T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATLARDA MEDULLA SPINALIS'İN LUMBAL SEGMENTLERİ ÜZERİNDE MORFOMETRİK ARAŞTIRMALAR

Muhammet Lütfi SELÇUK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANATOMİ (VET) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Sadullah BAHAR

KONYA 2011

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATLARDA MEDULLA SPINALIS'İN LUMBAL SEGMENTLERİ ÜZERİNDE MORFOMETRİK ARAŞTIRMALAR

Muhammet Lütfi SELÇUK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANATOMİ (VET) ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Sadullah BAHAR

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 11202011 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2011

ÖNSÖZ

Atlarda medulla spinalis'in lumbal bölümü hem omurganın hareketli bir bölümü hem de önemli sinirlerin çıkış bölgesi olması nedeniyle önem arz eder. Bölgede özellikle lokal (kompresif) etkili ve segmetlerde morfometrik değişikliklere sebep olan medulla spinalis hastalıklarına sıklıkla rastlanmaktadır. Bu nedenle sağlıklı hayvanlardaki segmental morfometrik veriler, hastalıkların tanısında hekime önemli derecede yardımcı olacaktır. Yapılan literatür taramalarında medulla spinalis'in lumbal segmentlerine ait uzunluk, çap, ağırlık, hacim ve hacim oranları (Substantia grisea, substantia alba, canalis centralis) gibi morfometrik özelliklerini konu alan bilgilerin oldukça kısıtlı olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle gerçekleştirilen ve birçoğu orijinal olan bu araştırma sonuçlarının konuyla ilgili bilgilere önemli oranda katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Sunulan bu tez projesi Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (SUBAP, 11202011) tarafından desteklenmiştir.

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde bilimsel yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Sadettin TIPIRDAMAZ, Prof. Dr. Emrullah EKEN, Prof. Dr. Memduh GEZİCİ, Prof. Dr. Kamil BEŞOLUK, Prof. Dr. Hakan YALÇIN'a, laboratuvar çalışmalarının tamamlanması için yardım eden Arş. Gör. Dr. Durmuş BOLAT'a, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen aileme ve maddi olarak destek sağlayan Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

		Sayfa
1.GİRİŞ		1
1.1	At Irkı	1
1.2	Columna vertebralis	1
1.3	Medulla spinalis'in Gelişimi, Makro ve Mikro Anatomisi	3
1.3.1	Medulla spinalis'in Gelişimi	3
1.3.2	Medulla spinalis'in Makro ve Mikro Anatomisi	4
1.3.3	Medulla spinalis'in Transversal Kesiti	6
	Substantia grisea	6
	Substantia alba	7
1.4	Stereoloji	7
1.4.1	Sistematik Rastgele Örnekleme (SRÖ)	8
1.4.2	Etkinlik	9
1.4.3	Hata Katsayısı (coefficient of error = CE)	9
1.4.4	Sondalar	10
1.4.5	Cavalieri Prensibi	10
2	**GEREÇ ve YÖNTEM**	12
2.1	Gereç	12
2.2	Yöntem	12
2.2.1	Diseksiyon	12
2.2.2	Segmentasyon	12
2.2.3	Makroskobik Ölçümler	14
2.2.4	Histolojik İşlemler	14
	Lumbal Segmentlerin Örneklenmesi ve Histolojik Takip	14
	Histolojik Takip Prosedürü	15
	Kesitlerin Boyanması	16

2.2.5 İki Kesit Arasındaki Mesafenin Hesaplanması 17

2.2.6 Kesitlerin Görüntülenmesi 17

2.2.7 Mikroskobik Ölçümler 18

2.2.8 Segmentlerde Alan ve Hacim Hesaplamaları 18

2.2.9 Hacim Hesaplamalarında Hata Katsayısının (CE) Tespiti 21

2.2.10 İstatiksel Analiz 21

3. BULGULAR 22

4. TARTIŞMA 28

5. SONUÇ ve ÖNERİLER 31

6. ÖZET 32

7. SUMMARY 33

8. KAYNAKLAR 34

9. EKLER 36

EK.A: Etik Kurul Onayı

10. ÖZGEÇMİŞ 37

1. GİRİŞ

1.1 At Irkı

At, vertebrata (omurgalılar) gurubunun mammalia (memeliler) sınıfının placentalia (plasentalılar) alt sınıfının ungulata (tırnaklılar) takımının perissodactyla (tek tırnaklılar) alt takımının equidae (atgiller) familyasına dâhildir. Equidae familyasıda equus caballus (at), equus asinus (eşek), equus mulus (katır), equus zebra (zebra) türlerinden oluşur (Rafet 1999).

At tarihte bütün milletler tarafından sevilerek yetiştirilmiştir. Fakat Türklerin at yetiştiriciliğinde ve kullanımında daha özel bir yeri vardır. Atı ilk evcilleştirenlerin M.Ö. 3000 yıllarında Orta Asya'daki eski Türk boylarının olduğu bilinmektedir. Bu hayvanlar tarihin hemen her döneminde beşeri kültürün gelişmesinde önemli rol oynamışlardır. İnsanlara yalnızca daha hızlı yolculuk etme ve yük taşıma işlerinde yardımcı olmakla kalmamış, tüm askeri muharebelerde insanın en önemli müttefiki rolünü üstlenmişlerdir (Batu 1962).

Bugün yeryüzünde bulunan evcil atların kökenini Prezewalski ve Tarpan adı verilen yabani atların teşkil ettiği bilinmektedir. Bu yabani atlardan Prezewalski bugün dahi Sibirya ve Moğolistan ormanlarında yabani olarak yaşamaktadır. Soğuk kanlı at ırklarının bir çoğuna bu yabani at köken teşkil etmiştir. Evcil at ırkına köken teşkil eden Tapan atı bu gün yeryüzünden tamamen kaybolarak nesli tükenmiştir. Tapan atı başta Arap atı olmak üzere bütün sıcak kanlı at ırklarına köken teşkil etmiştir (Batu 1962, Rafet 1999).

1.2 Columna vertebralis

Canlının iç ortamının sabit tutulması hayatın devamı için şarttır. Gerek homeostasis, gerekse diğer vücut fonksiyonlarının, canlının ihtiyaçlarına uygun bir biçimde gerçekleşmesi için bir takım düzenleyici kontrol sistemlerine ihtiyaç vardır. Canlı vücudundaki en önemli kontrol sistemi sinir sistemidir (Noyan 1993). Sinir sistemi gerek canlı vücudunda gerekse çevresinde meydana gelen olaylar arasındaki ilişkiyi sağlayan sistemdir. Diğer bir tanımlama ile duyusal uyarımları alarak, organizmanın iç ve dış ortam değişikliklerine uyum sağlayacak tepkimeleri düzenleyen sistemdir (Tecirlioğlu 1992).

Omurga gerek aksiyal iskelet sisteminin bir parçası olması dolayısıyla destek ve hareket işlevine, gerekse içinde barındırdığı medulla spinalis ve spinal köklerini koruma görevine sahip çok işlevli bir organdır (Arıncı ve Elhan 2001). Gövdenin esasını şekillendiren columna vertebralis (omurga), vertebra adı verilen kemiklerin birbiri ardına eklemleşmesiyle meydana gelir. Bu sütun vertebral kanalla medulla spinalis'e sağlam bir muhafaza teşkil eder. Baş ve göğüs boşluğunda bulunan organları taşır ve bunlara bir destek vazifesi görür (Yıldırım 2000).

Genel olarak bir vertebra corpus vertebrae ve arcus vertabrae olmak üzere iki bölümden oluşur. Corpus vertebrae silindirik yapıdadır. Cranial'de caput vertebrae, caudal'de ise fossa vertebrae adı verilen iki eklem yüzü ile öndeki ve arkadaki vertebra ile discus intervertebralis vasıtasıyla eklemleşir. Arcus vertebrae sağ ve sol pediculi arcus vertebrae ve lamina arcus vertebrae'den oluşur. Arcus vertebrae pediculi arcus vertebrae vasıtasıyla corpus vertebrae'ye kaynaşmış ve aralarında kısa tüp şeklinde foramen vertebrale şekillenmiştir. Foramen vertebrale'lerin birleşmesiyle canalis vertebralis şekillenir (Evans 1993).

Columna vertebralis, birinci boyun omurundan, kuyruk ucuna kadar devam eder ve beş bölümden oluşur. Bunlar; pars cervicales, pars thoraceciae, pars lumbales, pars sacrales, pars caudalis (coccygeoles)'dir. Columna vertebralis'i oluşturan vertebra sayıları hayvan türleri arasında farklılık gösterir (Dursun 2008). Türlere göre omur sayıları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

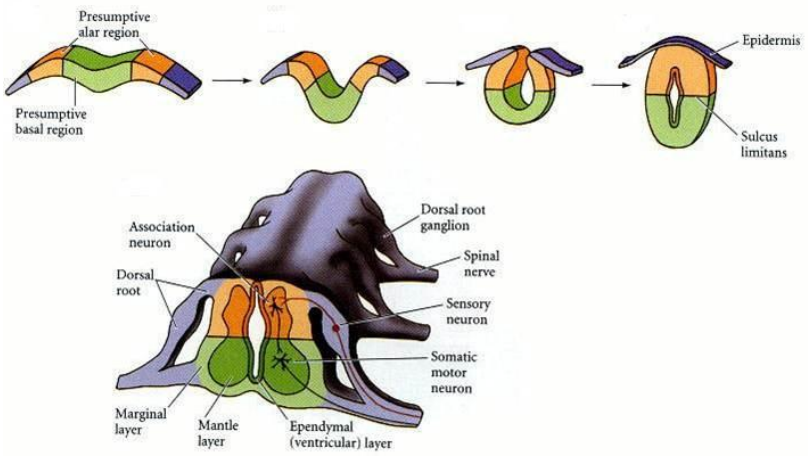
Çizelge 1.1: Türlere Göre Omur Sayıları

Tür Adı	C	T	L	S	Ca	Kaynak
Equide	7	17-19	5-7	5	15-21	(Budras 2009a)
Ruminant	7	12-14	6-7	5	16-21	(Budras 2009c)
Köpek	7	13	7	3	20-23	(Budras 2009b, Evans 1993)
Kedi	7	13	7	3	20-23	(Hudson ve Hamilton 1993)
Domuz	7	14-15	6-7	4	20-23	(Sisson ve Hillman 1975)

1.3. Medulla spinalis'in Gelişimi, Makro ve Mikro Anatomisi

1.3.1 Medulla spinalis Gelişimi

Embriyonal omuriliğin lateral duvarları kalındır ve çoğalan hücrelerle paketlenmişlerdir. Aksine, dorsal ve ventral duvarlar incedir ve sırasıyla tavan plak ve taban plak olarak adlandırılırlar. Uzunlamasına bir oluk olan sulcus limitans, nöral kanalın iki tarafı boyunca uzanır. Sulcus limitans dorsal ve ventral sınırların yaklaşık ortasında yerleşir. Sulcus limitans, mantle tabakasının alar plağı ile bazal plak arasında sınır oluşturur. Çoğu alar plak nöronlarının sensorik fonksiyonları varken, bazal plaktakiler motor fonksiyonlara sahiptirler. Daha sonra omuriliğin her iki tarafındaki bazal plak bölgeleri, derin bir ventral median yarık oluşturarak ventral'e doğru büyür. Bu embriyonik organizasyonun olgun omuriliğe dönüşümü, şiddetli çoğalma, mantle katmanındaki immatür nöronların asimetrik hareketleri ve nöronal sürecin (process) gelişmenin tamamlanması sonucunda gerçekleşir. Mantle tabakası, başlıca nöron hücre gövdelerinden meydana gelen omurilik bölümü substantia grisea olarak adlandırılır. İmmatür nöronların farklı özellikteki göçlerine bağlı olarak, mantle tabakası belirgin bir cornu dorsale ve cornu ventrale'ye sahip kelebek şeklini alır (Özfiliz 2007).



Şekil 1.1: Omuriliğin embriyonal gelişimi.

Başlangıçta substantia grisea omuriliğin tüm uzunluğu boyunca aynıdır. Bununla birlikte ekstremiteler gelişirken, aksiyal seviyelere denk gelen kısımlar belirgin bir şekilde büyür. Bu bölgelerdeki sinir hücre gövde sayılarının fazla oluşu,

ekstremiteler haricindeki yapıların uyarılmasını sağlayan bölgelerdeki immatür nöronların dejenerasyonu sonucudur. Bu hücrelerin çoğu, gelişmekte olan kas dokusuyla bağlantı kurmayı başaramadıkları için ölürler. Aynı zamanda torakal seviyedeki (T_1'den L_4'e kadar) immatür nöronlar ventral motor cornu'lardan dışarıya doğru dorsal olarak göç ederler ve cornu lateralis'i oluştururlar. Burası sempatik sinir hücre gövdelerini içerir. Altıncı cervical segment ile 1. thoracal segment arasında gerçekleşen omurilik büyümesi, intumescentia cervicalis olarak adlandırılır. Pelvik ekstremite uyarılmasını sağlayan intumescentia lumbalis, 4. lumbal segment ile 1-3. sacral segment boyunca yer alır (Lahunta 1983).

Omuriliğin kenar tabakası çoğunlukla substantia alba olarak bilinir, böyle adlandırılmasının nedeni miyelinli aksonların görünüşlerinden dolayıdır. Substantia alba, funikulus olarak adlandırılan ascendens ve descendens aksonların bir araya gelerek yaptıkları yığınlardan ibarettir. Dorsal, lateral ve ventral funikuluslar birbirlerinden, çıkan motor ve giren sensorik kökler vasıtasıyla ayrılırlar (Lahunta 1983).

Ventriküler bölge diğer katmanlara doğru, orantılı bir şekilde genişlemez. Nöronların ve glia hücrelerinin çoğalması bittiğinde bu epitel, merkezi bir kanal etrafını çevreleyen ve ependim hücreleri olarak adlandırılan tek katlı silyumlu bir epitel katmanı halinde kalır (Lahunta 1983).

