayıdaki salgı bezinde saptandılar (Şekil 2). Çevrelerinde 26. - 27. gün örneği gösteren salgı işlevini tamamlamış hücrelerden oluşan bezler yaygındı.



Şekil 1 - Polimorf salgı hücreleri salgı materyali içermeyen düz bir bezi çevreliyor. H.E. (x 160)



Şekil 2 - İleri salgılama örneği gösteren hücrelerin sitoplazmaları şeffaf olup apikal çıkıntıları belirgindir. Çekirdekler (ok) yuvarlak ve orta duruşlu. L : Lümen H.E. (x 160)

Salgı bezleri üzerindeki histolojik gözlemlerle ilgili yarı-sayısal değerlendirme sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Biyopsi materyallerinin morfolojik görünümü

Hasta No	Biopsinin alındığı gün ^a	Histolojik bulgular ^b															
		G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1	25	3	1	1	3	1	3	3	1	3	2	2	2	3	1	2	
2	--	3	0	1	3	1	3	3	0	2	2	2	3	2	3	2	1
3	26	3	0	1	2	0	3	3	0	2	2	3	3	2	3	2	2
4	26	3	0	1	3	1	2	3	0	2	v ^c	3	v	v	2	1	v
5	24	v	v	v	v	1	3	0	3	1	v	1	1	v	1	1	1
6	20	3	0	3	1	2	2	v	v	v	2	2	2	2	2	1	2
7	25	2	1	0	3	0	3	3	1	1	2	1	3	2	3	1	0
8	28	v	v	2	1	v	v	3	0	3	3	2	3	3	2	2	2

^a Bir sonraki adet başlangıç gününden (NHP) geri sayarak bulunmuştur

^b Kullanılan kriter ve skorlar için gereç ve yöntemler bölümüne bakınız

^c Tek bir mikroskopik alandaki çeşitliliği ifade ediyor

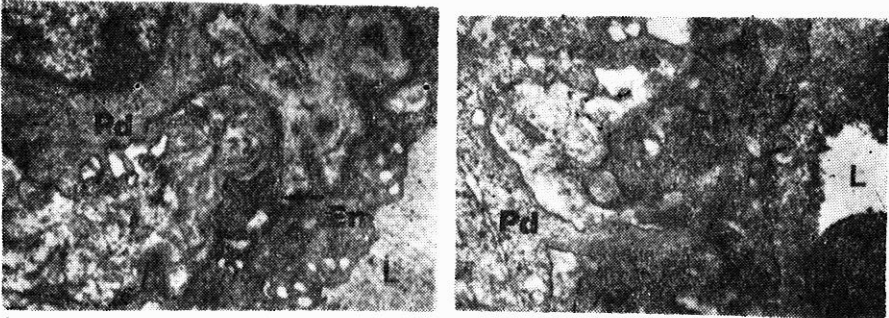
Stroma

Luteal evrenin ikinci haftasında meydana gelen belirgin değişimler daha çok stromada olduğu için, bu çalışmada stroma, salgı bezlerine kıyasla daha uzun ve yakından gözlemlendi.

Çalışmaya giren kadınların dörtte üçünün stromasında gelişme dengeliydi; temel olan desidua hücreleri, hücrelerarası matriks ve damarlardaki gelişmeler birbirlerine paraleldi. Buna karşın olguların ikisinde stroma gelişmesinde dengesizlik gözlemlendi.

Dengeli gelişme gösteren doku örneklerinde, 24. - 25. günlere uyan hücrelerarası matriks yapısı bulundu. Buna göre stromada ödemin yüksek düzeylerde olduğu, gevşek matriks materyali içinde yer yer kollajen tellerinin yayıldıkları saptandı.

Desidualizasyonun ilk başladığı bölgeler arteriyoller çevresiydi. Gelişmekte olan desidua hücreleri (predesidua hücreleri) stromaya yaygın olarak dağılmış spiral arteriyollerle bunların terminal uzantıları olan kılcal damarların çevresinde kılıf oluşturuyorlardı. Işık mikroskobundaki predesidua hücreleri büyük ve ökromatinli çekirdekleriyle ayırt edildiler. Elektron mikroskobunda bunların damarı çevreleyen saran fuziform hücreler oldukları görüldü. Endotel hücreleriyle aralarındaki geniş hücrelerarası aralıklara yaydıkları sitoplazma uzantılarının endotel hücrelerine çeşitli biçimlerde değdikleri ve fakat aralarında bağlantı yapılarının oluşmadığı izlendi (Şekil 3,4).



Şekil 3 ve 4 - Kılcal damarlar çevresinde yer alan bir predesidua hücresinin (PD) endotel hücresine (En) doğru uzanan sitoplazma çıkıntıları. Şekil 3'te geniş hücrelerarası matriksi geçerek endotel hücresinin bazal yüzündeki çıkıntılardan birisiyle yalın dokunması noktası oluşturmuş (ok), (x 15000). Şekil 4'te daha kalın bir sitoplazma uzantısı endotel hücresi sitoplazması çöktüntüsü içine yuvalanmış (x 12000). PD : Predesidual hücre, En : Endotel hücresi, L : Lümen

24. - 25. gün endometriyumlarında stroma hücrelerinin desidua hücrelerine dönüşümünün büyük oranda tamamlandığı görüldü. Farklanan desidua hücreleriyle olgun olanların elektron mikroskobu altındaki karşılaştırılmaları, ışık mikroskobunda ayırt edilemeyen yapı özelliklerini ortaya çıkardı; genellikle yuvarlak biçimli, küçük yüzey çıkıntıları olan genç hücrelerde büyük, orta duruşlu, ökromatinli çekirdekler vardı. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi sarnıçları, sık granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları, büyük ve yaygın lizozomlarla çok sayıda, yuvarlak mitokondriyonlar seçildi.

26. - 27. günlere uyan endometriyum stromalarındaki olgun desidua hücreleri daha büyüktü; çekirdekleri iri ve ökromatinli (az olan heterokromatin kümeleri sadece iç çekirdek zarı yerleşimli), granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları çok genişlemiş, mitokondriyonlar bir önceki dönemde gözlenenlere kıyasla daha ince, uzun olarak izlendi.

24. - 25. gün endometriyumlarında stroma hücrelerinin desidua hücrelerine dönüşümünün büyük oranda tamamlandığı görüldü. Farklanan desidua hücreleriyle olgun olanların elektron mikroskobu altındaki karşılaştırılmaları, ışık mikroskobunda ayırt edilemeyen yapı özelliklerini ortaya çıkardı; genellikle yuvarlak biçimli, küçük yüzey çıkıntıları olan genç hücrelerde büyük, orta duruşlu, ökromatinli çekirdekler vardı. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş Golgi kompleksi sarnıçları, sık granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları, büyük ve yaygın lizozomlarla çok sayıda, yuvarlak mitokondriyonlar seçildi.

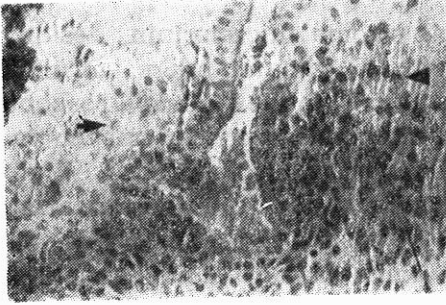
26. - 27. günlere uyan endometriyum stromalarındaki olgun desidua hücreleri daha büyüktü; çekirdekleri iri ve ökromatinli (az olan heterokromatin kümeleri sadece iç çekirdek zarı yerleşimli), granüllü endoplazma retikulumu sarnıçları çok genişlemiş, mitokondriyonlar bir önceki dönemde gözlenenlere kıyasla daha ince, uzun olarak izlendi.

Olgun desidua hücrelerinin plazmalemmalarında yerel kalınlaşmalar vardı. Bu hücrelerin dışında yerel kesintiler gösteren, lamina lusida ve densadan oluşan eksternal lamina benzeri yapı izlendi.

