



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TAVUK (GALLUS GALLUS DOMESTICUS) VE
BILDIRCINDA (COTURNIX COTURNIX)
MEDULLA SPINALIS ÜZERİNE
STEREOLOJİK ARAŞTIRMALAR**

Caner BAKICI

**ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR**

**ANKARA
2016**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVUK (GALLUS GALLUS DOMESTICUS) VE
BILDIRCINDA (COTURNIX COTURNIX)
MEDULLA SPINALIS ÜZERİNE
STEREOLOJİK ARAŞTIRMALAR**

Caner BAKICI

**ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR**

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından 17-3533541 proje
numarası ile desteklenmiştir.**

**ANKARA
2016**

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Tavuk (*Gallus gallus domesticus*) ve Bıldırcında (*Coturnix coturnix*) Medulla Spinalis Üzerine Stereolojik Araştırmalar” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanıma ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Caner BAKICI

Tarih: 07.09.2016

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anatomi Anabilim Dalı'nda,

Caner BAKICI tarafından hazırlanan

“Tavuk (*Gallus gallus domesticus*) ve Bildircında (*Coturnix coturnix*) Medulla
Spinalis Üzerine Stereolojik Araştırmalar” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul
edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07/09/2016

Prof. Dr. Rifki HAZIROĞLU
Ankara Üniversitesi
(Jüri Başkanı)

Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Ayhan DÜZLER
Erciyes Üniversitesi

Doç. Dr. Aysun Çevik DEMİRKAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Doç. Dr. Çağdaş OTO
Ankara Üniversitesi
(Raportör)

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. K. Zafer KARAER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Sinir Sistemi	3
1.2. Medulla spinalis'in Embriyolojik Gelişimi	4
1.3. Medulla spinalis'in Histolojik Yapısı	6
1.3.1. Medulla spinalis'te Bulunan Sinir Hücreleri	7
1.3.2. Medulla spinalis'te Bulunan Destek Sinir Dokusu	10
1.3.2.1. Astrositler	11
1.3.2.2. Oligodendrositler	11
1.3.2.3. Mikroglia Hücreleri	12
1.3.2.4. Ependym Hücreleri	12
1.3.2.5. Schwann Hücreleri	13
1.4. Medulla spinalis'in Anatomik Yapısı	13
1.4.1. Medulla spinalis'in Makroskopik Anatomisi	13
1.4.1.1. Spinal Sinirler	15
1.4.2. Medulla spinalis'in Mikroskopik Anatomisi	17
1.4.2.1. Substantia alba	17
1.4.2.2. Substantia grisea	18
1.4.2.3. Canalis centralis	19
1.4.3. Meninges	19
1.5. Stereoloji	20
1.5.1. Stereoloji'de Etkinlik ve Tarafsızlık Prensipleri	22
1.5.2. Stereoloji'de Tanecik Sayımında Karşılaşılan Hatalar	22
1.5.3. Stereoloji'de Sistemik Rastgele Örnekleme Metodu	23
1.5.4. Stereolojik Çalışmalarda Sıkça Kullanılan Metodlar	25
1.5.4.1. Disektör	25
1.5.4.1.1. Fiziksel Disektör	25
1.5.4.1.2. Optik Disektör	28
1.5.4.2. Parçalama	30
1.5.4.2.1. Fiziksel Parçalama	30
1.5.4.2.2. Optik Parçalama	31
1.5.4.3. Cavalieri Prensipleri	32
1.5.5. Hata Katsayısının (CE) Hesaplanması	35
1.5.6. Stereoloji Çalışmalarında Kullanılan Araçlar	38
1.6. Mikroskopik Boyama Yöntemi	40
2. GEREÇ ve YÖNTEM	42
2.1. Çalışma Materyali	42

2.2. Materyalin Hazırlanması	42
2.3. Medulla spinalis'in Makroskopik Olarak Çıkarılması, Tespiti ve Örneklenmesi	43
2.4. Medulla spinalis'in Histolojik Olarak Örneklenmesi ve Boyanması	46
2.5. Stereolojik Analiz	49
2.5.1. Stereolojik Çalışma Yeri	49
2.5.2. Intumescentia cervicalis'in Hacim Hesaplaması	50
2.5.3. Substantia alba ve Substantia grisea Bölgelerinin Hacim Fraksiyon Değerlerinin Hesaplanması	51
2.5.4. Hata Katsayısının Hesaplanması	52
2.6. İstatistiksel Analiz	54
3. BULGULAR	55
4. TARTIŞMA	67
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	78
ÖZET	80
SUMMARY	81
KAYNAKLAR	82
EKLER	
Ek-1. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından alınan etik kurul kararı	91
ÖZGEÇMİŞ	92

ÖNSÖZ

Sinir sistemi, vücudun iç ve dış ortamla etkileşimini ve uyumunu sağlayan bir sistemdir. Omurilik ise merkezi sinir sisteminin bir parçası ve beyin ile vücut arasındaki iletişimi sağlayan bir bölümdür. Sinir sisteminin hem morfolojik hem de fizyolojik verileri günümüze kadar olduğu gibi gelecekte de incelenecektir. Bu bilgilerin tespiti ve değerlendirilmesi günümüz teknolojisi ile daha da doğru ve güvenilir olmaktadır. Doku ve organların morfolojik olarak değerlendirmesi stereoloji bilimi ile sıklıkla yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmanın amacı, tavuk ve bıldırcın omuriliğinde intumescentia cervicalis'in morfolojisini son dönemde veteriner anatomi alanında öne çıkan yeni bir prosedür olan stereoloji tekniği ile değerlendirmektir. Elde edilecek bulguların sinir sistemi ve omurilik üzerinde yapılacak stereolojik çalışmalara temel ve destek teşkil edeceği, bunun yanı sıra kanatlı sektörünün hem klinik hem de saha çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Doktora eğitimim boyunca hem bilimsel hem de manevi desteğini benden esirgemeyen, tezimin her aşamasında yardım ve tavsiyeleri ile yol gösteren, öğrencisi olduğum için kendimi şanslı gördüğüm Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezim sırasında desteğini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Rıfki HAZIROĞLU'na, her daim bilgi ve tecrübesinden faydalandığım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. R. Merih HAZIROĞLU ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nejdet DURSUN'a, ayrıca değerli hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İ. Önder ORHAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Anatomi Anabilim Dalı'na geldiğim ilk dakikadan beri üzerimde emeği çok olan, kendime örnek aldığım, tezim sırasında da yakinen ilgilenen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri değerli hocalarım Doç. Dr. Çağdaş

OTO'ya ve Yrd. Doç. Dr. Okan EKİM'e, ve değerli mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Muharrem AYVALI, Vet. Hek. R. Orkun AKGÜN ve Uzm. Vet. Hek. Burcu İNSAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Stereoloji çalışmalarında katkı ve desteğini sunan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. A. C. Sinan YÜRÜKER'e, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam Doç. Dr. A. Gürol BAYRAKTAROĞLU'na, laboratuvar işlemleri sırasında emeği geçen Arş. Gör. Ozan AHLAT'a, hayvan materyali bulmamda yardımcı olan ve fikirlerini esirgemeyen canım dostum Arş. Gör. Dr. Ali ÇALIK ve Vet. Hek. Eser İNSAL'a ve istatistiksel analizlerde yardımcı olan değerli dönem arkadaşım Arş. Gör. Dr. Doğukan ÖZEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'ne teşekkür ederim. Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından 17-3533541 proje numarası ile desteklenmiştir.

Son olarak çalışmam sırasında maddi ve manevi varlıklarını esirgemeyen, sevgileriyle her daim yanımda olan, sabırla destek sunan annem Canan GERGER, anneannem Münire GERGER ve şu an hayatta olmasalar da yürüdüğüm yolda hep varlıklarını hissettiğim ve beni yetiştirdikleri için minnet duyduğum dedem Vet. Hek. Bünyamin GERGER ve babam Mehmet Hüseyin BAKICI'yı rahmetle anıyorum.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AgNORs	Argirofilik Çekirdekçik Düzenleme Bölgeleri
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CE	Hata katsayısı
cm	santimetre
g	gram
H&E	Hematoxylin-Eosin
i.m.	Intramusküler
i.v.	Intravasküler
KB	Kluver Barrera
kg	kilogram
köo	kesit örnekleme oranı
KT	kareler toplamı
mg	miligram
MGG	May-Grunwald-Giemsas
mm	milimetre
mm³	milimetre küp
MMGG	Modifiye May-Grunwald-Giemsas
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MT	Masson'un Trikrom Boyası
nn	nervi
n	nervus
PSS	Periferik Sinir Sistemi
sd	serbestlik derecesi
µm	mikrometre

ŞEKİLLER

- Şekil 1.1.** Tavuk (A) ve bildircına (B) ait fotoğraflar. 1
- Şekil 1.2.** Sulcus neuralis'in oluşumu. A- Nöral plak, B- Sulcus neuralis, C- Canalis neuralis (Frandsen ve ark., 2009'dan uyarlanmıştır). 5
- Şekil 1.3.** Medulla spinalis'in gelişiminin enine kesitsel görünüşü. A- Canalis neuralis, B- Canalis centralis, C- Funiculus dorsalis, D- Funiculus lateralis, E- Funiculus ventralis, F- Cornu dorsalis, G- Cornu ventralis (Frandsen ve ark., 2009'dan uyarlanmıştır). 6
- Şekil 1.4.** Birim hacime denk gelen toplam tanecik sayısı denklemi (Ünal ve ark., 2002b). 27
- Şekil 1.5.** Tüm hacime denk gelen toplam tanecik sayısı denklemi (Howard ve Reed, 2005, s.:68-78). 28
- Şekil 1.6.** Bir optik disektör sayımında hücre yoğunluğu denklemi (Davanlou ve Smith, 2004). 29
- Şekil 1.7.** Uygulanan optik disektörlerin tamamının hesaplandığı hücre yoğunluğu denklemi (Davanlou ve Smith, 2004). 29
- Şekil 1.8.** Optik disektör sonucunda elde edilen değerden, tüm dokudaki hücre sayısını bulmaya yönelik denklem (Davanlou ve Smith, 2004). 29
- Şekil 1.9.** Fiziksel parçalama ile hesaplanan toplam hücre sayısının denklemi (Canan ve ark., 2002a). 31
- Şekil 1.10.** Optik parçalama ile hesaplanan toplam hücre sayısının denklemi (Howard ve Reed, 2005). 32
- Şekil 1.11.** Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplama denklemi (Cahill ve ark., 1996). 33
- Şekil 1.12.** Örnekleme yapılmış dokuda Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplama denklemi (Nurcombe ve ark., 1991). 33
- Şekil 1.13.** Cavalieri yöntemi ile bir kesitte hesaplanan alanın denklemi (Canan ve ark., 2002b). 34
- Şekil 1.14.** Cavalieri metodunda Noise ile ifade edilen değer denklemi (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991). 36
- Şekil 1.15.** Cavalieri metodunda örnekleme sisteminin varyansına ulaşılan

denklem (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).	36
Şekil 1.16. Cavalieri metodunda toplam varyansı hesaplama denklemi (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).	36
Şekil 1.17. Cavalieri metodunda hata katsayısının elde edilme denklemi (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).	37
Şekil 2.1. Tespit yapılmadan önce uygulanan diseksiyon sonrası intumescentia cervicalis'in omurga içerisinde görüntüsü.	43
Şekil 2.2. Intumescentia cervicalis bölgesinin makroskobik ölçümleri, A- Bıldırcın intumescentia cervicalis'inin latero-lateral genişliği, B- Bıldırcın intumescentia cervicalis'inin cranio-caudal uzunluğu, C- Hacim, D- Ağırlık.	44
Şekil 2.3. Büzüşme katsayısı hesaplamalarında kullanılan denklem (Schned ve ark., 1996).	45
Şekil 2.4. Intumescentia cervicalis bölgesinin histolojik örnekleme için eşit parçalara dilimlenmesi.	45
Şekil 2.5. A- Dokuların vakumlu doku takip cihazındaki B- Kesitlerin etüvdeki bekletme aşaması.	46
Şekil 2.6. A- Dokuların parafine gömme B- Doku bloklarından seri kesit elde etme aşaması.	47
Şekil 2.7. A- Dokuların boyama B- Dokuların kapatma aşaması.	48
Şekil 2.8. Cavalieri yönteminin uygulandığı stereolojik çalışma platformu.	49
Şekil 2.9. Cavalieri yönteminde hacim hesaplaması için kullanılan denklem (Gundersen ve Jensen, 1987 ve Garcia-Finana ve ark., 2003).	50
Şekil 2.10. Bir medulla spinalis kesiti üzerine yerleştirilmiş olan nokta sayım cetveli örneği.	51
Şekil 2.11. Y'de, X bölgesinin hacim fraksiyon ölçüm denklemi (Howard ve Reed, 2005).	51
Şekil 2.12. Substantia alba'nın, intumescentia cervicalis bölgesindeki hacim fraksiyon ölçüm denklemi (Howard ve Reed, 2005).	52
Şekil 2.13. Cavalieri metodu ile hacim hesaplaması sırasında fazla görünme etkisini düzelten denklemi (Gundersen ve Jensen, 1987 ve Garcia-Finana ve ark., 2003).	52
Şekil 2.14. Kovariogram değerlerinin belirlendiği denklem (Gundersen ve	

Jensen, 1987 ve Garcia-Finana ve ark., 2003).	53
Şekil 2.15. Sistematik rastgele örnekleme değişkenliğini belirleyen denklem (Gundersen ve Jensen, 1987 ve Garcia-Finana ve ark., 2003).	53
Şekil 2.16. Nokta sayım ile oluşan değişkenliği hesaplayan denklem (Gundersen ve Jensen, 1987 ve Garcia-Finana ve ark., 2003).	53
Şekil 2.17. Hata katsayısı belirleyen denklem (Gundersen ve Jensen, 1987 ve Garcia-Finana ve ark., 2003).	53
Şekil 3.1. Tavuk ve bildircında tespit öncesi ve tespit sonrası intumescentia cervicalis'in ortalama cranio-caudal uzunluğundaki değişimi gösteren grafik.	58
Şekil 3.2. Tavuk ve bildircında tespit öncesi ve tespit sonrası intumescentia cervicalis'in ortalama latero-lateral uzunluğundaki değişimi gösteren grafik.	59
Şekil 3.3. Bildircında Cavalieri metodunda kullanılan noktalı alan ölçüm cetveli örneği (İki nokta arası uzaklık 200µm).	60
Şekil 3.4. Tavuk ve bildircında, dokuların üç farklı aşamada ölçülmüş ortalama hacim değer değişimlerini gösteren çizgi grafik.	62
Şekil 3.5. Tavuğa ait intumescentia cervicalis kesitlerinde uygulanan noktalı alan ölçüm cetveli ile substantia alba ve substantia grisea'nın hacim hesaplaması.	63
Şekil 3.6. Bildircına ait intumescentia cervicalis kesitlerinde uygulanan noktalı alan ölçüm cetveli ile substantia alba ve substantia grisea'nın hacim hesaplaması.	63
Şekil 3.7. Tavuk ve bildircına ait intumescentia cervicalis bölgesindeki substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacim fraksiyon değerlerine ait sütun grafik.	65

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Tavuğa ait bir intumescentia cervicalis'in substantia grisea üzerinde yapılan CE hesaplama örneği. P_i ; ilgili kesite ait sayımı yapılan nokta. A, B ve C ilgili sütunun toplam değerleri.	37
Çizelge 2.1. Eş dilimlere ayrılmış dokunun vakumlu doku takip cihazında uygulanan rutin işleyişi ve süreleri.	46
Çizelge 2.2. Boyama yönteminin uygulama şekli. (*Sırasıyla, bildircin ve tavuk kesitlerinin boyada tutulma süresi belirtildi.)	48
Çizelge 3.1. Tavuk ve bildircinde vücut ağırlığı ile intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ve sonrası ağırlıkları (ortalama \pm SS)	56
Çizelge 3.2. Tavuk ve bildircinde intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ağırlığının vücut ağırlığına oranları.	56
Çizelge 3.3. Tavuk ve bildircin intumescentia cervicalis'inin tespitten önce ve sonraki uzunluk değerleri.	57
Çizelge 3.4. Tavuk ve bildircine ait tespit öncesi ve sonrası cranio-caudal uzunluklar üzerinde hesaplanan istatistiksel veriler.	57
Çizelge 3.5. Tavuk ve bildircine ait tespit öncesi ve sonrası latero-lateral uzunluklar üzerinde hesaplanan istatistiksel veriler.	58
Çizelge 3.6. Tavuk ve bildircinde intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin Cavalieri metodu ile hesaplanmış hacimleri (ortalama \pm SS).	59
Çizelge 3.7. Tavukta ve bildircinde intumescentia cervicalis'in tespit öncesi, tespit sonrası Archimedes prensibi ile sonrasında da Cavalieri metodu ile hesaplanmış hacimleri	61
Çizelge 3.8. Tavuk ve bildircine ait tespit öncesi, tespit sonrası ve Cavalieri metodu için hesaplanan istatistiksel veriler.	61
Çizelge 3.9. Tavuk ve bildircinde intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin Cavalieri metodu ile hesaplanmış hacimleri.	62
Çizelge 3.10. Tavuk ve bildircin intumescentia cervicalis'lerinde dokular üzerinde uygulanan işlemler sonrasında gerçekleşen % büzüşme değerleri.	64
Çizelge 3.11. Tavuk ve bildircine ait substantia alba ve substantia grisea ortalama	

hacim değerleri, nokta sayım cetvelinde sayılmış ortalama nokta sayıları,
hata katsayıları, hacim fraksiyon değerleri ve ortalama kesit sayıları.

64



1. GİRİŞ

Günümüzde Galliformes takımına ait birçok tür evcilleştirilmektedir. Bu takım, zemin kuşları olarak nitelendirilmekte ve hemen hepsi karasal olarak yaşamlarını sürdürmektedir. Boyunları kısa ya da orta uzunlukta olabilmektedir. Başlarında ibik denilen deri çıkıntıları bulunmaktadır. Bu yapılar erkeklerde dişilere oranla daha belirgindir. Gagalarının uzunluğu kısa ama oldukça kuvvetlidir. Bacak uzunluklarının kısa oluşu sebebiyle eşinmeye ve yürümeye uyum sağlamışlardır (Demirsoy, 1992).

Galliformes takımından Phasianidae ailesinin bir türü olan ev tavuğunun (*Gallus gallus domesticus*) yetiştiriciliği, ülkemizde yaygın bir şekilde yapılmaktadır (Demirsoy, 1992 ve Gautier, 2002) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Tavuk (A) ve bildircin'a (B) ait fotoğraflar.

İnsanların ilk zamanlarda Hindistan kökenli tavukları evcilleştirme ve yetiştirmelerinin nedenleri o dönemde yapılan horoz dövüşleri iken günümüzde tavuk yetiştiriciliğinin temel amacı, eti ve yumurtasından yararlanmaktır. Bunun yanı sıra tüyleri için de yetiştiricilik yapılmaktadır (Garrigus, 2014). Horozlar mahmuza sahiptir. Kuyruk orta uzunlukta ve çatı şeklindedir. Özellikle horozlarda bazı kuyruk

telekleri parlak renklidir. Başlarında farklı şekillerde etli bir ibik bulunur. Çıplak yanaklar ve boyun lobları üreme zamanı canlı kırmızı renge dönüşür. Tavuklar ise çoğunlukla göze çarpmayan renklerdedir (Demirsoy, 1992).

Phasianidae ailesinden bir başka tür olan bıldırcın (*Coturnix coturnix*), göçmen ve yerli bir kuş türüdür (Demirsoy, 1992 ve Myers ve ark., 2015) (Şekil 1.1). Bu göçmen kuşların yetiştiriciliği Avrupa, Türkiye ve Asya'nın merkezindeki ülkelerden Çin'e kadar uzanmaktadır (Alderton, 1992). Kuzeyde yaşayan kuşlar, eylül - kasım aylarında Afrika ve Güney Akdeniz ülkelerine göç edip mart – mayıs aylarında geri dönerler (Demirsoy, 1992). Karada yaşayan bu kuş, ılıman ve tropik iklimleri tercih eder (Johnsgard, 1988). Grup halinde alçaktan ve gece uçarlar. Vücutlarının üst kısmı kırmızımsı kahverengi, siyah ve krem sarısı beneklidir. Ayakları grimsi kahverenkli (Demirsoy, 1992). Ortalama uzunlukları 17,5 santimetre (cm)'dir. Ağırlıkları 70 ile 150 gram (g) arasında değişkenlik göstermektedir (Alderton, 1992 ve Johnsgard, 1988). Türkiye'de tavuk yetiştiriciliği gibi bıldırcın yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Bıldırcın etinin tercih edilmesindeki en önemli sebeplerin başında hem lezzetli hem de düşük kolesterolü oluşu gelmektedir. Yetiştiricilik sektörünün yanı sıra laboratuvarlarda uzun yıllardır hayvan modeli olarak da incelenmektedir. Rahat gözlenebilir olmasının yanı sıra uygulama kolaylığına sahip olmasından dolayı gelişim biyolojisinde ve insan sağlığına etki edebilecek hastalıkları incelemede bir model olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Huss ve ark., 2008 ve Yıldırım ve Öztürk, 2012).

Tavuk ve bıldırcın sıcakkanlı omurgalıdır ve gelişim basamakları insanlara oldukça benzemektedir. Sahip oldukları bu özellik onların laboratuvar hayvanı olarak kullanılmasına da olanak sunmaktadır (Huss ve ark., 2008).

1.1. Sinir Sistemi

Dursun (2008), sinir sistemini (systema nervosum) “bir canlının yaşamı boyunca gerek kendi vücudunda gerekse içinde bulunduğu ortamda oluşan olaylarla ilişkisini sağlayan bir sistem” olarak tanımlamıştır. Sağlıklı yaşamı boyunca hem iç hem de dış çevre şartlarındaki değişikliklere ayak uydurmak zorunda olan vücut, homeostaz’ı korumak için de çevre ile ilgili bilgi almalı ve aynı zamanda bu bilgilere karşı bir yanıt oluşturmaktadır (Akers ve Denbow, 2008 ve Dyce ve ark., 1987).

Tüm bu mekanizmanın sorunsuz olarak çalışabilmesi için, iç ve dış çevreden gelen uyarıları merkeze iletecek sinir liflerini (afferent), gelen bu uyarıları doğru bir biçimde değerlendirerek uygun yanıtı hazırlayan sinir merkezlerini (beyin ve omurilik) ve merkezde hazırlanan yanıtları çevre dokulara iletecek olan sinir liflerini (efferent) içermesi gerekmektedir (Baumel, 1975). Elektrik sinyalleri sayesinde tüm vücut dokularıyla iletişim halinde olan bu anatomik yapıların senkronize, düzgün ve kesintisiz çalışması sinir sisteminin devamlılığını sağlamaktadır (Dursun, 2008 ve Frandson ve ark., 2009).

Sinir sistemi, anatomik olarak merkezi sinir sistemi (systema nervosum centrale – MSS) ve periferik sinir sistemi (systema nervosum periphericum – PSS) olmak üzere iki kısımda incelenmektedir (König ve ark., 2004).