1.3.2. Medulla spinalis'in Makro ve Mikro Anatomisi

Omurilik (medulla spinalis), merkezi sisteminin canalis vertebralis içinde yer alan kısmıdır. Medulla spinalis medulla oblogata'dan foramen magnum düzeyinde belirli bir makroskobik sınır göstermeksizin başlar ve conus medullaris ile sonlanır (Dursun 2008). Erken fötal dönemde medulla spinalis canalis vertebralis'in son bölümüne kadar uzanır. Prenatal ve postnatal dönemde columna vertebralis'in gelişimi medulla spinalis'ten daha hızlı olduğu için segmentler craniale kayar. Bu olaya assensus medullae denir (Habel 1951). Bu nedenle hayvan türleri arasında medulla spinalis'in sonlanma noktaları farklılık gösterir. İki aylık buzağıda S_3'e, 10 aylıklarda S_2'ye kadar uzanmasına rağmen, yetişkinlerde sadece S_1 düzeyinde kalır (Budras 2009c, Dellmann ve McClure 1975). Koyunda S_2 düzeyinde (Rao 1990), tiftik keçisinde ise S_{2-3} arasında sonlanır (Kahvecioğlu ve ark 1995). Yetişkin equide S_{1-2} düzeyinde sonlanır (Habel 1951). Köpekte conus medullaris 5-6. lumbal

vertebra'ya kadar (Fletcher ve Kitchell 1966), kedide L_7 düzeyinde (Hudson ve Hamilton 1993), domuzda ise S_{2-3} vertebra arasına kadar uzanır (Sisson ve Hillman 1975).

Medulla spinalis tüm uzunluğu boyunca tam bir silindir biçiminde değildir. Boyun ve bel bölgelerinde olmak üzere iki genişleme yapar. Boyun bölümünde bulunan genişlemeye intumescentia cervicalis, bel bölümünde bulunan genişlemeye ise intumescentia lumbalis denir (Bahadır ve Yıldız 2010). Intumescentia cervicalis evcil memelilerde (domuz hariç) C_{6-7-8} ve T_{1-2}, domuzda ve insanda $C_{5-6-7-8}$ ve T_1 segmentlerin katılımıyla oluşur (Dursun 2008).

Çizelge 1.2: Türlere göre intumecentia cervicalis ve intumecentia lumbalis

Tür Adı	İntumescentia cervicalis	İntumescentia lumbalis	Kaynak
Equide	C_6-T_2	L_2- L_6	(Budras 2009a)
Ruminant	C_6-T_2	L_2-L_6	(Budras 2009c)
Köpek	C_6-T_1	L_5-S_1	(Fletcher ve Kitchell 1966)
Kedi	C_6-T_1(T_2)	L_4-S_3	(Hudson ve Hamilton 1993)
Domuz	C_5-T_1	L_5-S_1	(Sisson 1975)
İnsan	C_5-T_1		(Dere 2000)

İnsanda fötal yaşamın ilk birkaç ayında medulla spinalis canalis vertebralis'in tamamını doldururken, doğumdan sonra columna vertebralis medulla spinalis'e oranla daha hızlı bir gelişim gösterir. Bu nedenle medulla spinalis'in alt ucu 2. lumbal vertebra'nın üst yarımı düzeyinde kalır. Ancak her bir spinal sinir kendi foramen intervertebrale'sinden çıkacağı için, sacral ve alt lumbal spinal kökleri filum terminale'nin çevresinde ve cavum subarachnoidale içinde aşağıya doğru devam eder. Medulla spinalis'in alt bölümünden çıkan bu sinir kökleri topluluğu, at kuyruğuna benzediği için hepsine birden cauda equinae denir (Dere 2000). Cauda equine topluluğunun ortasında, conus medullaris'in tepesinden coccyx'e kadar uzanan pia mater oluşumu ince bir demet (filum terminale) yer alır (Yıldırım 2000).

Medulla spinalis dorsal'den basık olduğundan iki yüzü vardır ve bu yüzeylerde, boyunca seyreden oluklar vardır. Alt yüzünde, tam ortada uzunlamasına bulunan yarığa fissura mediana ventralis denir. Bu sulcus'un her iki tarafında sulcus

lateralis ventralis bulunur. Bu sulcus'lardan spinal sinirlerin ventral kökleri orjin alır. Dorsal yüzün tam ortada uzunlamasına sulcus medianus dorsalis yer alır. Bu sulcus'un her iki tarafında daha sığ olan sulcus lateralis dorsalis bulunur. Bu sulcus'lardan spinal sinirlerin dorsal kökleri medulla spinalis'e girer. Omuriliğin boyun parçası ile göğüs parçasının ön bölümünde sulcus medianus dorsalis ile sulcus lateralis dorsalis arasında sulcus intermedius dorsalis adı verilen üçüncü ve daha az belirgin birer sulcus daha bulunur. Bu sulcus fasciculus cuneatus ile fasciculus gracilis'in dış sınırını oluşturur. Fissura mediana ventralis ve sulcus medianus dorsalis medulla spinalis'i simetrik iki yarıma ayırır. Sulcus lateralis ventralis ve sulcus lateralis dorsalis aracılığıyla medulla spinalis'in dış yüzü her iki tarafta üçer alana ayrılmış olur. Bunlar iki sulcus lateralis dorsalis'ler arasında kalan üst kısım funiculus dorsalis, sulcus lateralis dorsalis ile sulcus lateralis venteralis arasında kalan iki yan kısım funiculus lateralis, iki sulcus lateralis ventralis arasında kalan kısım funiculus ventralis adı verilir (Dursun 2008).

1.3.3 Medulla spinalis'in Transversal Kesiti

Medulla spinalis'in tüm kesitlerine baktığımızda koyu ve açık iki renkte olduğunu görürüz. Bunlar medulla spinalisin ortasında yer alan kelebek şeklinde veya (H) harfine benzeyen bölüme substantia grisea denir. Miyelinsiz sinir lifleri, sinir ve glia hücreleri ve kan damarlarını kapsar. Substantia grisea'nın dışında bulunan ve daha açık renkte görülen bölüme ise substantia alba denir. Yapısı miyelinli sinir aksonları ve glia hücreleri oluşturmuştur (Schoenen ve Faull 2004).

Substantia grisea

Gri cevher medulla spinalis'te merkezi olarak yerleşmiştir. Bütün kısımları beyaz cevher tarafından sarılmıştır. Enine yapının alt kısmındaki sağ ve sol çıkıntıya cornu ventrale, üst kısmındaki sağ ve sol iki çıkıntıya ise cornu dorsale denir. Cornu ventrale'ler kısa ve geniş, cornu dorsale'ler dar ve uzundur. Cornu dorsale ve cornu ventrale'nin dışında medulla spinalis'in thoracal ve ilk iki lumbal segment'lerinde, bu iki cornu'nun birleşim yerinin lateral'inde cornu laterale yer almıştır.

Substantia grisea'nın tam ortasında nöral tüpün boşluğu olan ve çıplak gözle de görülebilen canalis centralis bulunur. Medulla spinalis'in tüm uzunluğu boyunca yer alan bu kanal ventriculus quartus'un arka ucuna açılarak sonlanır. Canalis

centralis arka kısımda conus medullaris düzeyinde yaptığı genişlemeye ise ventriculus terminalis denir. Canalis centralis'in ependim hücreleri ile sınırlandırılmıştır ve içerisinde BOS bulunur. Canalis centralis'in çevresinde commissura grisea ile nöral ve glia elementleri içeren bir katman bulunur. Bu katmana substantia gelatinosa centralis adı verilir. Comissura grisea'yı, substantia grisea bünyesinde özellikle canalis centralis'in dorsal'inde yer alan, bir taraftan karşı tarafa geçen birçok myelinsiz liften oluşur. Substantia gelatinosa centralis dıştan substantia intermedia centralis denilen gri cevher tabakası ile sarılmıştır. Bu tabaka dorsal ve ventral cornu'ları birleştirir, substantia intermedia lateralis denilen gri cevher ile lateral'e uzanır. Cornu dorsale'lerin dorsal bölümünü oluşturan gri cevher diğer kısımlara nazaran daha açık renktedir ve substantia gelatinosa olarak isimlendirilir (Dere 2000, Dursun 2008).

Substantia alba

Medulla spinalis'in dış kısmını oluşturan substantia alba myelinli liflerin fazlalığı nedeniyle beyaz renkte görülür ve çok sayıda glia hücrelerinden oluşur. Substantia alba medulla spinalis'in tam ortasında bulunan substantia grisea ile üç büyük bölgeye ayrılır. Çıplak gözle görülebilen ve her biri çeşitli fasciculus ve tractus'lardan oluşmuş bu bölgeler funiculus dorsalis, funiculus lateralis ve funiculus ventralis'tir. Funiculus lateralis ile funiculus ventralis arasındaki sınır çok belirgin değildir. Bu ayrımı yapmak için en lateral'deki motor nöronların akson ucu referans alınır (Dursun 2008).

1.4. Stereoloji

Stereoloji, üç boyutlu objelerin iki boyutlu kesitlerinden ya da izdüşümlerinden elde edilen verilere dayanarak, onların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili yorumlar yapılmasını sağlayan bilim dalıdır (Baddeley 1991).

Stereoloji terimi, Yunan kökenli stereos (üç boyutlu cisim, üç boyutluluk) teriminden türemiştir ve ilk defa 1960 yılından önce kullanılmıştır. 1961 yılında, biyologlar, jeologlar ve tıp disiplininde yer alan bilim adamları Almanya"daki Black Forest"ta maddelerin üç boyutlu tanımı ile ilgili problemleri tartışmak için toplanmışlardır. Alman Profesör Hans Elias, iki boyutlu kesitlerden objenin üç

boyutlu yapısını anlayabilmek için stereoloji teriminin kullanılmasını önermiş ve bilim dünyasına bu isimle girmiştir (Mouton 2002).

Son yıllarda tıp ve biyoloji alanındaki bilimsel yaklaşımlarda önemli değişimler olmuştur. Bunlardan en önemlisi öznel yaklaşımlardan daha çok tarafsız ya da nesnel yaklaşımın yaygın bir şekilde kabul görmesidir. Biyolojik yapılardan uygun metotlar kullanılarak elde edilmiş nicel veriler, biyolojik türler arasındaki varyasyonun tespiti, tıpta ise kesin teşhise gidilmesinde oldukça değerlidir. Aynı zamanda veriler sayılar ile ifade edildiği için verilerin karşılaştırılması son derece kolaydır. Nicel ölçümler öznel yaklaşımdan daha kolay depolanabilir, taşınabilir ve analiz edilebilirler (James 2004).

Günümüzde genel tıp, astronomi, jeoloji, matematik ve diğer mühendislik bilimlerinde stereoloji sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak en çok fayda sağladığı alanlar anatomi, histoloji, fizyoloji, patoloji ve botanik gibi biyolojik yapılarla uğraşan bilim dallarıdır (Russ ve Dehoff 2000).

1.4.1. Sistematik Rastgele Örnekleme (SRÖ)

Mikroskobik analizlerde, üzerinde çalışılacak biyolojik dokunun örneklenmesi sistematik taraflılıktan uzak olmalıdır. Örnekleme yapılacak nesnenin her bir parçası, ölçümle elde edilecek sonuca eşit oranda etki etmelidir ve eşit oranda örneklenme şansına sahip olmalıdır (Cruz-Orive 1999). Bu nedenle örneklemenin her bir aşamasında bu kurala sadık kalınması oldukça önemlidir. Sistematik taraflılıktan uzaklaşma, doğru örnekleme yönteminin seçilmesi ve kalibre edilmiş doğru ölçüm araçlarının kullanılmasıyla mümkün olmaktadır (Howard ve Reed 2005). Sistematik rastgele örnekleme, rastgele yapılan örneklemeye göre istatistiki anlamda gerçeğe çok daha yakın sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Gundersen ve ark 1999) .

Biyolojik bir dokuda önceden belirlenen örnekleme aralığı, örneklemenin sistematik kısmını, ilk aralık içinde rastgele bir noktadan başlanması ise, örneklemenin rastgelelik özelliğini sağlar. SRÖ metodu, üzerinde çalışılacak dokunun örneklenmesinde (doku örneklemesi), histolojik kesit alma sırasında (kesit örneklemesi) (Garcia ve ark 2003) ve bu kesitlerin mikroskop altında incelenmesi sırasında (alan örneklemesi) olmak üzere stereolojik araştırmanın her basamağında ayrı ayrı uygulanır (Turgut ve ark 2007). İstatistiksel bakış açısıyla, bu tip bir

örnekleme, ne kadar çok örnek üzerinde uygulanırsa doğru sonuçları elde etme şansı da o kadar artar (Russ ve Dehoff 2000). Bu uygulama aynı zamanda bireyler arasındaki varyasyonun azaltılmasında da fayda sağlamaktadır(Gundersen ve Jensen 1987).

1.4.2 Etkinlik

Stereolojinin diğer önemli özelliği ise etkinliktir. Stereolojide etkinlik, yapılacak biyolojik bir araştırmada kaynakların (materyal, sarf malzemesi, zaman) optimum düzeyde kullanılarak, gerçek değere en yakın tahminde bulunmayı ifade eder (Gundersen ve Jensen 1987, Mouton 2002). Tarafsızlık, gerçek değerden sistematik bir sapmaya sebep olmamayı, etkinlik ise daha kısa zamanda daha az hatalı iş yapmayı ifade etmektedir. Mouton (2002), etkinliği zaman ve kesinlik açısından toplam gözlemlenen etkinlik GE = kesinlik / zaman = 1 / CV^2 x zaman (GE= Gözlemlenen etkinlik, CV= Coefficient of Variance, ya da bireyler arası varyasyon) ve örnekleme etkinliği ÖE = kesinlik / zaman = 1 / CE^2 x zaman (ÖE= Örnekleme etkinliği, CE= Coefficient of Error ya da hata katsayısı) olarak ifade etmektedir. Bu açıklamalar ışığında etkinliğin zamanla ve hata katsayısı ile ters orantılı olduğu görülür (Mouton 2002).