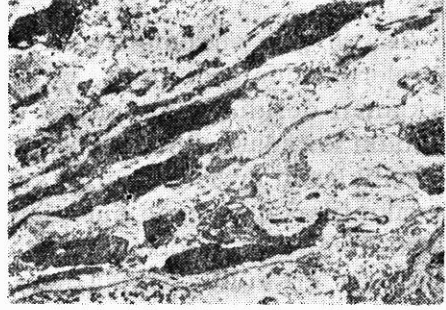
Stromada özellikle 25. günden sonra lökositlere ve makrofajlara rastlandı. Yanı sıra plazma hücreleri de görüldüler. Bu hücrelerle desidua hücreleri arasında sitoplazma uzantılarıyla sağlanan yakın dokunmaların olduğu belirlendi; aralarında sıkı ya da oluklu bağlantı birimleri seçilemedi.

26. - 27. güne uyan endometriyumlarda daha fazla olmak üzere, bütün doku materyallerinde kanama odakları saptandı; birkaç eritrositin doku arasına sızmasından başlayarak büyük eritrosit kümelerinin oluşmalarına kadar giden yayılmalar gösterdiler.

Stromaya ilişkin bütün gözlemlerin sonuçları Tablo I'de verildi. Görülebileceği gibi 4. ve 5. olgulardan alınan doku örneklerinde stroma asenkronizmi aynı mikroskop alanındaki desidualizasyon, ödem ve fokal kanama odaklarındaki farklılıklar olarak sergilendiler. Desidualizasyonu mozayik olan 4. olguda sıkıca biraraya gelmiş farklılaşmamış stroma hücrelerinin yanında çok gevşek bir bağ dokusu içinde yer alan olgun desidua hücrelerine rastlandı (Şekil 5). Stroma dengesizliği bazı doku örneklerinde ise, epitel altı desidualizasyon eksikliği olarak gözlemlendi (Şekil 6). Beşinci olguda salgı bezi yapısındaki dengesizliklerle stromadakiler birarada gözlemlendiler.



Şekil 5 - Bir salgı beziyle çevresindeki iki farklı gelişme evresindeki stroma. Bezin sol tarafında ileri ödemli bağ dokusu içindeki olgun desidua hücrelerinin (ok) yanı sıra sağ tarafta farklılaşmamış stroma hücreleri kümesi gözleniyor (ok başı). H.E. (x 160)



Şekil 6 - Stroma gelişmesi dengesizliği olan bir olguda salgı hücreleri 26-27. gün örneği gösterirlerken hemen altındaki stromada bağ dokusu hücrelerinin desidua hücrelerine farklılaşmaları henüz başlamamıştır. (x 1700)

Yukarıdaki bulgular üzerine, beklenen menstrüel siklus günüyle uyumsuz olanlarda ortaya çıkan doku çeşitliliği glandular, stromal ve glandular + stromal asenkronizm olmak üzere üç sınıfa ayrıldı. Glandular asenkronizm, bir kesit alanında salgı bezi yapılarındaki gelişme basamaklarında var olan belirgin heterojeniteyi; stromal asenkronizm, aynı türden gelişme dengesizliğinin stroma elemanları için olanlarını; glandular + stromal asenkronizm ise bez ve stroma dokularındaki gelişme dengesizliğinin birarada bulunuşu tanımlamak için kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçları Tablo II'de verilmiştir.

Tablo 3.2.1. - Dokuların günleme sonuçları

Hasta No	Değerlendirme	Gebelik
1	uyumlu (25. gün)	—
2	uyumlu (24. gün)	+
3	uyumlu (25. gün)	—
4	uyumsuz (stromal asenkronizm)	—
5	uyumsuz (glandular + stromal asenkronizm)	—
6	uyumsuz (glandular asenkronizm)	—
7	uyumlu (24. gün)	—
8	uyumsuz (glandular asenkronizm)	—

TARTIŞMA

Çalışma kapsamına giren kadınlardaki luteal evre değişimi sonuçları ele alındığında uygulanan tedavi protokolünün % 50 başarıya ulaştığı söylenebilir. Bu başarı menstrüal siklusun başlangıcından son günlerine dek süren ,salgı bezleri ve stromayı içine alan bütün değişimleri kapsar. Tedavide başarının sağlanamadığı olgularda ise siklusun her hangi bir gününden başlayarak gerekli doku değişimlerinin sağlanamadığı gözlemlendi. Martel ve ark. (14) CC + HMG + HCG kullandıkları hastaların yarısında, luteal evrenin ilk günlerinde elde ettikleri normal endometriyum değişimlerinin bir iki olgu dışında evre sonuna değin sürdürülmediğini saptadılar.

Bu çalışma, bir infertilite tedavisinin sonuçlarını ışık ve elektron mikroskopu düzeyinde gösteren uygun bir tanı metodunu saptamayı da amaçladı. Böylesi bir tanı yöntemi zaman alıcı olsa da, uzun süren ve pahalı bir infertilite tedavisinin ardından gelecek başarısızlığın nedenini yeterince açıklayabilecektir. Tanı için harcanacak süre, uzmanın konuya giderek alışmasıyla ön tanıya yönelik gerekli kriterlerin iyi kullanılması ve yorumlanması yollarını da açacaktır. Cornillie ve ark. (3) infertilite sonuçlarının değerlendirilmesinde bez ve stromaya ilişkin bozuklukları özellikle hücre düzeyinde gösterebilmek için histoloji ve ince yapı çalışmaları yapmanın gerekliliğini vurguladılar. Bunun yanı sıra, öznellikten kurtulabilmek için belirli ölçütlerin sayısal değerlendirilmesi gerekliliği ve böylelikle farklı gözlemcilerin ya da bir gözlemcinin farklı zamanlardaki yorumlamalarından kaynaklanacak tutarsızlıkların giderilebileceği de bildirildi (6,13,21).

Wynn (Şekil 3) ile Cornillie ve ark. (3), 24. günden başlayarak salgı hücrelerindeki glikojenin tamamen kaybolduğunu, çok sayıda küçük mitokondriyonların daha önceki dev olanlarının yerini aldıklarını, Golgi kompleksiyle NCS'nin belirgin olduğunu ince yapı düzeyinde gösterdiler. Bu değişimlerin azalan salgı aktivitesi nedeniyle oluştuğunu ve hücre involüsyonunda rol alacak yeni proteinlerin yapımıyla ilintili olduklarını ileri sürdüler. Bu çalışmada, dengeli gelişme gösteren kadınların endometriyumlarındaki Golgi kompleksi sarnıçlarıyla beraber görülen lizozom sayısındaki artışın, azalan salgı aktivitesini izleyen hücre yıkımını yansıttığı saptandı. Siklusun son günlerinde asit hidrolaz aktivitesinde saptanan artış (9), yukarıdaki bulguyu destekledi. Salgı bezi açısından senkronizasyon göstermeyen olgularda böylesi değişimlerin bulunmadığı saptandı.