Anatomik olarak MSS’ni, beyin (encephalon) ve omurilik (medulla spinalis) şekillendirmektedir (König ve ark., 2004). Encephalon ve medulla spinalis vücut boşluğunun dorsal’inde, kafatası ve omur kemikleri ile örtülü bir şekilde bulunmaktadır. MSS, neuron’ların yanı sıra kan damarlarını, sinir destek hücrelerini ve içerdiği bu yapıları birbirine bağlayan dokuyu da kapsamaktadır (Akers ve Denbow, 2008 ve König ve ark., 2004).

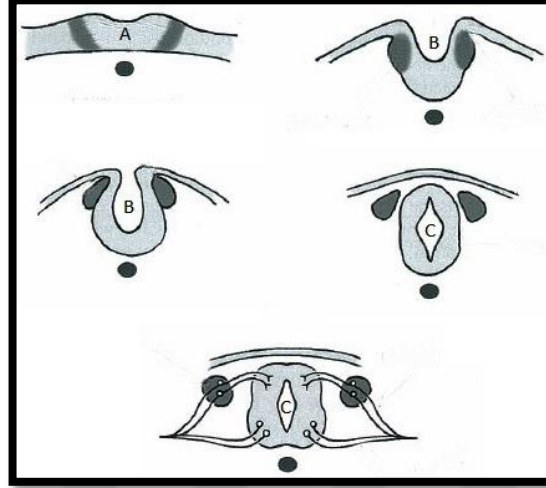
Periferik sinir sistemi, MSS'nin dışında bulunan tüm sinir uzantılarını ve hücrelerini içermektedir. Anatomik olarak PSS, encephalon'a gelen ve encephalon'dan giden uyarıları taşıyan cranial sinirler (nervi craniales) ile medulla spinalis'e gelen ve medulla spinalis'ten giden uyarıları taşıyan spinal sinirlerden (nervi spinales) oluşmaktadır. (Akers ve Denbow, 2008 ve Getty, 1975). PSS'nde bulunan sinir lifleri, sensible, motor ve otonom sinir lifleri olarak incelenmektedir. Sensible sinir lifleri, vücudun iç ve dış çevresindeki değişiklikleri algılamak için özelleşmiş olan reseptör yapılarından başlangıç almaktadır. Motor sinir lifleri hareketler sırasında yapılan kas kontraksiyonlarında görevliken, otonom sinir sistemi düz kas, kalp kası ve bez sekresyonları gibi istemsiz yapılan fonksiyonlarda görevlidir (Frandsen ve ark., 2009).

Sinir sistemi fizyolojik olarak ise, hareket vb. kontrol edilebilir fonksiyonlardan sorumlu olan cerebros spinal sinir sistemi (systema nervosum cerebros spinale) ve istemsiz olarak çalışan vücut içi yapıların regülasyonunda görev alan otonom sinir sistemi (systema nervosum autonomicum) olarak bölümlendirilmektedir. Otonom sinir sistemi kendi içerisinde iki alt başlığa ayrılmaktadır. Bunlar sempatik sinir sistemi (pars sympathica) ve parasempatik sinir sistemi (pars parasympathica) 'dir (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve Getty, 1975).

1.2. Medulla spinalis'in Embriyolojik Gelişimi

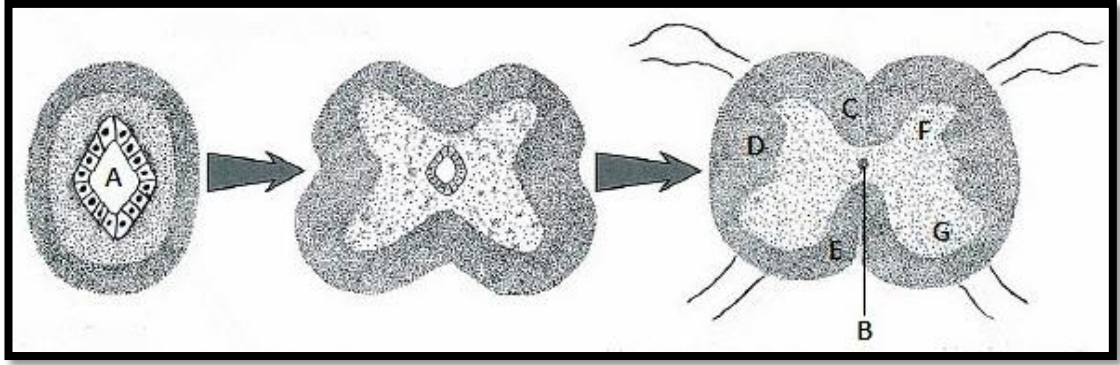
Merkezi sinir sistemi, embriyonun en dış katmanı olan ektodermden köken almaktadır. Embriyolojik gelişim gastrula evresinde iken notokord, chorda-mesoderm dokudan gelişmektedir. Notokord, birincil tetikleme sürecine verilen isimdir (Akers ve Denbow, 2008 ve Frandsen ve ark., 2009). Akers ve Denbow (2008), bu tetikleyici sinyali sağlayan proteine noggin adı verildiğini söylemiştir. Bu süreç ektoderm'in üzerini örterek daha fazla kalınlaşması için uyarı göndermektedir. Bu kalınlaşmanın sonunda nöral plak şekillenmektedir. İleriki safhalarda yapının

lateral kenarları yükselerek sulcus neuralis'i oluşturmaktadır (Douarin, 2001 ve Frandson ve ark., 2009) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Sulcus neuralis'in oluşumu. A- Nöral plak, B- Sulcus neuralis, C- Canalis neuralis (Frandson ve ark., 2009'dan uyarlanmıştır).

Medulla spinalis'in embriyolojik gelişimi, sulcus neuralis katmanlarının simetrik gelişimine oldukça iyi bir örnek teşkil etmektedir (Hassa ve Aştı, 2003). Embriyonal disk üzerinde yer alan sulcus neuralis'in kapanması ile şekillenen canalis neuralis, iki ucu delik bir boru şeklinde görülmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2005). Ön ucunda bulunan deliğe neuroporus cranialis adı verilirken arkada yer alan deliğe ise neuroporus caudalis ismi verilmektedir. Neuroporus cranialis ilerleyen dönemlerde gelişerek encephalon'u oluşturmaktadır. Encephalon'un gelişimini takiben canalis neuralis'in geri kalan kısmı canalis medullaris'i şekillendirmektedir (Hassa ve Aştı, 2003 ve Lahunta ve ark., 2008). Canalis medullaris'in duvarı başlangıçta tek katlı prizmatik epitel hücreleri ile döşelidir. Bu hücreler çoğalarak medulla spinalis'i, daralan canalis medullaris ise canalis centralis'i oluşturur (Hassa ve Aştı, 2003) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Medulla spinalis'in gelişiminin enine kesitsel görünüşü. A- Canalis neuralis, B- Canalis centralis, C- Funiculus dorsalis, D- Funiculus lateralis, E- Funiculus ventralis, F- Cornu dorsalis, G- Cornu ventralis (Frandsen ve ark., 2009'dan uyarlanmıştır).

Medulla spinalis'in gelişimini histolojik olarak incelediğimizde üç farklı çeşit hücreye rastlanmaktadır. Bu hücreler; neuroblast'lar, glioblast'lar ve ependym hücreleridir. Neuroblast'lar sinir hücrelerini ve bu hücrelerin uzantılarını oluşturmakla görevli iken, glioblast'lar sinir sisteminin destek dokusunu (neuroglia) şekillendirmekle, ependym hücreleri ise canalis centralis ve beyin içerisinde bulunan boşlukların çevresini döşemekle görevlidirler. (Dyce ve ark., 1987 ve Hassa ve Aştı, 2003).

1.3. Medulla spinalis'in Histolojik Yapısı

Sinir dokusu da diğer dokular gibi hücrelerden ve hücreler arası maddeden oluşur. İnsan sinir sistemi içerdiği yaklaşık 100 milyon sinir hücresi ve bunlardan çok daha fazla sayıda glia hücresi ile en karmaşık sistem olarak görülmektedir (Dursun, 2008 ve Junqueira ve Carneiro, 2005). Merkezi sinir sistemi'nde, sinir uyarılarının alınmasından ve iletilmesinden sorumlu hücelere neuron adı verilir (Gartner ve Hiatt, 2007). Ortalama olarak her neuron'un bin adet ara bağlantısı olduğu düşünülmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2005).

1.3.1. Medulla spinalis'te Bulunan Sinir Hücreleri

Neuron adı verilen sinir hücreleri uyarılara yanıt oluşturabilecek, uyarı şekillendirebilecek ve elde edilen bilgiyi en uç noktaya taşıyabilecek özelliklere sahip oldukça özel hücrelerdir (Akers ve Denbow, 2008). Genellikle bir neuron üç ana kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlara; perikaryon, dendrit ve axon adı verilmektedir (Gartner ve Hiatt, 2007). Neuron'ların gövde kısımlarına perikaryon adı verilir. Dendrit ve axon ise gövdeye bağlı olarak bulunan yapılardır. Birbirlerinden görev, sayı ya da uzunluk olarak farklılık içermektedirler (Junqueira ve Carneiro, 2005). Sağlam ve ark. (2006), gövdeye bağlı olan bu uzantıların tamamına neurit adı vermektedir. Genellikle çok sayıda bulunan ve uzunlukları kısa olan uzantılara dendrit adı verilmektedir. Dendritler; duyu hücrelerinden, axon'lardan ya da çevre neuron'lardan uyarı almakla görevlidirler. Çok sayıda uzantısı olması sebebiyle de, çevreden birden fazla uyarıyı aynı anda alabilirler (Gartner ve Hiatt, 2007). Neuron'ların sahip olduğu diğer uzantıya ise axon denilmektedir. Axon, özel bir durum olmadığı sürece tektir ve düz bir seyir halinde uyarıyı iletmektedir. Axon'un ucu genellikle dallıdır. Uçta bulunan ve uyarıların bir başka sinir hücresine ya da farklı tip bir hücreye aktarılmasını sağlayan ve sinir uzantılarının birbirine bağlandığı bölgeye synaps adı verilmektedir (Cormack, 2001 ve Junqueira ve Carneiro, 2005).

Sinir hücreleri; neurit sayısına göre, axon uzunluğuna göre, hücrenin fonksiyonuna göre ve hücrenin içerdiği nörotransmitter maddeye göre sınıflandırılabilir. Neurit sayısına göre sınıflandırmada; ünipolar, bipolar ve multipolar neuron'lar olmak üzere üç farklı tipte hücre incelenmektedir (Akers ve Denbow, 2008 ve Sağlam ve ark., 2006).

Ünipoal sinir hücrelerinin gövdelerinden tek bir uzantı çıkmaktadır. Bu neuron'lar genellikle prizmatik şekle sahiptirler (Sağlam ve ark., 2006). Bu tipe ait

sinir hücreleri genellikle aşağı sınıf canlılarda bulunmaktadır. Bunun yanı sıra spinal ganglion'larda da görülebilmektedir (Dursun, 2008 ve Gartner ve Hiatt, 2007).

Bipolar neuron'lara yuvarlak, oval ya da mekik olmak üzere farklı şekillerde rastlanabilmektedir (Sağlam ve ark., 2006). Bu tip sinir hücreleri gövdelerinden ayrılan iki uzantıya sahiptirler. Daha önceden de belirtildiği gibi bir uzantıya axon, bir diğerine dendrit adı verilir. Denge ve işitme siniri ganglion'undaki neuron'lar ile burun boşluğunda bulunan ve koku almayla özelleşmiş neuron'lar, bipolar sinir hücrelerine örnek gösterilebilir (Bacha ve Bacha, 2000 ve Gartner ve Hiatt, 2007).

Organizmada bulunan sinir hücrelerinin büyük çoğunluğu multipolar tip neuron'lardır (Aughey ve Frye, 2001). Multipolar neuron'lar yıldız ya da armut biçiminde görülebilmektedirler (Sağlam ve ark., 2006). Bu tip sinir hücrelerinde tek bir axon bulunmasına rağmen çok sayıda dendrit yer alır. Bu dendrit'ler sinir hücresine, birden fazla neuron'dan uyarı alma imkânını verir. Bu sayede bu tip sinir hücreleri, sinir sisteminin fonksiyonel kapasitesini genişletmekte büyük katkı sağlarlar (Cormack, 2001 ve Kuehnel, 2003). Bu farklı şekil ve yapıya sahip olan sinir hücrelerinin büyüklükleri dört - beş mikrometreden (μm) 150 μm 'ye kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Sinir hücresinin gövde kısmındaki sitoplazmaya nöroplazma, axon içerisindeki sitoplazmaya da aksoplazma adı verilir. Çekirdekleri yuvarlak ve ökromatiktir. Çekirdekcik, iri ve yuvarlak olarak çekirdek içerisinde rahatlıkla fark edilebilmektedir (Sağlam ve ark., 2006).

Sinir hücreleri axon uzunluğuna göre sınıflandırıldığında golgi tip I ve golgi tip II olarak ayrılırlar. Golgi tip I neuron'ların fark edilebilir özelliği uzun bir axon'a sahip olmalarıdır. Golgi tip II neuron'lar ise kısa axon uzunluğuna sahip sinir hücreleridir (Akers ve Denbow, 2008 ve Frandson ve ark., 2009).

Sinir hücreleri fonksiyonuna göre duyu neuron'ları, motor neuron'lar ve ara neuron'lar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar. Duyu neuron'ları, duyu algıları çevreden alarak işlenmesi için MSS'ne ileten sinir hücreleridir. Bu tip neuron'lar hem dış hem de iç ortamdaki çevresel değişiklikleri takip etmek amacıyla vücudun periferine yerleşmişlerdir. Motor neuron'lar, MSS'nden köken alır ve uyarılarını kaslara, salgı bezlerine ve diğer neuron'lara iletmekle görevlidirler (Akers ve Denbow, 2008 ve Gartner ve Hiatt, 2007). Ara neuron'lar ise tamamen MSS'nde bulunan sinir hücreleridir. Ara neuron'ların görevleri duyu, motor ve diğer ara neuron'lar arasındaki iletişimi sağlamaktır. Vücudun sahip olduğu karmaşık fonksiyonlar sebebiyle ara neuron'lar bu farklı tip sinir hücreleri arasında en yüksek sayıya sahip neuron'lardır (Gartner ve Hiatt, 2007).

Tüm bu sınıflandırmaların yanı sıra neuron'lar serbest bıraktıkları nörotransmitter maddeye göre de gruplandırılabilir. Motor neuron'lardan iskelet kaslarıyla iştirak halinde olanları asetilkolin salgılayan ve kolinerjik neuron adı alırlar. Serotonin salgılayan neuron'lar ise serotonerjik neuron'lar olarak isimlendirilirler. (Akers ve Denbow, 2008 ve Frandson ve ark., 2009).

Medulla spinalis'in substantia alba (ak madde) tabakası myelinli sinir telleri ile glia hücrelerinden şekillenmiştir. Substantia grisea (boz madde) tabakası ise somatomotorik neuron'lar, otonom neuron'lar, columnar ve refleks neuron'lar ile glia hücrelerinden oluşmaktadır (Şimşek ve ark., 2012).

Substantia grisea'da bulunan somatomotorik neuron adı verilen sinir hücreleri cornu ventrale'de bulunmaktadır. Yıldız şekilli olan bu sinir hücreleri medulla spinalis'in en büyük hücreleridir ve büyüklükleri 150 µm'ye kadar ulaşabilmektedir. Efferent özelliğe sahip olan bu neuron'lar kendi içlerinde, büyüklüklerine göre iki farklı tipe ayrılırlar. Küçük olanlarına gama motor neuron'lar denirken büyük olanlarına ise alfa motor neuron'lar denir (Junqueira ve Carneiro, 2005 ve Şimşek ve ark., 2012).

Viseromotorik neuron'lar ya da bir diğerk adı ile otonom sinir hücreleri, somatomotorik sinir hücrelerine benzer şekilde efferent özelliktedir. İstem dışı çalışan organ ve dokuları innerve ederler. Sempatik ve parasempatik olmak üzere iki farklı tipe sahiptirler. Sempatik sinir hücreleri medulla spinalis'in thoraco - lumbal bölgesinde substantia grisea'nın her iki yana çıkıntı yaptığı cornu laterale'de bulunurlar. Orta büyüklükte olan bu sinir hücrelerinin şekilleri yuvarlak ya da oval olarak görülebilir. Parasempatik sinir hücreleri medulla spinalis'in her bölümünde görülmekle beraber en çok sacral bölümde bulunurlar ve medulla spinalis'in pars intermedia'sının içinde homojen olarak dağılırlar (Gartner ve Hiatt, 2007; Kuehnel, 2003 ve Tanyolaç, 1999).

Columnar sinir hücreleri, medulla spinalis'te cornu dorsale'nin kenarlarında görülürler. Poligonal ya da iğ şeklinde olan bu neuron'lar motorik hücrelerden sonra en büyük hücrelerdir. Afferent özellikte olan bu hücreler substantia alba'nın yollarını oluştururlar (Junqueira ve Carneiro, 2005 ve Tanyolaç, 1999).

Refleks sinir hücreleri, medulla spinalis'te, cornu dorsale'de bulunan farklı tipte bir sinir hücreleridir. Afferent ve efferent hücreler arasındaki bağlantıyı sağlamakla görevlidirler (Kuehnel, 2003 ve Tanyolaç, 1999).

1.3.2. Medulla spinalis'te Bulunan Destek Sinir Dokusu

Medulla spinalis'in iç yapısında bulunan neuron'ların çevresinde çok sayıda neuroglia adı verilen özel hücreler bulunmaktadır. Bu sinir hücrelerinin işlevleri arasında neuron'lara mekanik ve metabolik destek sağlamanın yanı sıra sinir hücrelerinin korunması da bulunmaktadır. Sinir dokusunda dört farklı tip glia hücresi bulunur (Gartner ve Hiatt, 2007 ve Şimşek ve ark., 2012). Bunlar; astrositler, oligodendrositler, mikroglia hücreleri ve ependym hücreleridir. Bunun yanı sıra PSS'nde bulunan Schwann hücreleri de neuroglia hücreleri arasında sayılmaktadır

(Eurell, 2004). Sinir sisteminde bulunan neuroglia hücre miktarının, sinir hücrelerinininkinden 10 kat daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (Gartner ve Hiatt, 2007).

1.3.2.1. Astrositler

Astrositler, sinir dokusunda en fazla bulunan neuroglia hücreleridir (Gartner ve Hiatt, 2007). Şekilleri yıldız biçiminde olan bu hücrelerin büyüklükleri yaklaşık olarak 10 – 20 µm'lik çapa sahiptir (Kuehnel, 2003). Astrositlerin iki farklı tipi bulunmaktadır. Bunlar; MSS'nin substantia grisea tabakasında bulunan protoplazmik astrositler ve genellikle MSS'nin substantia alba tabakasında bulunan fibröz astrositlerdir (Gartner ve Hiatt, 2007). Sağlam ve ark. (2006), fibröz astrosit hücrelerinin gövde kısımlarında ve uzantılarında, 10 µm büyüklüğünde intermedier filamanlarının (glia filamanları) demetlenmesi ile oluşmuş glia iplikçiklerinin bulunduğunu bildirmiştir. Bu yapılar sayesinde immunohistokimya ile tespitleri yapılabilmektedir (Kuehnel, 2003).

Astrositler neuron'ları kapillar damarlara ve pia mater'e bağlarlar, ayrıca neuron'ların kimyasal ortamlarını ve iyonik dengelerini kontrol etmelerine destek olurlar (Junqueira ve Carneiro, 2005). Bunun yanı sıra neuron'ların yakın çevrelerinde biriken iyonları, nörotransmitter maddeleri, neuron'a ait; potasyum iyonu, glutamat ve γ-aminobütirik asit gibi metabolizma kalıntılarını temizleme işlevi görürler ve enerji sağlarlar (Gartner ve Hiatt, 2007). Protoplazmik astrositler ise kan – beyin bariyerinin korunmasına yardımcı olurlar (Aughey ve Frye, 2001).

1.3.2.2. Oligodendrositler

Oligodendrositler, küçük ağaç benzeri hücrelerdir (Cormack, 2001). Çapı 6 – 8 µm olması sebebiyle astrositlerden daha küçüktürler. Yuvarlak hücre gövdelerine ve

dallı hücre uzantılarına sahiptirler (Kuehnel, 2003). MSS'nin hem substantia grisea tabakasında hem de substantia alba tabakasında görülebilmektedirler (Gartner ve Hiatt, 2007). MSS'ndeki neuron'larda bulunan ve elektrik yalıtımını sağlayan myelin kılıfını üretmek temel görevleri arasındadır (Junqueira ve Carneiro, 2005). Bir oligodendrosit sahip olduğu çok sayıda uzantı sayesinde farklı sinir hücrelerinin axonlarına giderek myelin kılıfı şekillendirebilmektedir (Cormack, 2001).

1.3.2.3. Mikroglia Hücreleri

Mikroglia hücreleri, MSS'ne dağılmış olarak bulunan, oligodendrositlere benzeyen, oldukça koyu boyanan ve orantısız şekilde uzun uzantılı küçük hücrelerdir (Cormack, 2001 ve Gartner ve Hiatt, 2007). Sinir dokusunun, tek çekirdekli fagositik sistemini temsil etmektedirler. Kemik iliğinin öncü hücrelerinden üretilirler (Junqueira ve Carneiro, 2005). Yetişkin MSS'nde hasarlı yapıları temizlemekle görevlidirler. Nötr proteazlar ve oksidatif radikaller üretirler. Mikroglialar, aktif hale geldikleri zaman uzantılarını geri çekerler ve makrofajların morfolojik karakterini kazanırlar. Bu andan itibaren fagositik karaktere sahip olurlar ve antijen sunan hücreler gibi davranırlar (Gartner ve Hiatt, 2007 ve Junqueira ve Carneiro, 2005).

1.3.2.4. Ependym Hücreleri

Ependym hücreleri, encephalon ve medulla spinalis'te bulunan boşlukları (ventrikül) döşeyen tek katlı epitel tabakayı oluşturmaktadırlar. Bazı yerlerde ependym hücrelerinin kirpiksi uzantılara sahip olduğu görülmektedir. Bu uzantılar, beyin - omurilik sıvısının (BOS) hareketine yardımcı olmaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2005). Beyin ventrikülleri içinde bulunan bazı ependym hücreleri farklılaşarak plexus choroideus'un şekillenmesine katılırlar. Bu hücreler BOS'nın salgılanması ve kimyasal içeriğinin dengelenmesinde görev almaktadır (Bolat ve Tıprıdamaz, 2012 ve Gartner ve Hiatt, 2007).

1.3.2.5. Schwann Hücreleri

Schwann hücreleri, oligodendrositler ile aynı fonksiyona sahiptirler fakat MSS yerine PSS'nde yer almaktadırlar (Junqueira ve Carneiro, 2005). Hem myelin'li hem de myelin'siz axon'ları kaplamakta görev alırlar.(Gartner ve Hiatt, 2007).