1.4.3. Hata katsayısı (coefficient of error = CE)

Hata katsayısının belirlenmesi, stereolojik çalışmaların en önemli basamaklarından birisidir. Stereolojik çalışmalar ile yapılan sayısal ölçümlerin kalitesi ve kesinliği hata katsayısı (CE) hesaplanarak gözlemlenebilir. Stereolojik çalışmalarda hata katsayısı gerçek biyolojik bir değere karşılık gelmemekle birlikte, örnekleme stratejisinin kalitesini gösteren bir değerdir (Slomianka ve West 2005). CE, örnekleme stratejisi ve örnek büyüklüğü olarak tanımlanan ve araştırıcı tarafından kontrol edilebilir iki faktöre bağımlıdır. Bu iki faktör yapılacak bir ön çalışma ile belirlenir (Pakkenberg ve Gundersen 1997). CE, standart hatanın popülasyon ortalamasına bölünmesi ile hesaplanabilir (Pakkenberg ve Gundersen 1997, Mouton 2002). Gundersen ve ark (1999) %10 ve altındaki bir CE değerinin stereolojik bir araştırmanın sonuçlarının güvenilir olması için yeterli olduğunu bildirmişlerdir.

1.4.4 Sondalar

Sondalar, teorik olarak tarafsız stereolojik metotlarda, doku bölümlerinin kesit yüzeyindeki görünüşlerinden biyolojik nesnelerin uzunluğunu, yüzey alanını, sayısını ve hacmini tahmin etmek için kullanılan geometrik şekillerdir. Çalışmalarda doğru sonda-parametre birleşimini seçmek oldukça önemlidir (Gundersen ve ark 1988, Mouton 2002, Howard ve Reed 2005). Sondalar; nokta sondası, çizgi sondası, yüzey sondası ve disektör sondası olarak sınıflandırılır. Nokta sondası sıfır boyutlu olup hacim hesaplamalarında, çizgi sondası tek boyutlu olup alan hesaplamalarında, yüzey sondası iki boyutlu olup uzunluk hesaplamalarında, disektör sondası üç boyutlu olup biyolojik yapılardaki yer alan her hangi bir partikül türünün toplam sayısının hesaplanmasında kullanılmaktadır. Stereolojik metodlar biyolojik yapıların üç boyutlu özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanıldığından sonda ve parametre toplamı üç olmalıdır (Gundersen ve ark 1988).

1.4.5. Cavalieri Prensibi

Düzensiz şekilli nesnelerin hacimlerini hesaplamak için değişik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan en çok bilineni Arşimet prensibidir (Archimedes principle). Bu yöntemde incelenen nesne içi su dolu dereceli bir silindire daldırılır ve nesnenin taşırdığı ya da yükselttiği su miktarı nesnenin hacmine eşittir. Bu şekilde etrafından izole edilmiş bir nesnenin hacmi rahatlıkla ve doğrudan ölçülebilir (Michel ve Cruz-Orive 1988, Canan ve ark 2002). Ancak etrafından izole edilemeyen ve küçük biyolojik yapıların hacim ölçümlerinin Arşimet prensibi ile yapılması kapillar etkiden dolayı tavsiye edilmemektedir (McCuan ve Treinen 2008). Bu nedenle son yıllarda biyolojik yapılarda hacim hesaplamalarında Cavalieri yöntemi uygulanmaktadır (Balcioglu ve ark 2009, Sonmez ve ark 2010). Cavalieri yöntemi, 17. yüzyılda yaşayan italyan matematik ve uzay bilimci Bonaventura Cavalieri tarafından geliştirilmiştir. Cavalieri bir objenin hacminin, objenin eşit aralıklarla kesilmesi ve her bir kesitin yüzey alanının kesit kalınlığı ile çarpımıyla elde edilebileceğini ortaya koymuştur (Gundersen ve ark 1999).

Cavalieri yöntemi, günümüzde biyolojik dokulardan alınan makroskobik ve mikroskobik kesit görüntüleri ve görüntüleme yöntemleriyle (CT, MRI, US) elde edilen kesit görüntüleri üzerine uygulanarak hacim hesaplamalarında sıklıkla kullanılan bir yöntem olmuştur (Sahin ve ark 2003, Bilgic ve ark 2005).

Atlarda medulla spinalis'in lumbal bölümü hem omurganın hareketli bir bölümü hem de önemli sinirlerin çıkış bölgesi olması nedeniyle önem arz eder. Bölgede özellikle lokal (kompresif) etkili ve segmetlerde morfometrik değişikliklere sebep olan medulla spinalis hastalıklarına sıklıkla rastlanmaktadır (Malikides ve ark 2007). Bu nedenle sağlıklı hayvanlardaki segmental morfometrik veriler, hastalıkların tanısında hekime önemli derecede yardımcı olacaktır. Medulla spinalis segmentleri ile vertebralar arasındaki topografik ilişki klinik açıdan bölgeyle ilgili sinir sistemi hastalıklarının tanısı için oldukça önemlidir (Habel 1951). Bu topografik ilişki ve segmentlerin mikroskobik özellikleri atta (Braun 1950), at ve sığırda (Habel 1951), kedide (Thomas ve Combs 1962), maymunda (Thomas ve Combs 1965), köpekte (Fletcher and Kitchell 1966), merkepte (Hazıroğlu ve Öcal 1989) ve koyunda (Rao 1990) detaylı olarak araştırılmış, ancak sınırlı düzeyde morfometrik özeliklere değinilmiştir.

Yapılan bu araştırma ile atlarda medulla spinalis'in lumbal segmentlerine ait uzunluk, çap, ağırlık, hacim ve hacim oranları (Substantia grisea, substantia alba, canalis centralis) gibi morfometrik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Gereç

Araştırma, 2008-2009 yılları arasında S. Ü. Veteriner Fakültesi Binicilik Tesisinden çeşitli ortopedik rahatsızlıkları gerekçesiyle ötenazisine karar verilen ve bu işlemi gerçekleştirmek ve kadavra hazırlanmak üzere Anatomi Anabilim Dalına tahsis edilen 6 hayvan (1 adet Pony 15 yaşlı 230 kg. dişi, 2 adet arap 13 ve 5 yaşlı 300-340 kg. dişi, 1 adet Belçika 15 yaşlı 480 kg. erkek, 2 adet İngiliz 10 ve 12 yaşlı 420-450 kg. erkek)'a ait kadavra üzerinde gerçekleştirildi. Araştırma prosedürü Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar no:2011/015-2011/03 Bkz. Ek.A).

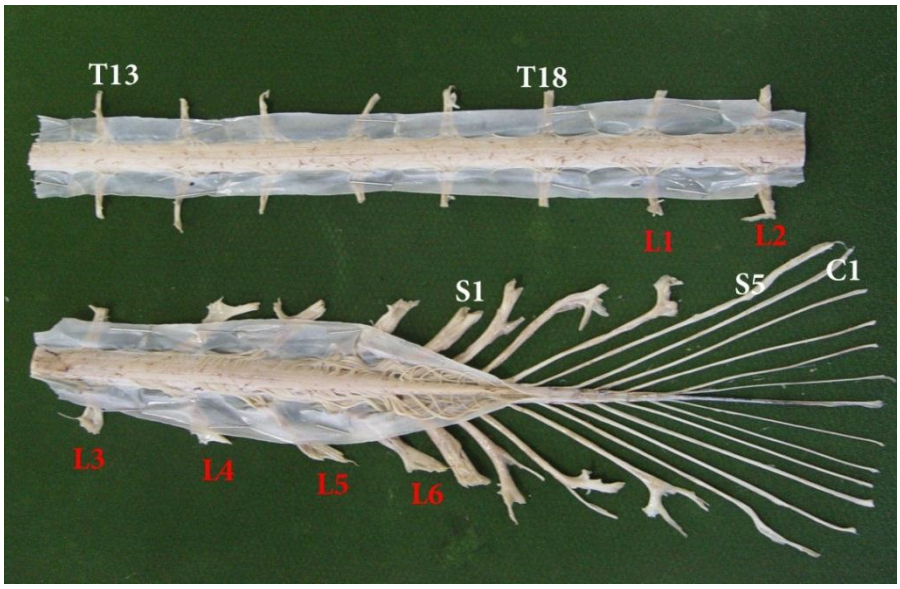
2.2. Yöntem

2.2.1. Diseksiyon

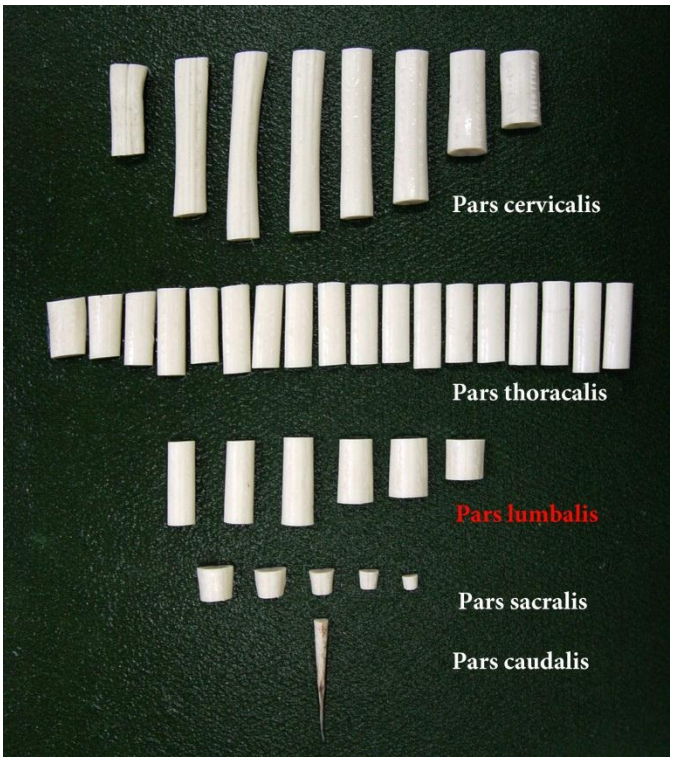
Diseksiyon işleminde öncelikle atlastan ilk caudal vertebraya kadar olan ve columna vertebralis'in dorsalinde yer alan yumuşak dokular uzaklaştırıldı. Bu işlemi takiben columna vertebralis'i oluşturan omurların arcus vertebra'ları laminektomi yapılarak uzaklaştırıldı ve medulla spinalis açığa çıkarıldı. C1'den filum terminaleye kadar olan spinal sinirler canalis vertebralis'i terkettikleri düzeyden ensize edilerek ve medulla spinalis, dura mater korunarak gövdeden uzaklaştırıldı.

2.2.2. Segmentasyon

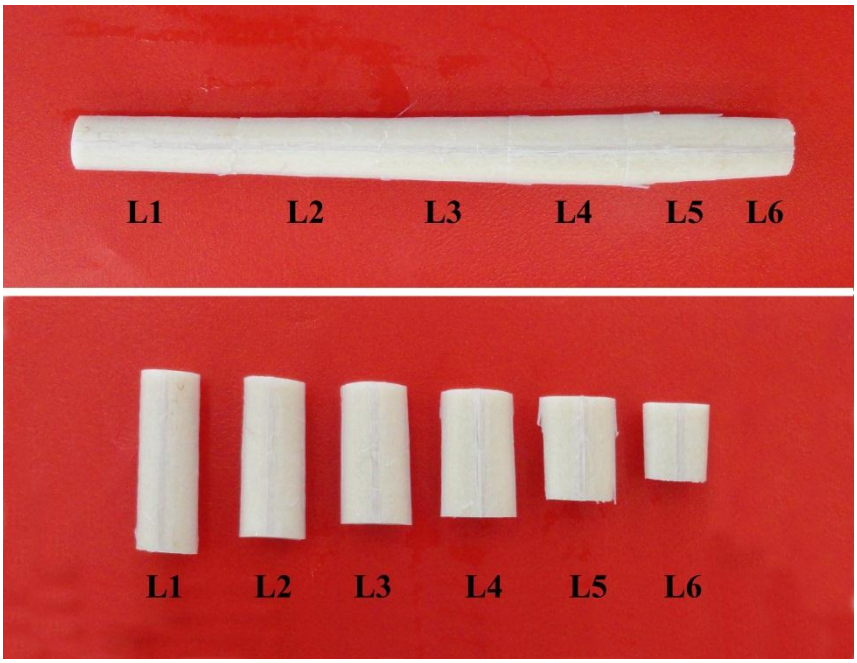
Segmentasyon işlemine başlamadan önce dura mater spinalis ve arachnoidea spinalis dorsalden açıldı (Resim 2.1). C_1'de başlayarak caudal segmentler hariç tüm medulla spinalis'in segmentasyonu yapıldı. Segment sınırı olarak ardışık spinal sinirlerin dorsal kökleri arasındaki mesafenin orta noktası kabul edildi (Öcal ve Hazıroğlu 1988) ve bu bölgeden transversal kesiler yapılarak segmentler biribirinden ayrıldı (Resim 2.2). Araştırma için lumbal segmentler ayrıldı (Resim 2.3).



Resim 2.1: Dura mater spinalis'in dorsal'den açıldıktan sonra spinal sinir köklerinin görünümü (Arap I).



Resim 2.2: Segmentlerine ayrılmış medulla spinalis (Arap I).



Resim 2.3: Pars lumbalis ve segmentlerin dorsal'den görünümü (Arap II).

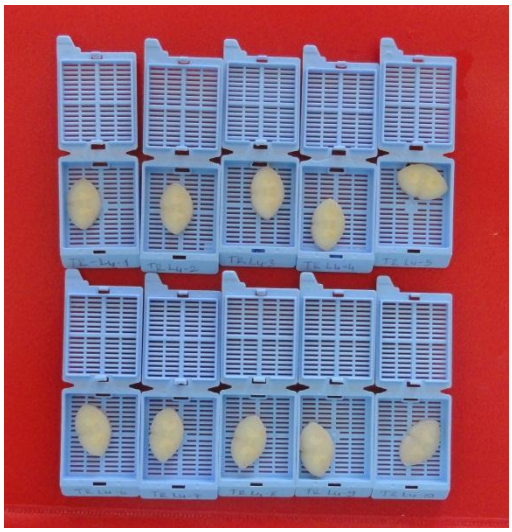
2.2.3 Makroskobik Ölçümler

Segmentasyon işlemi takiben hayvanlara ait segmentlerin ağırlıkları, uzunlukları, transversal ve vertikal çapları (segmentin orta bölümünden) ve hacimleri (arsiment prensibiyle) ölçüldü ve kaydedildi. Sonuçlar istatistiki (Duncan testi) değerlendirme yapılarak çizelge ve grafikler halinde sunuldu.