Yalnızca bir kadında görülen ileri salgı bezi aktivitesi ilginç olarak değerlendirildi. Bu tür bir değişimin aynı kesitte birkaç bezde bulunup diğerlerinde görülmemesi bile uyumsuz bir doku örneği tanısı koymada yeterli oldu. Matel ve ark. (14) in vitro fertilizasyon programına aldıkları CC+HMG+HCG'yle tedavi edilmiş kadınların ovulasyon sonrası 2. ve 6. günlerindeki yüzey epitel hücrelerinde azdan çoğa kadar değişen oranlarda ileri salgı aktivitesi saptadılar. Benzer sonuçlar farklı grup kadınlarda çalışan Sundström ve ark. (22), Garcia ve ark. (8), Birkenfeld ve ark. (1) tarafından da belirtildi. Anovulatuvar kadınların proliferatif endometriyumlarında çok aktif salgı hücreleri gösteren Birkenfeld ve Martel böylesi doku değişimlerinin implantasyon üzerine olumsuz etkisi olabileceğini ileri sürdüler. Sundström ve Garcia ise, bu görüşe karşı çıkarak aktif salgılaşma işlevi sürekliliğinin implantasyonda olumlu yönde etkili olabileceğini öne sürdüler. Konuya bu yönden bakıldığında, bu çalışmada salgı bezi son bölümlerinde saptanan artmış salgı aktivitesinin bir yolla implantasyonun gerçekleşmesine etkili olacağı sonucuna varıldı. Bunun yanı sıra apikal çıkıntılardan yoksun, salgı işlevi bulunmayan hücrelerin de implantasyona katkıları yeterli olmayacaktır. Apikal çıkıntıların implantasyona uyan dönemde ortaya çıkmalarının yanı sıra (25) sitoplazma içindeki glikojen partikülleri (3,30) ve lipid damlacığı birikimleri (3) de implantasyon ve embriyonun yaşamını sürdürebilmesi üzerinde önemli etkileri olan hücre işlevleri olarak kabul edilmelidir. Murphy ve Rogers (15) sıçanlarda, Psychosyos ve Martel (18) insanlarda bu yapıların blastosistin uterus tarafından kabul edilebilirliği üzerine etkili olduklarını vurguladılar.

Bu çalışmada desidua hücrelerindeki ince yapı değişimleri, Tekelioğlu-Uysal ve ark (23) ile Umapathysivam ve ark (24) tarafından bu hücrelerin protein sentezinde rol aldıklarına ilişkin bildirdikleri bulgularını destekledi. Desidua hücrelerindeki granüllü endoplazma retikulumu sarnıçlarının yoğun materyalle doluluğu ve yaygın polizomların bulunması protein yapımını doğrular özellikteydi. Çok sayıdaki genişlemiş endoplazma retikulumu sarnıçlarının plazmalemma altında yer alması, hücre içinde biriktirilen protein bileşimindeki salgının hücrelerarası boşluğa atılmasının endoplazma retikulumu sarnıçlarının dış ortama doğrudan açıldığı yerlerden gerçekleştirildiğini gösterdi. Öte yandan desidua hücrelerinde steroid sentezinin yapıldığına ilişkin kanı, granülsüz endoplazma retikulumu ve tübüler mitokondriya bulunmayışı nedeniyle kabul görmedi.

Desidua hücrelerindeki yüzey çıkıntılarıyla sitoplazma uzantıları özgün hücre özellikleri olarak değerlendirilirken Wynn (30) tarafından bunlar, olağan dışı olarak tanımlandı. Cornillie ve ark (3) glikojen granülleri barındıran ince uzun sitoplazma çıkıntılarının erken ve orta luteal evrede parçalanarak içeriklerini hücrelerarası aralığa verdiklerini savundular. Tekelioğlu ve ark. (23) da erken gebelikte desidua hücreleri arasında küçük sitoplazma çıkıntıları tanımladılar. Aynı araştırmacılar özellikle kılcal damar çevresindeki bölgelerde gelişmekte olan küçük desidua hücreleriyle lenfositler arasında yakın ilişkilerin desidua gelişimi sırasında ortaya çıktıklarına dikkati çekerlerken lenfositlerin implantasyon bölgesine göçleri sırasındaki normal hareketleriyle ortaya çıkma olasılıklarına da değindiler. Farklı türden hücrelerarası ilişkiler O'Shea ve ark (17) tarafından yalnızca gebelikteki sıçanlarda zar katlantıları ve aralarında oluşan desmozom ve oluklu bağlantılar (gap junction) olarak tanımladılar. Böylesi kenetlenmelerin hücrelerarası aralığı en aza indirerek gebelikte trofoblastların invazyonuna karşı maternal dokuyu koruduğunu ileri sürdüler. Lawn ve ark. (11) geç luteal evredeki desidua hücrelerinin aralarında az sayıda bağlantı birimlerini gözlemlerlerken, Wynn ve Woolley (30) 22. - 23. günlerde desidua farklanmamış stroma hücreleri arasında sıkı ve oluklu bağlantıları bildirdiler; gerçek desmozomların ancak gebeliğin erken dönemlerinde oluşmaya başladığını öne sürdüler.

İlk olarak bu çalışmada ortaya çıkarılan endotel ve desidua hücreleri arasındaki ilişkiler değişkendi; uzun hücrelerarası matriksi aşarak endotel hücrelerinin bazal çıkıntılarına dokunmalar oluşturabildikleri gibi endotel hücresi plazmalemmalarındaki derin invajinasyon-

lara yuvalanmış olarak da bulundular. Bunların yanı sıra desidua hücreleri, desidua hücreleri ve lenfositler, desidua hücreleri ve endotel hücreleri arasındaki yakın ilişki yüzeylerinin hiçbirinde bağlantı kompleksi birimleri saptanmadı.

Luteal evrenin sonlarındaki stromada birçok hücre, gevşek hücrelerarası matriks içinde sıkı ve karmaşık ağ oluşturdu. Hormonların ve aracı kimyasal bileşiklerin kan dolaşımından kılcal damar endotelini yoluyla çevre stroma dokusuna yayılmaları desiduya farklılaşmasını başlatarak sürdürür. Desiduya dönük yapılanmayla trofoblast invazyonuna karşı dokuda immün hoşgörü çevresi oluşur. Gelişen desidua ortamında çeşitli türden hücreler arasında metabolizma ürünleriyle elektrik uyarıtlarının hareketlilikleri artar. Desiduanın çeşitli hücre türleri arasında kalıcı bağlantı kompleksi birimlerinin oluşmaları hızla bölünüp farklılaşan hücrelerin trofoblast ilerlemesi karşısındaki hareketli ilişkilerini sağlar.

Sonuç olarak desidualizasyonda gözlenen her türlü hücre dinamiği sağlıklı implantasyonun sürdürülebilmesini sağlar. Tedavinin başarısı endometriyum bezlerindeki değişimin ve stroma desidualizasyonunun gereken düzeylerde elde edilmesiyle ölçülür. Bu çalışmada uygulanan tedavi yöntemleriyle beklenen endometriyum değişiklikleri % 50 oranında gerçekleşebildi. Endometriyumunun çeşitli hücreleri arasındaki duyarlı gelişme dengelerini kuracak yeni yöntemlerinin öncekilerin yanısıra geliştirilmeleri herhalde gerekecektir.

5. ÖZET

Bu çalışmada, insan menapoz gonadotropini (HMG) ve insan koruyon gonadotropini (HCG) vererek ovülasyon indüksiyonu sağlanan sekiz kadının endometriyumlarındaki temel yapılar olan salgı bezi ve stroma, menstrüal siklusun geç luteal evresinde ışık ve elektron mikroskopik olarak incelendi. Bu inceleme, bir takım histolojik kriterlerin (bazısı bu çalışmayı yapan yazar tarafından öne sürülmüştür) yarı-sayısal değerlendirilmesi ve daha sonra da üç temel doku elemanının (salgı bezleri, stroma, arteriyol ve kapiller) histolojik ve ince yapı değişimlerinin ortaya konmasıyla gerçekleştirildi. Elde edilen bulgular sonunda yapılan sınıflandırmaya göre, çalışmaya alınan kadınların % 50'sinde başarılı doku cevabı elde edilirken, % 25'nin

salgı bezleri, % 12.5'nin stroma, geri kalan % 12.5'nin de hem salgı bezi hem de stroma açısından hatalı gelişim içinde olduğu saptandı. Salgı bezleri yönünden dengesiz gelişme gösteren dokularda salgı bezi biçim ve aktivitesinde heterojenite, stroma dengesizliği gösteren dokularda da, kesitte birbirine komşu bölgelerde bile izlenebilen desidua transformasyonu yetersizlikleri izlendi. Bunların yanında, gelişmekte olan desidua hücreleriyle endotel hücreleri arasında bağlantı kompleksi birimlerinin bulunmadığı ilginç hücre temasları, desidua hücrelerinde yoğun protein sentezi basamakları, bunun yanında steroid sentezine ilişkin yapıların bulunmayışı gibi ince yapı düzeyinde de bir takım bulgular saptandı.