1.4. Medulla spinalis'in Anatomik Yapısı

1.4.1. Medulla spinalis'in Makroskobik Anatomisi

Evcil kanatlılarda medulla spinalis, evcil memelilerden farklı olarak, coccygeal bölge de dahil columna vertebralis boyunca uzanmaktadır. Son bölgelere yaklaşıldığında çapı giderek azalmaktadır (Hazıroğlu ve ark., 2001; König ve ark., 2004 ve Nickel ve ark., 1997). Memelilerde medulla spinalis kısa ve kalın olmasına karşın, kanatlılarda uzun ve incedir. Canalis vertebralis'in sonuna gelen medulla spinalis cauda equina'yı şekillendirmeden son bulmaktadır (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve König ve ark., 2004). Sonuç olarak medulla spinalis foramen magnum hizasında medulla oblongata ile birleştiği noktadan başlayıp pygostyle'e kadar devam etmektedir (Baumel, 1975).

Medulla spinalis, columna vertebralis göz önünde bulundurularak beş bölgeye ayrılmaktadır. Bu bölgelerin isimleri; pars cervicalis, pars thoracica, pars lumbalis, pars sacralis ve pars coccygea'dır (Nickel ve ark., 1997). Bu bölümlendirme kimi kaynaklarda dört bölge olarak belirtilmekte ve bunların isimlendirmesi; pars cervicalis, pars thoracica, pars synsacralis ve pars caudalis olarak görülebilmektedir (Hazıroğlu ve ark., 2001).

Kanatlılarda medulla spinalis, memelilerde olduğu gibi uzunluğu boyunca iki genişleme yapmaktadır (Baumel, 1975). Bu genişlemeler de dâhil olmak üzere, medulla spinalis'in her segmentinden vücut ile bağlantı oluşturan bir çift spinal sinir ayrılmaktadır (Dinç ve Yılmaz, 2002). Intumescentia cervicalis ve intumescentia lumbosacralis adını alan bu iki genişlemeden özellikle bacakları innerve eden sinirler başlangıç almaktadır (Nickel ve ark., 1997).

Uçan kuşlarda intumescentia cervicalis'in intumescentia lumbosacralis'ten daha büyük olduğu, devekuşu gibi enerjik olarak koşabilen kuşlarda ise bu durumun tam tersi olarak intumescentia lumbosacralis'in intumescentia cervicalis'ten büyük olduğu bilinmektedir (Baumel, 1975). Bunların yanı sıra intumescentia lumbosacralis'in dorsal kesiminin ortasında kanatlılara özgü bir genişleme bulunmaktadır. Sağ ve sol columnae dorsalis'lerin arasında bulunan bu genişlemeye sinus lumbosacralis adı verilmektedir. Bu genişlemenin içerisinde bulunan ve glia hücrelerinden zengin yapıya corpus gelatinosum denilmektedir. Kimi kaynaklarda, yüksek oranda glikojen içeriğine sahip olması sebebiyle "glikojen body" olarak da adlandırılmaktadır (Breazile ve Kuenzel, 1993; King ve McLelland, 1984 ve Nickel ve ark., 1997). Fonksiyonu tam olarak bilinmeyen bu yapının bazı araştırmacılara göre myelinizasyon ile alakalı olduğu düşünülmeye karşın (Benzo ve ark., 1975), bazı araştırmacılar tarafından da salgı fonksiyonunun olduğu düşünülmektedir (Azcioia ve ark., 1985).

Medulla spinalis bilateral olarak simetriktir. Dorsal yüzünde sulcus medianus dorsalis adı verilen bir oluk vardır. Bu oluktan medulla spinalis'in içine giren, septum medianum dorsale adı verilen bir bölmeyle ayrılmaktadır. Ventral yüzünde ise fissura mediana ventralis adı verilen ve ventral yüzü boyunca yüzeysel olarak devam eden bir yarık bulunmaktadır (König ve ark., 2004 ve Nickel ve ark., 1997).

1.4.1.1. Spinal Sinirler

Medulla spinalis'te bulunan spinal sinirler (nervi spinales) ganglion spinale'yi içeren sensorik dorsal kök ile motor kökü içermektedir. Columna vertebralis'in hangi bölgesinden oluştuğuna bağlı olarak nervi spinales; nervi cervicales, nervi thoracici, nervi lumbales, nervi sacrales ve nervi coccygei olarak isimlendirilmektedir (Nickel ve ark., 1997).

İlk spinal sinir, atlas ile os occipitale arasında, son spinal sinir ise genellikle son serbest caudal vertebrae ile pygostyle arasında medulla spinalis'ten ayrılmaktadır. Tavukta 41 çift spinal sinir bulunmaktadır. Birçok farklı sebepten dolayı kanatlı türlerinde nervi spinales çiftlerinin sayısı değişiklik gösterebilir. Örneğin güvercinde 38 çift, devekuşunda ise 51 çift spinal sinir vardır. Bunun en temel sebebi omurların kanatlılar arasında çok farklı sayıda olmasıdır (King ve Mclelland, 1984).

Memelilerde olduğu gibi kanatlılarda da her spinal sinir tek bir foramen intervertebrale'den çıkar. Ancak kanatlılarda arka kısımda synsacrum düzeyinde bu durumun değiştiği görülür. Burada ventral ve dorsal kök için ayrı ayrı delikler yer almaktadır (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve König ve ark., 2004). Kanalı terk ettikten sonra spinal sinirler ramus dorsalis ve ramus ventralis adı verilen iki dala ayrılır. Ramus dorsalis ayrıldığı bölgenin yüzeyel kaslarına ve deriye dağılırken, ramus ventralis vücudun alt bölgelerini innerve eder (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve Nickel ve ark., 1997).

Nervi cervicales sayısı, kanatlılardaki vertebrae cervicales sayısına göre değişiklik göstermekte ve bu sayı 12 ile 26 arasında değişebilmektedir. Tavukta genellikle 17, bazen 18 çift cervical spinal sinir bulunmaktadır. Keza muhabbet kuşlarında 12 ile en az, kuğuda ise 26 ile en fazla sayıda cervical spinal sinir yer almaktadır (King ve Mclelland, 1984 ve Nickel ve ark., 1997). Memelilerde olduğu

gibi kanatlıların nn. cervicales'i, son boyun omurunun arkasından çıkan son nn. cervicales hariç, cervical omurların önünden canalis vertebralis'i terk etmektedir. Bu yüzden cervical spinal sinir sayısı, boyun omuru sayısından bir fazladır (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve König ve ark., 2004).

Nervi thoracici'de yer alan spinal sinirlerin dorsal kolları oldukça incedir çünkü dağılacak oldukları doku miktarı azdır. Bu sinirlerin sayısı tür farkına göre beş ile 10 arasında değişkenlik göstermektedir. Nn. thoracici, nn. cervicales'ten farklı olarak thoracal vertebra'ların caudal kenarlarından canalis vertebralis'i terk eder (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve King ve Mclelland, 1984). Kanat dokularına dağılacak olan sinirler plexus brachialis'in oluşumuna katılır (King ve Mclelland, 1984). Kanatlılarda plexus brachialis dört ya da beş adet spinal sinirin ramus ventralis'i tarafından oluşturulmaktadır. Tavukta plexus brachialis kimi kaynaklara göre son üç cervical ile ilk iki thoracal spinal sinir tarafından (Hazıroğlu ve ark., 2001 ve Yıldız ve Bahadır, 1998), bazılarında göre son üç cervical ile ilk thoracal (Ryan ve ark., 1997), kimi kaynaklara göre ise son iki cervical ile ilk bir, iki ya da üç thoracal spinal sinirin ventral dalları tarafından şekillenmektedir (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve Nickel ve ark., 1997). Plexus brachialis'i ördek ve kazda son iki cervical ve ilk iki thoracal spinal sinirler oluşturmaktadır (Nickel ve ark., 1997). Bıldırcında 12. ile 15. segment, güvercinde 10. ile 15. segment, ötücü kuşların birçok türünde 12. ile 15. segment, kırlangıçta 10. ile 14. segment, kuğuda ise 22. ile 26. segment aralığında bulunan spinal sinirlerin ventral dalları plexus brachialis'i şekillendirmektedir (Evrard ve Balthazart, 2002 ve King ve Mclelland, 1984).

Nervi lumbales ve sacrales'in dorsal kolları, nervi thoracici'de olduğu gibi ince yapıdadır. Nitekim innervasyon bölgelerinde bulunan yapılar orta derecede gelişmiştir. Plexus lumbalis, sacralis ve pudendus'tan ayrılan sinirler mix özelliklidir ve pelvis bölgesini, arka bacağı ve kuyruğu innerve ederler. Tavukta plexus lumbalis, ilk ikisi gerçek lumbal spinal sinirler, diğeri ise n. furcalis olarak adlandırılan bir spinal sinir olmak üzere üç spinal sinirin ventral kollarının birleşmesiyle oluşturulur.

Plexus sacralis, genellikle altı nn. sacrales'in ventral kolları tarafından şekillendirilir (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve Nickel ve ark., 1997).

Plexus pudendus ise synsacrum bölgesinden çıkan beş ya da altı spinal sinirin ventral kolları tarafından oluşturulmaktadır (Dinç ve Yılmaz, 2002).

1.4.2. Medulla spinalis'in Mikroskopik Anatomisi

Kanatlılarda medulla spinalis'in iç yapısı incelendiğinde, memelilerden çok büyük farklılıklar görülmemektedir. Kelebek şekline benzeyen ve medulla spinalis'in ortasında yer alan substantia grisea ile çevresini saran substantia alba tabakalarından oluşmaktadır. Memelilerden farklı olarak kanatlılarda, substantia grisea'nın dış kenarında nucleus marginalis adı verilen çekirdekler bulunmaktadır (King ve Mclelland, 1984 ve König ve ark., 2004).

1.4.2.1. Substantia alba

Substantia alba, içerisinde demetler halinde bulunan inisi ve çıkıcı myelin'li sinir liflerinden şekillenmektedir (Nickel ve ark., 1997). Myelin tabakası oligodendrositler tarafından oluşturulmakta ve yapıya beyaz rengini vermektedir. Substantia alba'nın her bir yarımı sütun ve kordonlara ayrılmaktadır. Bu ayrılan yapılar kendi içerisinde fonksiyonlarına ve varış noktalarına göre gruplanmaktadır (König ve ark., 2004). Bu kordonlara funiculus dorsalis, funiculus lateralis ve funiculus ventralis adı verilmektedir. Funiculus dorsalis, septum dorsale medianum ile cornu dorsale ve spinal sinirlerin dorsal kökçükleri arasında uzanmaktadır. Funiculus lateralis sağlı sollu olmak üzere cornu dorsale, cornu ventrale ve bu yapılara ait sinirlerin kökçükleri arasında seyreder. Funiculus ventralis ise cornu ventrale ve ona ait spinal sinirlerin ventral kökçükleri ile fissura mediana ventralis arasında bulunmaktadır (Dinç ve Yılmaz, 2002).

Memelilere kıyasla, genel olarak substantia alba'daki funiculus lateralis ve funiculus ventralis'in alanı, funiculus dorsalis'ten büyüktür. Intumescentia cervicalis ve intumescentia lumbosacralis arasında kalan bölgedeki funiculus dorsalis'in kesitsel alanı ile intumescentia cervicalis'ten beyine kadar olan bölgedeki funiculus dorsalis'in kesitsel alanı aşağı yukarı aynı büyüklüktedir. Bu durum kanatlıların funiculus dorsalis'inde bulunan çoğu axon'un kısa olduğunu ve ancak birkaç segment öteye gidebildiğini düşündürmektedir (King ve McLelland, 1984 ve König ve ark., 2004). Septum medianum dorsale ve fissura mediana ventralis, substantia grisea'ya kadar ulaşmazlar. Bu bölgede sol ve sağda bulunan columna'ların birbiri ile bağlantı yaptıkları, myelin'li ve myelin'siz sinir liflerinin şekillendirdiği alanlar bulunur. Bu alanlara commissura grisea dorsalis ve commissura grisea ventralis denilmektedir. Medulla spinalis'in merkezinde canalis centralis bulunur ve lumen'e bakan yüzü ependym hücreleri tarafından sarılmıştır (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve Nickel ve ark., 1997).

1.4.2.2. Substantia grisea

Substantia grisea tüm medulla spinalis boyunca dört köşeli bir sütun halinde ilerlemektedir. Önceden de söylendiği gibi şekli kelebeğe benzemektedir (Nickel ve ark., 1997). Bu şekli sütunların varlığından kaynaklanır. Bu yapılardan üstte yer alan çıkıntılara cornu dorsale, altta yer alan çıkıntılara ise cornu ventrale adı verilmektedir (König ve ark., 2004). Cornu dorsale'ler medulla spinalis içerisinde birbiri ardına gelerek columnae dorsales'i, cornu ventrale'ler ise columnae ventrales'i oluşturmaktadır (Nickel ve ark., 1997). Medulla spinalis üzerinde yer alan intumescentia cervicalis ve intumescentia lumbosacralis'in kesitsel alanları karşılaştırıldığında, cornu ventrale'lerin cornu dorsale'lerden daha büyük olduğu görülmektedir (Hazıroğlu ve ark., 2001 ve King ve McLelland, 1984).

1.4.2.3. Canalis centralis

Medulla spinalis'ten transversal olarak alınmış kesitlerde substantia grisea'nın orta bölgesinde yer alan kanala canalis centralis adı verilmektedir. Canalis centralis, medulla spinalis boyunca adeta, beyin içinde bulunan ventriküllerin geriye doğru devamıdır. Ependym hücreleri ile döşeli olan bu kanal BOS ile doludur (König ve ark., 2004).

1.4.3. Meninges

Beyin'e benzer bir şekilde medulla spinalis de kemik, meninges (beyin zarları) ve BOS ile çevrelenmiştir (Akers ve Denbow, 2008). Beyin ve omurilik memelilerde olduğu gibi leptomeninx ve pachymeninx tarafından örtülmüştür (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve König., 2004). Kanatlı medulla spinalis'i, üç zar ile örtülü, korumalı ve desteklenmiş bir şekilde çevrelenmiştir. Pachymeninx adı verilen dura mater sert, kalın ve en dışta yer alan zardır. Dura mater, pars cervicalis ve pars thoracici'de canalis vertebralis'in periosteum'undan cavum epidurale aracılığıyla ayrılmaktadır. Bu boşluk, medulla spinalis ve dura mater'i boynun yüksek hareket kabiliyetine adapte edebilmek için jelatinöz bir madde ile doldurulmuştur (King ve Mclelland, 1984). Spinal sinirler dura mater'i deldikleri yerde, bağ doku kılıfı ile desteklenmektedirler ve foramen intervertebrale'ler arasından spinal ganglion'ları kuşatırlar (Dinç ve Yılmaz, 2002). Falx cerebri ve tentorium cerebelli membranaceum memelilerde oldukça gelişmiş bir yapıya sahip olmalarına karşın kanatlılarda bu yapılar daha zayıftır (König ve ark., 2004 ve Nickel ve ark., 1997).

Memelilerde olduğu gibi kanatlılarda da beyin ve medulla spinalis'i dıştan saran zarların orta katmanı nispeten damarsız bir zar olan arachnoidea'dır. En içte bulunan pia mater ise, medulla spinalis'i tamamen saran, ona yapışık ve damardan zengin bir zardır. Bu iki beyin zarına beraber leptomeninx denir (Baumel, 1975;

König ve ark., 2004 ve Nickel ve ark., 1997). Cavum subarachnoidale, arachnoidea ile pia mater arasında dar bir şekilde uzanır ve BOS tarafından doldurulmuştur. Bu aralıkta ince bağ doku fibrilleri görülmektedir (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve King ve Mclelland, 1984).

Ligamentum denticulatum, spinal sinirler tarafından kesintiye uğratılmış pia mater'in bilateral bandlarından ibarettir (Dinç ve Yılmaz, 2002). Bu yapılar pia mater'den doğar, dura mater'e bağlanır ve medulla spinalis'in canalis vertebralis içinde asılı şekilde durmasını sağlarlar (Nickel ve ark., 1997).

1.5. Stereoloji

Son 20 yıl içerisinde iyi tanımlanmış biyolojik yapılara ait hücre sayılarının doğru ve etkin şekilde hesaplanabilmesi için bir takım yeni stereolojik metotlar geliştirilmiştir. Geliştirilen bütün metotların temelinde ise sistematik örnekleme stratejisi ve disektör yöntemi ile parçacık sayısının hesaplanması yer almaktadır (Bolat ve Tıprıdamaz, 2012 ve Davanlou ve Smith, 2004).

Kantitatif morfoloji, gelişimsel ve klinik biyoloji için olduğu kadar yaşlanmaya bağlı olarak incelenen biyoloji için de oldukça değerlidir. Sinir hücrelerinde meydana gelen dejenerasyonları değerlendirirken hücrelerin yaşam derecesini sayısal veriler ile hesap etmek önemli kabul edilmektedir. Bu ölçüm de genellikle dokulardan alınacak olan kesitlerin mikroskop altında incelenmesiyle gerçekleştirilmektedir (Bolat ve Tıprıdamaz, 2012 ve Ward ve ark., 2008).

Cahill ve ark (1996) stereoloji'yi, morfometrinin bir alt kümesi olarak tanımlamışlardır. Bir doku ya da organın hacim veya yüzey alanı değerinin hesaplanması, hacim, uzunluk gibi farklı birleşenlere ait değerlerin yoğunluklarının

bulunması, morfometrinin önemli konularını oluşturmaktadır (Canan ve ark., 2004 ve Howard ve Reed, 2005, s.:7).

Stereoloji, ilgilenilen yapının geometrik özellikleri ile ilgili niceliksel tahminler yapmak ile ilişkilendirilebilir (Howard ve Reed, 2005, s.:7). Odacı ve ark (2004) stereoloji'yi, mikroskop altında görüntülenebilen histolojik kesitlerden elde edilen görüntülerle, bahsi geçen yapılar hakkında üç boyutlu veriler elde etmek için kullanılan bir seri yöntemi içeren bilim dalı olarak tanımlamışlardır. Biyolojik materyaller ile yapılan araştırmalarda; hücre, çekirdek gibi yapıların hesaplaması sonucu ortaya çıkan sayısal veriler özellikle karşılaştırma gerektiren araştırmalarda ve nicelik ile fonksiyon arasındaki ilişkinin belirlenmesinde önemli bilgiler sağlar (Canan ve ark., 2002a ve Karstoft ve ark., 2007). Fakat bu sonuçların doğru olarak elde edilmesi için iki koşul mutlaka yerine getirilmelidir. Bu koşullardan birisi; hesaplaması yapılacak olan dokunun sınırları çevre yapılardan, sayılacak hücreler de doku içerisinde bulunan diğer hücrelerden rahatlıkla ayırt edilebilmelidir. Bir diğeri ise sayımı yapılacak olan hücre tipi kolayca belirlenebilmelidir (Davanlou ve Smith, 2004).

İncelediğimiz yapılar gerçekte üç boyutlu olduğu halde biz mikroskobik incelemelerde sadece iki boyutu hakkında yorum yapabilmekteyiz (Hedreen, 1998 ve Ünal ve ark., 2002a). Yapıların üç boyutlu geometrik özellikleri rastgele kullanılan çeşitli boyutlardaki geometrik problemler ile belirlenebilir. Fakat şunu da eklemek gerekmektedir ki; ölçülen yapı ile kullanılan prob arasında çok ciddi bir ilişki bulunmaktadır (Howard ve Reed, 2005, s.:7). Bu ilişkiyi tarif ederken ortaya çıkan bağıntı şu şekilde ifade edilebilir; üç boyutlu yapıların iki boyutlu bir düzlem ile kesilmesinde, ortaya iki boyutlu bir yüzey çıkmaktadır. İki boyutlu bir yüzeyi iki boyutlu bir düzlem kestiğinde, bir çizgi ya da eğri şekillenmektedir. Tek boyutlu bir çizgi, iki boyutlu bir düzlem ile kesildiğinde ise sıfır boyutlu bir nokta ortaya çıkmaktadır (Ünal ve ark., 2002a).

1.5.1. Stereoloji’de Etkinlik ve Tarafsızlık Prensibi

Stereoloji’de uygulanan hesaplamaların güvenilirliği iki temel sayesinde oluşmaktadır. İlki; stereolojik bir çalışmada istatistiksel değerleri anlamlı kılan tek öge, bileşenler üzerinde yapılan örnekleme ve ölçümlerin tarafsız olması gerektiğidir (Canan ve ark., 2002a). Odacı ve ark. (2005) tarafsızlık prensibini; tekrarlayan ölçümler sonucu, gittikçe gerçek değere yaklaşan, yani gerçek değerden istatistiksel anlamda sistematik bir sapma göstermeyen ölçümleri belirtmek için kullanılan bir terim olarak açıklamaktadır. Tarafsızlık kavramının esasını, stereolojik çalışmada kullanılacak olan biyolojik yapının üç boyutu hakkında bir bilgiye sahip olunmaması ve yapının tüm noktalarındaki örnekleme sayısının eşit olması oluşturmaktadır (Odacı ve ark., 2004). Eğer bir yöntem doğası ve uygulaması sırasında teknik ön kabuller nedeniyle bir taraflılık gösteriyorsa, sonuçlar çoğunlukla gerçek değerlerinden farklı olabilmektedir (Odacı ve ark., 2005).

İkincisi ise etkinlik prensibi olarak isimlendirilmektedir. Etkinlik; sadece gerektiği kadar birey ve örnek kullanarak, yeterli doğrulukta sonuçlar elde etmeyi ifade etmektedir (Canan ve ark., 2002a). Stereoloji’de tarafsızlık ilkesi korunarak az zamanda kaliteli ve çok iş yapmak son derece önemli ve değerli kabul edilmektedir. Bu doğrultuda etkinlik prensibi, nispeten kısa bir zaman içerisinde daha az değişkenlik gösteren verilerin elde edilebilmesi anlamına gelmektedir (Odacı ve ark., 2005).

1.5.2. Stereoloji’de Tanecik Sayımında Karşılaşılan Hatalar

Hücre sayımı amacıyla yapılan araştırmalarda, başlıca üç önemli noktanın ihmal edildiği görülmektedir. Bunlardan birincisi, dokudan alınan kesit kalınlığına bağlı olarak, incelenen alanda görülen hücre izdüşümlerinin sayım sırasında hatalı sonuçlar ortaya çıkarmasıdır (Şahin ve ark., 2002). Stereoloji içeren ilk çalışmalarda

araştırcılar büyük yapıların kesitlerde daha çok sayılmasını, yani normalden fazla sayıda sayılmayı veya küçük yapıların kesitlerde daha az sayılmasını, yani normalden daha az sayıda sayılmayı engellemeye çalışmışlardır. Fakat model tabanlı stratejiler ile problemin, varsayımlarda ne derece doğruluğa sahip olduğunu, sonuç olarak da tahminlerin doğrulama faktörleri ile beraber ne derece yükseldiği bilinmemiştir (Charleston ve ark., 2007 ve Hedreen, 1998). Çalışmalarında eski teknikleri kullanan bazı araştırmacılar alınan kesit kalınlığı ne kadar ince olursa olsun yine de bir kalınlığa sahip olduğunu söylemektedir. Sonuç olarak kesit kalınlığı arttıkça kesit düzleminde görülen hücre izdüşümlerinin sayıları da buna paralel olarak artış gösterir (Şahin ve ark., 2002).

İhmal edilen ikinci konu, incelenecek dokudaki üç boyuta sahip yapıların, kesitlerde yapılan incelemelerde iki boyutlu görülmeleri nedeniyle ortaya çıkan hesaplama hatalarıdır (Şahin ve ark., 2002). Örnekleme tekniklerinin geliştirilmesinin yanı sıra yapılacak olan stereolojik araştırmalar için farklı yöntemler uygulanarak hataların ortadan kaldırılmasına çalışılmıştır. Bu yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırılmaları yapılarak yararları ve zararları incelenmektedir (Myers ve ark., 2004).