2.2.4. Histolojik İşlemler

Lumbal Segmentlerin Örneklemesi ve Histolojik Takip

Lumbal segmentler histolojik işleme uygun hale getirilebilmesi için transversal olarak dilimlendi. Dilimleme işlemi için aralarında 3.8 mm aralık olan mikrotom bıçakları kullanılarak laboratuvarda bir doku dilimleyici hazırlandı. Segmentler bu doku dilimleyici üzerine ilk 3,8mm'lik bölümü rastgele olmak üzere bıçaklara dik olarak yerleştirildi ve dilimleme işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem sonunda segmentlerden 5 ile 14 arasında değişen sayıda örnek alındı. Bu işlem sonunda pony 57, arap I 53, arap II 54, belçika 57, ingiliz I 62, ingiliz II 65 adet örnek elde edildi. Örnekler cranial'de caudal'e doğru numaralandırıldı. Örneklerin cranial yüzleri dikkate alınarak histolojik takip kasetlerine yerleştirildi (Resim 2.4).



Resim 2.4: İngiliz I'in L_4 segmentine ait örneklerin histolojik takip öncesi görünümü.

Histolojik Takip Prosedürü

Alınan örnekler numaralandırılarak bir gece boyunca akarsuda yıkandı ve histolojik takip aşamasına geçildi. Bu aşamada sırası ile aşağıdaki işlemler yapıldı.

a. % 60'lık alkolde 1 saat,

b. % 70'lik alkolde 1 saat,

c. % 80'lik alkolde 1 saat,

d. % 96'lık alkolde 1 saat,

e. % 96'lık alkolde 1 saat (son 30 dk. 200 mm/Hg vakum),

f. % 100'lük alkolde 1 saat,

g. % 100'lük alkolde 1 saat 200 mm/Hg vakum,

h. Ksilen I 30 dakika,

i. Ksilen II 30 dakika,

j. Ksilen III 30 dakika 200 mm/Hg vakum,

k. 55 ºC sıcaklıktaki etüv içerisinde ksilen+yumuşak parafinde 15 dakika,

l. Yumuşak parafin 2 saat ve

m. 60 ºC Etüv içerisinde sert parafinde 4 saat (son 2 saat 300 mm/Hg vakum) tutuldu.

Rutin histolojik takipleri yapılan örneklerin cranial yüzlerinden kesit alınacak şekilde parafin blokları hazırlandı. Her bloktan rotary mirotom (RM 2125 RT, Leica,

Nussloch, Germany) kullanılarak 10µm. kalınlığında ilk 30 kesit içerisinde biri rastgele alınarak jelatinli lama çekildi. Kesitler 24 saat süreyle 37 ºC etüvde kurutularak boyamaya hazır hale getirildi.

Kesitlerin Boyanması

Kesitler aşağıda prosedürü verilen ve laboratuvarımızda modifiye edilen May Grunwald Giemsa ile boyandı.

Kesitlerde;

a) Xylol 5dakika,
b) Xylol 5dakika,
c) %100'lik alkolde 3dakika,
d) %100'lik alkolde 3dakika,
e) %96'lik alkolde 3dakika,
f) %80'lik alkolde 3dakika,
g) %70'lik alkolde 3dakika,
h) Distile suya daldır çıkar,
i) Akar suda 5 dakika,
j) May Grunwald – 10 dakika,
k) Distile suya daldır çıkar,
l) 60C lik etüvde Giemsa'da 45 dakika,
m) Akar su 2 dakika,
n) %96 alkole daldır çıkar,
o) %100 alkole daldır çıkar,
p) %100 alkole daldır çıkar,
q) Xylolde 2 dakika,
r) Xylolde 2 dakika,
s) Xylole 2 dakika,
t) Entallen ile kapama,

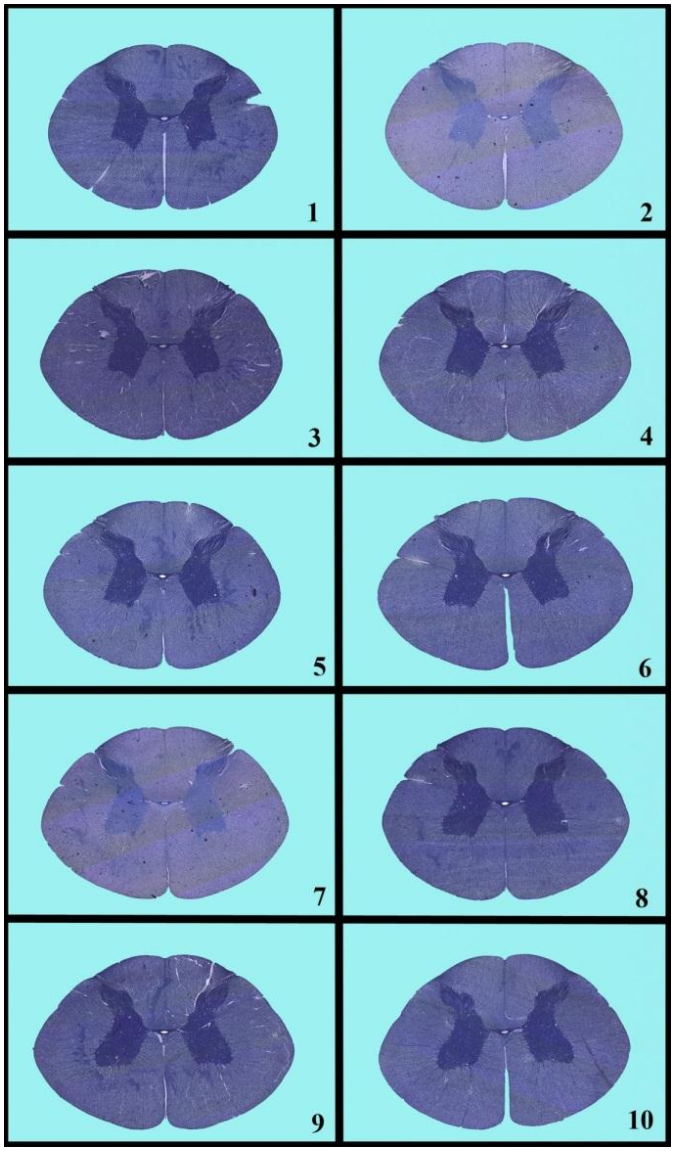
işlemleri uygulandı.

2.2.5 İki Kesit Arasındaki Mesafenin Hesaplanması

Boyanan kesitler içerisinden 1/40 oranında örnekleme yapılarak seçilen 9 kesit mikroskop altında mikrokator yardımıyla 5 farklı bölgeden kalınlık ölçümü yapıldı. Bu işlem sonunda iki kesit arası mesafe (t) 3,4mm olarak hesaplandı.

2.2.6 Kesitlerin Görüntülenmesi

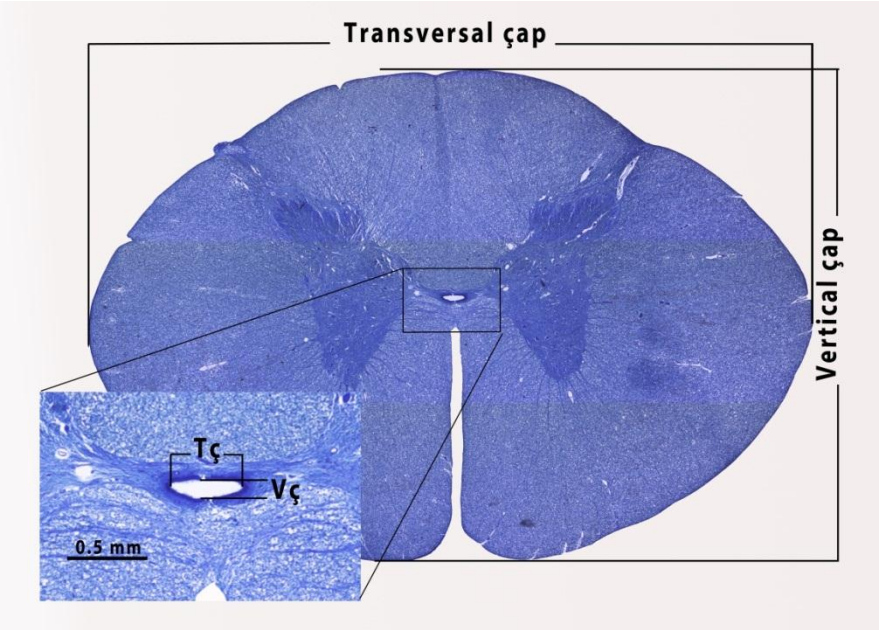
Araştırmada elde edilen kesit görüntüleri üzerinde çap ölçümlerinin yapılabilmesi için kesitler Stereo-Investigator (sürüm 10.0, MicroBrightField Inc.) virtual slice modülü kullanılarak (2.5x) jp2000 formatında resimlendi (Resim 2.5).



Resim 2.5: Arap II'nin L_3 segmentine ait kesitlerin Stereo-Investigator'ın virtual slice modülü kullanılarak alınmış görüntüleri.

2.2.7 Mikroskobik ölçümler

Her segmente ait resimler üzerinde segment ve canalis centralis'e ait transversal ve vertikal çap ölçümleri yapılmak üzere imageJ programıyla açılarak ölçümler yapıldı ve değerler kaydedildi. Çap ölçümlerinde alınan referans noktalar Resim 2.6'da gösterilmiştir. Elde edilen morfometrik değerlerin istatiksel analizler yapıldıktan sonra şekiller halinde sunuldu.

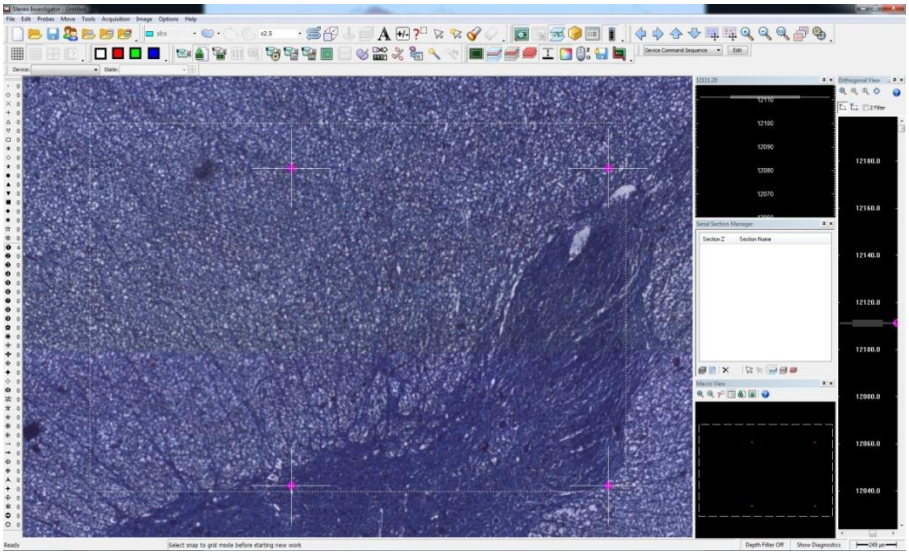


Resim 2.6: Segment görüntüsü üzerinde yapılan çap ölçümlerinde alınan referans noktalar (İngiliz II, L_2 8. kesit).

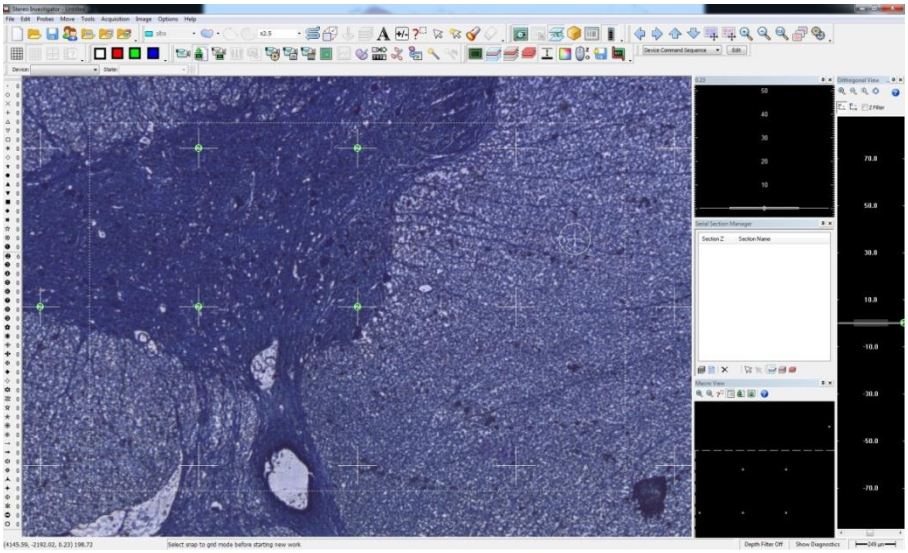
2.2.8 Segmentlerde Alan ve Hacim Hesaplamaları

Alan ve hacim hesaplamalarında (medulla spinalis, substantia alba, substantia grisea, canalis centralis) Stereo-Investigator'ın virtual slice modülü kullanılarak 2,5x objektif altında alınan görüntüler üzerinde yapıldı. Hacim hesaplamalarında Stereo-Investigator'ın cavalieri estimater probundan faydalanıldı. Bu amaçla kesit görüntüleri üzerine farklı nokta sıklıklarına sahip noktalı alan ölçüm cetveli (medulla spinalis için 2mm, subs. grisea için 1mm, canalis centralis için 60 µm) atıldı. İlgilenilen her bir alan için farklı bir işaretleyici seçilerek alanlara düşen noktalar ayrı ayrı sayıldı (Resim 2.7-2.8-2.9). Herbir segment görüntülerinden elde edilen nokta sayıları kesit sayısına bölünerek segmentlede ilgilenilen yapıların ortalama kesit alanları tespit edildi. Segmentlerde ilgilenilen yapıların hacimleri ise ayrı ayrı $V_{nö}$= (a/p) x $\sum P$ x t formülü kullanılarak hesaplandı (Mayhew ve Gundersen 1996). Bu