Sonuç olarak, desiduya dönüşüm basamaklarında oluşacak dengesizliğin implantasyon işlevi üzerinde negatif yönde etkili olduğu belirlendi. Ayrıca, infertilite tedavisinde verilecek uygun tedavi ajanlarının yanı sıra bir hedef organ olma özelliğinden ötürü endometrium doku yanıtlarının da araştırılması gerekliliği ortaya çıkarıldı.

SUMMARY

Structure Of Premenstrual Endometrium In Menotropin Induced Anovulatory Women

«In» and «out of phase» criteria in the transformations of the glandular and stromal tissue elements of late luteal phase endometria of the women already treated with human menopausal gonadotropin (HMG) and human chorionic gonadotropin (HCG) were endeavoured to determine after light and electron microscopic observations on a diagnostic base. 50 % of them was found responded successfully while 25 % was defective in glands and related cells, % 12.5 was defective in stroma and 12.5 % was inappropriate both in glands and stromal components.

Due to the above data, tissue elements were classified on a base of the synchronicity of transformation among different cells took place in endometrium. Ultrastructurally, some important cellular properties were considered such as the configuration of close cellular contracts in between the plasmalemmal interfaces of developing decidual and capillary endothelial cells, having none of the units of junctional complexes namely tight or gap junctions. Decidual cells did manifest as protein producers with highly elabora-

ted cisternae of granular endoplasmic reticulum and free ribosomes in their cytoplasms. None of the fine structural manifestation of steroid production could be detected in cytoplasms of decidual cells.

In conclusion, transformational behaviors of glandular and stromal endometrial cells were decided to have a crucial role in the endometrial receptivity of an implanting embryo. Besides, requirement of an appropriate hormonal therapy regimen in an infertility treatment, a precise tissue evaluation of the endometrium was also required as being an end-organ.

NOT

Bu çalışma yazarın uzmanlık tezinin kısaltılmış şekli olup Ankara Üniversitesi Araştırma Fonunun 90090012 numaralı desteğiyle gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Birkenfeld A ve ark : Advanced secretory changes in the proliferative human endometrial epithelium following clomiphene treatment, Fertil Steril 45 : 462, 1986.
2. Cooke ID Morgan CA Parry TE : Correlation of endometrial biopsy and plasma progesteron levels in infertile women, J Obster Br Comm 79 : 647, 1972.
3. Cornillie FJ Lauweryns JM Brosen IA : Normal human endometrium. An ultrastructural survey, Gynecol Obstet Invest 20 : 113, 1985.
4. Dallenbach-Hellweg G : The endometrium in natural and artificial luteal phases, Hum Reprod 3 : 165, 1988.
5. Dallenbach-Hellweg G : Histopathology of the Endometrium, 4. bası, 1987, Springer Verlag, sayfa : 64-81, 136-143,
6. Dockery P ve ark : The ultrastructure of the glandular epithelium in the timed endometrial biopsy, Hum Reprod 3 : 826, 1988.
7. Dockery P ve ark : An examination of the variatoin in timed endometrial biopsies, Hum Reprod 3 : 715, 1988.
8. Garcia JE ve ark : Advanced endometrial maturation after ovulation induction with human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization, Fertil Steril 41 : 31, 1987.

9. Henzl MR ve ark : Lysosomal concept of menstrual bleeding in human, *J Clin Endocrinol* 34 : 860, 1972.
10. Johannisson E ve ark : Endometrial morphology and peripheral hormone levels in women with regular menstrual cycles, *Fertil Steril* 48 : 401, 1987.
11. Law AM Wilson EW Finn CA : The ultrastructure of human decidual and pre-decidual cells, *J Reprod Fertil* 26 : 85, 1971.
12. Li TC ve ark : A comparison between two methods of chronological dating of human endometrial biopsies during the luteal phase and their correlation with histologic dating, *Fertil Steril* 48 : 928, 1987.
13. Li TC ve ark : A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase, *Fertil Steril* 50 : 52, 1988.
14. Martel D ve ark : Scanning electron microscopy of postovulatory human endometrium in spontaneous cycles stimulated by hormone treatment, *J Endocrinol* 114 : 319, 1987.
15. Murphy CR Rogers AW : Effects of ovarian hormones on cell membranes in the rat uterus. III. Surface carbohydrates at the apex of the luminal epithelium, *Cell Biophys* 3 : 305, 1981.
16. Noyes RW Hertig MD Rock J : Dating the endometrial biopsy, *Fertil Steril* 1 : 3, 1950.
17. O'Shea JD Kleinfeld RG Morrow HA : Ultrastructure of decidualization on the pseudopregnant rat, *Am J Anat* 166 : 271, 1983.
18. Psychoyos A Martel D : Problems related to the implantation of the human egg after in vitro fertilisation, *Acta Eur Fertil* 16 : 107, 1985.
19. Robertson WB : A reappraisal of the endometrium in infertility, *Clin Obstet Gynaecol* 11 : 209, 1984.
20. Scott RT ve ark : The interobserver variation in dating endometrial histology on the diagnosis of luteal phase defects, *Fertil Steril* 50 : 888, 1988.
21. Seif MW Aplin JD Buckley CH : Luteal phase defect : the possibility of an immunohistochemical diagnosis, *Fertil Steril* 51 : 273, 1989.
22. Sundstrom P Nilsson O Liedholm P : Scanning electron microscopy of human preimplantation endometrium in normal/human chorionic gonadotropin-stimulated cycle, *Fertil Steril* 40 : 442, 1983.

23. Tekelioğlu-Uysal M Edwards RG Kışnişçi HA : Ultrastructural relationships between decidua, trophoblast and lymphocytes at the beginning of human pregnancy, *J Reprod Fert* 42 : 431, 1975.
24. Umapathysivam K ve ark : Morphological characteristics and protein profile of isolated human decidual cells, *Europ J Obstet Gynec Reprod Biol* 15 : 141, 1983.
25. Verma V : Ultrastructural changes in human endometrium at different phases of the menstrual cycle and their functional significance, *Gynecol Obstet Invest.* 15 : 193, 1983.
26. Wentz AC : Endometrial biopsy in the evaluation of infertility, *Fertil Steril* 33 : 121, 1980.
27. Wentz AC ve ark : Outcome of progesterone treatment of luteal phase inadequacy, *Fertil Steril* 41 : 856, 1984.
28. Witten BI Martin SA : The endometrial biopsy as a guide to the management of luteal phase defect, *Fertil Steril* 44 : 460, 1988.
29. Wynn RM : Ultrastructural development of the human decidua, *Am J Obstet Gynecol* 118 : 652, 1974.
30. Wynn RM Woolley RS : Ultrastructural cyclic changes in the human endometrium, *Fertil Steril* 18 : 721, 1967.

İNSAN MİYOMETRİYUM DOKUSUNDA GEBELİK DIŞI VE GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNİN ULTRASTRÜKTÜR DÜZEYİNDE KARŞILASTIRILMALI İNCELENMESİ

Nadir Çıray*

Miyometriyum düz kaslarıyla aralarındaki bağ dokusu, hormonların etkilemeleriyle kadın yaşamının değişik dönemlerinde farklı yapı özellikleriyle belirgin olur. Miyometriyumdaki çeşitliliğin gözlenmesindeki eksiklikler gelişmiş ülkelerdeki insan materyaliyle varolan yasal engellere bağlanabilir. Oysa memelilerin normal (3,4,17,18,19,29,30,32,33,41) ve gebe (5,6,16,20,21,22,26,27,31) miyometriyumlarıyla hipertrofiye uğrayan düz kas hücreleri üzerinde (10,11,12,13,14) çok sayıda yayın vardır. Miyometriyum dokusunun temelini oluşturan düz kas hücrelerinin uzun yıllar karanlıkta kalan ince yapı özelliklerini hızla gelişen tespit ve inceleme yöntemleriyle aydınlatan başarılı çalışmalar birbirini izlemektedir (2,8,9,15,24,35,36,38,39).