Sonuncu ihmal, bireysel farklılık nedeniyle deney ve kontrol grupları için seçilen aynı grup içindeki bireylerin kendi aralarındaki farklılıklara bağlı olarak incelenecek doku ya da organların büzüşme ve şişme oranlarının farklı olmasıdır (Şahin ve ark., 2002).

1.5.3. Stereoloji’de Sistemik Rastgele Örnekleme Metodu

Çalışılacak doku üzerinde yapılacak olan örnekleme, yeni stereolojik yöntemlerin başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için gerekmektedir. Herhangi bir stereolojik çalışmanın en kritik safhasının, örnekleme zamanı olduğu bilinmektedir.

Çünkü alınan örnek, dokuyu temsil etmiyorsa, elde edilen sayısal verilerin çok az bir anlamı vardır. Sistematik örnekleme stereoloji’de sıkça kullanılmaktadır (Gundersen ve ark., 1999 ve Nurcombe ve ark., 2001).

Sistematik rastgele örnekleme, diğer örnekleme çeşitlerinden farklı olup, klasik rastgele örnekleme ve sistematik örnekleme metotlarının birlikte kullanımıyla yapılmaktadır. Yani klasik rastgele örneklemedeki gibi dokudan rastgele bir başlangıç noktası seçilir ve sistematik örneklemedeki gibi seçilen başlangıç noktasının ardından belirli aralıklar ile doku, sistematik olarak incelenmektedir. Bu örnekleme yaklaşımı olmazsa olmaz olarak kabul edilen hem tarafsızlık hem de etkinlik prensibine uygun kullanılabilen, ayrıca çalışmanın her basamağında (bloklar, kesitler, alanlar) uygulanabilmektedir (Canan ve ark., 2002a; Howard ve Reed, 2005, s.:17-30 ve Nurcombe ve ark., 2001).

Sistematik rastgele örnekleme metodu tercih edildiği zaman yapılması gereken ilk şey örnekleme aralığının belirlenmesidir. Nitekim bu noktada ön çalışmaların ne kadar önemli olduğu da karşımıza çıkmaktadır. Metotlardan hangisinin seçilecek olduğu ya da yapılacak olan örneklemenin sistematik olarak ne oranda uygulanacak olduğu gibi konularda fikir sahibi olunması için bir ön çalışmanın daha önceden yapılması ciddi bir gereksinimdir (Davanlou ve Smith, 2004 ve Odacı ve ark., 2009). Stereolojik metotlardan herhangi birisinin doğru bir şekilde uygulanabilmesi için sistematik bölümünün olduğu kadar, rastgeleliği içeren bölümünün de uygun bir şekilde uygulanması şarttır. Alınacak olan ilk örnek belirlenen örneklemeden rastgele bir şekilde seçilir. Ardından da sistematik olarak örnek seçimine devam edilir (Canan ve ark., 2002a; Charleston ve ark., 2007 ve Nurcombe ve ark., 2001).

Stereolojik çalışmalarda sistematik rastgele örnekleme yapılması ile organ ya da dokuya ait her noktanın eşit miktarda örnekleme dahil edilmesi ve kesit sayısının fazlalığı gibi dezavantajları ortadan kaldırılmış olunur (Canan ve ark., 2002a ve Howard ve Reed, 2005, s.:17-30).

1.5.4. Stereolojik Çalışmalarda Sıkça Kullanılan Metotlar

1.5.4.1. Disektör

Bu metodun sayım kurallarının temeli 1932 yılında William R. Thompson tarafından atılmıştır. Bu sayım kuralları ilerleyen zamanlarda Cruze – Orive tarafından tekrar ele alınarak biraz daha geliştirilmiş ve ilk modern tasarım tabanlı stereolojik çalışma olarak kabul edilmiştir. Bu yöntem daha sonra Groot ve Bierman tarafından, pratik uygulama gerektiren alanlarda uygulanmaya başlamıştır (Howard ve Reed, 2005, s.:69 ve Ünal ve ark., 2002b). 1984 yılında Sterio tarafından yeniden gündeme gelmesi ile tanecik sayımı alanında bir çığır açılmıştır (Bolat ve Tıprıdamaz, 2012 ve Ünal ve ark., 2002b).

1.6.4.1.1. Fiziksel Disektör

Stereolojik metodlar arasında kullanılan fiziksel disektörün esasını, birbirinin ardışığı iki kesit ve bu iki kesit arasındaki mesafede yer alan üç boyutlu sanal hacimdeki taneciklerin sayımı oluşturmaktadır. İstenilen alanın hacmi, ardışık iki kesitteki sınırları aynı olan alan ile kesitler arası mesafenin çarpımı sonucu bulunmaktadır (Howard ve Reed, 2005, s.:74 ve Ünal ve ark., 2002b). Fiziksel disektörde gözlem kesiti ve örnek kesiti denilen iki ardışık kesit kullanılmaktadır. Tanecik sayımı, sayım kesitinde olup, gözlem kesitinde olmayan hücrelerin sayılması ile gerçekleştirilir. Tanecik sayımında hataya neden olmamak için kesitler arası mesafe, sayımı yapılacak tanecik büyüklüğünün $\frac{1}{3}$ 'ü kadar olmalıdır (Odacı ve ark., 2004).

Fiziksel disektör yöntemi ile bir disektör hacminde sayılan toplam tanecik sayısının, disektör hacmine bölünmesi ile taneciklerin sayısal yoğunlukları

bulunabilmektedir. Ortaya çıkan sonucu doku ya da organın tüm hacmine oranlayarak o yapı içindeki toplam tanecik sayısı hesaplanabilmektedir (Ünal ve ark., 2002b). Benzer alanların tespitindeki zorluklar, özel alet ve ekipman ihtiyacı ve uzun süren bir işlem olması fiziksel disektör yönteminin dezavantajlarından biridir (Odacı ve ark., 2004).

Histolojik tekniklerle hazırlanmış ışık, elektron ve bu gibi mikroskop kesitleri ile fiziksel disektör yöntemi kolayca uygulanabilmektedir. Tanecik sayımı kuralı, örnek kesitte var olup gözlem kesitinde olmayan hücrelerin sayımı yapılarak sağlanır. Fiziksel disektörün uygulanması sırasında kesit karşılaştırmaları yapılırken tanecik izdüşümlerinin aynı mı yoksa farklı mı olduğuna dikkat edilmelidir. Bunun yanı sıra sözü geçen kesit çiftlerinin uygun bir örnekleme yöntemi ile seçilmesi gerekmektedir (Ünal ve ark., 2002b).

Fiziksel disektör ile yapılan çalışmalarda karşılaşılabilecek bir sorun, iki kesit arası mesafeden daha büyük olan taneciklerin sayımıdır. Buna iyi bir örnek olarak böbreklerde bulunan glomerül'lerin sayımı verilebilir (Pesce, 1998 ve Ünal ve ark., 2002b). Stereoloji sayesinde, glomerül'ün üç boyutlu yapısı ile ilgili sağlıklı bilgiler elde edilmektedir. Böbrekteki toplam glomerül sayısı, bir glomerül'deki ortalama toplam hücre sayısı, kapillar damarların ortalama kapladığı alan ve uzunluğu, glomerül'deki ortalama kapillar damar hacmi ve bunun gibi birçok parametre ölçülebilmektedir (Cahill ve ark., 1996). İki kesit arası mesafeden daha büyük olan taneciklerin sayımında kesit çifti aralığının artırılması sayesinde sorun önlenmiş olur. Bu sayede kesit sayısı da azaltılır (Ünal ve ark., 2002b).

Fiziksel disektör yönteminde dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta, kesit çiftlerinin sınırlandırılması ve birbirine karşılık gelecek olan bu alanların net bir şekilde belirlenmesidir. Aynı yapılara ait izdüşümlerin gözlenmesi için bu sınırları belirleme işi oldukça dikkatli yapılmalıdır. Alan sınırlarının tespitinden sonra yapılacak son iş, sayımı yapılacak bölgenin sınırlandırılma işlemidir. Sayım

çerçevelerinden, bilinen en tarafsız kurallara sahip olanı, tarafsız sayım çerçevesidir (Howard ve Reed, 2005, s.:68-78).

Stereolojide sayım yapılması sırasında alan sınırlandırılmasından kaynaklanan problemler kenar etkisi olarak bilinmektedir ve bu sorunları çözmek adına Danimarkalı stereolog H. J. G. Gundersen, 1977 yılında “tarafsız sayım çerçevesi” olarak adlandırdığı bir model geliştirmiştir. Tarafsız sayım çerçevesinde; izdüşümleri tamamen sayım çerçevesi içerisinde kalan, yani çerçevenin herhangi bir kenarı veya köşesine denk gelmeyen tanecikler ile serbest çizgilere temas eden tanecikler sayıma dahil edilir. Çerçevenin yasak çizgileri ile ifade edilen kenarlarla kesişen tanecikler ve çerçevenin yasak çizgilerinin uzantıları ile herhangi bir şekilde kesişen tanecikler ise sayıma dahil edilmezler (Howard ve Reed, 2005, s.:68-78 ve Ünal ve ark., 2002b).

Kurallara uygun, tarafsız ve etkin bir biçimde yapılmış bir fiziksel disektör çalışmasının sonucunda; Q^- ile sembolize edilen disektör tanecikleri sayılmış olacaktır (Myers ve ark., 2004). Hesaplama sırasında elde ettiğimiz her bir disektör hacmi ise V_{dis} olarak belirtilmektedir. Sonuç olarak toplam disektör tanecik sayısını, toplam disektör hacmine bölerek birim hacme düşen tanecik sayısı (N_V) bulunmaktadır (Şekil 1.4) (Ünal ve ark., 2002b).

$$N_V = \frac{\sum Q^-}{\sum V_{dis}}$$

Şekil 1.4. Birim hacime denk gelen toplam tanecik sayısı denklemi (Ünal ve ark., 2002b).

Tüm bunların yanı sıra şayet yapının toplam hacmi biliniyorsa, bu değer fiziksel disektör yöntemi ile hesaplanan sayısal yoğunluk değeri ile çarpılarak,

taneciklerin tüm yapıdaki sayısının tarafsız olarak elde edilmesi mümkündür (Şekil 1.5) (Howard ve Reed, 2005, s.:68-78).

$$N = N_V \times V_{ref}$$

Şekil 1.5. Tüm hacime denk gelen toplam tanecik sayısı denklemi (Howard ve Reed, 2005, s.:68-78).

1.5.4.1.2. Optik Disektör

Hücre sayımında kullanılan disektör yöntemlerinin gelişimine en büyük katkıyı sağlayan yöntem, optik disektör yöntemidir. Bu teknik, alınan kalın kesitler içerisinde incelenen alanları içermektedir. Yüksek sayısal açıklığa sahip olan objektif lens, çok kısa bir odak derinliğine sahiptir ki bu durum, kesit içerisinde aşamalı olarak odaklanmaya olanak sağlamaktadır (Nurcombe ve ark., 2001). Sıçan syncortex'inde bulunan neuron, glial ve endothelial hücrelerin sayısal yoğunluğu hakkındaki tarafsız tahminler, sistematik rastgele örnekleme uygulanarak optik disektör yöntemi ile hesaplanmıştır (Davanlou ve Smith, 2004).

Fiziksel disektörde karşımıza çıkan iki kesitin eşleştirilmesindeki zorluk ve zaman kaybı gibi dezavantajlar, bu metotta ortadan kaldırılmıştır (Charleston ve ark., 2007). Ayrıca taneciklerin şekil, boyut ve yönelimleri hakkında bir ön varsayım yapılmaması ve kullanımının daha kolay olması nedeniyle büyük bir avantaja sahiptir. Sayımın hatalı olmaması için kesitin alt ve üst kısımlarında oluşabilecek düzensizliklere karşı güven aralığı bırakılır ve sayım bu iki aralığın ortasındaki bölgede yapılır (Odacı ve ark., 2004). Bir örnek ile açıklamak gerekirse, karaciğerde bulunan hepatosit'lerin sayımı için kullanılan bir optik disektör çalışmasında, örneklem kesitinin kalınlığı 26-29 µm, disektör yüksekliği ise 16 µm olarak görülmektedir. Bu sayede her optik disektör uygulaması hücre yoğunluğunun (N_V) bir örneği olmaktadır (Ünal ve ark., 2011).

$$N_v = \frac{Q^-}{h \times \text{sayım çerçevesi alanı}}$$

Şekil 1.6. Bir optik disektör sayımında hücre yoğunluğu denklemi (Davanlou ve Smith, 2004).

$$\text{Ortalama } N_v = \frac{\sum Q^-}{h \times \sum(\text{sayım çerçevesi alanı})}$$

Şekil 1.7. Uygulanan optik disektörlerin tamamının hesaplandığı hücre yoğunluğu denklemi (Davanlou ve Smith, 2004).

Burada görülen h , disektör yüksekliğini belirtmekte; kare alanı ise sayımı yapılan hücrelerin tarafsız sayım çerçevesinin alanını belirtmektedir (Şekil 1.6, Şekil 1.7). Eğer ilgilenilen dokunun tam hacmi biliniyorsa, toplam hücre sayısı da rahatlıkla bulunabilir (Şekil 1.8) (Davanlou ve Smith, 2004).

$$N = \text{ortalama } N_v \times V_{\text{ref}}$$

Şekil 1.8. Optik disektör sonucunda elde edilen değerden, tüm dokudaki hücre sayısını bulmaya yönelik denklem (Davanlou ve Smith, 2004).

Sonuç olarak model tabanlı, potansiyel olarak ön yargılı, geleneksel stereolojik sayma yöntemleri üzerindeki teorik avantajlara ek olarak optik disektör, fiziksel disektör ve seri kesitli rekonstrüksiyon üzerinde önemli pratik avantajlara sahiptir. Bunlardan en önemlisi fiziksel disektör ve seri kesitli rekonstrüksiyonda alınan kesitlerin fiziksel uyumunun sağlanması ve bu işlemlerin zaman alıcı olması gibi dezavantajların ortadan kaldırılmasıdır (Nurcombe ve ark., 2001).

1.5.4.2. Parçalama

Stereolojik metotlar arasında en pratik ve en basit olan yöntemdir (Cumming ve ark., 2007). İlk kez Mayhew tarafından sinir dokusunun morfometrik olarak incelenmesinde ve sinir liflerinin sayımında kullanılmıştır (Bolat ve ark., 2013). Bu yöntem, çalışılan dokudaki toplam tanecik sayısının hesaplanması için oldukça kullanışlıdır (Witgen ve ark., 2006).

Parçalama yöntemi; dokuya uygulanan histolojik işlemlerden, dokuların şişme, büzüşme gibi yapısal değişimlerinden, kesit alma sırasındaki hasarlardan ve hacim değişimlerinden bağımsızdır (Myers ve ark., 2004 ve Witgen ve ark., 2006). Parçalamanın temel mantığı; içerisinde yer alan parçacıkların toplam sayısını bulmayı hedeflediğimiz yapıyı, oranları bilinen bir biçimde parçalara ayırıp, bu parçaların sistematik ve rastgele olarak seçilenlerinin yine belirli kısımlarında herhangi bir disektör metodu ile tanecik sayımı yapmayı ve sonunda elde edilen değeri parçalama katsayısı ile çarparak toplam sayıyı bulmayı kapsamaktadır (Canan ve ark., 2002a; Bolat ve Tıprıdamaz, 2012; Howard ve Reed, 2005 ve Myers ve ark., 2004). Bilgisayar kullanımının gelişmesiyle de daha pratik bir kullanım alanı olmuştur (Bolat ve ark., 2013).

1.5.4.2.1. Fiziksel Parçalama

Fiziksel parçalama, fiziksel disektör ile parçalama yöntemlerinin bileşkesi olarak toplam tanecik sayısının hesaplanmasını içermektedir. Fiziksel parçalama yönteminin esası; çalışılacak olan organın gerekli görülen basamaklarında sistematik rastgele örnekleme kurallarına uygun bir şekilde seçilen kesitlerin fiziksel disektör mantığı ile incelenmesi ve değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır. Parçalama sırasında uygulanan küçültme işlemleri her basamakta kaydedilmektedir (Canan ve ark., 2002a).

İlk örnekleme basamağında incelenecek materyal, parçalama bıçağı ile kesilir ve bu kesilen parçalardan sistematik rastgele örnekleme kuralına uygun örnekler seçilir. Birinci parçalama oranı bu şekilde (f_1) elde edilmiş olur. Eğer çalışılacak organ yeterince küçük parçalara bölünememiş ise bu yöntem tekrarlanır (f_2). Doku parçalarından kesitlerin elde edilmesi için histolojik doku takibi ve gömme işlemi uygulanarak sayılacak olan kesitler kuralına uygun olarak seçilir. Bu basamakta yapılan örnekleme sonucunda parçalama katsayısı tekrar (f_3) kaydedilmektedir. Fiziksel disektörün sayım yönteminde, seçilen kesitin ardışığının da alınmasıyla elimizdeki kesit çiftlerinde ilgilenilen taneciklerin sayımına geçilmektedir. Kesit sayısı fazla olması durumunda alan parçalaması yapılabilir ve bu alan parçalamaları da gerekli katsayılar olarak işaretlenmelidir ($f_4, f_5... n$) (Şekil 1.9) (Canan ve ark., 2002a ve Howard ve Reed, 2005).

$$N_{\text{toplam}} = \frac{1}{f_1} \times \frac{1}{f_2} \times \frac{1}{f_3} \times \frac{1}{f_4} \times \dots \frac{1}{f_n \times \sum Q^-}$$

Şekil 1.9. Fiziksel parçalama ile hesaplanan toplam hücre sayısının denklemi (Canan ve ark., 2002a).

1.5.4.2.2. Optik Parçalama

Optik disektör mantığı ile parçalama kurallarının bileşkesi olarak ortaya çıkmıştır. Fiziksel parçalamada olduğu gibi optik parçalamada da belirlenilen ve sistematik rastgele örnekleme kuralına uygun elde edilen kesitler seçilmektedir ve buna kesit örnekleme payı (k.ö.p.) adı verilir. Bunun ardından kesitlerde uygulanan, alan örnekleme payı (a.ö.p.) adı verilen ve kesitler üzerinde incelenecek olan alanlar ve bu alanların sıklığı belirlenmektedir. Alan örnekleme payı; sayım çerçevesi alanının adım alanına oranı ile bulunmaktadır. Optik disektör ile tanecik sayımı yapılırken kalın kesitlerde üst ve alt güvenlik aralığı arasında sayım yapılacak bir hacim kalmaktadır. Bu yüksekliğin kesit kalınlığına oranı, örneklemedeki üçüncü

basamak olan kalınlık örnekleme payını (ka.ö.p.) vermektedir (Şekil 1.10) (Canan ve ark., 2002a; Charleston ve ark.; 2007 ve Myers ve ark., 2004).

Örnekleme basamaklarının belirlenmesinden sonra taneciklerin doğrudan sayımına geçilmektedir. Kesit kalınlığı boyunca optik disektör yardımı ile ilerlenir ve taneciklerin sayımı yine önceden belirlenmiş kurallar çerçevesinde yapılmaktadır. Hacim ölçümlerinden bağımsız olmasından dolayı doku hazırlanmasının herhangi bir zamanında oluşabilecek doku büzülmesi, sonucu etkilememektedir (Howard ve Reed, 2005 ve Schumann ve Amaral, 2005).

$$N_{\text{toplam}} = \frac{1}{(\text{k.ö.p.})} \times \frac{1}{(\text{a.ö.p.})} \times \frac{1}{(\text{ka.ö.p.})} \times \sum Q^{-}$$

Şekil 1.10. Optik parçalama ile hesaplanan toplam hücre sayısının denklemi (Howard ve Reed, 2005).

1.5.4.3. Cavalieri Prensibi

Cavalieri yöntemi, herhangi bir yapıya ait olan hacmin, doğruya en yakın şekilde tahmin edilmesinde kullanılan bir yöntemdir (Nurcombe ve ark., 2001). Morfometrik çalışmalarda, bir organın veya organ bileşeninin hacmi ve bileşenlerin tüm organın hacmine olan oranı sürekli kullanılan bir parametredir. Tüm bunların yanı sıra fiziksel ve optik disektör gibi yöntemlerde de olduğu gibi bir bileşenin birim hacimdeki sayısından toplam hacimdeki sayısına ulaşmak için, çalışılan yapının toplam hacminin mutlaka bilinmesi gerekmektedir (Acer ve ark., 2008 ve Canan ve ark., 2002b).

Çevre dokulardan kesin sınırlarla ayrılan doku ya da organlar için hacim hesaplamak kolay bir olgu olmasına karşın, omuriliğin gri cevheri veya kemik iliği gibi çevresinden ayrılması zor ya da imkânsız olan dokular için hacim ölçümünün

yapılması oldukça güçtür. Bu durumlarda, Cavalieri yöntemi olarak bilinen ve ilk kez İtalyan matematikçi Bonaventura Cavalieri tarafından XVII. yüzyılda ortaya konmuş yöntem uygulanabilmektedir. Bu yöntemin temelini aslında ünlü astronom Johannes Kepler atmıştır (Howard ve Reed, 2005, s.:35-42 ve Odacı ve ark., 2003).

Cavalieri yöntemi uygulanırken öncelikli olarak hacmi hesaplanmak istenen materyal eşit aralıklarla ve birbirine paralel olacak biçimde parçalara ayrılır. Daha sonra bu ayrılan parçaların aynı yöne bakan yüzlerine ait alanlar hesaplanır. En son olarak hesaplanan tüm yüzey alanları toplanıp dokuya uygulanan kesit kalınlığı ile çarpılarak doğruya en yakın olan bir sonuç elde edilir (Cahill ve ark., 1996 ve Nurcombe ve ark., 2001).

$$V_{\text{ref}} = \sum a_i \times t$$

Şekil 1.11. Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplama denklemi (Cahill ve ark., 1996).

Burada a_i , i kesitindeki yapının yüzey alanını belirlerken; t , kesit kalınlığını ifade etmektedir (Şekil 1.11) (Cahill ve ark., 1996).

Birçok araştırmada alınan kesit sayısının fazla olması sonucu oluşan dezavantajı ortadan kaldırmak için kesitler belli bir oranda atlanarak alınır ve bu işlem sonucunda bir örnekleme oranı belirlenir (Can ve ark., 2012 ve Nurcombe ve ark., 1991).

$$V = t \times \sum P_i \times a(P)^2 \times m$$

Şekil 1.12. Örnekleme yapılmış dokuda Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplama denklemi (Nurcombe ve ark., 1991).

Burada önceden belirtildiği gibi t , kesit kalınlığını belirtirken; $\sum P_i$, sayılan toplam nokta sayısını; $a(P)^2$, kesitteki yapının yüzey alanını; m , ise örnekleme oranını ifade etmiştir (Şekil 1.12) (Can ve ark., 2012 ve Nurcombe ve ark., 1991).