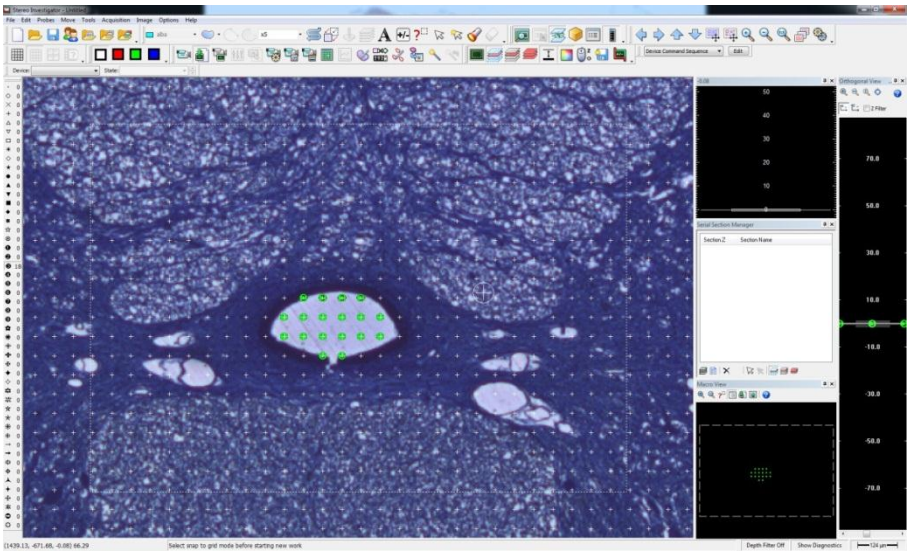
formülde, $V_{nö}$= ilgilenilen örneğe ait yapının hacmi, a/p = noktalı alan ölçüm cetvelinde yer alan bir noktanın alanını, $\sum P$ = ilgilenilen yapı üzerine düşen toplam nokta sayısını, t= ortalama kesit kalınlığını (3,4mm) ifade eder (Canan ve ark 2002, Gundersen ve ark 1999, Howard ve Reed 2005, Yücel ve ark 2003). Tüm yapının hacmi $V_{Top}=V_{1+}V_2\ldots\ldots V_n$ formülü ile hesaplandı (Bjugn ve Gundersen 1993).



Resim 2.7: Stereo-Investigator kullanarak tüm segmentte alan ve hacim hesaplamaları



Resim 2.8: Stereo-Investigator kullanarak substantia grisea'da alan ve hacim hesaplamaları



Resim 2.9: Stereo-Investigator kullanarak canalis centralis'de alan ve hacim hesaplamaları

Araştırmada substantia albanın alan ve hacmi tüm medulla spinalistan substantia grisea ve canalis centralis çıkarılarak hesaplandı.

Referans hacim içerisinde yer alan bir anatomik yapının referans hacme oranlanması sıklıkla kullanılan ve önemli bir parametredir (Gundersen 1986, Gundersen ve ark 1988, Howard ve Reed 2005). Yapılan araştırmada substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis'in segment bazında tüm segmente ait alan (1) ve hacim (2) oranları aşağıdaki formüller kullanılarak tespit edildi.

1) $V_A\,(X,Y) = \dfrac{Y'nin\ içerisinde\ bulunan\ X'in\ alanı}{Y'nin\ alanı}$ x 100

2) $V_V\,(X,Y) = \dfrac{Y'nin\ içerisinde\ bulunan\ X'in\ hacmi}{Y'nin\ hacmi}$ x 100

Burada X, substantia grisea'nın alanını (hacmini), Y ise medulla spinalis'in alanını (hacmini) ifade etmektedir. Hacim yerine substantia grisea ve medulla spinalis'e düşen nokta sayıları da kullanılabilir.

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

Bu formulde $\sum P\ substantia\ grisea$, substantia grisea'ya isabet eden bütün noktaların toplamını, $\sum P\ medulla\ spinalis$ ise medulla spinalis üzerine düşen toplam nokta sayısını ifade etmektedir (Turgut ve ark 2007).

2.2.9. Hacim Hesaplamalarında Hata Katsayısının (CE) Tespiti

Hata katsayısı değerinin özellikle hacim ölçümlerinde %10'dan küçük ya da eşit olması tercih edilmektedir (Gundersen ve Jensen 1987, Gundersen ve ark 1999, Garcia-Finana ve ark 2003). Stereoloji araştırmalarda hata katsayısı hesaplamasında birden fazla yöntem kullanılmaktadır. Bu çalışmada Gundersen ve ark (1999)'in aşağıdaki hata katsayısı formülü kullanıldı.

$$CE = \frac{\sqrt{\Sigma var}}{\sum P}$$

$$\sum Var = \text{Noise} + \text{Var}_{SRS}$$

$$\text{Noise} = 0.0724 \times \frac{b}{\sqrt{a}} \times \sqrt{n \times \sum P}$$

$$\text{Var}_{SRS} = \left(\sum_{i=1}^{n} a \right) = (3 \times (\text{A-Noise}) - 4 \times \text{B+C}) / 12$$

$\text{Var}_{SRS} = \left(\sum_{i=1}^{n} a \right)$= Sistematik rastgele örneklemenin tüm alanda istatistiki olarak değişkenliğini gösterir.

Bu formülde, Noise, medulla spinalis'ten alınan kesit yüzey alanlarının karmaşıklığını ifade ederken, $\frac{b}{\sqrt{a}}$, kesit yüzeyinde ilgilenilen alanın kenar karmaşıklığını ifade etmektedir. Formüldeki b = kenar uzunluğu, $\sqrt{a}$ ise kesit alanının karekökünü temsil eder. Formülde yer alan 0.0724 karmaşıklık değerinin hesaplanmasında kullanılan sabit bir sayı iken, n toplam kesit sayısına, ΣP ise kesitler üzerine düşen toplam nokta sayısına karşılık gelmektedir (Gundersen ve Jensen 1987, West 1993, Ohm ve ark 1997, Gundersen ve ark 1999, Garcia-Finana ve ark 2003).

2.2.10. İstatistiksel Analizler

Çalışmada segmentlerden elde edilen uzunluk, çap, alan, hacime ait morfometrik veriler Duncan testi kullanılarak, farklı morfometrik veriler arasındaki ilişki ise Pearson Corelasyon testi ile istatistiki açıdan değerlendirildi (SPSS 17.0). $p<0.05$ değeri önem sınırı kabul edildi.

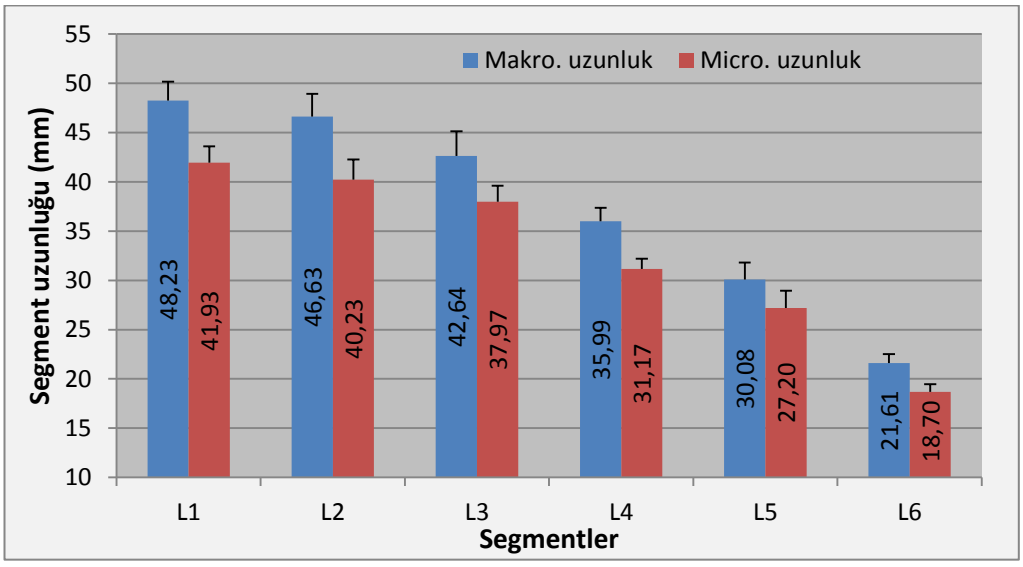
3. BULGULAR

Yapılan araştırmada kullanılan hayvan vücut ağırlıkları, tüm medulla spinalis ve medulla spinalis'in pars lumbalis'ine ait ağırlık, uzunluk ve hacimleri ile bu morfometrik verilere ait oranlar Çizelge 3.1'de verildi.

Çizelge 3.1: Araştırmada kullanılan hayvanlara ait bazı morfometrik değerler.

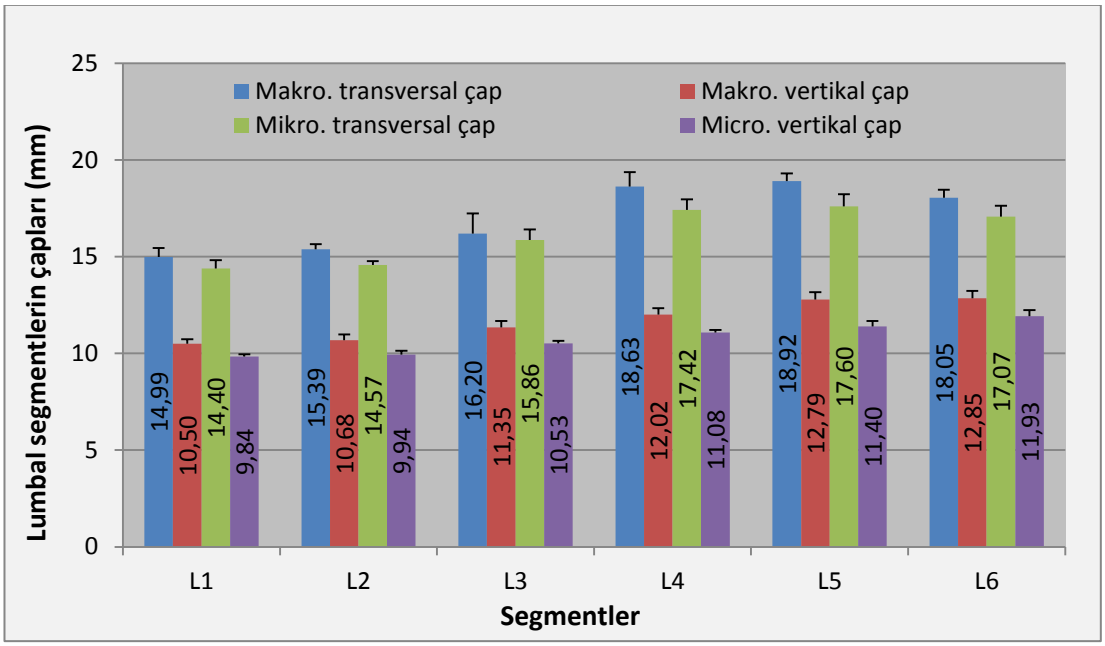
	Parametreler	Pony	Arap I	Arap II	Belçika	Ing I	Ing II	Mean±SE
	Vücut ağırlığı (kg)	230	300	340	480	420	450	370,0±39,3
Medulla spinalis	Ağırlık (g)	207,2	186,3	215,8	305,9	267	281,6	244,0±19,4
	Uzunluk (cm)	142,9	156,2	166,87	178,4	175,6	182,8	167,1±6,2
	Hacim (cm^3)	204,7	180,3	216,5	297,1	270,9	283,7	242,2±19,5
Pars lumbalis	Ağırlık (g)	33,4	27,6	30,3	40	42,1	39,8	35,5±2,4
	Uzunluk (cm)	22,2	21	20,5	21,7	26	23,7	22,5±0,8
	Hacim (cm^3)	31	26,2	30,5	41,2	41,9	39,9	35,1±2,7
Oran Pars lumbalis/ Medulla spinalis	Ağırlık	16,1	14,8	14,0	13,1	15,8	14,1	14,7±0,5
	Uzunluk	15,5	13,4	12,3	12,2	14,8	13,0	13,5±0,5
	Hacim	15,1	14,5	14,1	13,9	15,5	14,1	14,5±0,3
Relatif organ ağırlığı	Medulla spinalis	0,090	0,062	0,063	0,064	0,064	0,063	0,068±0,004
	Pars lumbalis	0,015	0,009	0,009	0,008	0,010	0,009	0,010±0,001

Lumbal segmentlerin histolojik takip öncesi ve sonrası yapılan uzunluk ölçümleri Şekil 3.2'de verilmiştir. Makroskobik ve mikroskobik uzunluk ölçümleri sonucunda segment uzunluklarının ortalama %12,43 oranında histolojik takipten etkilenerek kısaldığı tespit edildi.

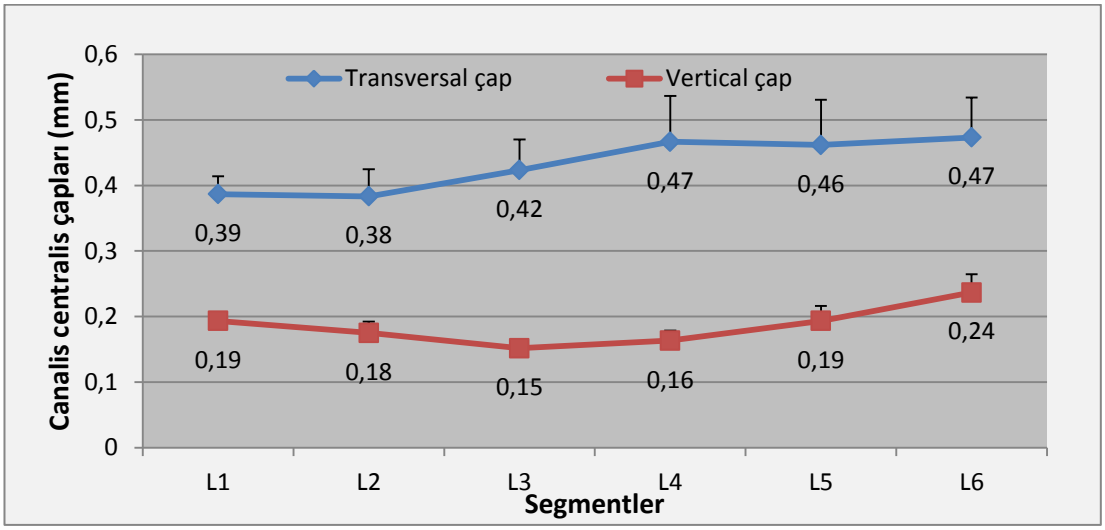


Şekil 3.1: Lumbal segmentlerin histolojik takip öncesi (makroskobik) ve sonrası (mikroskobik) ölçülen uzunlukları (Mean±SE)

Segmentlerde histolojik takip öncesi ve histolojik takip sonrası (ortalama) yapılan transversal ve vertikal çap ölçümleri Şekil 3.2'de, histolojik takip sonrası canalis centralise ait çap ölçümleri (ortalama) ise Şekil 3.3'de verilmiştir. Histolojik takip öncesi ve sonrası transversal ve vertikal olarak segmentlerde şekillenen doku büzüşme oranı sırasıyla %5.1, %7.8 olarak gerçekleştiği tespit edildi.