Bu çalışmada normal, üçüncü gebelik trimesteri ve travaydaki miyometriyum özellikleri ele alındı. Dokunun temelini oluşturan düz kas hücreleriyle içinde yatakladıkları bağ dokusu elemanlarının hormonlardan etkilendiklerinde ne türden ince yapı değişimlerine uğradıkları gebelik dışı, üçüncü gebelik trimesteri, kendiliğinden doğum ve yapay uyarmayla doğum süreçlerindeki miyometriyumlarda elektron mikroskobu düzeyinde incelendi. Az çalışılmış insan miyometriyumu üzerinde yeni bilgilerin eklenmesiyle birikimin artırılması amaçlandı. Travaya yakın hormon değişikliklerinin ince yapıdaki yansımalarının düz kas hücrelerinin işlevleri hakkında yeni bilgi ve yorum getireceğine inanıldı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

a) Miyometriyum Örneklerinin Seçimi :

18-35 yaşları arasındaki yirmi kadının miyometriyumlarından ameliyat ve travay süreçlerinde elde edilen biyopsi materyalleri kullanıldı. Örnekler dört grupta sınıflandırıldı;

* A.Ü.T.F. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalında Uzman Doktor.

Kontrol grubunu gebe olmayan kadınlar oluşturdular.

Birinci gruptakiler gebeliklerinin üçüncü trimesterinde tıbbi zorunluluklarla sezaryene alınan hastalardı. Gebelikleri 33. - 41. haftalar arasındaydı.

İkinci grubu gebeliklerinin sonunda travayları kendiliğinden başlamış kadınlar oluşturdu. Doğumu engelleyecek çeşitli nedenler ivedi sezaryene alınmalarını gerektirdi.

Üçüncü grupta indüklenmeyle travayın yapay olarak başlatıldığı kadınlar toplandılar. Vajina yolundan doğumları gerçekleştirilen bu gruptaki kadınların miyometriyum örnekleri biyopsi yoluyla toplandılar.

Yukarıdaki dört grup hastanın operasyon endikasyonları Tablo 1'de verilmiştir. Bütün örnekler uterus korpusundan alt parçadan alındılar.

Tablo 1 : Hasta seçimindeki endikasyonlar.

KONTROL GRUBU (Gebe değil)

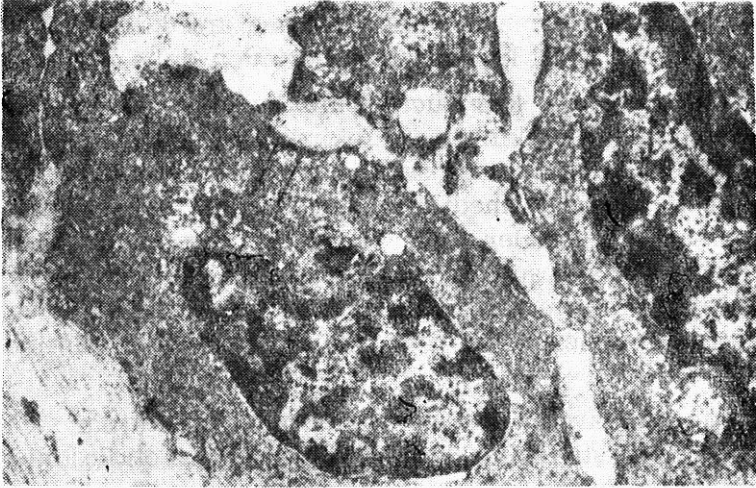
- uterus düşüklüğü
 - myom
 - tıbbi tedaviye yanıt vermeyen menometroraji
 - GRUP 1 (35 - 41 hafta)
 - postmaturite + çoklu gebelik
 - yineleyen sezaryan + çoklu gebelik
 - baş-pelvis uygunsuzluğu
 - plasenta dekolmanı
 - gebelik + kalp hastalığı
 - preeklampsi
 - GRUP 2 (spontan travay)
 - baş - pelvis uygunsuzluğu
 - fötal distres sendromu
 - makat gelişi
 - GRUP 3 (indüklenmiş)
 - postmatürite
 - ağrı zaafı
-

b) Miyometriyum Örneklerinin Hazırlanmaları :

Dokuların takibinde % 3'lük glutaraldehit ve % 1'lik osmiyum tetroksitin fiksator olarak kullanıldığı geleneksel elektron mikroskobu takibi yapıldı (40). Alınan 300-400 A° luk kesitler Carl Zeiss EM 9 S 2 (60 kV) ve Jeol 100 CX II (80 kV) elektron mikroskoplarında incelenerek fotograflandırıldılar.

BULGULAR

Kontrol grup uteruslarının düz kasları, çoğunluğu heterokromatin çekirdekleri, hafifce genişlemiş çekirdek sarnıçlarını, bazı hücrelerde sentriyol ve filagellumları içerdi. Sarkoplazma, sarkoplazma retikulumunun kesitlerini, seyrek olarak Golgi kompleksi ve mitokondriyonlarla doluydu. Çevre sarkoplazmanın enine kesitlerinde, miyofilamanlar ve mitokondriyonlar izlendi. Yoğun cisimcikler ve yoğun bantlar sık görüldü, miyofilamaların bu yapıların üzerlerinden geçtiğine dikkat edildi. Miyofilaman düzenlenmesi çoklukla sarkolemmaya koşuttu. Bazı hücreler, sarkoplazmalarında farklı miyofilaman diziliminin sonucu olarak kompartmanlı görünüm verdiler (Şekil 1).



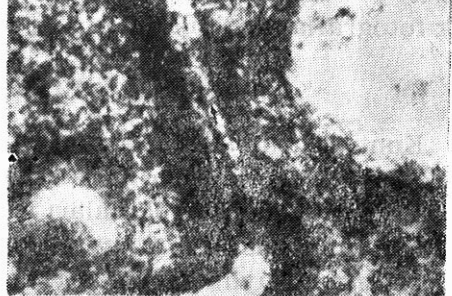
Şekil 1 : Kontrol grubuna ait düz kas hücreleri. Sentriyol (*) ve bağlı filagellumlar görülüyor (ok). (x 9500).

Sarkolemma üzerinde gözlenen kovuk yapıları, gruplar oluşturarak ortak bir lümeneye açıldılar. Bu oluşumlar mitokondriyonlarla yakın konumdaydılar, lümenlerinde elektron-yoğun madde izlendi (Şekil 2). Eksternal lamina bütün hücreleri çevrelerken, yoğun bantların

bulunduğu yerlerde daha kalındı. Hücrelerarası yakınlaşmaların bazıları eksternal lamina içermezken, diğerlerinde karşılıklı gelen yoğun bantlar ve aralarında eksternal lamina izlendi. Bu tip bağlantılarda, yüksek büyütmelelerde orta hattan her iki hücre yüzeyine uzanan ipliksi bağlayıcılar gözlemlendi (Şekil 3).



Şekil 2 : Sarkolemma altı kovuk yapılarının çeşitli görüntüleri (ok). Mitokondriyonla yakın ilişkileri ilgi çekiyor. (* : Kovukların açıldığı ortak boşluktaki elektron-yoğun materyel) (x 66.000).



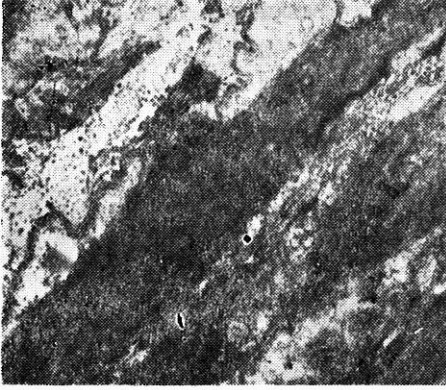
Şekil 3 : Arada eksternal lamina devamlılığı izlenebilen ara bağlantılarda her iki hücre yüzeyine ipliksi uzantılar yayılıyor (oklar). (x 100.000).