Rutin işlemlerde bilgisayarlı tomografi (BT) ve magnetik rezonans (MR) görüntüleri elde edilirken başlangıç noktası olarak incelenecek ilk görüntü tamamen rastgele seçilmektedir. Bilgisayarlı tomografi ve MR işlemlerinde elde edilecek görüntülerin aralıklarının hesaplanması, zaten işlem sırasında belirlenmekte ve paralel bir şekilde kaydedilmektedir. Üstte bahsedilen tüm bu şartlar, BT ve MR kullanımının Cavalieri metodunun uygulanması için oldukça yararlı kabul edilmektedir (Duerstock ve ark., 2003 ve Odaç ve ark., 2005). BT ve MR görüntüleri üzerinde de yapılan Cavalieri metodu hesaplamaları ile ilgili çalışmalar incelendiğinde, yapının tamamı için 8-15 arasında görüntünün yeterli olabileceği görülmektedir (Acer ve ark., 2008 ve Duerstock ve ark., 2003).

Stereoloji’de izdüşüm alanını hesaplamak için en sık olarak, noktalı alan ölçüm cetveli kullanılır. Noktalı alan ölçüm cetvelleri birbirlerinden eşit aralıklarla ayrılmış noktalardan oluşan sistematik nokta dizgisidir (Canan ve ark., 2002b). Bu sayede hem makroskobik hem de mikroskobik yapıların yüzey alanları ölçülerek hacimleri hesaplanabilmektedir. Örnek olarak tavşan beyinde basolateral complex içindeki her alanın ve hemispherium cerebri’nin hacimleri bu yöntem kullanılarak hesaplanmıştır (Jagalska-Majewska ve ark., 2003). Noktalı alan ölçüm cetvelinde dört nokta arasında kalan alan hesaplamada birim alanı “ $P(a)$ ” ifade eder. İzdüşümlerin tarafsız bir şekilde toplam alan hesaplaması, incelenecek kesitteki dokunun sınırları içinde bulunan toplam nokta sayısının “ $\sum P_i$ ” birim alan ile çarpılmasıyla hesaplanır (Şekil 1.13) (Canan ve ark., 2002b).

$$A_i = P_i \times P(a)$$

Şekil 1.13. Cavalieri yöntemi ile bir kesitte hesaplanan alanın denklemi (Canan ve ark., 2002b).

Cavalieri yönteminin uygulanılabilirliğinde atlanmaması gereken önemli noktalardan birisi, mikroskobik çalışmalarda yapılacak örneklemenin (sistemik rastgele örnekleme) bu yönteme de uygulanması gerektiğidir. Dikkat edilmesi gereken bir diğer konu ise hesaplaması yapılan kesit yüzeyleridir. Cavalieri metodu ile hacim hesaplaması hep aynı yüzeylerin yüzey alanları ölçülerek yapılmalıdır (Howard ve Reed, 2005, s.:35-42).

1.5.5. Hata Katsayısının (CE) Hesaplanması

Bloklardan, kesitlerden veya sayımdan kaynaklanan varyansın birbiri ile olan kombinasyonu sebebiyle birçok stereolojik tahmin için değişkenlik ya da hatalı ölçüm oluşabilmektedir. Stereolojide hata katsayısı (CE) terimi, rastgele olan varyasyonu tahmin etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu terim herhangi bir yanlılığa sebebiyet vermemektedir. Oluşan bu değişkenliğin sebebi, ölçümü yapılan dokuda her hücrenin sayılmaması ya da her kesit hacminin hesaplanmamasıdır. Bu değer, değişkenliği ya da hatayı ortadan kaldırmak mümkün olmadığından, örnekleme metodları kullanılırken tahminlerde istenilen hassasiyeti elde etmek için yeterli sayıda örneklem üzerinde çalışmak için yer almaktadır (Kristiansen ve Nyengaard, 2012).

Cavalieri prensibini kullanan araştırmacılar, elde ettikleri sonuç doğrultusunda bir CE değerine sahip olmaktadır. Bu değer, kesit örnekleme ile nokta sayım cetvelindeki nokta yoğunluğu sayesinde anlamlı bir sonuç ortaya koymaktadır. Gundersen ve Jensen (1987) Cavalieri prensibi için bir CE tahmin formülü geliştirmiştir. Bu değer bulunması için bir takım hesaplamalar yapmak gerekmektedir. (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

$$\text{Noise} = 0,0724 \times \left(\frac{b}{\sqrt{a}} \right) \times \sqrt{n \times \sum P}$$

Şekil 1.14. Cavalieri metodunda Noise ile ifade edilen değerin denklemi (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

Noise ile ifade edilen eşitlik, çalışılacak olan yapının karmaşıklığını anlamak için kullanılmaktadır. (b/\sqrt{a}) , hata katsayısını hesap etmekte kullanılan ve dokunun boyutsuz şeklinin katsayısını; n, kullanılan kesit sayısını ve $\sum P$, kesitlerde sayılan toplam nokta sayısını ifade etmekte olup sözü edilen ifadeler Şekil 1.14'teki denklemde verilmiştir. (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

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

Şekil 1.15. Cavalieri metodunda örnekleme sisteminin varyansına ulaşılan denklem (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

Var_{SRS} sistematik rastgele örneklemede kullanılan toplam alanın varyansını belirtmektedir. A, B ve C değerleri çizelge 1.1'de belirtilen, kesitlerde sayılan nokta sayıları üzerinden hesaplanan ve sonunda sütunların toplam değerlerini yansıtan ifadelerdir (Şekil 1.15) (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

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

Şekil 1.16. Cavalieri metodunda toplam varyansı hesaplama denklemi (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

Bu iki değer toplandığından (Şekil 1.16), CE aşağıda belirtilen formül ile hesaplanmaktadır (Şekil 1.17) (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

$$CE \left(\sum P \right) = \frac{\sqrt{\text{Total Var}}}{\sum P}$$

Şekil 1.17. Cavalieri metodunda hata katsayısının elde edilme denklemi (Şahin ve ark., 2003 ve West ve ark., 1991).

Çizelge 1.1. Tavuğa ait bir intumescentia cervicalis'in substantia grisea üzerinde yapılan CE hesaplama örneği. P_i ; ilgili kesite ait sayımı yapılan nokta. A, B ve C ilgili sütunun toplam değerleri.

Kesit numarası	Sayılan nokta sayısı	P_i	$P_i \times P_i$	$P_i \times P_{i+1}$	$P_i \times P_{i+2}$
1	10	10	100		
2	10	10	100	100	
3	12	12	144	120	120
4	15	15	225	180	150
5	9	9	81	135	108
6	13	13	169	117	195
7	14	14	196	182	126
8	12	12	144	168	156
9	17	17	289	204	238
10	15	15	225	255	180
11	13	13	169	195	221
12	16	16	256	208	240
13	14	14	196	224	182
14	14	14	196	196	224
15	14	14	196	196	196
16	16	16	256	224	224
17	19	19	361	304	266
18	16	16	256	304	256
19	23	23	529	368	437
20	23	23	529	529	368
21	22	22	484	506	506
22	27	27	729	594	621
23	26	26	676	702	572
24	29	29	841	754	783
25	35	35	1225	1015	910
26	30	30	900	1050	870
27	31	31	961	930	1085
28	29	29	841	899	870
29	26	26	676	754	806
30	28	28	784	728	812
31	28	28	784	784	728
32	25	25	625	700	700
33	22	22	484	550	616
34	18	18	324	396	450
35	21	21	441	378	462
36	16	16	256	336	288
37	14	14	196	224	294
38	16	16	256	224	256
39	12	12	144	192	168
40	14	14	196	168	224
Toplam	764	764	A=16440	B=16093	C=15908

1.5.6. Stereoloji Çalışmalarında Kullanılan Araçlar

Stereoloji çalışmalarında hesaplanacak olan değer in doğru ve düzenli olarak elde edilebilmesi için bir takım araçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bir organın ya da dokunun mikroskop altında incelenebilmesi ve sonrasında bu dokuda ölçüm yapabilmesi için genellikle küçük örnekler kullanılmaktadır. Eğer alınan bu örnekler örnekleme kurallarına uygun şekilde elde edilmişlerse, ana yapıdan bu şekilde seçilmiş olan küçük parçalardan, istenilen niceliğin güvenilir bir hesaplamasını elde etmek mümkün olmaktadır (Canan ve ark., 2004).

Makroskobik olarak büyük hacimli organların hesaplama yapılabilecek küçüklüğe getirilmesinde kalın dilimleyici, doku dilimleyici ya da parçalama bıçağı kullanılmaktadır. Bu aletler hem iş gücünden hem de zamandan tasarruf etmekte oldukça yararlıdır. Sistematik rastgele örneklemeye de uygun olarak dokuları paralel eş dilimlere ayırırlar (Canan ve ark., 2002a; Canan ve ark., 2004 ve Şahin ve ark., 2001).

Makroskobik örneklerde olduğu kadar mikroskobik örneklerde de bir takım yardımcı aletler kullanılmaktadır. Bunlardan bir tanesi verimli, kolay ve tekrarlanabilir bir şekilde istenilen taramayı sağlayan motorlu mikroskop tablasıdır. Bu alet çalışılacak yapının kesit görüntüleri üzerinde belli adım aralıklarıyla taramalar yaparak, örneklenen alanlar üzerinde, ilgilendiğimiz niceliği ölçmeyi sağlamaktadır. Günümüzde oldukça farklı türde, bu tip bilgisayar destekli mikroskop tablaları bulunmaktadır. Tümünün temel görevi, istenilen aralıklarla, örneğin görüntü alanlarının belli bir sıra içerisinde gözlenmesini sağlamaktır (Canan ve ark., 2004 ve Kristiansen ve Nyengaard, 2012).

Özellikle optik disektör ve optik parçalama gibi yöntemlerde kesit kalınlığının hassas bir biçimde ölçülmesi oldukça önemlidir. Dijital mikrokator adı verilen araç,

kullanılacak olan bilgisayar sistemine ve mikroskoba bağlanarak, görüntülenen kesitin içerisinde kaç mikrometre ilerlendiğini ölçen oldukça kullanışlı bir alettir. Günümüzde kullanılan mikrokatorlar 0.05 μm 'ye kadar hassasiyet gösterebilmektedir (Canan ve ark., 2002a; Canan ve ark., 2004 ve Kristiansen ve Nyengaard, 2012).

Tüm bu stereolojik çalışmaların hızlı ve etkin bir şekilde ilerleyebilmesi adına elbette ki gelişmiş bir bilgisayara ve bu bilgisayarda kullanılabilen bir analiz sistemine ihtiyaç duyulmaktadır (Canan ve ark., 2004). Stereolojik analiz sistemlerinin en ilgi çekici özellikleri; bilgisayar için oldukça uygun bir iş olan rastgele alan belirleme, bahsi geçen alanlarda adım adım ilerleme, veri depolama, analiz etme, görüntü alma ve görüntüyü işletme gibi zaman alıcı işleri, bilgisayar hızıyla yapmasıdır. Tüm bu algoritmaları hızlı ve hatasız işlemesi sebebiyle oldukça avantaj sağlamaktadır (Canan ve ark., 2002a ve Kristiansen ve Nyengaard, 2012).

İlk gelişmiş bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi, Danimarka'da bulunan Olympus firması tarafından H.J.G. Gundersen ile yapılan işbirliği sonucunda ortaya çıkarılmıştır. Günümüzde ise sıkça kullanılan bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemleri; Stereo Investigator-MicroBrightField, CAST Grid-Olympus, Stereologer, Digital Stereology Software-Kinetic Imaging, Q-Prodit-Leica'dır (Canan ve ark., 2004; Lykkegaard ve ark., 2008; Odacı ve ark., 2009 ve Ünal ve ark., 2011).

Tüm bu sistemler birbirinden farklı bir takım özelliklere sahip olsalar da, genel donanım itibarıyla bir takım standart bileşenleri içermektedir. Bunlar; bir araştırma mikroskobu, mikroskop üzerinde bilgisayar kontrollü bir motorlu tabla, uygun bir mikroskop kamerası, yüksek işlem güçlü bir bilgisayar, bilgisayarda yüksek kapasiteli bir canlı görüntü yakalama kartı, stereolojik analizler için uygun bir bilgisayar yazılımı ve mikrokator'dur. Bu tip sistemler, stereolojik yöntemlerin uygulanmalarını son derece hızlandırmakta, kullanıcı hatasını önemli ölçüde

sınırlama getirmekte, zaman ve iş gücünden büyük tasarruf sağlamakta ve yapılan çalışmanın güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini büyük oranda arttırmaktadır (Canan ve ark., 2004).

1.6. Mikroskopik Boyama Yöntemi

Merkezi sinir sistemi organlarının mikroskopik görüntülerini elde etmek amacıyla farklı tip boyalar ile boyanması uzun yıllardır uygulanmaktadır. İlerleyen zaman boyunca uygulanan yöntemlerde değişik tespit materyalleri kullanılarak, farklı yapıdaki boyaların sinir hücreleri üzerinde ne gibi değişiklikler yarattığı incelenmiştir. Bu zaman zarfında boyama yöntemleri, yeni tekniklerin geliştirilmesi ile hem lisans öğrenci eğitimi düzeyinde hem de lisansüstü deneysel çalışmalarda sürdürülmektedir (Deb ve Francis, 1960; Duerstock ve ark., 2003; Larsen, 1998; Peng ve ark., 2011; Shibata ve ark., 2012; Siriphorn ve ark., 2012 Turgut ve ark., 2007 ve Walloe ve ark., 2011).

Medulla spinalis'in farklı tip boyama yöntemlerinde, farklı dokularının boya aldığı ve bu sebeple birbirinden değişik sonuçlar ortaya koyduğu bilinmektedir. Uzun yıllardır substantia alba ve substantia grisea'nın birbirinden ayrılabilmesi amacıyla uygulanan farklı boyama yöntemleri çalışılmıştır. Bu boyama yöntemlerinin arasında modifiye May-Grunwald Giemsa (MMGG), hematoxylin-eosin (H&E), May-Grunwald-Giemsa (MGG), Masson'un trikrom (MT) boyası, cresyl violet boyama, Argirofilik çekirdekçik düzenleme bölgeleri boyası (AgNORs), ve Kluver Barrera (KB) ilk başta gelenler olarak sayılabilir (Bolat ve ark. 2012 ve Deb ve Francis, 1960)

Günümüzde artık sinir sistemi üzerine yapılan araştırmalarda niteliksel verilerin yerini niceliksel veriler (sayı, hacim, bağlantılık ve farklı birleşenlerin oranları) almaktadır. Sayısal verilerin, beyin ve birleşenleri için daha tanımlayıcı

bilgiler içerdiği görülmektedir (Kristiansen ve Nyengaard, 2012 ve Larsen, 1998). Sinir sistemi yapılarının niceliksel verileri; hastalıklarda (Peng ve ark., 2011), travmalarda (Kristiansen ve Nyengaard, 2012; Odacı ve ark., 2003 ve Sastre-garriga ve ark., 2005), kimyasal ve genetik mühendislikte incelenen beyinin uygulamalar sonrası nasıl tepki verdiği nöropatolojik araştırmalarda oldukça önemli görülmektedir (Kristiansen ve Nyengaard, 2012 ve Peng ve ark., 2010). Atrofi'de, axon kaybı iyi bir belirteçtir. Nitekim atrofının miktarını belirlemek oldukça zordur. Çünkü bu ölçümler kısmi, dolaylı ve genel teknikler olup beyinin belirli bir bölgesine odaklanamamaktadır. Yeni gelişen tekniklerden biri olan stereoloji sayesinde gri ve beyaz cevher hacimleri ayrı ayrı hesaplanabilmektedir (Sastre-Garriga ve ark., 2005). Beyinin yanı sıra omurilik üzerinde de çalışmalar yaygın olarak yapılmaktadır. Sinir sistemi gri ve beyaz cevheri üzerine insanlarda (Chadwick ve ark., 2010 ve Fornito ve ark., 2009), memeli hayvanlarda (Bahar ve ark., 2013 ve Bolat ve ark., 2013), deney hayvanlarında (Peng ve ark., 2011 ve West ve ark., 1991), ve kanatlılarda (Nurcombe ve ark., 1991) çalışmalar bulunmaktadır.

Bu çalışmada, medulla spinalis'in bir bölümünü içeren intumescentia cervicalis bölgesinin, iki farklı tür olan tavuk ve bildircında hacimsel karşılaştırılması yapılmıştır. Intumescentia cervicalis bölgesinin seçilmesinin ana sebebi, plexus brachialis'i oluşturacak olan sinirlerin bu bölgeden başlangıç almasıdır. Bu sayede kanadını iyi kullanan (uçabilen) ile kullanmayan (uçamayan) kanatlı hayvanlar arasındaki intumescentia cervicalis bölgesine ait substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacimsel değerlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Seçilmiş olan intumescentia cervicalis bölgesinin hem tavuk hem de bildircında makroskobik bulguları alınmıştır. Stereolojik metodlar ile hesaplanan intumescentia cervicalis'e ait substantia grisea ve substantia alba bölgelerinin medulla spinalis'in hacmine olan oranları tespit edilmiş ve iki tür arasında karşılaştırma yapılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Materyali

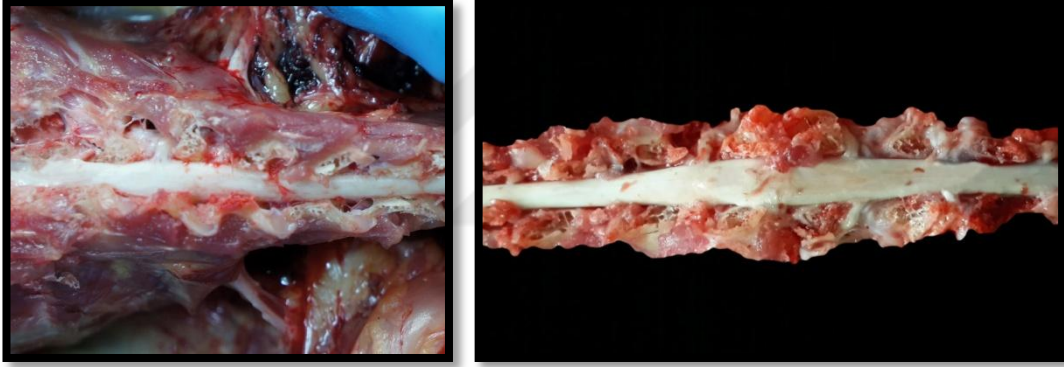
Çalışmanın materyalini yerel üreticiden temin edilen ergin Leghorn ırkı 10 adet tavuk ($2609,08 \pm 11,015$ g) ve 10 adet dişi Japon bildircini (*Coturnix coturnix japonica*) ($161,48 \pm 1,062$ g) oluşturdu. Kanatlılara herhangi bir işlem uygulanmadan önce yüksek çözünürlüklü tezgâh ölçeği (Kern FKB, Stuttgart, Almanya) ile tartıldı. Ölçümü yapılan kanatlıların vücut ağırlıkları gram cinsinden kaydedildi. Hayvanlar üzerinde yapılan tüm işlemler Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan, protokol onayı (53184147-50.04/58-10236) doğrultusunda gerçekleştirilerek, ağrı, acı, stres ve bunun gibi uygun olmayan rahatsızlıkların en aza indirilmesi temel prensip alınarak uygulandı. Hesaplaması yapılan istatistikî verileri etkilemeden, kullanılması gereken minimum sayıda canlı ile çalışıldı.

2.2. Materyalin Hazırlanması

Kanatlılar öncelikli olarak ketamin hidroklorid (50 mg/kg, i.m.) enjeksiyonu ile genel anesteziye alındı. Sonrasında ötenazi için sodyum pentobarbital (150 mg/kg, i.v.) enjeksiyonu yapıldı. Kanatlılara yapılacak olan işlemler öncesinde columna vertebralis'i ortaya çıkartmak için hayvanlar göğsü yere gelecek şekilde (pron pozisyonu) yatırıldı. Bu işlemler sırasında ve öncesinde kanatlılara hiçbir tespit edici madde verilmedi.

2.3. Medulla spinalis'in Makroskopik Olarak Çıkarılması, Tespiti ve Örneklenmesi

Pron pozisyonuna alınan kanatlıların medulla spinalis'inde intumescentia cervicalis bölgesini ortaya çıkarmak amacıyla tahmini olarak bu bölgenin biraz daha gerisinden ve ilerisinden sırayla deri, kaslar ve çevresinde bulunan dokular mikromakas, mikropens, bistüri vb. aletler yardımı ile uzaklaştırıldı. Vertebra'ların ortaya çıkmasının ardından el motoru (Dremel 4000, Hollanda) ile intumescentia cervicalis bölgesindeki omurların arcus vertebrae'ları (laminektomi) vücuttan uzaklaştırıldı. Dikkatlice yapılan diseksiyon ile medulla spinalis ve spinal sinirlerin başlangıç yerleri görünür hale getirildi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Tespit yapılmadan önce uygulanan diseksiyon sonrası intumescentia cervicalis'in omurga içerisinde görüntüsü.

Diseksiyonun ardından, makroskopik ölçümlerin alınacağı ve sonrasında stereolojik işlemlerin uygulanacak olduğu intumescentia cervicalis bölgesinin vücuttan uzaklaştırılma işlemine geçildi. Intumescentia cervicalis'in alınması için öncelikle yapılmış çalışmalar incelenerek bir protokol oluşturuldu (Walloe ve ark., 2011). Ardından bu protokol her hayvana sırasıyla uygulandı. Bu protokol; intumescentia cervicalis bölgesindeki for. intervertebrale'lerden çıkan spinal sinirlerin en cranial ve en caudal'deki temel alınarak belirlendi. Bunun ardından plexus brachialis'i oluşturan spinal sinirlerin (intumescentia cervicalis bölgesi), tavukta en cranial'deki 12. ile 13. spinal sinirlerin çıkış yerlerinin orta noktası

başlangıç noktası olarak belirlenirken, en caudal'deki 17. ile 18. spinal sinirlerin çıkış yerlerinin orta noktası ise bitiş bölümü olarak kabul edildi. Bildırında ise en cranial'deki 11. ile 12. spinal sinirlerin çıkış yerlerinin orta noktası başlangıç yeri seçilirken, en caudal'deki 15. ile 16. spinal sinirlerin çıkış yerlerinin orta noktası ise bitiş yeri olarak belirlendi.

Intumescentia cervicalis bölgesinin ağırlığı, tezgâh ölçeği (Radwag WPS 600/c/2, Polonya) ile tartıldı. Intumescentia cervicalis'in cranio-caudal uzunluğu ve en geniş olduğu orta noktasının uzunluğu dijital kumpas (Mitutoyo) ile ölçüldü. Ardından Archimedes prensibi kullanılarak hacmi ölçülmek istenen dokuların taşıdığı su miktarı 0,02 ml hassaslıktaki mikro pipetler ile belirlenip kayıt altına alındı (Şekil 2.2).