Şekil 3.2: Lumbal segmentlerin histolojik takip öncesi (makroskobik) ve sonrası (mikroskobik) ölçülen çapları (Mean±SE)



Şekil 3.3: Segmental olarak canalis centralis'in transversal ve vertikal çapları (Mean±SE)

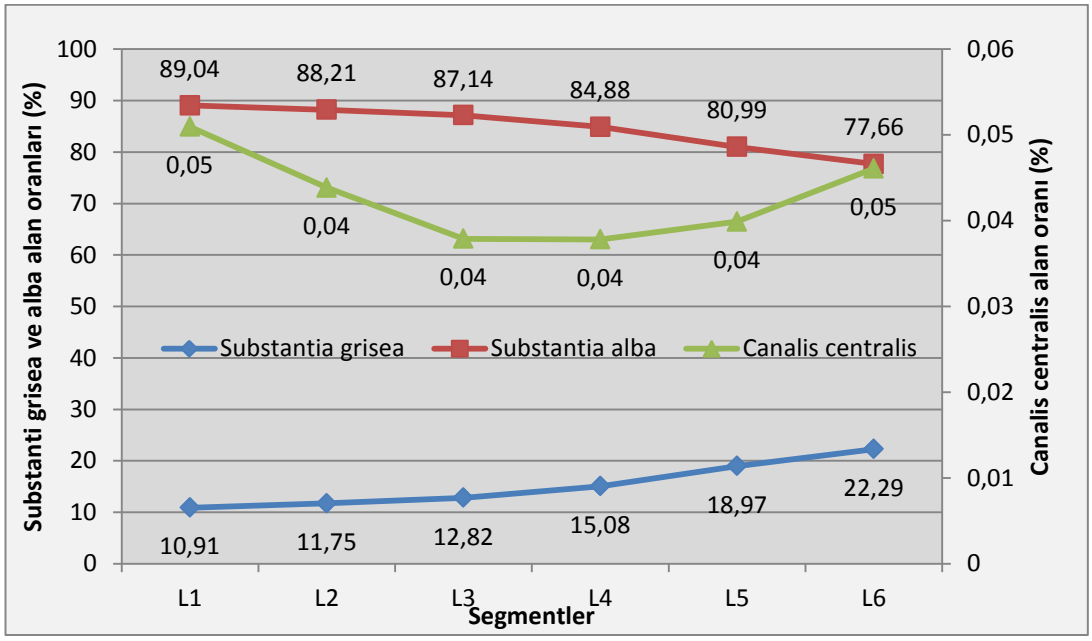
Lumbal segmentlerde tüm segment, substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis'in ortalama kesit alanları Çizelge 3.2'de verildi. Tüm segment ve

substantia grisea alanları L_6'da, substantia alba alanı ise L_5'te en yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$). Segmentler arasında canalis centralis alanı yönünden istatiksel olarak bir fark tespit edilmedi. Segmentlerde, substantia grisea, alba ve canalis centralis'in tüm kesit alanına oranları Şekil 3.4'te verildi. L_1'den L_6'ya doğru substantia grisea oranı artarken, substantia alba oranının azaldığı gözlendi.

Çizelge 3.2: Segmentlerde ortalama kesit, substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis alanları (Mean±SE)

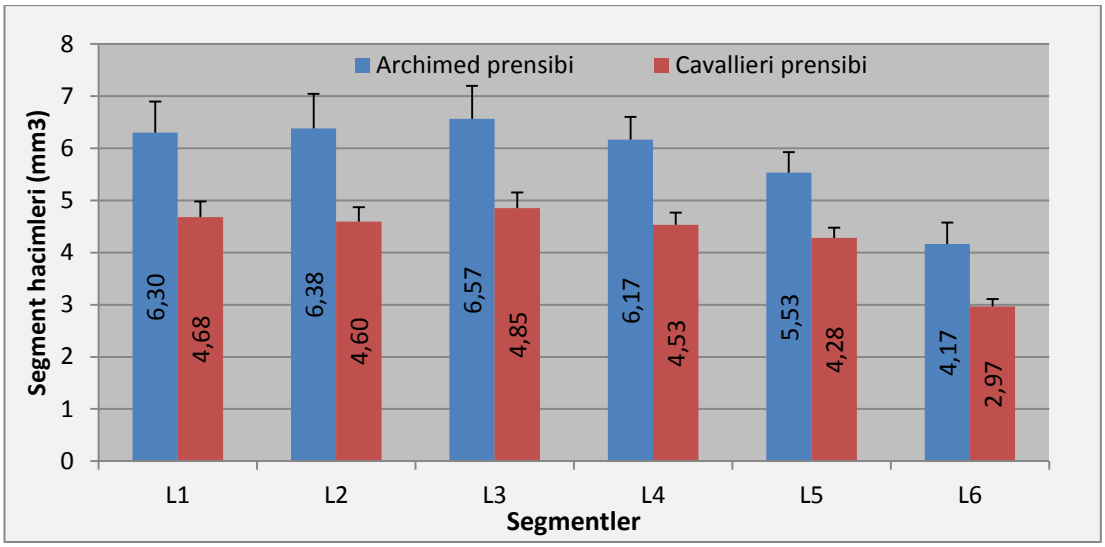
Segmentler	Kesit Alanı (mm^2)	Substantia grisea (mm^2)	Substantia alba (mm^2)	Canalis centralis (mm^2)
L1	$111,2±4,1^{b}$	$12,1±0,5^{e}$	$99,0±3,7^{c}$	0,057±0,005
L2	$114,0±2,2^{b}$	$13,4±0,7^{de}$	$100,6±2,0^{c}$	0,050±0,006
L3	$127,6±5,2^{b}$	$16,4±0,6^{d}$	$111,2±5,0^{bc}$	0,048±0,009
L4	$145,5±6,3^{a}$	$21,9±1,2^{c}$	$123,5±5,3^{ab}$	0,055±0,016
L5	$158,8±6,9^{a}$	$30,1±2,0^{b}$	$128,6±5,3^{a}$	0,063±0,017
L6	$159,1±8,0^{a}$	$35,5±1,6^{a}$	$123,6±6,9^{ab}$	0,073±0,014

$^{a, e}$: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önem arz eder ($p<0.05$).



Şekil 3.4: Medulla spinalisin pars lumbalisinde segmentlere ait substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis'in alan oranları.

Segmentlerde arşimend prensibi ile yapılan hacim ölçümleri ve Histolojik işlemler sonrası cavalieri prensibiyle hesaplanan hacim değerleri Şekil 3.5'te verildi. İki sonuç arasındaki %26.2'lik fark medulla spinalis'in lumbal segmentlerinde şekillenen doku büzüşmesi olarak kaydedildi.



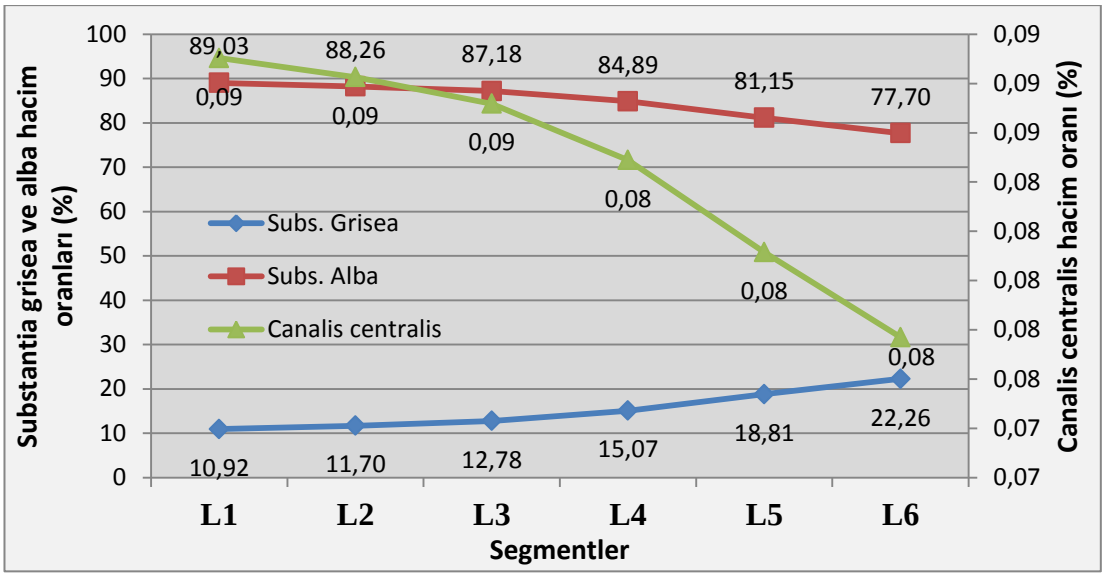
Şekil 3.5: Arşimed ve cavalieri prensibi ile tespit edilen segment hacimleri (Mean±SE)

Lumbal segmentlerde histolojik işlemler sonrası hesaplanan tüm segment, substantia grisea, alba ve canalis centralis hacim değerleri Çizelge 3.3'de, hacim oranları ise Şekil 3.6'da verildi. L_5'te substantia grisea, L_3'te substantia alba hacminin en yüksek olduğu gözlenirken, segmentler arasında canalis centralisin hacimleri yönünden istatiksel bir fark gözlenmedi ($p<0.05$).

Çizelge 3.3: Lumbal segmentlerde tüm segment, substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis hacimleri (Mean±SE).

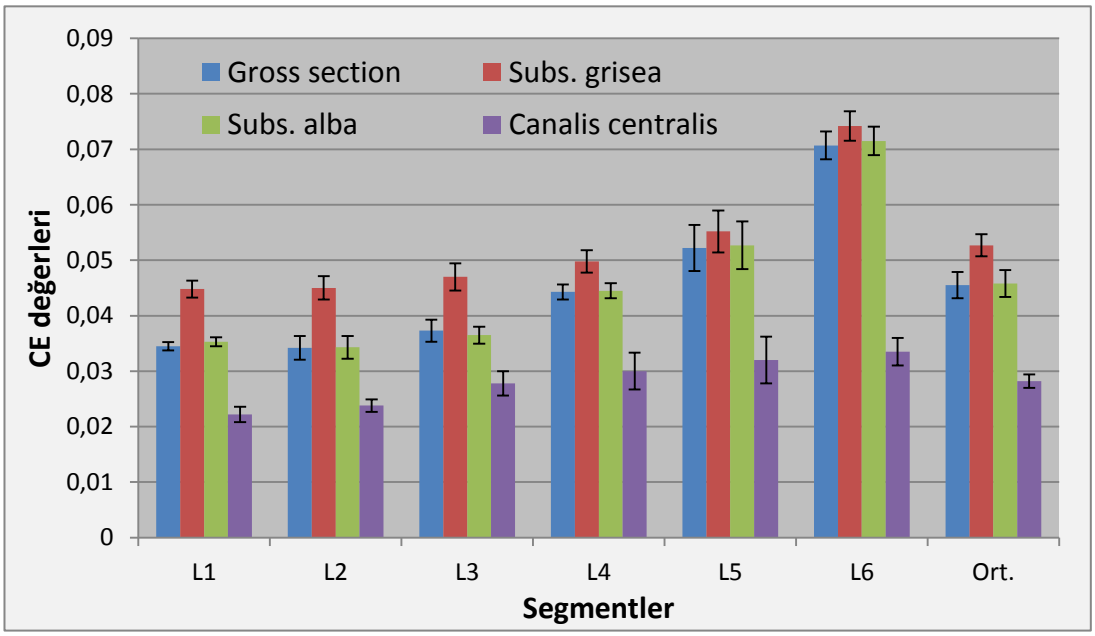
	Segment hacmi (cm^3)	Subs. grisea (cm^3)	Subs. alba (cm^3)	Canalis centralis (mm^3)
L1	4.68 ± 0.74^{a}	0.51 ± 0.09^{d}	4.16 ± 0.66^{ab}	2.34 ± 0.52
L2	4.60 ± 0.67^{a}	0.54 ± 0.09^{cd}	4.06 ± 0.61^{ab}	2.01 ± 0.33
L3	4.85 ± 0.74^{a}	0.62 ± 0.08^{bc}	4.23 ± 0.69^{a}	1.84 ± 0.85
L4	4.53 ± 0.57^{a}	0.68 ± 0.09^{b}	3.85 ± 0.49^{ab}	1.71 ± 1.00
L5	4.28 ± 0.49^{a}	0.80 ± 0.07^{a}	3.47 ± 0.45^{b}	1.68 ± 1.07
L6	2.96 ± 0.34^{b}	0.66 ± 0.06^{b}	2.30 ± 0.30^{c}	1.31 ± 0.56

$^{a, d}$: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önem arz eder ($p<0.05$).



Şekil 3.6: Segmental olarak substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis hacimlerinin tüm segment hacimine oranı.

Araştırmada hacim ölçümleri sonucunda tespit edilen segment bazlı ve ortalama CE değerleri Şekil 3.7'de verildi.



Şekil 3.7: Lumbal segmentlere ait CE değerleri.