Tip I kollajen demetleri hücrelerarası aralıkta, düz kas hücrelerini çevreleyen tip III kollajen telciklerinden daha periferde izlendi.

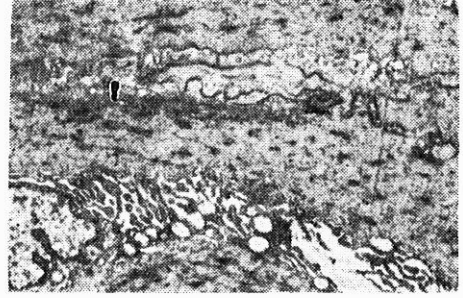
Birinci grup düz kas hücrelerinin sarkolemma ve çekirdek zarları hafifçe girintili çıkıntılıydı. Çekirdek, bir miktar ökromatin içermekteydi. Çekirdeğe komşu sarkoplazmanın organelleri kontrol grubundan çok fark göstermedi. Bu grupta yoğun bant ve cisimler oldukça sık olarak gözlemlendiler. Öyle ki, yoğun cisimler sıklıkları nedeniyle sarkoplazmada koşut diziler oluşturmaktaydılar. İlk grupta gözlenen kompartmanlı miyofilaman dağılımı, bu grup hücrelerde miyofilamanların birbirlerine ve sarkolemmaya koşut diziliminden dolayı gözlenmedi (Şekil 4).

Kovuk yapıları sık olarak izlendi. Ara bağlantılar sayı ve uzunluk olarak artmıştı. Birinci grupta, hücrelerarası etkileşimlerdeki kuvvetlenmenin yanısıra, hücrelerin hücrelerarası aralıkla da ilişkileri arttı; artan tip I kollajen tel demetleri, hücre oyuklarına kadar sokularak sarkolemmayla bağlantı kurdu.

İkinci grup, düz kas hücrelerinin sınır düzenlerinin oldukça bozulmuş olup, protein yapım ve paketlenmesiyle ilgili organellerin en aktif görüldüğü grubu oluşturdu. Sarkoplazma retikulumunun genişlemiş keseleri, elektron-yoğun maddeyle doluydu (Şekil 5).



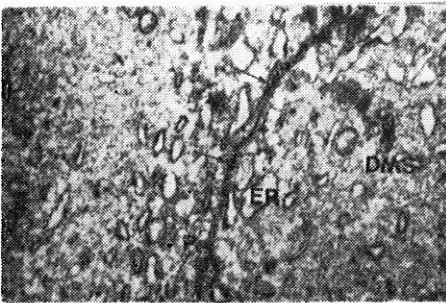
Şekil 4 : Birinci gruba ait hücrelerde koşut dizilmiş sarkoplazma yoğun cisimcikleri (okbaşı) ve kovuk yapıları (*) görülüyor. Kontraktıl filamanlarla kovukların yakın ilişkileri dikkat çekiyor (x 10.000).



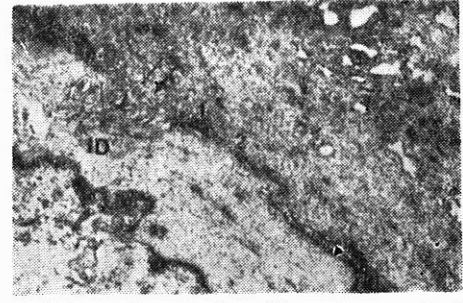
Şekil 5 : İkinci gruptan hücrelerde çekirdeğe komşu sarkoplazma. Çekirdek dış zarı ve sarkoplazma retikulumu sürekliliği izleniyor. Organeller aktif bir hücre görüntüsü veriyor (x 3.900).

Yoğun cisimcik ve yoğun bantlar önceki gruptaki gibi koşut dizili miyofilamanlarla ilişkiliydi. Sarkoplazmada zarla çevrili yoğun cisimler (:DMS) ayırıldı (Şekil 6).

Hücrelerarası bağlantılar bu grupta çok belirgindi; çoğunu ara bağlantılar yapmaktaydı. Ara bağlantılar morfolojik bir heterogenite gösterdiler; bazılarında sitoplazma plakları ve zarlar arasındaki orta hat belirginken, diğerlerinde orta hat soluk, plaklar ise belirsizdi (Şekil 7).



Şekil 6 : Karşılıklı iki düz kas hücreleri arasında ara bağlantı (ok) ve yarıklı bağlantı (*) türünden yaklaşımlar. Genişlemiş endoplazma retikulumu sarnıçları, DMS yapıları ve örtülü çukurcuklar (P) seçiliyor (x 9.500).

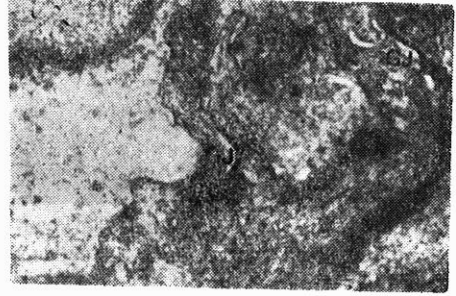


Şekil 7 : İki düz kas hücresi arasında interdijitasyon tipi bağlantı yapısı ve ona komşu sarkoplazmada ortak bir boşluğa açılan kovuk yapılarının uzunlamasına kesiti (ok). Ara bağlantılardaki morfolojik heterogenite de seçiliyor (1 ve 2 ile gösterilmiştir) (x 9.500).

İnterdijitasyon ve yarıklı bağlantılar oldukça sık izlendi. Yarıklı bağlantılar karşılıklı hücreler arasında olduğu kadar, refleksif olarak adlandırılan aynı hücrenin kendi uzantıları arasında da vardı (Şekil 8 ve 9).



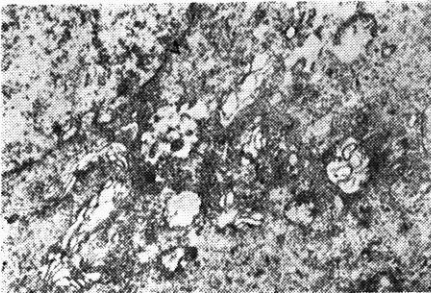
Şekil 8 : Aynı hücrenin kendi uzantıları arasında bir refleksif yarıklı bağlantı (x 50.000).



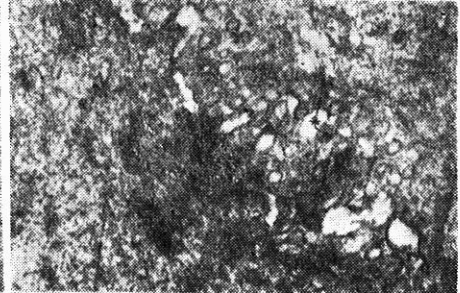
Şekil 9 : Aynı hücrenin kendi uzantıları arasındaki bir başka yarıklı bağlantı. Sağ üstteki ise iki farklı hücre arasındadır (x 33.000).

Birinci gruptaki gibi hücrelerarası aralıkla kollajen tel demetleri yoluyla olan bağlantılar kuvvetliydi.

Üçüncü grup, morfolojik olarak ikinci grubun benzeriydi. Hücre sınırları ve organellerin düzenlenmeleriyle, hücrelerin birbirleriyle ve hücrelerarası aralıkla olan etkileşimleri, ince yapı düzeyinde bir fark yaratmadı (Şekil 10 ve 11).



Şekil 10 : Üçüncü grup bir düz kas hücrelerinde çekirdeğin komşuluğundaki sarkoplazmadaki organeller ve Golgi kompleksi (x 9.500).



Şekil 11 : Kovuk yapıları ve rozet oluşumları. (ok : kovuklar, * : rozet oluşumu) Kovuklar bir ara bağlantı yapısının içine açılıyorlar (büyük *) (x 25.500).