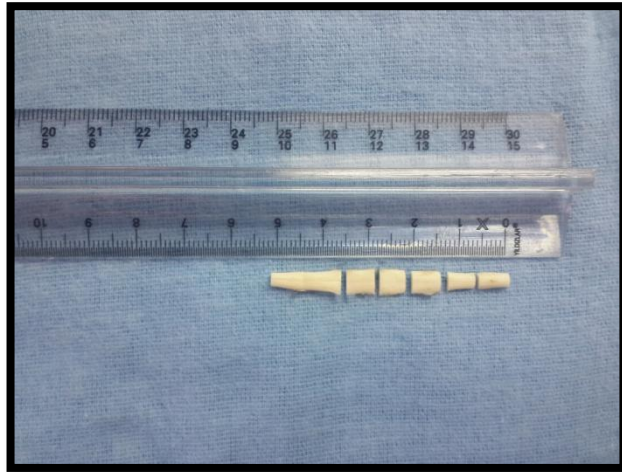
Şekil 2.2. Intumescentia cervicalis bölgesinin makroskobik ölçümleri, A- Bildırın intumescentia cervicalis'inin latero-lateral genişliği, B- Bildırın intumescentia cervicalis'inin cranio-caudal uzunluğu, C- Hacim, D- Ağırlık.

Intumescentia cervicalis bölgesinin ölçümleri yapıldıktan sonra dokular %10'luk tamponlu formalin solüsyonu (Dobrin, 1996) içerisinde oda sıcaklığında bekletildi. Gün aşırı dokuların solüsyonu yenilenmek kaydı ile 15 gün boyunca formalin sıvısı içerisinde saklandı. Bu süre sonunda dokulardan önceden alınmış olan ölçümler tekrarlandı. Bu sayede formalin medulla spinalis üzerinde yaptığı ilk büzüşme katsayısı hesaplandı. Hesaplanan büzüşme katsayısı Şekil 2.3'te belirtilen denklem ile belirlendi (Schned ve ark., 1996).

$$\% \text{ büzüşme} = \frac{(\text{Tespit öncesi} - \text{Tespit sonrası})}{\text{Tespit öncesi}}$$

Şekil 2.3. Büzüşme katsayısı hesaplamalarında kullanılan denklem (Schned ve ark., 1996).

Histolojik doku takibinin uygulanması ve sonrasında da Cavalieri prensibi ile hacim hesaplanması için medulla spinalis'ler birbirine paralel bıçakların monte edilmiş olduğu doku dilimleyicisi kullanılarak altı mm uzunluğunda eşit parçalara bölündü (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Intumescentia cervicalis bölgesinin histolojik örnekleme için eşit parçalara dilimlenmesi.

2.4. Medulla spinalis'in Histolojik Olarak Örneklenmesi ve Boyanması

Medulla spinalis'in intumescentia cervicalis bölgesine ait dokular, histolojik boyama yapılmadan önce cranio-caudal yönelimine dikkat edilerek önce vakumlu doku takip cihazı (Leica TP1020) ile bir seri alkolden geçirildi (Şekil 2.5). Vakumlu doku takip cihazında dokulara uygulanmış olan rutin süreç sırası ile çizelge 2.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Eş dilimlere ayrılmış dokunun vakumlu doku takip cihazında uygulanan rutin işleyişi ve süreleri.

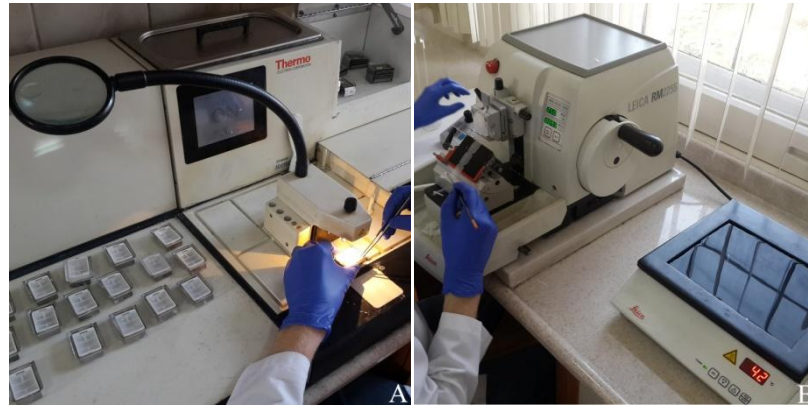
Sıra	Uygulanan madde	Uygulama süresi
1	Su	1 saat
2	Su	1 saat
3	%50 alkol	1 saat
4	%70 alkol	1 saat
5	%96 alkol	1 saat
6	%96 alkol	1 saat
7	%100 alkol	1 saat
8	%100 alkol	1 saat
9	Xylol	1 saat
10	Xylol	1 saat
11	Parafin 65°C	1 saat
12	Parafin 65°C	1 saat



Şekil 2.5. A-Dokuların vakumlu doku takip cihazındaki B-Kesitlerin etüvdeki bekletme aşaması.

Doku takibi aşamasından sonra dokular cranio-caudal yönelimine dikkat edilerek ve doku bloklama cihazı (Thermo® Electron Corporation Shandon Histocentre 3) kullanılarak parafine gömüldü. Parafine gömme işleminin bitmesi ile elde edilmiş bloklar buzdolabında kesit alma işlemine kadar bekletildi. Doku bloklarından rotary mikrotom (Leica® RM 2245) ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı (Şekil 2.6).

Hacim hesaplaması sırasında tavuğa ait seri kesitler sistematik rastgele örnekleme kurallarına uygun olarak seçildi ve her 200 kesitten biri, bıldırcına ait seri kesitlerden ise sistematik rastgele örnekleme kurallarına uygun olarak seçilen her 100 kesitten biri kullanıldı. Seçilen ilk kesitin rastgele olarak belirlenilmesine dikkat edildi. Substantia grisea ve substantia alba hacimlerinin toplamı ile de dokunun tüm hacmi hesaplandı. Örnekleme sonucunda her bir intumescencia cervicalis'ten tavuklarda 40 – 42 kesit, bıldırcınlardan ise 35 – 36 sayıda kesit elde edildi. Seri kesitler içerisinde boyama protokolü ile işlenecek olanlar ardı sıra (Leica® HI 1210) elde edilip adhesivli lam üzerine alındı. Bu kesitler 36 saat boyunca 54°C etüvde (Nüve® EN 055) bekletildi (Şekil 2.5).



Şekil 2.6. A-Dokuların parafine gömme B-Doku bloklarından seri kesit elde etme aşaması.

Kesitler stereolojik inceleme için cresyl violet ile boyandı (Leica® Autostainer XL). Doku boyamaları için kullanılacak olan boyanın oranı, 250 ml distile su ve

0,312 mg cresyl violet (Cresyl violet (acetate), Merck) olarak belirlendi. Boya yönteminin, literatürde belirtilenin aksine bekleme süreleri üzerinde modifiye yapıldı (Bancroft ve Gamble, 2002). Kesitlere, boyama işlemi sırasında çizelge 2.2’de belirtildiği aşama ve süreler uygulandı.

Çizelge 2.2. Boyama yönteminin uygulama şekli.

Sıra	Uygulanan madde	Uygulama süresi
1	Xylol	10 dakika
2	Xylol	10 dakika
3	%100 alkol	5 dakika
4	%100 alkol	5 dakika
5	%96 alkol	3 dakika
6	%70 alkol	3 dakika
7	Distile su	5 saniye
8	Cresyl violet	4-6* dakika
9	Distile su + 2 damla asetik asit	1,5 dakika
10	%96 alkol	3 dakika
11	%100 alkol	3 dakika
12	%100 alkol	3 dakika
13	Xylol	3 dakika
14	Xylol	3 dakika

*: Sırasıyla, bıldırcın ve tavuk kesitlerinin boyada tutulma süresi.

Boyama işlemi takiben, entellan ile kapatılan lameller stereolojik işlemler için kullanıldı (Şekil 2.7).

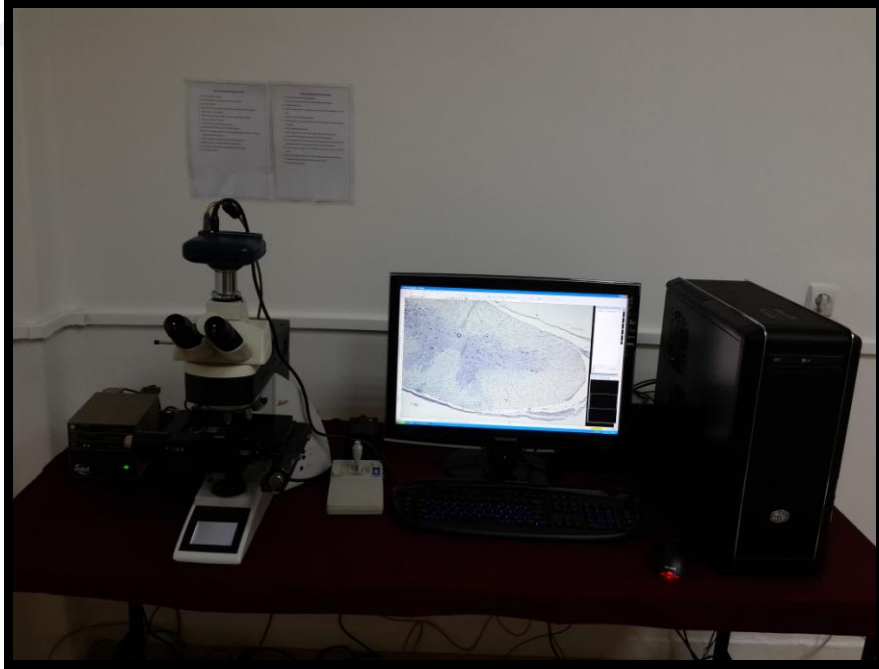


Şekil 2.7. A- Dokuların boyama B- Dokuların kapatma aşaması.

2.5. Stereolojik Analiz

2.5.1. Stereolojik Çalışma Yeri

Stereolojik çalışmalar için, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda bulunan yüksek işlemci hızına sahip bilgisayar (Pentium Inter® Core™ i5 CPU 750) ve bilgisayara uyumlu stereoloji programı (Stereo Investigator 10.50 32.bit, MacroBrightField, Inc.) kullanıldı. Önceden hazırlanmış kesitler, bilgisayara bağlı olan ışık mikroskobu (Leica® DM 4000B), mikroskoba bütünleşmiş dijital kamera (Macro Bright Field® CX9000) ve bilgisayar kontrollü otomatik numune kızıağı (Prior, Rockland, MA, USA) üzerinde görüntüledi. Cavalieri metoduna uygun olarak hacim hesaplaması 4x objektif kullanılarak hesaplandı (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Cavalieri yönteminin uygulandığı stereolojik çalışma platformu.

2.5.2. Intumescentia cervicalis'in Hacim Hesaplaması

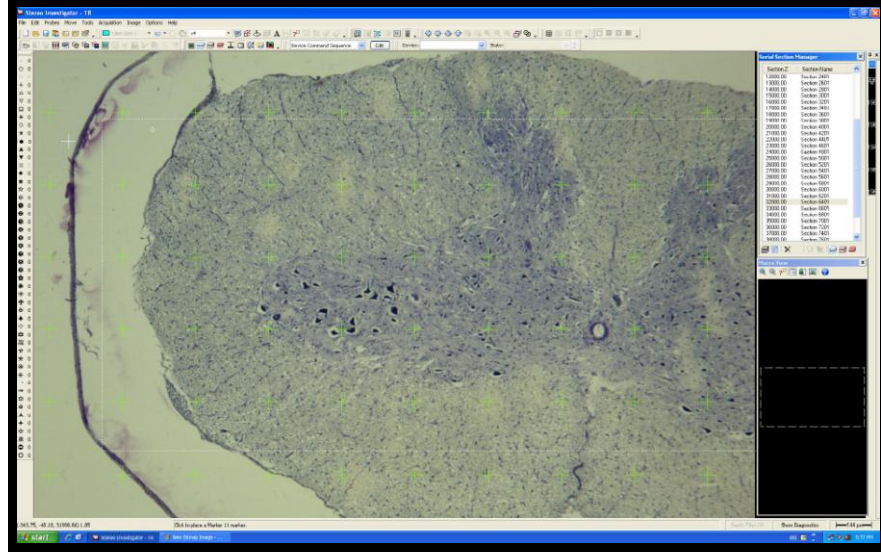
Cavalieri prensibi ile tavuk ve bildircına ait intumescentia cervicalis bölgesinde substantia grisea ve substantia alba'ya ait hacim değerleri ayrı ayrı hesaplandı. Hacim hesaplaması yapılırken Stereo-Investigator programından yararlanıldı (Sürüm 11.0, MBF Inc.). Substantia grisea ve substantia alba bölgelerinin hacim değerlerinin toplamı ise intumescentia cervicalis'in hacmi olarak belirlendi. Cavalieri metodu kullanılarak değerlendirilen hacim hesaplaması aşağıda verilen formül ile gerçekleştirildi (Şekil 2.9).

$$V = A_p \times m \times \bar{t} \times \left(\sum_{i=1}^n P_i \right)$$

Şekil 2.9. Cavalieri yönteminde hacim hesaplaması için kullanılan denklem (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

Denklemden; "V" ölçülen hacmi, "m" kesit değerlendirme aralığını, "A_p" nokta sayım cetvelinde yer alan bir noktanın alanını, "T̄" ortalama kesit kalınlığını, "P_i" kesitlerde istenilen bölgeye gelen nokta sayısını temsil etmektedir (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

Kesitlerin incelenmesi sırasında Cavalieri yöntemi ile hacim hesaplaması için nokta sayım cetveli kullanılarak substantia alba ve substantia grisea alanları elde edildi. Tavukta bir noktanın bir diğer noktaya olan uzaklığı 300 µm olarak belirlenirken, bildircında bu değer 200 µm olarak belirlendi ve ölçümler yapıldı. Her bir noktanın temsil ettiği alanlar (A_p) ise sırasıyla 90 000 µm² ve 40 000 µm² olarak hesaplandı (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Bir medulla spinalis kesiti üzerine yerleştirilmiş olan nokta sayım cetveli örneği.

Nokta sayım cetveli hesaplama sırasında kesitler üzerine rastgele yerleştirildi ve substantia grisea ve substantia alba bölgelerinin hacimlerinin ayrı ayrı hesaplaması yapılırken, kullanılan stereo investigator programında farklı işaretlemeler belirlendi ve istenilen bölgeler üzerine denk gelen bu işaretler seçilerek tüm kesitlerde değiştirilmeden uygulandı.

2.5.3. Substantia alba ve Substantia grisea Bölgelerinin Hacim Fraksiyon Değerlerinin Hesaplanması

Bir yapının, içinde bulunan başka bir yapıya olan hacimsel oranı oldukça yaygın kullanılan bir parametredir. Bu veri de hacim fraksiyon değeri olarak belirtilmektedir (Howard ve Reed, 2005 ve Turgut ve ark., 2007).

$$V_{(x,y)} = \frac{\text{X bölümünün Y bölümü içerisindeki hacmi}}{\text{Y bölümünün hacmi}}$$

Şekil 2.11. Y’de, X bölgesinin hacim fraksiyon ölçüm denklemi (Howard ve Reed, 2005).

Şekil 2.11’de belirtilen formüle göre “X”; intumescentia cervicalis bölgesinde yer alan substantia alba ya da substantia grisea bölgelerinin hacmini, “Y” ise intumescentia cervicalis bölgesinin hacmini ifade etmektedir (Sastre-Garriga ve ark., 2005).

$$V_{(substantia\ alba, intumescentia\ cervicalis)} = \frac{\text{Substantia alba bölümü hacmi}}{\text{Intumescentia cervicalis bölümünün hacmi}}$$

Şekil 2.12. Substantia alba’nın, intumescentia cervicalis bölgesindeki hacim fraksiyon ölçüm denklemi (Howard ve Reed, 2005).

Şekil 2.12’deki denklem kullanılarak tavuk ve bıldırcın’a ait intumescentia cervicalis bölümü içerisindeki substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri ayrı ayrı ölçüldü. Uçamayan bir kuş olan tavuk ile uçucu bir kuş olan bıldırcına ait ölçülen hacim fraksiyon değerlerinin karşılaştırılması yapıldı.

2.5.4. Hata Katsayısının Hesaplanması

Uygulanan stereolojik yöntemin güvenilirliğini görmek adına hata katsayısı (CE) hesaplandı. Çalışmada kullanılan tavuk ve bıldırcınların intumescentia cervicalis’lerine ait substantia alba ve substantia grisea hacimlerinin CE değerleri tek tek belirlendi. Bu değerlerin 0,05’i geçmemesine dikkat edildi. Aşağıda hacim hesaplamaları için kullanılan denklemler belirtildi.

$$[v] = t \times \left(k \times \sum_{j=1}^g a'_j - \max(a') \right)$$

Şekil 2.13. Cavalieri metodu ile hacim hesaplaması sırasında fazla görünme etkisini düzelten denklemi (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

$$A = \sum_{i=1}^n (Q_i^-)^2, B = \sum_{i=1}^{n-1} (Q_i^-)(Q_{i+1}^-), C = \sum_{i=1}^{n-2} (Q_i^-)(Q_{i+2}^-)$$

Şekil 2.14. Kovariogram değerlerinin belirlendiği denklem (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

$$\text{VAR}_{\text{SRS}} = \frac{3(A - \text{Nugget}) - 4B + C}{12}$$

Şekil 2.15. Sistematik rastgele örnekleme değişkenliğini belirleyen denklem (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

$$\text{Nugget} = 0,0724 \times \left(\frac{b}{\sqrt{a}}\right) \times \sqrt{n \sum_{i=1}^n P_i}$$

Şekil 2.16. Nokta sayım ile oluşan değişkenliği hesaplayan denklem (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

$$\text{CE} = \frac{\sqrt{\text{Total Var}}}{\text{Nugget}}$$

Şekil 2.17. Hata katsayısı belirleyen denklem (Garcia-Finana ve ark., 2003 ve Gundersen ve Jensen, 1987).

Yukarıda belirtilen Şekil 2.13, 2.14, 2.15, 2.16 ve 2.17'deki denklemlere göre hata katsayısı hesaplandı. Bu denklemlerde verilen; “[v]” hacim hesaplamasında fazla görünmeyi düzeltmek için kullanılan denkleme, “A B ve C” kovariogram değerlerine, “VAR_{SRS}” sistematik rastgele örnekleme değişkenliğine, “Nugget” nokta sayıma ait değişkenliğe, “ $\left(\frac{b}{\sqrt{a}}\right)$ ” şekil faktörüne, “CE” ise hata katsayısına karşılık gelmektedir.

2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma sırasında alınan ölçümler önemlilik testlerine geçilmeden önce veriler parametrik test varsayımlarından Shapiro Wilk ile normallik yönünden, Levene testi ile ise varyansların homojenliği yönünden kontrol edildi. Tavuk ve bıldırcında intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ağırlığının vücut ağırlığına oranı, Cavalieri metoduyla hesaplanan substantia grisea ile substantia alba fraksiyon hacim oranları ve cranio-caudal ile latero-lateral büzüşme değişkenliklerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında student's t test kullanıldı. Tespit öncesi, tespit sonrası ve Cavalieri metoduyla ölçüm zaman dilimlerinde hacimsel değişimler ile intumescentia cervicalis'in cranio-caudal ve latero-lateral uzunlukları için ayrı ayrı olmak kaydıyla tespit öncesi ve tespit sonrası ölçüm zamanlarında gözlenen değişimlerin tavuk ve bıldırcındaki farklılığının değerlendirilmesinde, tekrarlı ölçümler için genel doğrusal modelleme yönteminden yararlanıldı. Tüm istatistiksel değerlendirmeler minimum %5 hata payı ile incelendi. Etkileşim terimlerinin anlamlı bulunduğu durumda, ileri aşama testi olarak simple effect analizinden yararlanıldı. Tüm istatistiksel analizler SPSS 14.01 paket programı ile yapıldı. İstatistiksel analizlerin değerlendirilmesinde $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmada tavuk ve bildırcında medulla spinalis'e ait intumescentia cervicalis bölgesinin substantia alba ve substantia grisea katmanlarının hacimleri, bunların tüm hacime göre oranları yani hacim fraksiyon değerleri hesaplandı ve karşılaştırıldı.

Tavuk ve bildırcın columna vertebralis'i üzerinde yapılan laminektomi işlemi sonucu ortaya çıkarılan medulla spinalis'in canalis vertebralis boyunca seyrettiği ve iki türde de memelilerde olduğu gibi önde intumescentia cervicalis denilen bir genişleme yaptığı gözlemlendi. Bu genişlemenin memelilerde olduğu gibi ön extremiteye gidecek olan sinirler düzeyinde bulunduğu görüldü. Tavuğun plexus brachialis'inin sırası ile 13, 14, 15, 16 ve 17. segmentlerden çıkan spinal sinirlerin ventral kolları tarafından şekillendirildiği gözlemlendi. Bildırcında ise plexus brachialis'in sırasıyla 12, 13, 14, 15. segmentlerden çıkan spinal sinirlerin ventral kolları tarafından oluşturulduğu belirlendi.

Tespit işlemi yapılmadan gerçekleştirilen diseksiyonda medulla spinalis'in thoracal bölgesini açmanın dokuların yumuşaklığından dolayı bir hayli güç olduğu fark edildi. Tavuğa ait intumescentia cervicalis bölümünün sonuna yaklaşıldıkça cavum epidurale'nin daraldığı gözlemlendi. Bildırcında bu bölgenin diseksiyonu daha kolay gerçekleştirildi. Tespitin, doku sertliğini arttırması sebebiyle tespit edilmemiş dokuya göre diseksiyonda oldukça kolaylık yarattığı belirlendi.

Tavukta ortalama vücut ağırlığı $2609,08 \pm 11,015$ g olarak ölçüldü. Diseksiyon sonucunda tavuğa ait intumescentia cervicalis bölgesinin tespit öncesi ağırlığı ortalama $0,317 \pm 0,013$ g, tespit sonrası ağırlığı $0,336 \pm 0,011$ g olarak tartıldı (Çizelge 3.1). Tavukta intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ağırlığının vücut ağırlığına oranı Çizelge 3.2'te verilmiştir.

Bıldırcının ortalama vücut ağırlığı $161,48 \pm 1,062$ g, intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ağırlığı $0,052 \pm 0,004$ g, tespit sonrası ağırlığı $0,057 \pm 0,005$ g olarak tartıldı (Çizelge 3.1). Bıldırcına ait intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ağırlığının vücut ağırlığına oranı çizelge 3.2'te belirtilmiştir. Tavuk ve bıldırcına ait tespit öncesi intumescentia cervicalis ağırlıklarının vücut ağırlıklarına oranları incelendiğinde, bıldırcından elde edilmiş verilerin tavuğunkinden fazla olduğu görüldü ve farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,001$).

Çizelge 3.1. Tavuk ve bıldırcında vücut ağırlığı ile intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ve sonrası ağırlıkları (Aritmetik ortalama \pm SS).

Tür	Canlı sayısı	Vücut ağırlığı (g)	Tespit öncesi intumescentia cervicalis ağırlığı (g)	Tespit sonrası intumescentia cervicalis ağırlığı (g)
Tavuk	10	$2609,08 \pm 11,015$	$0,317 \pm 0,013$	$0,336 \pm 0,011$
Bıldırcın	10	$161,480 \pm 1,062$	$0,052 \pm 0,004$	$0,057 \pm 0,005$

Çizelge 3.2. Tavuk ve bıldırcında intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ağırlığının vücut ağırlığına oranları.