Araştırmada elde edilen bazı morfometrik veriler arasındaki ilişki (korelasyon) araştırıldı ve sonuçlar Çizelge 3.4'de sunuldu.

Cizelge 3.4: Lumbal segment korelasyon değerleri.

		CCH	SAH	SGH	PLH	CCA	SAA	SGA	PLA	CCVR	CCTR	PLVR
PLTR	r	-0,308	-0,169	0,682**	-0,069	0,111	0,953**	0,714**	0,926**	0,005	0,228	0,809**
	P	0,068	0,324	0,001	0,689	0,52	0,001	0,001	0,001	0,977	0,181	0,001
PLVR	r	-0,490**	-0,468**	0,681**	-0,366*	0,068	0,843**	0,895**	0,921**	0,083	0,156	
	P	0,002	0,004	0,001	0,028	0,694	0,001	0,001	0,001	0,629	0,365	
CCTR	r	0,692**	-0,344*	0,119	-0,323	0,888**	0,108	0,266	0,177	0,565**		
	P	0,001	0,040	0,489	0,055	0,001	0,530	0,117	0,300	0,001		
CCVR	r	0,487**	-0,584**	-0,137	-,598**	0,826**	-0,077	0,330*	0,077			
	P	0,003	0,001	0,425	0,001	0,001	0,657	0,049	0,657			
PLA	r	-0,444**	-0,355*	0,745**	-0,244	0,076	0,965**	0,886**				
	P	0,007	0,034	0,001	0,152	0,658	0,001	0,001				
SGA	r	-0,368*	-0,687**	0,663**	-0,585**	0,248	0,733**					
	P	0,027	0,001	0,001	0,001	0,145	0,001					
SAA	r	-0,445**	-0,130	0,717**	-0,025	-0,030						
	P	0,007	0,451	0,001	0,885	0,860						
CCA	r	0,742**	-0,488**	-0,097	-0,498**							
	P	0,001	0,003	0,572	0,002							
PLH	r	0,033	0,989**	0,131								
	P	0,850	0,001	0,445								
SGH	r	-0,321	-0,013									
	P	0,056	0,938									
SAH	r	0,079										
	P	0,647										

**. Pearson korelasyon p<0.01

*. Pearson korelasyon p<0.05

PLTR: Pars lumbalis'in vertikal çapı, **PLVR:** Pars lumbalis'in transversal çapı, **CCTR:** Canalis centralis'in transversal çapı, **CCVR:** Canalis centralis'in vertikal çapı, **PLA:** Pars lumbalis'in alanı, **SGA:** Substantia grisea alanı, **SAA:** Substantia alba alanı, **CCA:** Canalis centralis alanı, **PLH:** Pars lumbalis'in hacmi, **SGH:** Substantia grisea hacmi, **SAH:** Substantia alba hacmi, **CCH:** Canalis centralis hacmi

4. TARTIŞMA

Mayhew (1999) 500 kg'lık bir atta medulla spinalis uzunluğunun yaklaşık 200 cm olduğunu bildirmiştir. Yapılan araştırmada kullanılan hayvanların ağırlığı 370±39 kg ve medulla spinalis uzunluğu 167.1±6.2 cm olarak tespit edildi (Çizelge 3.1). Nickel ve ark (2004) atlarda medulla spinalis uzunluğunun 160-200 cm, ağırlığının ise 250-300 gram olarak bildirmiştir. Bulgularımız Mayhew (1999) ve Nickel ve ark (2004) ile uyumludur. Bu morfometrik veriler sığır için sırasıyla 160-180 cm ve 220-260 gram, domuz için 119-139 cm ve 70 g olarak bildirilmektedir (Nickel ve ark 2004).

Sunulan araştırmada pars lumbalis'in ağırlığı 35.5±2.4 g, uzunluğu 22.5±0.8 cm, hacmi 35.1±2.4 cm^3 olarak tespit edilmiş (Çizelge 3.1), literatürde atlarla ilgili mevcut bir veriye ulaşılamamıştır. Ancak merkepte pars lumbalis uzunluğu 12.1 cm (Hazıroğlu ve Öcal 1988), tiftik keçisinde 11.1 cm (Kahvecioğlu ve ark 1995), geyikte (M. gouazoubira) 10.8-13.9 cm (Lima ve ark 2010) olarak bildirilmektedir.

Merkepte medulla spinalis uzunluğunun %11.3 (Hazıroğlu ve öcal 1988), tiftik keçisinde %20.7 (Kahvecioğlu ve ark 1995), geyikte %18.9-21.1 (Lima ve ark 2010), insanda ise %13.6 (Barson ve Sands 1977)'sının pars lumbalis olduğu bildirilmektedir. Yapılan araştırmada pars lumbalis'in uzunluk oranı %13.5±0.5 (Çizelge 3.1) olarak tespit edilmiş olup insanlar ile yakın bir benzerlik içinde olduğu gözlendi.

Pars lumbalis'i oluşturan segment uzunlukları açışından değerlendirildiğinde en uzun segmentin atta (Nickel ve ark 2004), merkepte (Hazıroğlu ve öcal 1989), insanda (Ko ve ark 2004) ve maymunda L_1 (Thomas ve Combs 1965) olduğu ve bu segment uzunluklarının son lumbal segmente doğru düzenli bir şekilde kısaldığı bildirilmiştir. Mevcut çalışma verilerinin at, merkep, insan ve maymun ile uyumlu olduğu gözlendi (Şekil 3.1). Tiftik keçisinde ise L_3'ün en uzun segment olduğu bildirmiştir (Kahvecioğlu ve ark 1995).

Braun (1950) lumbal segmentlerde transversal çap yönünden en büyük ve en küçük değerlerin sırasıyla L_{2-3} ve L_6'da, vertikal çapta ise L_6 ve L_{2-3}'de olduğunu bildirmiştir. Sunulan araştırmada ise en büyük ve en küçük transversal çap L_5 ve L_2, vertical çapta ise L_6 ve L_1 (Şekil 3.2) olduğu tespit edildi. İki araştırma arasındaki

mevcut farkın metodolojik farktan ve kullanılan materyalden kaynaklandığı düşünülmektedir. Merkepte ise transversal çapta L_5 ve L_1, vertikal çapta L_4 ve L_2 olduğu bildirilmektedir (Öcal ve Hazıroğlu 1988).

Atlar medulla spinalis üzerinde yapılan araştırmada lumbal segmentlerde canalis centralis transversal ve vertikal çaplarının L_1'den L_6'ya doğru sırasıyla 480, 570, 710, 700, 780, 760 µm ve 110, 20, 30, 90, 120, 560 µm olarak bildirilmektedir (Braun 1950). Sunulan çalışmada ise bu morfometrik değerler sırasıyla 387±0.03, 383±0.04, 423±0.05, 467±0.07, 462±0.07, 473±0.06 µm ve 190±0.01, 175±002, 152±0.01, 163±0.02, 193±0.02, 236±0.03 (Şekil 3.3) olarak tespit edilmiş olup, Braun (1952)'un verileriyle uyum içinde bulunmadığı gözlenmiştir. Söz konusu farkın araştırmalarda kullanılan metodolojik farktan ya da kullanılan hayvan sayısı ve ırk farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Merkepte ise bu çapların 378, 320, 320, 243, 230 µm ve 128, 77, 90, 134, 192 µm olarak bildirilmiştir (Öcal ve Hazıroğlu 1988). Vertikal çap yönünden her üç çalışma değerlendirildiğinde ilk ve son segmentlerde bu değerlerin yüksek orta segmentlerde ise daha düşük olduğu görülmüştür. Söz konusu durumun intumesentia lumbalisten kaynaklanmış olabileceği sonucuna varıldı.

Medulla spinalis'in lumbal segmentlerde kesit, substantia grisea, ve substantia alba alanları ve alan oranları at (Braun 1950), merkep (Öcal ve Hazıroğlu 1988), maymun (Thomas ve Combs 1965), insan (Ko ve ark 2004) ve rat (Portiansky ve ark 2004) üzerinde yapılan morfometrik araştırmalarda bir parametre olarak sunulmuştur. Yapılan araştırmada ortalama kesit alanının L_1'den L_6'ya doğru göreceli bir şekilde arttığı, ancak istatistiki olarak değerlendirildiğinde L_1, L_2 ve L_3 kendi aralarında, L_4, L_5, L_6 ise kendi aralarında benzer oldukları tespit edildi (Çizelge 3.2). Alan oranları olarak değerlendirildiğinde substantia grisea ve substantia alba arasında canial'den caudal'e doğru ters orantılı olarak değiştiği belirlendi (Şekil 3.4). Söz konusu sonucun merkep ile benzer olduğu, at, maymun, insan ve rat ile uyumlu olmadığı gözlendi. Ayrıca sunulan çalışmada lumbal segmentler bir bütün olarak değerlendirildiğinde, bu iki parametre arasında pozitif yönlü kolerasyon (Çizelge 3.4) olduğu tespit edildi. Yapılan literatür taramalarında canalis centralis'in alan ve hacmiyle ilgili bir bilgiye rastlanmadı. Bu anatomik yapıya ilişkin morfometrik veriler detaylı olarak Çizelge 3.2,3.3,3.4 ve Şekil 3.4,3.6'da ilk olarak sunulan araştırmada verildi.

İnsanda (Ko ve ark 2004) ve maymunda (Thomas ve Combs 1965) makroskobik olarak yapılan ölçümlerde lumbal segment hacimlerinin cranialden caudal'e doğru azaldığını bildirmiştir. Sunulan çalışmada bu morfometrik veri makroskobik (Arşimed prensibi) ve mikroskobik (Cavalieri prensibi) olarak elde edilmiş olup insan ve maymunla uyum göstermektedir. Ayrıca cavalieri prensibi ile yapılan hesaplamalarda segmentlere ait substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis hacim ve hacim oranları detaylı olarak Şekil 3.5,3.6 ve Çizelge 3.3'te sunuldu.

Cavalieri prensibiyle yapılan hacim hesaplamalarında hata kat sayısının %10 ve altında olmasının araştırmanın güvenirliği açısından önemli bir parametre olduğu bildirilmektedir (Gundersen ve Jensen 1987, Gundersen ve ark 1999, Garcia-Finana ve ark 2003). Yapılan araştırmada bu değer segment, substantia grisea, substantia alba ve canalis centralis için ayrı ayrı hesaplandı ve belirtilen değerlerin güvenli olduğu gözlendi (Şekil 3.7).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde;

Yapılan literatür taramalarında medulla spinalis'e ait morfometrik araştırmaların oldukça sınırlı olduğu, atlarda ise birkaç parametrenin dışında morfometrik veriye ulaşılamamıştır. Oysa medulla spinalis'in hastalıklarının teşhisinde ve tedavisinde bu morfometrik verilerin hekime önemli derecede yardımcı olacağı açıktır. Araştırma sonucunda elde edilen ve sunulan verilerin bu konulardaki eksikliklerin giderilmesine önemli derecede katkıda bulunacağı,

Yapılan araştırmada hayvanlara ait medulla spinalis'ler üzerinde histolojik işlemler öncesi (makroanatomik) ve sonrası (mikroanatomik) morfometrik ölçümler yapıldı ve bu değerler ayrı ayrı çizelge ve şekiller halinde ve bir bölümü karşılaştırılarak sunuldu. Bu verilerin konuyla ilgili gelecekte yapılacak araştırmalara önemli oranda katkı sağlayacağı ve bu konuda yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu,

Atlarda medulla spinalis'in pars lumbalis'ine ait segmentlerin morfometrisinin (alan ve hacim) belirlenmesinde ilk defa başarılı bir şekilde stereolojik metodların kullanıldığı bu çalışma, bu metodlarla yapılacak benzer konulu çalışmalarda araştırıcılara katkı sağlayacağı,

Pars lumbalis'e ait segmentler uzunlukları cranial'den caudal'e doğru azalırken, segment çaplarında ve hacminde böyle bir değişimin gözlenmediği, substantia grisea hacim oranında artış gözlenirken, Substantia alba ve canalis centrais hacim oranlarında azalma şekillendiği,

Yapılan araştırma sonucunda elde edilen morfometrik veriler arasında tespit edilen ilişkinin (korelasyon) bölgenin morfolojisine önemli oranda katkı sağlayacağı sonuçlarına varıldı.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Atlarda Medulla Spinalis'in Lumbal Segmentleri Üzerinde Morfometrik Araştırmalar

Muhammet Lütfi SELÇUK

Anatomi (Vet.) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/ KONYA 2011

Yapılan bu araştırma ile atlarda medulla spinalis'in lumbal segmentlerine ait uzunluk, çap, ağırlık, hacim ve hacim oranları (Substantia grisea, substantia alba, canalis centralis) gibi morfometrik özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla çalışmada (1 adet Pony,2 adet arap, 1 adet Belçika, 2 adet İngiliz ırkı) toplam 6 ata ait medulla spinalis kullanıldı. Bu hayvanlardan medulla spinalis'in lumbal bölümü alınarak segmentasyonu yapıldı. Bu işlem takibinde segmentler üzerinde makroskobik ölçümler yapıldıktan sonra, histolojik işlemler aşamasına geçildi. Bu aşamada ilk olarak segmentler 3.8 mm aralıklarla transversal olarak dilimlendi. Elde edilen örneklerin cranial'den caudal'e doğru sırasına ve yönüne sadık kalınarak histolojik takibi yapıldıktan sonra 10µ kalınlığında kesildi ve May-Grümwalds Giemsa ile boyanarak kapatıldı. Boyanan kesitlerin stero-investigator'un virtual slice özelliği kullanılarak görüntüleri alındı. Elde edilen görüntüler üzerinde öncelikle çap ölçümleri, sonrada cavalieri prensibi kullanılarak alan ölçümleri ve hacim hesaplamaları yapıldı. Bu işlemler sonucunda elde edilen morfometrik verilerin istatistiki analizleri yapılarak çizelge ve şekiller halinde sunuldu. Atlarda pars lumbalis'in ağırlık, uzunluk ve haciminin sırasıyla 35.5±2.4 g, 22.5±0.8 cm ve 35.1±2.7 cm3 olarak, medulla spinalis'e oranlandığında ise bu değerlerin sırasıyla %14.7, %13ve %14 olarak tespit edildi. Segment uzunluklarının L1'den L6'ya doğru kısaldığı belirlendi. Mikroskobik ölçümler sonucunda en büyük transversal çapa L4 ve L5'in, vertikal çapta ise L6'nın sahip olduğu tespit edildi. Canalis centralis'te çaplar yönünden segmentler arasında bir fark gözlenmedi. Histolojik işlemler sonucunda ilgilenilen segmentlerde uzunluk, transversal ve vertikal çapta büzüşme oranı sırasıyla %12.43, %5.1 ve % 7.8 olarak gerçekleştiği görüldü. Kesit alanı olarak L5'in, substantia grisea'da L6'nın, substantia alba'da ise L5'in en büyük değerlere sahip segmentler olduğu gözlendi. Hacim olarak L6 dışında tüm segmentlerin istatistiki olarak birbirine benzer, L5'te substantia grisea, L3'te ise substantia alba hacminin en yüksek olduğu gözlendi. Substantia grisea'nın tüm segment hacmine oranı L1 'den L6'ya doğru artarken, substantia alba'da bu oranın azaldığı tespit edildi. Histolojik işlemler sonucunda medulla spinalis'teki büzüşme oranı %26.2 olarak gerçekleştiği görüldü.