TARTIŞMA

Miyometriyum düz kas hücrelerinin biçim ve dizilimlerinin gebe olmayan ve gebe uteruslar arasındaki farklılıkları kontrol grubundakilerle karşılaştırılarak gebeliğin sonlanmasına kadarki süreçte izlendi.

Kontrol grubundaki gebelik dışı miyometriyumun düz kas hücreleri oldukça düzenli sınırlarla ayırıldıkların, gebeliğin sonlanmasına yakın dönemlerdeki ikinci ve üçüncü gruplardaysa hücre çevreleri çok girintili çıkıntılıydı. Gebe olmayan uterusun iç biçimindeki düz yüzeyli kas hücrelerinin gebe uteruslarda yerlerini sınırları girintili çıkıntılı olanlara bıraktıkları önceden bildirildi (1,6,13,14,20,21,27,28,40). Girinti ve çıkıntılarının kasılan düz kas hücrelerinin tirbüşon biçimini almalarına bağlı olduğu kararlaştırıldı (1,40). Tirbüşon biçimli hücrede çekirdeğin uzun eksene koşut uzanırken parçalı görüldüğü ikinci ve üçüncü gruptaki bulgularla desteklendi.

Miyometriyum düz kas hücrelerinden bazılarının uyarılmalarıyla ortaya çıkan aksiyon potansiyelinin (28,36) kasılma birimleri olan hücreler tarafından doku bütününe yayılmasında özel düzenle dizilmiş hücrelerarası telciklerin işlev önemleri vurgulandı. Her düz kas hücresinin boyunu kısaltmasıyla gerçekleşen tonik kasılması kontrol grubuyla gebe olan gruplar arasında birim alana düşen düz kas hücre sayısında anlamlı bir fark görülmemesi yoluyla desteklenmiş oldu.

Hücreyle hücrelerarası aralığın ilişkilerinin işlevsel önemini açıklamak için eksternal laminanın ince yapısının tanımlanması gerekir. Bu tabaka içinde görüntülenen filamanlı yapılar, fibronektinin ipliksi konfigürasyonunu anımsatırken, tanım için daha ileri çalışmaların gerekliliği açıktır (15,23,34,38). Ayrıca fibronektin ve hücre içi aktin filamanları arasındaki uzaysal konumlanma da açıklanmalıdır (15,25).

Aktin filamanlarıyla sarkolemma arasında gözlenen koşut dizilme düzeni birçok otorün bulgularıyla desteklenir (13,15,35,36,38), bunun yanında hücre iskeletini yapan filamanlarla kasılabilir filamanların amorf maddeyle ilişkileri kanıtlandı. Her bir hücrenin kasılmasının yoğun cisimcik ve yapışma plaklarına tutunan ara filaman ve aktin demetleriyle hücrenin bütününe yayıldıkları düşünüldü. Yoğun cisimcik ve yapışma plaklarıyla, bu yapılara tutunan ara filamanların oluşturduğu birimler için «minisarkomer» deyiminin kullanılması diğer araştırmacılarla birlikte benimsendi (1,15).

Kontrol grubunda aktin filamanları diziliminden köken alan sarkoplazma bölmelenmelerine rastlanmadığından kasılmanın olmadığı yada minimal düzeyde kaldığı bir hücredeki filaman düzenlenmesiyle ileri kasılmış bir hücredekinin farklı oldukları kararına varıldı.

Miyometriyum düz kas hücrelerinde çekirdeğe komşu sarkoplazmadaki organel birikimlerinin kontrol grubundakilerle gebe olanlar arasında çarpıcı bir fark göstermemesi, kas hücresini salgılamaya yönelten etkenlerin ileri hücre değişimlerine neden olmamasıyla açıklanabilir. Östrojen salgılanmasının gebelik boyunca yaklaşık aynı düzende kalarak çekirdeğe yakın sarkoplazmadaki uniform yapı düzenini kolladığına karar verildi.

Bu çalışmada sarkolemma altı kovuk yapılarının zarla ilişkileri geçen kesitlerin düzeylerine bağlı olarak değiştiler. Her zaman hücre zarına yakın konumdaydılar, internalizasyonları saptanmadı. Hücre yüzeyine yakın seyreden sarkoplazma retikulumu sarnıçlarıyla olan yakın ilişkileri kalsiyumu depolama işlevlerinde yer almaları olarak algılandı. Rozet oluşumlarında biriken amorf materyalin iskelet ve kalp kasındaki kalsiyum bağlayıcı proteinin analogu (kalsekestrin) olabileceği bildirildi (36,37,38). Sarkoplazma retikulumuyla sarkolemma altı kovukların işbirliği sarkolemma altı kompleks oluşumlarından daha anlamlı olabilir (27). Sarkoplazma retikulumunun genişlemiş sarnıçlarıyla mitokondriyanın sarkolemma altında kalabalıklaşmasının yanısıra aynı bölgedeki sarkolemma altı kovukların sıkça dizilmiş olmaları yapı ve işlev bütünleşmeleri olarak alınabilir.

Bu çalışmada gösterilen DMS yapıları daha önceleri sıçan miyometriyumunda gösterilmiştir (26). Zarlarının endoplazma retikulumu işaretleyicileriyle pozitif reaksiyon vermeleri, kalsiyum metabolizmasıyla ilişkilerinin varlığı, kalsekestrin analogu protein içeren sarkoplazma retikulumu kesitlerinin DMS yapılarına benzerliğini benimsetti. Böylece lümenlerindeki elektron-yoğun kalsekestrin analogu hücre içi kalsiyum depolarının yerleştiği yerleri belirledi. Düz kas hücresinde yerleşimi henüz saptanamayan sitoplazma içi kalsiyum depolanma yerlerinin varlığı başka araştırmacılar tarafından da bildirildi (1,9,11,14).

Travay yaklaştıkça yarıklı bağlantı sayılarında artma olduğu saptandı (yayınlanmayan veri). Bu bulgu birçok otörce destek bulmaktadır (4,5,12,16,17,18,19,20,21,22,29,30). İkinci ve üçüncü gruplar

arasındaysa anlamlı bir fark yoktu. Böylece oksitosin ve benzeri indükleyici ajanların yeni yarıklı bağlantı oluşturmadıkları, ancak önceden oluşmuş olanları etkileyebildikleri tezi de desteklendi (21).

Yarıklı bağlantı sayılarının gebeliğin sonlarına doğru artmaları düz kas hücreleri arasındaki metabolizma ve elektrik bağlantıları yoluyla iletişimlerin sıklaşmalarını vurgular. Böylelikle artan yarıklı bağlantılar gebeliğin sonlanmasına etkili olurlar.

Miyometriyum düz kas hücrelerinde çoğunluğu oluşturan ara bağlantıları kontrol grubundan ikinci gruba doğru belirgin bir artış gösterdiler (yayınlanmayan veri). Böylece düz kas hücrelerinin doğumun sonlanması sürecindeki kasılmalarının artma ve sıklaşmalarıyla sarkolemmalar arası özel yüzey farklanmalarının sayıca arttıkları ortaya kondu. Ara bağlantılardaki ince yapı heterojenitesi başka araştırmacılar tarafından desteklendi (7).

Tip I kollajenin sarkolemmayla yakın ilişkilerinin kontrol grubuyla gebe olanlardaki farklarının östrojen etkisiyle bu telciklerin yapımlarındaki artıştan kaynaklandığı kanıtlandı. Böylelikle tip I kollajen tellerinin sarkolemmaya özellikle yapışma plaklarının olduğu bölgelerde sokulmaları önemli bulundu; her bir hücreden kaynaklanan uyarıların hücre dışı alanlarda anında ve düzenli yayılmasındaki katkılarını kesinleştirdi.