		Intumescentia cervicalis ağırlığının vücut ağırlığına oranı		
Tür	Canlı Sayısı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	p
Tavuk	10	0,01215	0,00050	<0.001
Bıldırcın	10	0,03221	0,00267	

Tavuk ve bıldırcına ait intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ve tespit sonrası cranio-caudal uzunluğuna ait değerleri çizelge 3.3'te verilmiştir. Şekil 3.1'de belirtildiği gibi, tespit öncesi ve sonrası dokuların cranio-caudal uzunluğundaki değerlerde düşme belirlendi ve veriler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,001$) (Çizelge 3.4).

Tavuk ve bıldırcına ait intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ve tespit sonrası latero-lateral en geniş olduğu bölüme ait değerleri çizelge 3.3'te belirtilmiştir. Şekil 3.2'de gösterildiği gibi, tespit öncesi ve sonrası dokuların latero-lateral en geniş

bölgesinde ölçülen değerlerde azalma belirlendi ve veriler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.001$) (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.3. Tavuk ve bildırcın intumescentia cervicalis'inin tespitten önce ve sonraki uzunluk değerleri.

	Canlı sayısı	Tavuk		Bildırcın	
		Aritmetik ortalama	Standart sapma	Aritmetik ortalama	Standart sapma
Tespit öncesi intumescentia cervicalis uzunluğu (mm)	10	50,66	0,41	20,29	0,46
Tespit sonrası intumescentia cervicalis uzunluğu (mm)	10	44,35	0,67	18,09	0,21
Tespit öncesi intumescentia cervicalis en geniş yerinin uzunluğu (mm)	10	6,01	0,27	5,64	0,33
Tespit sonrası intumescentia cervicalis en geniş yerinin uzunluğu (mm)	10	3,02	0,14	2,8	0,1

Çizelge 3.4. Tavuk ve bildırcına ait tespit öncesi ve sonrası cranio-caudal uzunluklar üzerinde hesaplanan istatistiksel veriler.

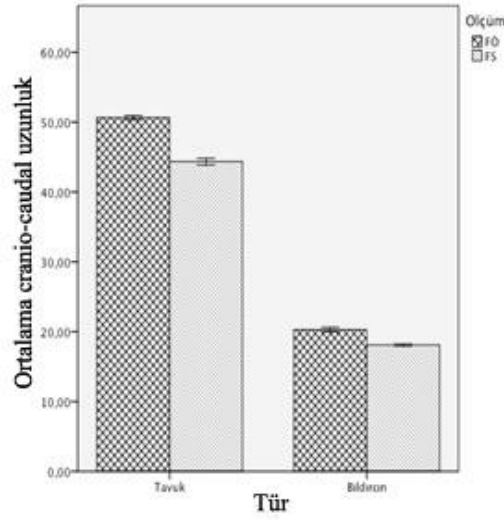
Etki			KT	F	sd	p
Zaman			180,498	2234,456	1	<0.001
Zaman*Tür			42,251	523,041	1	<0.001
Çoklu Karşılaştırma						
Tespit öncesi	Tavuk	Bıldırcın				<0.001
Tespit sonrası	Tavuk	Bıldırcın				<0.001
Çoklu Karşılaştırma						
Tavuk	Tespit öncesi	Tespit sonrası				<0.001
Bıldırcın	Tespit öncesi	Tespit sonrası				<0.001
Hata			1,454		18	

KT: Kareler toplamı, sd: serbestlik derecesi

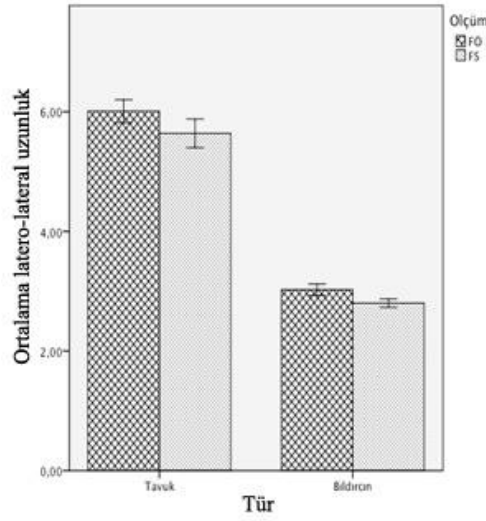
Çizelge 3.5. Tavuk ve bildırcına ait tespit öncesi ve sonrası latero-lateral uzunluklar üzerinde hesaplanan istatistiksel veriler.

Etki			KT	F	sd	p
Zaman			,882	159,702	1	<0.001
Zaman*Tür			,053	9,648	1	0.006
Çoklu Karşılaştırma						
Tespit öncesi	Tavuk	Bıldırcın				<0.001
Tespit sonrası	Tavuk	Bıldırcın				<0.001
Çoklu Karşılaştırma						
Tavuk	Tespit öncesi	Tespit sonrası				<0.001
Bıldırcın	Tespit öncesi	Tespit sonrası				<0.001
Hata			,099		18	

KT: Kareler toplamı, sd: serbestlik derecesi



Şekil 3.1. Tavuk ve bildırcında tespit öncesi ve tespit sonrası intumescentia cervicalis'in ortalama cranio-caudal uzunluğundaki değişimi gösteren grafik.



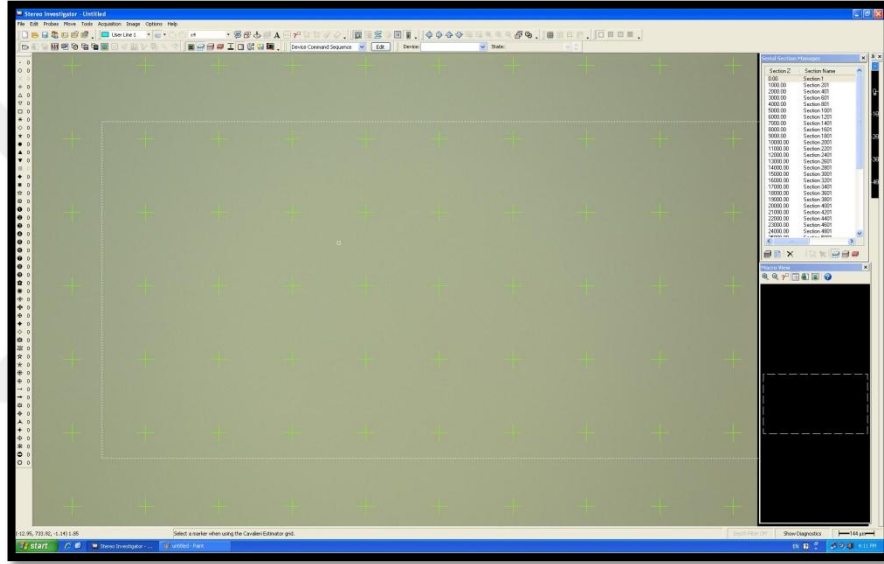
Şekil 3.2. Tavuk ve bıldırcında tespit öncesi ve tespit sonrası intumescentia cervicalis'in ortalama latero-lateral uzunluğundaki değişimi gösteren grafik.

Dokulardan elde edilmiş tespit öncesi ve tespit sonrası veriler incelendiğinde, intumescentia cervicalis'in cranio-caudal uzunluğu ve latero-lateral genişliği üzerinde farklı büzüşme oranlarına maruz kaldığı belirlendi. Tavuk ve bıldırcında elde edilen büzüşme değerleri çizelge 3.6'da verilmiştir. Tespit öncesi ve sonrası cranio-caudal uzunlukta elde edilen büzüşme oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($p = 0,003$). Dikkate alınan bir diğer büzüşme değeri ise intumescentia cervicalis'in en geniş olan orta noktasında değerlendirildi. Tespit öncesi ve sonrası latero-lateral en geniş bölümdaki büzüşme oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p = 0,246$).

Çizelge 3.6. Tavuk ve bıldırcın intumescentia cervicalis'inin tespitten önce ve sonraki uzunluk değerlerinin büzüşme oranları.

		Hayvan sayısı	Aritmetik ortalama	Standart sapma	p
Intumescentia cervicalis cranio-caudal uzunluğunun büzüşme oranı (%)	Tavuk	10	12,45	0,99	0.003
	Bıldırcın	10	10,79	1,12	
Intumescentia cervicalis latero-lateral genişliğinin büzüşme oranı (%)	Tavuk	10	6,19	2,30	0.246
	Bıldırcın	10	7,35	2,02	

Tavuk ve bıldırcında intumescentia cervicalis bölgesinin Archimedes yöntemi ile hem tespit öncesi hem de tespit sonrası hacimleri belirlendi. Elde edilen bu değerler stereolojik yöntemlerden Cavalieri prensibi ile de hesaplanarak dokunun hacmi üç farklı evrede karşılaştırıldı (Şekil 3.4). Tavukta dokuya hiçbir fiksatif verilmeden önceki ortalama hacmi $510 \pm 24,04 \text{ mm}^3$ ölçüldü. Aynı dokunun tespit işlemi sonrasındaki ortalama hacmi ise $310 \pm 10,54 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandı. Bıldırcında tespit öncesi ölçülen ortalama hacim değeri $86 \pm 10,75 \text{ mm}^3$, dokunun tespit işlemi sonrasındaki hacmi $50 \pm 3,33 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandı (Çizelge 3.7).



Şekil 3.3. Bıldırcında Cavalieri metodunda kullanılan noktalı alan ölçüm cetveli örneği (İki nokta arası uzaklık $200\mu\text{m}$).

Cavalieri metodu ile yapılan ölçümler sonrasında tavuk ve bıldırcına ait intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacimleri ayrı ayrı hesaplandı. Tavuk intumescentia cervicalis'inin substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin ortalama hacmi sırasıyla $190,47 \pm 4,5$ ve $72,99 \pm 2,4 \text{ mm}^3$ olarak belirlendi (Şekil 3.5) (Çizelge 3.9). Tavuğa ait ortalama intumescentia cervicalis hacmi ise $263,46 \pm 6,29 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandı (Çizelge 3.7). Bıldırcın intumescentia cervicalis'inin substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin ortalama hacmi sırasıyla $28,61 \pm 1,49$ ve $15,11 \pm 0,96 \text{ mm}^3$ olarak ölçüldü (Şekil 3.6)

(Çizelge 3.9). Bildircına ait intumescentia cervicalis ortalama hacmi ise $43,72 \pm 2,08$ mm^3 olarak hesaplandı (Çizelge 3.7).

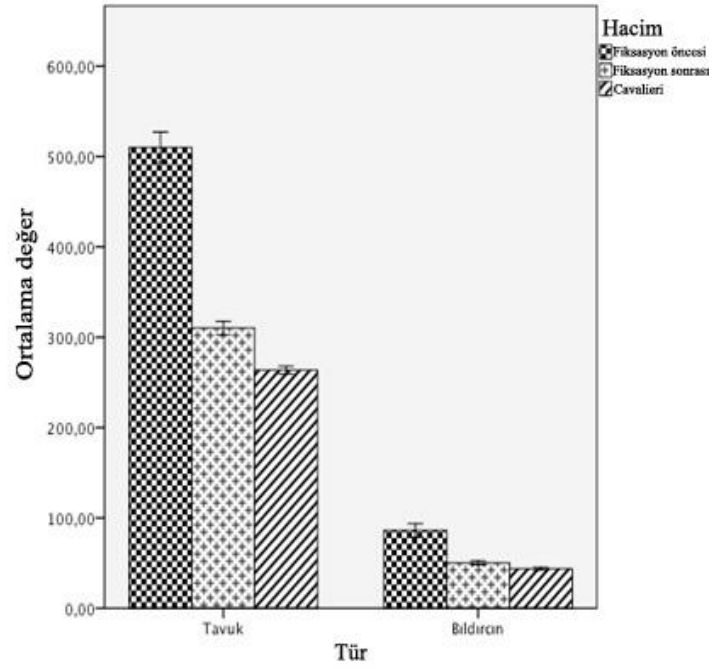
Çizelge 3.7. Tavukta ve bildircında intumescentia cervicalis'in tespit öncesi, tespit sonrası Archimedes prensibi ile sonrasında da Cavalieri metodu ile hesaplanmış hacimleri.

	Canlı sayısı	Tavuk		Bildircın	
		Aritmetik ortalama	Standart sapma	Aritmetik ortalama	Standart sapma
Intumescentia cervicalis tespit öncesi hacmi (mm^3)	10	510	24,04	86	10,75
Intumescentia cervicalis tespit sonrası hacmi (mm^3)	10	310	10,54	50	3,33
Intumescentia cervicalis Cavalieri metodu ile hacmi (mm^3)	10	263,46	6,29	43,72	2,08
p		<0.001		<0.001	

Çizelge 3.8. Tavuk ve bildircına ait tespit öncesi, tespit sonrası ve Cavalieri metodu için hesaplanan istatistiksel veriler.

Etki			KT	F	sd	p
Zaman			236498,941	1599,613	2	<0.001
Zaman*Tür			117061,178	791,769	2	<0.001
Çoklu Karşılaştırma						
Tespit öncesi	Tavuk	Bıldircın				<0.001
Tespit sonrası	Tavuk	Bıldircın				<0.001
Cavalieri metodu	Tavuk	Bıldircın				<0.001
Çoklu Karşılaştırma						
Tavuk	Tespit öncesi	Tespit sonrası				<0.001
Tavuk	Tespit öncesi	Cavalieri				<0.001
Tavuk	Tespit sonrası	Cavalieri				<0.001
Hata			2661,257		36	

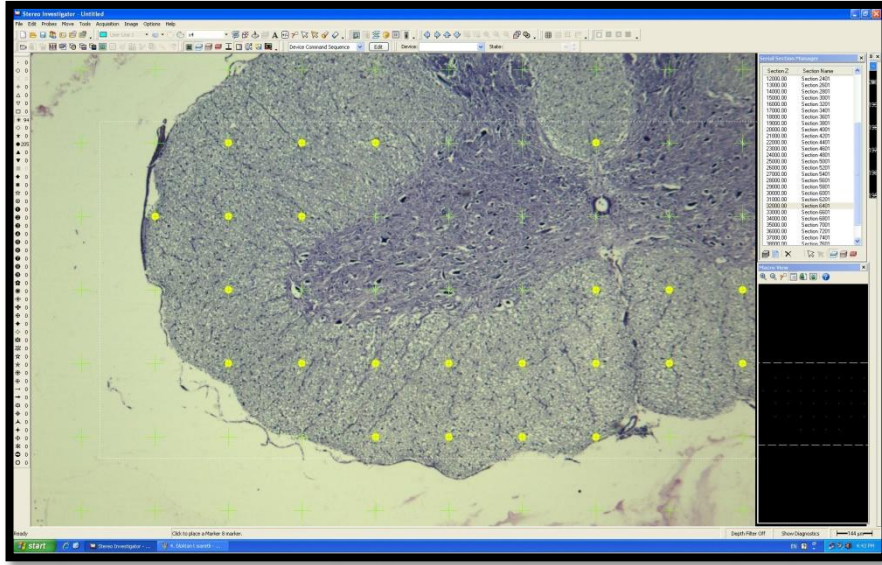
KT: Kareler toplamı, sd: serbestlik derecesi



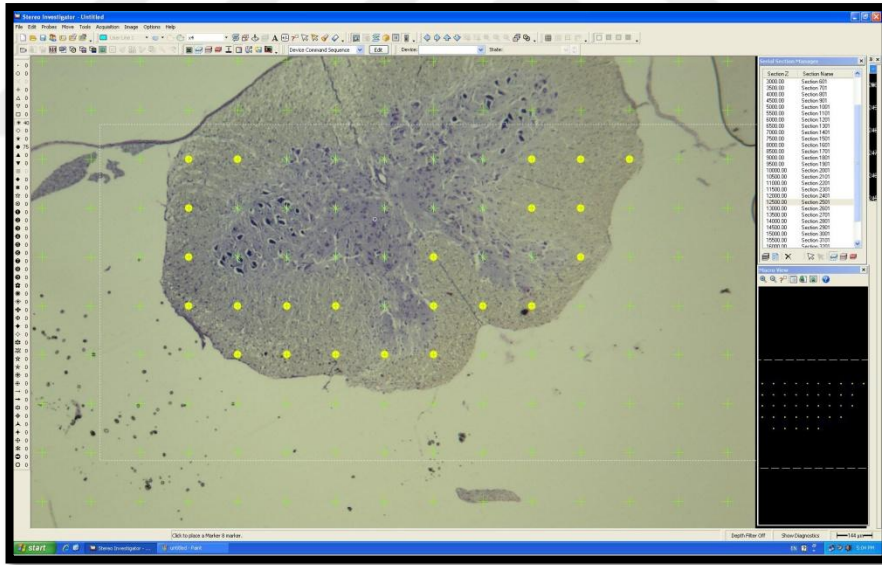
Şekil 3.4. Tavuk ve bıldırcında, dokuların üç farklı aşamada ölçülmüş ortalama hacim değer değişimlerini gösteren çizgi grafik.

Çizelge 3.9. Tavuk ve bıldırcında intumescencia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin Cavalieri metodu ile hesaplanmış hacimleri.

	Canlı sayısı	Tavuk		Bıldırcın	
		Aritmetik ortalama	Standart sapma	Aritmetik ortalama	Standart sapma
Intumescencia cervicalis substantia alba hacmi (mm ³)	10	190,47	4,5	28,61	1,49
Intumescencia cervicalis substantia grisea hacmi (mm ³)	10	72,99	2,4	15,11	0,96



Şekil 3.5. Tavuğa ait intumescentia cervicalis kesitlerinde uygulanan noktali alan ölçüm cetveli ile substantia alba ve substantia grisea'nın hacim hesaplaması.



Şekil 3.6. Bildırcına ait intumescentia cervicalis kesitlerinde uygulanan noktali alan ölçüm cetveli ile substantia alba ve substantia grisea'nın hacim hesaplaması.

Tavuk ve bildırcında intumescentia cervicalis'in tespit öncesi, tespit sonrası ve Cavalieri metodu ile hesaplanan hacimleri arasındaki şekil 3.4'te belirtildiği gibi

azalma fark edildi ve incelenen bu fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0,001$) (Çizelge 3.8).

Tavuk ve bildircında intumescentia cervicalis'in tespit öncesi, tespit sonrası ve Cavalieri yöntemi hacim verileri üzerinden hesaplanan büzüşme değerleri çizelge 3.10'da belirtilmiştir. Tespit edilmemiş doku üzerinde uygulanan her işlem sonrası dokunun hacim miktarında düşme yüzde miktarı olarak belirlendi. Hesaplanan veriler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmadı.

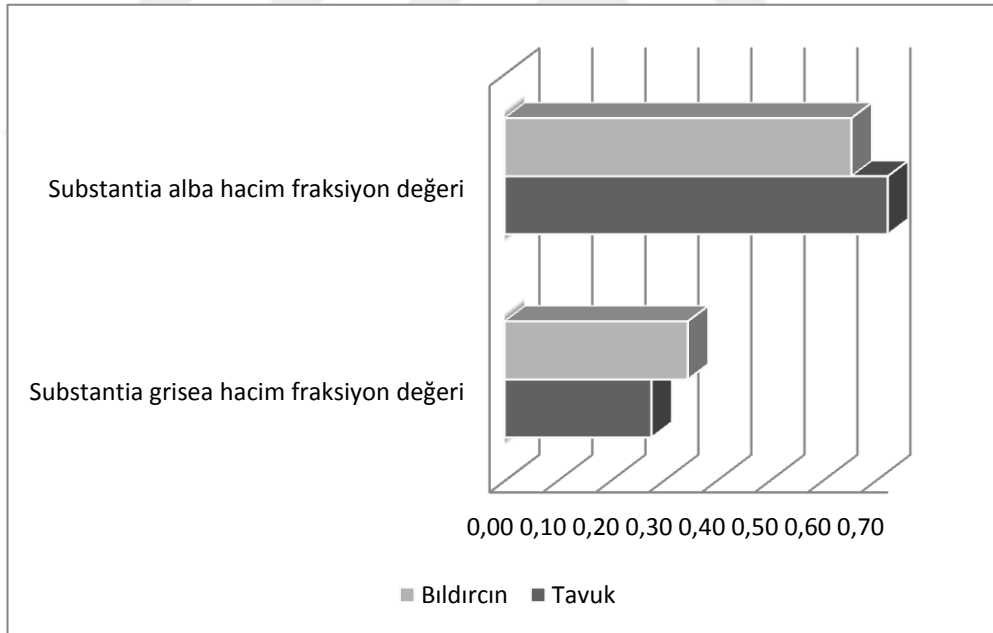
Çizelge 3.10. Tavuk ve bildircın intumescentia cervicalis'lerinde dokular üzerinde uygulanan işlemler sonrasında gerçekleşen % büzüşme değerleri.

	Hayvan sayısı	Tavuk		Bildircın		p
		Aritmetik ortalama	Standart sapma	Aritmetik ortalama	Standart sapma	
Tespit olmamış doku ile tespit olmuş doku	10	39,16	1,9	41,32	5,6	0,272
Tespit olmuş doku ile Cavalieri metodu	10	14,97	1,93	12,41	3,67	0,072
Tespit olmamış doku ile Cavalieri metodu	10	48,29	1,26	48,5	6,4	0,92

Çizelge 3.11. Tavuk ve bildircına ait substantia alba ve substantia grisea ortalama hacim değerleri, nokta sayım cetvelinde sayılmış ortalama nokta sayıları, hata katsayıları, hacim fraksiyon değerleri ve ortalama kesit sayıları.

	Tavuk	Bildircın
Substantia alba hacmi (mm ³)	190,47	28,61
Ortalama nokta sayısı	2116	1450
CE	0,01	0,011
Substantia grisea hacmi (mm ³)	72,99	15,11
Ortalama nokta sayısı	811	763
CE	0,012	0,013
Substantia alba hacim fraksiyon değeri	0,723	0,654
Substantia grisea hacim fraksiyon değeri	0,277	0,346
Bir hayvanda ortalama sayım yapılan kesit sayısı	41	35

Histolojik işlemler sonucunda uygulanan stereolojik hesaplama ile intumescencia cervicalis'in hacmi, substantia alba ve substantia grisea bölgelerinden elde edilen verilerle belirlendi. Bu hesaplanan hacimler sonucunda iki farklı türde intumescencia cervicalis bölgesine ait substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri bulundu ve birbiri ile karşılaştırıldı (Çizelge 3.11). Tavuk ve bildırcında substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacim fraksiyon değerleri çizelge 3.11'de verilmiştir. Buna göre bildırcına ait substantia grisea hacim fraksiyon değerinin tavuğunkine oranla yüksek olduğu hesaplanmıştır. İki farklı türün hacim fraksiyon değerleri arasındaki istatistikî farkın incelenmesi sonucunda kanadını kullanan bildırcın'ın, uçmak için kanadını kullanmayan tavuğa karşı intumescencia cervicalis bölgesini içeren substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacim fraksiyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi ($p<0,001$).



Şekil 3.7. Tavuk ve bildırcına ait intumescencia cervicalis bölgesindeki substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacim fraksiyon değerlerine ait sütun grafik.