Sonuç olarak makroskobik ve içerisinde stereolojik yöntemlerinde bulunduğu mikroskobik olarak atlarda medulla spinalis'in pars lumbalis'inin morfometrik özelliklerinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen ve sunulan verilerin bölge morfolojisine ve gelecekte yapılacak araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Cavalieri prensibi; lumbal segmentler; medulla spinalis; segmental morfometri.

7. SUMMARY

Morphometric Investigations on The Lumbar Segments of Spinal Cords in Horses.

The aim of this study was to determine morphometric features of Lumbar part of the spinal cord of horse, such as length, diameter, weight, volume and volume fraction of the grey and white matter in addition to central canal. For the purpose of the present study, 6 spinal cords that belong to free of nervous disorders and different breeds of horse were used (1 Pony, 2 Arabian Horses, 1 Belgium breed, 2 English horses). Lumbar parts of the cords were dissected out from vertebral columns and segmentation was performed. Morphometric measurements were done on the segments and then routine histological procedure was applied to the all samples. At this stage, segments were sliced transversally at 3.8 mm thickness. All samples were cut at 10 µm thickness with rotary microtom taking into account cranial and caudal directions of the segments. Slides were stained with May-Grunwald-Giemsa and covered with glass slip. Virtual slice module of the Stereoinvestigator was used to take whole images of the slides under light microscope using 2.5 X objective. Diameter measurements were utilized on the obtained slides and afterwards area and volume calculations were performed using Cavalieri principle. As a result of these procedures, statistical results of obtained morphometric data were presented in tables and figures. The average weight, length and volume of the Lumbar parts were determined 35.5±2.4 g, 22.5±0.8 cm and 35.1±2.7 cm^3 respectively, fractions of mentioned morphometric values to the cord were evaluated as 14.7%, 13% and 14%. The decrease of lengths of segments from L1 to L6 was observed. As a result of microscopic analysis, L4 and L5 had the biggest transverse diameter, however L6 had the largest vertical diameter. It was not observed any differences between vertical and transverse diameters of the central canal of all segments. As a result of histological procedure, tissue shrinkage ratio of length, transverse and vertical diameters of the segments were realized that %12.43, %5.1 and % 7.8 respectively. It was found that L5 had the largest values of cross-sectional and white matter area, however L6 had the largest value of grey matter. Volumes of all segments except for L6 were found similar to each other and the largest volume of grey matter in L5 and the largest volume of white matter in L3 were observed. While the volume ratio of grey matter to the volumes of segments was found to be increased from L1 to L6, the volume of white matter was found to be decreased through related segments. Tissue shrinkage ratio of the spinal cord was found as 26.2% after histological processing.

In conclusion, it is thought that the results of present study which were conducted on Lumbar part of the spinal cord and collected using macroscopic, microscopic and stereological methods will contribute to the morphology of related region and the further studies.

Keywords: Cavalieri principle; spinal cord; lumbar segments; morphometry.

8. KAYNAKLAR

1. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Vol 1. 3th ed. Ankara: Güneş Kitapevi, 2001; 59-65.
2. Baddeley AJ. Stereology In: Spatial Statistics and Digital Image Analysis. Washington DC: National Research Council; 1991. p. 181-216.
3. Bahadır A, Yıldız H. Veteriner Anatomi Hareket Sistemi ve İç Organlar. 3th ed. İstanbul: Ezgi Kitapevi; 2010; 37-56.
4. Balcioglu H, Uyanikgil Y, Yuruker S, Tuna H, Karacayli U. Volumetric Assessment of Lateral Pterygoid Muscle in Unilateral Chewing: A Stereologic Study. J Craniofac Surg, 2009;20: 13-64.
5. Barson A, Sands J. Regional and segmental characteristics of the human adult spinal cord. J Anat 1977;123: 797-803.
6. Batu S. Türk Atları ve At Yetiştirme Bilgisi. 3 th ed. Ankara, Rüzgarlı Matbaa, 1962; 120-306.
7. Bilgic S, Sahin B, Sonmez OF, Odaci E, Colakoglu S, Kaplan S, Ergur H. A new approach for the estimation of intervertebral disc volume using the Cavalieri principle and computed tomography images. Clin Neurol Neurosurg, 2005;107: 282-88.
8. Bjugn R, Gundersen HJ. Estimate of the total number of neurons and glial and endothelial cells in the rat spinal cord by means of the optical disector. J Comp Neurol, 1993;328: 406-14.
9. Braun A. Der segmentale feinbau des rückenmarks des pferdes. Acta Anat (Basel), 1950; 10: 1-76.
10. Budras KD. Veteriner Anatomi Atlası At. 1th ed. Malatya, Medipres Matbaacılık, 2009a; 58-60.
11. Budras KD. Veteriner Anatomi Atlası Köpek. 1th ed. Malatya, Medipres Matbaacılık, 2009b; 144-62.
12. Budras KD. Veteriner Anatomi Atlası Sığır. 1th ed. Malatya, Mediples Matbaacılık, 2009c; 56-62.
13. Canan S, Sahin B, Odaci E, Unal B, Aslan H, Bilgic S, Kaplan S. Toplam hacim, hacim yogunlugu ve hacim oranlarinin hesaplanmasinda kullanilan bir stereolojik yontem: cavalieri prensibi. J Med Sci, 2002; 22: 7-14.
14. Cruz-Orive LM. Precision of Cavalieri sections and slices with local errors. J Microsc, 1999;193: 182-98.
15. Dellmann H, McClure RC. Central. In: Sisson S, editor. Sisson and grossman's theanatomy of the domestic animals. Vol. 1. Philadelphia: W.B. Saunders Co. ; 1975. p. 202-26.
16. Dere F. Nöroanatomi Fonksiyonel Nöroloji. 3th ed. Adana, Nobel Tıp Kitapevi, 2000; 62-101.
17. Dursun N. Veteriner Anatomi. 7th ed. Ankara, Medisan Yayınevi, 2008; 15-67.
18. Evans H. The Skelaton. In: Evans H, editor. Miller's Anatomy of the Dog. 3th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1993. p. 122-219.
19. Fletcher T, Kitchell R. Anatomical studies on the spinal cord segments of the dog. Am J Vet Res, 1966;27(121):1759-67.
20. Garcia-Finana M, Cruz-Orive LM, Mackay CE, Pakkenberg B, Roberts N. Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. Neuroimage, 2003;18(2):505-16.
21. Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. J Microsc, 1986;143: 3-45.
22. Gundersen H, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. J Microsc, 1987;147:229-63.
23. Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. Ap Mis, 1988;96(10):857-81.
24. Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology reconsidered. J Microsc, 1999;193: 199-211.
25. Habel R. The topography of the equine and bovine spinal cord. J Am Vet Med Assoc, 1951;118:379-82.
26. Hazıroğlu M, Öcal MK. Merkebin (Equus asinus L.) medulla spinalis'i üzerinde komparatif-morfolojik araştırmalar. II Segmentlerin topoğrafik incelenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1989;35(2-3):476-87.
27. Howard V, Reed M. Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy. Taylor & Francis, 2005; 34-9
28. Hudson L, Hamilton W. Atlas of feline anatomy for veterinarians. 1th ed. Mexico, WB Saunders, 1993; 189-227.
29. James NT. Morphometry and stereology in biology and medicine using confocal microscopy. The institution of Electrical Engineers, 2004; 1-4.
30. Kahvecioğlu K, Özcan S, Çakır M. Tiftik keçisinde medulla spinalis üzerinde anatomik çalışmalar. Y Y Ü Vet Fak Derg, 1995;6(1-2):76-80.

31. Ko H, Park JH, Shin YB, Beak SY. Gross quantitayive measurements of spinal cord in human. Spinal Cord, 2004; 42: 35-40.
32. Lahunta A. Veterinary neuroanatomy and clinical neurology. Philadelphia, WB Saunders Company 1983; 10-19.
33. Lima F, Santos ALQ, Lima BC, Vieira GV, Hirano LQL. Topographic anatomy of the spinal cord and vertebromedullary relationships in Mazama gouazoubira (Artiodactyla; Cervidae). Biol Sci, 2010;34(2):189-94.
34. Malikides N, Hodgson DR, Rose RJ. Nöroloji. In: Rose RJ, Hodgodson DR, editor. Manual of equine practice. 2th ed. New York: Elsevier; 2007. p. 469-533.
35. Mayhew TM, Gundersen HJ. If you assume, you can make an ass out of u and me': a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. J Anat, 1996;188: 1-15.
36. Mayhew IG. The equine spinal cord in health and disease: the healthy spinal cord. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP; 1999. p. 56-66
37. McCuan J, Treinen R. Capillarity and Archimedes' principle of floatation. Preprint 2008; 26-34
38. Michel R, Cruz-Orive LM. Application of the Cavalieri principle and vertical sections method to lung: estimation of volume and pleural surface area. J Microsc, 1988;150: 117-36.
39. Mouton PR. Principles and practices of unbiased stereology. John Hopkins University Press, 2002; 5-6.
40. Nickel R, Suchummer A, Seiferle E. Lehrbuch der anatomie der houstiere: Band 4 Nervensystem, sinnesorgane, endokrine drüsen. 3th ed. Stuttgart, Parey, 2004; 34-9.
41. Noyan A. Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji. 8 th ed. Ankara, Meteksan Yayınları, 1993; 197-383.
42. Ohm T, Busch C, Bohl J. Unbiased estimation of neuronal numbers in the human nucleus coeruleus during aging. Neurobiol Aging, 1997; 18(4): 93-399.
43. Öcal M, Hazıroğlu RM. Merkebin (Equus asinus L.) medulla spinalis'i üzerinde komparatif-morfolojik araştırmalar. I Segmentlerin transversal kesitlerinin incelenmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 1988; 35: 55-68.
44. Özfiliz N, Erdost H, Zık B. Sinir Sistemi. In: Aytekin Ö, editor. Veteriner Embriyoloji. 3th ed. Ankara, Nobel Yayın Dağıtım; 2007. p. 155-75.
45. Pakkenberg B, Gundersen HJ. Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. J Comp Neurol, 1997;384(2):312-20.
46. Pontiansky L, Barbeito CG, Goya RG, Gimeno EJ, Zuccolilli GO. Morohometry of cervical gegments grey matter in the male rat spinal cord. J Neu Meth, 2004; 139: 217-29.
47. Rafet A. At Yetiştiriciliği. 3 th ed. Ankara, Şahin Matbaası, 1999; 1-33.
48. Rao G. Anatomical studies on the ovine spinal cord. Anatomischer Anzeiger, 1990; 171 :261-64.
49. Russ J. Dehoff R. Practical stereology. New York, Plenum Pub Corp, 2000; 51- 68.
50. Sahin B, Emirzeoglu M, Uzun A, Incesu L, Bek Y, Bilgic S, Kaplan S. Unbiased estimation of the liver volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. Eur J Radiol, 2003; 47(2): 164-70.
51. Schoenen J, Faull RLM. Spinal cord cyto and chemoarchitecture. In: George Paxinos JKM, editor. The human nervous system. 2th ed. London: Elsevier academic press; 2004. p. 190-228.
52. Sisson S, Hillmann DJ. Porcine Osteology. In: Sisson S, editor. Sisson and grossman's theanatomy of the domestic animals Vol. 2. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 1975. p. 1216-53.
53. Slomianka L, West MJ. Estimators of the precision of stereological estimates: An example based on the CA1 pyramidal cell layer of rats. Neuro Science, 2005; 136(3): 757-67.
54. Sönmez O, Odaci E, Bas O, Colakoglu S, Sahin B, Bilgic S, Kaplan S. A stereological study of MRI and the Cavalieri principle combined for diagnosis and monitoring of brain tumor volume. J Clin Neurosci, 2010:23-9.
55. Tecirlioğlu S. Komparatif veteriner anatomi, sinir sistemi. Ankara Üniversitesi Anatomi Ders Notları, 1992; 9-10.
56. Thomas CE, Combs CM. Spinal cord segments. A. Gross structure in the adult cat. Am J Anat, 1962; 110(1): 37-47.
57. Thomas C, Combs CM. Spinal cord segments. B. Gross structure in the adult monkey. Am J Anat, 1965; 116(1): 205-16.
58. Turgut M, Tunc AT, Aslan H. Yazici A. Kaplan S. Effect of pinealectomy on the morphology of the chick cervical spinal cord: A stereological and histopathological study. Brain Res, 2007;1129: 166-73.
59. West M. New stereological methods for counting neurons. Neurobiol Aging, 1993;14(4): 275-85.
60. Yıldırım M. Temel Nöroanatomi. 1th ed. İstanbul, Nobel Tıb Kitapevi, 2000; 39-52.
61. Yücel F, Ünal N, Erçakır M, Güven G. Determination of age-related volume changes in rat brain by Cavalieri's Method. Erciyes Med J, 2003;25(4): 179-85.

10. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Karaman'da doğdu. İlk, orta öğrenimini PiriReis İlk Öğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra lise eğitimini Karaman Anadolu Lise'sinde tamamladı. 2009 yılında Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği'nden mezun oldu. 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.