ÖZET

Çalışmada insan miyometriyum dokusunun gebeliğin gelişmesindeki ince yapı değişiklikleri tanımlandı. Miyometriyumun gebelik görünümüleri gebe olmayanlarla eş süreçler içinde karşılaştırıldı. Miyometriyum düz kas hücrelerinin ince yapı manifestasyonları çekirdek ve çevresindeki sitoplazma, aktomiyozin filaman demetleri yerleşimleri, sarkolemma altı organellerin bulunma özellikleriyle birarada tanımlandılar. Hücrelerarası filaman demetleriyle amorf maddenin değişimleri saptandı. Düz kas hücreleri arasındaki bağlantı yapılarının gebelikteki durumlarının doğum sırasındaki miyometriyum senkronizasyonuna katkıları belirlendi.

SUMMARY

**«Electron Microscopical Survey of Human Myometrium During The Course of
Pregnancy; Fine Structural Variances When Compared With The
Non-Pregnant Ones»**

In the work, cells and intercellular area of the pregnant myometria have been endeavoured. Myometrial smooth muscle cell organelles such as nucleus, bundles of actomyosine filaments, arrangements of the cisternae and tubuli of sarcoplasmic reticulum and juxtanuclear and subsarcolemmal fine structural organizations were studied at a fine structural level.

Altered filaments of the intercellular substance in between the myometrial smooth muscle cells were also carefully evaluated in the progress of pregnancy. Modified units of the junctional complexes were described among the myometrial cells with their roles of myometrial synchronization during the process of labor.

KAYNAKLAR

1. Bloom W Fawcett DW : A Textbook of Histology. 11 th ed., Philadelphia, London, Toronto, W.B. Saunders Co., 1986.
2. Bond M Somlyo AV : Dense bodies and actin polarity in vertebrate smooth muscle. J. Cell Biol. 95 : 403-413, 1982.
3. Buchanan GD Garfield RE : Myometrial ultrastructure and innervation in myotis lucifugus, the little brown bat. Anat. Rec. 210 : 463-475, 1984.
4. Cole WC : Gap junctions and direct intercellular communications between rat uterine smooth muscle cells. Am J Physiol. 249 : C20 - C31, 1985.
5. Demianczuk N Towell ME Garfield RE : Myometrial electrophysiologic activity and gap junctions in the pregnant rabbit. Am. J. Obstet. Gynecol. 149 : 485-491, 1984.
6. Dessouky AD : Ultrastructural observations of human uterine smooth muscle cells during gestation. Am. J. Obstet. Gynecol. 125 : 1099-1107, 1976.
7. Detlev D Franz H : Identification of actin-, alpha actinin-, and vinculin containing plaques at the lateral membrane of epithelial cells. J. Cell Biol. 102 : 1843-1852, 1986.
8. Dewey MM Barr L : Intercellular connections between smooth muscle cells : the nexus. Science, 137 : 670-672, 1962.

9. Gabella G : Caveolae intracellulares and sarcoplasmic reticulum in smooth muscle. *J. Cell Biol.* 8 : 601-609, 1971.
10. Gabella G : Hypertrophic smooth muscle. I. Size and shape of cells, occurrence of mitosis. *Cell Tiss Res.* 201 : 63-78, 1979.
11. Gabella G : Hypertrophic smooth muscle. II. Sarcoplasmic reticulum, caveolae and mitochondria. *Cell Tiss Res.* 201 : 79-92, 1979.
12. Gabella G : Hypertrophic smooth muscle. III. Increase in number and size of gap junctions. *Cell Tiss Res.* 201 : 263-276, 1979.
13. Gabella G : Hypertrophic smooth muscle. IV. Myofilaments, intermediate filaments and some mechanical properties. *Cell Tiss Res.* 201 : 277-288, 1979.
14. Gabella G : Structure of Smooth Muscles. In : Bulbring, E : *Smooth Muscle : An Assessment of Current Knowledge.* London, Edward Arnold Press., 1982.
15. Gabella G : Structural apparatus for force transmission in smooth muscles. *Physiol. Rev.* 64 : 455-477, 1984.
16. Garfield RE Hayashi RH : Appearance of gap junctions in the myometrium of women during labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 140 : 254-260, 1981.
17. Garfield RE Hayashi RH Harper MJK : In vitro studies on the control of human myometrial gap junctions. *Int. Gynaecol. Obstet.* 25 : 241-248, 1987.
18. Garfield RE Kannan MS Daniel EE : Gap junction formation in myometrium : control by estrogens, progesterone and prostaglandins. *Am. J. Physiol.* 238 : C81-C89, 1980.
19. Garfield RE Merrett R Grover AK : Gap junction formation and regulation in myometrium. *Am. J. Physiol.* 239 : C217-C228, 1980.
20. Garfield RE Puri CP Csapo AI : Endocrine, structural and functional changes in the uterus during premature labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142 : 21-27, 1982.
21. Garfield RE ve ark : Ultrastructural basis of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 133 : 308-315, 1979.
22. Garfield RE Sims S Daniel EE : Gap junctions; their presence and necessity in myometrium during parturition. *Science* 198 : 958-960, 1977.
23. Geiger B ve ark : Microfilament organizing centers in areas of cell contact; cytoskeletal interactions during cell attachment and locomotion. *J. Cell Biol.* 98 : 83s-91s, 1984.
24. Geiger B ve ark : Immunoelectron microscopic studies of membrane-microfilament interaction. *J. Cell Biol.* 91 : 624-628, 1981.
25. Keski OJA Sen A Todero GJ : Direct association of fibronectin and actin molecules in vitro. *J. Cell Biol.* 85 : 527-533, 1980.
26. Kwan CY Brezin I Daniel EE : Dense-cored membrane structures in rat myometrial smooth muscles : increase in number during parturition. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 64 : 1219-1222, 1986.

27. Laguens R Lagrutta J : Fine structure of human uterine muscle in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 89 : 1040-1047, 1964.
28. Leeson TS Leeson CR Paparo AA : *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Co., 1988.
29. Mac Kenzie LW Garfield RE : Hormonal control of gap junctions in the myometrium. *Am. J. Physiol.* 248 : C286-C308, 1985.
30. Mac Kenzie LW Puri CP Garfield RE : Effect of estradiol-17 and prostaglandins on rat myometrial gap junctions. *Prostaglandins* 26 : 925-944, 1983.
31. Morrione TG Seifter S : Alterations in the collagen content of the human uterus during pregnancy and postpartum involution. *J. Exp. Med.* 115 : 357-362, 1962.
32. Palmberg L : Uterine smooth muscle cells in primary culture. *Cell Tiss Res.* 246 : 253-262, 1986.
33. Ross R Klebanoff SJ : Fine structural changes in uterine smooth muscle and fibroblasts in response to estrogen. *J. Cell Biol.* 32 : 155-167, 1967.
34. Ruasiathi E Engrall E Hayman EG : Fibronectin; current concepts of its structure and function. *Collagen Res.* 1 : 95-128, 1981.
35. Small JV Sobieszek A : The contractile apparatus for smooth muscle. *Int. Rev. Cytol* 64 : 241-306, 1980.
36. Somlyo AP : Excitation-contraction coupling and the ultrastructure of smooth muscle. *Circ. Res.* 57 : 497-507, 1985.
37. Somlyo AV : Bridging structures spanning the functional gap at the triad of skeletal muscles. *J. Cell Biol.* 80 : 743-750, 1979.
38. Somlyo AV Franzini-Armstrong C : New views of smooth muscle structure using freezing, deep-etching and rotary shadowing. *Experientia* 41 : 841-856, 1985.
39. Wang K Ash JF Singer SJ : Filamin; a new high-molecular-weight protein found in smooth muscle and non-muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72 : 4483-4486, 1975.
40. Weiss L : *Cell and Tissue Biology A Textbook of Histology*. 6th ed; Baltimore, Munich. Urban and Schwarzenberg, 1988.
41. Wu CH ve ark : Biosynthesis of type I and type III collagens by cultured uterine smooth muscle cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 188 : 294-300, 1978.