Çalışma sonucunda cresyl violet boyama yönteminin substantia alba ve substantia grisea'yı kolaylıkla birbirinden ayırabilmeyi sağlayacak türde bir boya

yöntemi olduğu belirlendi. Dokuların elde edilmesi sırasında uygulanan işlemler, alkol serisi sırasında kullanılan solüsyonlar, vakum vb. değişkenler, kesit alma sırasında uygulanan protokol ve boyama yönteminde kullanılan boya derişim ve sıcaklıkları sayesinde elde edilen kesitlerle sağlıklı sonuç alındığı görüldü. Bu boyama yönteminin ön çalışmalarda denenen Kruver Barrera yöntemi ile karşılaştırıldığında kesit boyama işleminin daha kısa sürdüğü tespit edildi. Cresyl violet boyama yönteminin substantia alba tabakasını açık mavi renkte, substantia grisea tabakasını ise mor renge boyadığı görüldü.



4. TARTIŞMA

Medulla spinalis'in stereolojik metodlardan herhangi biri ya da birkaçı beraber kullanılarak değerlendirildiği çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen (Bahar ve ark., 2013; Bolat ve ark., 2012; Duerstock ve ark., 2003; Lin ve ark., 2011; Nurcombe ve ark., 1991; Özyurt ve ark., 2011; Peng ve ark., 2010; Portiansky ve ark., 2004; Siriphorn ve ark., 2012 ve Walloe ve ark., 2011), kanatlı hayvanların medulla spinalis'i üzerine yapılmış olan stereolojik çalışmalar oldukça azdır (Bolat ve Tıprıdamaz, 2012 ve Turgut ve ark., 2007). Bununla beraber kanatlı hayvanların medulla spinalis'inin bir bölümü olan intumescentia cervicalis bölgesi hedef alınarak yapılmış olan stereolojik çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmada, tavuk ve bıldırcına ait medulla spinalis'in intumescentia cervicalis bölgesinin substantia alba ve substantia grisea katmanlarının hacim fraksiyon değerleri hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda medulla spinalis'in transversal kesitleri incelendiğinde ilk segment'inden son segmentine kadar substantia alba ve substantia grisea oranlarının farklılık gösterdiği ortaya konmuştur (Hazıroğlu ve ark., 2001 ve Portiansky ve ark., 2004). Bu bölgelere ait oranların merkezi sinir sistemini etkileyen multipl skleroz ya da şizofreni gibi hastalıklarda önemli olduğu bildirilmiştir (Bolat ve ark., 2012). Özellikle insanlarda medulla spinalis'in cervical bölümünün sık olarak cerrahi müdahalelere maruz kaldığı işaret edilmiştir (Turgut ve ark., 2007). Bunun yanı sıra cervical ve thoracal bölgelerin hasarı sonucu, iyileşme aşamaları için kullanılan potansiyel terapötiklerin geliştirilmesi için bu bölgelerin kullanışlı olduğu belirtilmiştir (Siriphorn ve ark., 2012). Baumel (1975), uçan kuşlarda intumescentia cervicalis'in, koşabilen kuşlarda ise intumescentia lumbosacralis'in daha büyük olduğunu açıklamıştır. Yapılan çalışmada hayvan materyali olarak uçuş yeteneği olmayan tavuk ile uçabilen bıldırcının seçilmiş olmasının başında bu nedenler bulunmaktadır.

Medulla spinalis üzerinde stereolojik yöntemler ve örnekleme metotları uygun kurallar dâhilinde uygulanmadığı takdirde, dokuların hangi bölgesinden niceliksel verilerin elde edildiği tam olarak değerlendirilememekte, ayrıca dokunun sadece bir bölümünün kullanılması yanlılığa yol açmaktadır. Bunun sonucunda da elde edilen değerler doğru sonuçtan uzak bir ifade ile ortaya konulmaktadır (Hazıroğlu ve ark., 2001). Çalışmada stereoloji metodlarından Cavalieri prensibi ile sistematik rastgele örnekleme metodunun kullanılmasının en önemli sebebi, uygulanan bu yöntem ile hem hızlı bir şekilde hem de doğru değerlere oldukça yakın sonuç elde edilmesidir. Ayrıca substantia alba ya da substantia grisea gibi birbirinden kolaylıkla ayrılamayan bölgelerin hacim hesaplamaları yapılamamaktadır. Bazı çalışmalar sayesinde bilgisayar destekli stereoloji metotları ile bu gibi zorlukların üstesinden gelinmiştir (Howard ve Reed, 2005; Kristiansen ve Nyengaard, 2012 ve Turgut ve ark., 2007). Yapılan araştırmada Cavalieri metodunun seçilmesi temel olarak bu sebeptir ve diğer çalışmalarda olduğu gibi Cavalieri metodunun medulla spinalis'te hesaplanacak olan herhangi bir hacim değerinde de uygulanabilir olduğu pekiştirilmiştir.

Hazıroğlu ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada tavukta intumescentia cervicalis'i son üç cervical ve ilk iki thoracal segmentlerden gelen sinirlerin oluşturduğunu, Ryan ve ark. (1997) son üç cervical ile ilk thoracal segment sinirleri tarafından şekillendirildiğini, bazı kaynaklar ise son iki cervical ile ilk bir, iki ya da üç thoracal segment sinirleri tarafından oluşturulduğunu belirtmiştir (Dinç ve Yılmaz, 2002 ve Nickel ve ark., 1997). Bu çalışmada incelenen intumescentia cervicalis'in tavuklarda sırası ile 13, 14, 15, 16 ve 17. segmentlerden gelen spinal sinirlerin ventral kolları tarafından şekillendirildiği gözlenmiştir. Çalışmadaki bu bulgular, Hazıroğlu ve ark. (2001)'nin bulguları ile benzerlik göstermektedir. Bildiricinde ise medulla spinalis'in intumescentia cervicalis bölümünün sırasıyla 12, 13, 14, 15. segmentlerden gelen sinirler tarafından oluşturulduğu belirlenmiştir. Evrard ve Balthazart (2002) yaptıkları çalışmada bildiricina ait intumescentia cervicalis'ten ayrılarak plexus brachialis'i şekillendiren sinirlerin, 12 ile 15. segmentler aralığından başlangıç aldığını belirtmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen bulgular, Evrard ve Balthazart (2002)'in yaptığı çalışma ile paralellik göstermektedir.

Morfolojik olarak medulla spinalis'in incelenmiş olduğu çalışmalarda stereolojik yöntemler kullanılmadan da substantia alba ve substantia grisea oranlarının belirlendiği bilinmektedir. Hazıroğlu ve ark. (2001)'lerinin yaptığı bir çalışmada substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin medulla spinalis boyunca oranları hesaplanmıştır. Fakat bu oranlar hesaplanırken kaç kesit üzerinden incelenmiş olduğu ve kesitlerin, segmentlerin tam olarak neresinden alındığı ve nasıl seçildiği üzerine bilgiler belirtilmemiştir. Yapılan çalışmada intumescentia cervicalis bölgesinin tamamı üzerinden çalışılmış olup, kesitler sistematik rastgele örnekleme kurallarına uygun olarak elde edilmiştir. Bu sayede dokunun her noktasına eşit değerlendirilme şansı verilmiştir. Sistematik rastgele örnekleme kuralları ile desteklenmiş olan Cavalieri prensibi sayesinde elde edilmiş olan değerlerin herhangi bir yanlılığa sebebiyet vermesi engellenmiştir. Bilinmektedir ki, yapılan örneklemenin uygun kurallar doğrultusunda yapılmaması sonucunda elde edilecek veriler, doğruluk bakımından tartışılabilir olacaktır.

Yapılan literatür taramalarında kanatlı hayvanlar üzerinde intumescentia cervicalis'in bütünüyle ve temel alınarak değerlendirildiği hacimsel bir veriye rastlanmamış, dolayısıyla karşılaştırma yapılamamıştır. Çalışmada Cavalieri metodu ile hesaplama sonucunda tavuğa ait intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacimleri sırasıyla $190,47 \pm 4,5$ ve $72,99 \pm 2,4$ mm³ (ortalama \pm SS) olarak belirlenmiştir. Bildircına ait intumescentia cervicalis'inin substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacimleri ise sırasıyla $28,61 \pm 1,49$ ve $15,11 \pm 0,96$ mm³ (ortalama \pm SS) olarak ölçülmüştür. Tavuk ve bildircına ait intumescentia cervicalis bölgesinin hacmi sırasıyla $263,46 \pm 6,29$ ve $43,72 \pm 2,08$ mm³ (ortalama \pm SS) olarak hesaplanmıştır. Bahar ve ark. (2013) Cavalieri metodu ile yaptıkları bir çalışmada atın birinci cervical segment hacmini 3884 ± 387 mm³, ikinci cervical segment hacmini 10040 ± 1187 mm³, üçüncü cervical segment hacmini 11693 ± 1679 mm³, dördüncü cervical segment hacmini 11731 ± 1313 mm³, beşinci cervical segment hacmini 11207 ± 1268 mm³, altıncı cervical segment hacmini 10387 ± 972 mm³, yedinci cervical segment hacmini 8956 ± 670 mm³, sekizinci cervical segment hacmini ise 6462 ± 588 mm³ olarak belirlemişlerdir. İnsan kadavraları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada medulla spinalis'te beşinci

segmentin en yüksek hacimde olduğunu belirtilmiştir. Thoracal segmentler arasında beşincisinin, lumbal segmentler arasında da birincisinin en yüksek hacime sahip olduğunu ifade edilmiştir (Ko ve ark., 2004).

Yapılan çalışmada tavukta medulla spinalis'in intumescentia cervicalis bölgesine ait substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri sırasıyla 0,723 ile 0,277 olarak belirlenmiştir. Bu hacim fraksiyon değerlerinin hesaplanması için substantia alba ve substantia grisea hacimleri ölçülürken sayılan nokta sayım cetvelindeki nokta sayısının sırasıyla 2116 ve 816 olduğu görülmüştür. Bildircına ait substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri sırasıyla 0,654 ile 0,346 olarak hesaplanmıştır. Nokta sayım cetvelinde bu bölgelerde sayılan ortalama nokta sayısı sırasıyla 1450 ve 763 olarak belirlenmiştir. Turgut ve ark. (2007)'nin yaptığı bir çalışmada, sağlıklı ve pinealektomili tavuklara ait altıncı cervical omur düzeyinde hesaplanan substantia alba ve substantia grisea'ya ait hacim fraksiyon değerlerinin sırasıyla 0,74 ve 0,19, sağlıklı hayvanlarda ise 0,752 ve 0,202 olduğu görülmektedir. Sağlıklı hayvanlarda substantia alba ve substantia grisea'da sayımı yapılan bölgede ortalama nokta sayısı 271 ve 639, pinealektomili hayvanlarda ise sırasıyla 150 ve 365 olarak belirlenmiştir. Turgut ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışmada sağlıklı hayvanlarda altıncı cervical segment hacim fraksiyon değerleri yapılan çalışmadaki verilere yakınlık göstermektedir. Ancak intumescentia cervicalis'in tamamı üzerinde yapılan bu çalışma ile oradaki verileri karşılaştırmak boyut açısından doğru olmayabilir. Hazıroğlu ve ark. (2001) tavuk medulla spinalis'i üzerinde yaptıkları bir çalışmada substantia alba'nın substantia grisea'ya olan oranlarını incelemişler, birinci cervical ve 14 - 15 cervical aralığında bu oranın oldukça büyük olduğunu söylemişlerdir. Ayrıca bu oranın tüm thoracal segmentler içerisinde en düşük ikincisinde görüldüğünü, altıncısında en yüksek seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Yavru ve ergin devede medulla spinalis'te substantia grisea'nın substantia alba'ya olan oranları incelenmiş ve her iki grupta da bu oranın en yüksek olduğu segmentin sekizinci lumbal, en düşük olan segmentin ise altıncı cervical olduğu tespit edilmiştir (Rahmanifar ve ark., 2008). Portiansky ve ark. (2004) sığana ait medulla spinalis'lerin substantia grisea yüzde oranlarının ilk cervical segmentlerde aynı olmasına karşın sona yaklaştıkça azaldığını, lumbal

segmentlerde cervical segmentlere oranla yarıya inerek sabit devam ettiğini, 23. segment düzeyinde tekrardan ilk birkaç cervical segmentlerdeki düzeyine döndüğünü söylemişlerdir. Rao (1990) yaptığı bir çalışmada koyun medulla spinalis'ine ait ikinci cervical, on üçüncü thoracal, dördüncü lumbal ve birinci sacral segmentlerin en büyük kesitsel alana sahip olduğunu belirtmiştir. Ko ve ark. (2004) insanda en büyük kesitsel alanın beşinci cervical segmente ait olduğunu, birinci ve ikinci thoracal segment düzeyinde düşüş gözlemlendiğini, yedinci ve sekizinci thoracal segmentte en düşük olduğunu söylemişlerdir. Bunun yanı sıra on ikinci thoracal segment düzeyinde tekrar arttığını ve dördüncü lumbal segment düzeyinde ikinci bir yükselme gösterdiğini dile getirmişlerdir. Yapılan çalışmada elde edilen istatistiki veriler ışığında, göç edebilen ve uçucu bir kuş olan bildircına ait substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri, uçmak için kanadını fonksiyonel olarak kullanmayan tavukta elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğu ve bildircında substantia grisea hacim fraksiyon değerinin tavuğun substantia grisea hacim fraksiyon değerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Turgut ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada sağlıklı tavuklarda medulla spinalis'in altıncı cervical segmentinin hacim hesaplamasını ortalama 366 nokta sayarak elde etmiş ve CE ortalama değerini 0,02 olarak bulmuştur. Pinealektomili tavuklarda ortalama 200 nokta sayılmış olup, ortalama 0,03 CE değerine ulaşmıştır. Yapılan bu çalışmada elde edilen CE'ler; tavuğa ait substantia alba ve substantia grisea'da ortalama olarak 0,01 ve 0,012, bildircına ait substantia alba ve substantia grisea'da ise ortalama olarak 0,011 ve 0,013 bulunmuştur. Şahin ve ark. (2003) yılında yaptıkları çalışmada karaciğer dokusunda Cavalieri metodu ile hesapladıkları hacim değerlerinde sagittal eksen üzerinde 16 – 21, horizontal eksen üzerinde 14 – 17 kesit üzerinden ölçüm yapmışlar ve nokta sayım cetvelinde toplam saydıkları nokta sayısını ise 200 – 300 aralığında tutmuştur. Yapılan bu çalışmada ise CE değerinin düşük olmasının sebepleri olarak; elde edilen dokular üzerinde örnekleme aralığının dar oluşu, nokta sayım cetvelinde kullanılan ölçüm değeri ile burada sayılan nokta sayısı ve medulla spinalis'in sınırlarının beyinden daha düzgün olması düşünülmektedir.

Sinir sistemi için tasarlanmış boyama yöntemleri oldukça çeşitlilik göstermektedir (Bancroft ve Gamble, 2002). Bolat ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada, altı farklı boyama yöntemini, ata ait altıncı cervical segmentten elde ettikleri kesitlere uygulamış ve Cavalieri metodu ile hacmini hesaplamışlardır. Elde ettikleri sonuca göre kıyaslanan bu altı yöntemden modifiye May-Grunwald-Giemsa'nın en etkili yöntem olduğunu fakat Kluver Barrera boyama yönteminin sinir sistemine yönelik boyamalarda sıkça kullanıldığını ifade etmiştir. Mikroskop altında incelemede H&E, AgNORs, MT ve KB'nın glia hücreleri için, MT ve AgNORs'un endotelial ve ependym hücreleri için, KB'nın axon, dendrit ve Nissl gövdelerinin ayrımı için iyi bir boyama yöntemi olabileceğini belirtmiştir. Shibata ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada medulla spinalis'in substantia alba'sında bulunan axon'ların morfolojisini Kultschizky, KB, luxol fast blue-periodik asit Schiff-hematoksin ve MGG ile incelemişlerdir. Siriphorn ve ark. (2012) araştırmalarında Nissl cisimciklerini görebilmek için cresyl violet boyama yöntemini, aynı çalışmada myelin'i görünür kılmak için de luxol fast blue boyamasını uygulamışlardır. Portiansky ve ark. (2004) sıçan medulla spinalis'inin substantia grisea tabakası üzerinde yaptıkları bir morfometrik araştırmada, elde ettikleri kesitleri cresyl violet ile boyamışlardır. Yapılan bu araştırmada seçilen cresyl violet boyasının, Kluver Barrera yönteminde kullanılan boyalardan bir tanesi olduğu bilinmektedir. Substantia alba tabakasını açık mavi renkte, substantia grisea tabakasını ise mor renge boyadığı görülmüştür. Boyama sırasında, bulunulan laboratuvarların şartları, boya derişimleri, sıcaklık gibi faktörlerin oldukça etkili olduğu düşünülmesine karşın çalışmada uygulanan boya seçimi ve protokollerin medulla spinalis'te bulunan substantia alba ve substantia grisea bölgelerini rahatlıkla ayırt edebildiği değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada uygulanan boyama aşamaları çizelgede (Çizelge 2.2) verilmiş olup Siriphorn ve ark. (2012)'nin yapmış olduğu çalışmada kullandığı boya takibine oldukça yakınlık göstermektedir.

Bolat ve ark. (2012), doku takibi işlemlerinden biri olan dehidrasyon aşamasında vakum uygulamasının özellikle sinir dokusunda, doku bütünlüğünü korumaya yardımcı olduğunu bildirmişlerdi. Yapılan bu çalışmada, doku takibi

sırasında uygulanan vakumun (Leica TP1020), Bolat ve ark. (2012)'lerinin belirttiği gibi benzer faydaları olduğu düşünülmektedir.

Herhangi bir dokunun tespit aşamasında ya da histolojik işlemler esnasında uzunluğunda ya da hacminde oluşan büzüşme veya şişme oldukça bilinen bir gerçektir (Hsu ve ark., 2007 ve Jonmarker ve ark., 2006). Bu durum normal dokuda da (Bahar ve ark., 2013 ve Portiansky ve ark., 2004) herhangi bir patolojik dokuda da (Hsu ve ark., 2007 ve Tran ve ark., 2015) şekillenebilir ve oldukça önemli kabul edilmektedir. Bunun sebebi olarak da tümörleri evrelemede büyüklüklerinin önemli rolü olduğu belirtilmekte ve tümör, yumru, metastaz'ların büyüklüğüne bağlı olarak daha alt bölümlendirmelere olanak sağladığı söylenmektedir (Tran ve ark., 2015).

Jonmarker ve ark. (2006) prostat üzerinde yaptıkları bir çalışmada, tespit sonrası doku ağırlığında artış oluştuğunu belirtmişlerdir. Quester ve Schröder (1997) geçmiş yıllarda yapılmış çalışmalarla ilgili %4 formalin tespitinin beyin doku ağırlığında %7 ile %13,4 arasında artma oluşturduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada kullanılan %10 tamponlu formalin solüsyonu ile tespit işlemi sonrasında tavuğa ait dokuların tamamında artış tespit edilmiş olup bildircına ait dokuların bir kısmında artış bir kısmında ise hiçbir değişiklik görülmemiştir. Tavuğa ait intumescentia cervicalis dokusundaki değişim Jonmarker ve ark. (2006) ve Quester ve Schröder (1997) ile benzerlik göstermektedir. Bildircında ise dokunun küçük oluşu sebebiyle önemli bir değişikliğin oluşmadığı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmada intumescentia cervicalis'in cranio-caudal uzunluğunda ve latero-lateral genişliğinde farklı büzüşme değerleri tespit edilmiştir. Tavuk ve bildircına ait dokularda cranio-caudal uzunluk üzerinde tespit edilen büzüşme yüzdelерinin sırasıyla %12,45 ve %10,79 olduğu görülmüştür. Tavuk ve bildircında intumescentia cervicalis'in latero-lateral genişliğinde gözlemlenen büzüşme değeri ise sırası ile $6,19 \pm 2,30$ ve $7,35 \pm 2,02$ olarak ölçülmüştür.

Bahar ve ark. (2013) atın medulla spinalis'inin cervical bölgesinde yaptıkları bir çalışmada histolojik hazırlık aşamasının doku uzunluğunda ortalama %11,7'lik bir büzüşme yarattığını tespit etmişler, medulla spinalis'in transversal çapında %14,18 vertical çapında ise %16,66 oranında büzüşme hesaplamıştır. Quester ve Schröder (1997) çalışmalarında %4'lük formalin solüsyonunda 20 ile 140 gün tuttıkları beyin dokuları üzerinde uzunlamasına büzüşme oranının ortalama %17 iken transversal büzüşme değerinin %11 – 12 olduğunu tespit etmişlerdir. Buytaert ve ark. (2014) yaptıkları bir çalışmada beyin dokusunda oluşan doğrusal büzüşmenin ortalama olarak fosfotungstik asit ile boyadıkları dokularda %10,1, iyotlu alkol ile boyananlarda %30,2, potasyum iyodürlü iyot ile boyananlarda %15,1 ve flüoresans mikroskobuna uygun boyananlarda ise %27,8'lik olduğunu belirlemişlerdir. Johnson ve ark. (1997) köpeklerde şekillenmiş dil ve dudak - yanak mukozası tümörleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, tespit edilmemiş doku ile nötral tamponlanmış formaldehitli dokuları karşılaştırmışlar ve sırasıyla %32,4 ve %48,8 oranında büzüşme belirlemişler, sonrasında elde ettikleri histolojik kesitlerde ise her iki dokuda büzüşmenin azaldığını bildirmişlerdir. Pritt ve ark. (2005) meme kanserleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, bir gece süren %10'luk formaldehit tespit işleminin karsinoma'ların üzerinde bir etki yapmadığını söylemişlerdir. Fakat histolojik işlemler sonrasında çalıştıkları dokuların %40'ında doku uzunluklarında azalma tespit etmişlerdir. Blasdale ve ark. (2010) deri kanserlerinde genel olarak eksizyon, formaldehit ile tespit ve histolojik işlemlerden sonra %14 düzeyinde büzüşme bildirmişlerdir. Lowder ve ark. (2007) a. coronaria dextra üzerinde tespit olmamış doku ile işlem görmüş dokular arasında yaptıkları karşılaştırmada, uzunlukta $6,4 \pm 2,3$ ve kesit alanında ise $35,4 \pm 5$ düzeyinde büzüşme ile karşılaşmışlardır. Dobrin (1995) ise a. carotis ve a. femoralis'in kesit alanları üzerinde yaptıkları bir çalışmada farklı tespit solüsyonları kullanılarak parafine gömülen dokuların sonuçlarını değerlendirmiş, bunun sonucunda nötral tamponlanmış formaldehit'in %19, McDowell'in solüsyonununun %25, glutaraldehit'in %22 oranında büzüşmeye sebep olduğunu söylemiştir. Jonmarker ve ark. (2006) prostat üzerinde tespit sonrasında doğrusal olarak oluşan büzüşmenin ortalama olarak %4,5 olduğunu tespit etmişlerdir. Boonstra ve ark. (1983) insan cervix'inde %8'lik formaldehit ile tespit sonrasında longitudinal ve transversal çapta büzüşmeyi incelemişlerdir. Longitudinal uzunlukta

ortalama %3'lük, transversal çapta da %2,4'lük bir büzüşme belirlemişlerdir. Dehidrasyon ve parafine gömme işlemleri sonrası ortalama longitudinal uzunlukta %11,9, transversal çapta ise %12,6'lık bir büzüşme ile karşılaşmışlardır. Kesit alma işlemleri sonrasında ortalama olarak longitudinal uzunlukta %2,2'lik azalma olmuşken, transversal çapta %3'lük bir artış hesaplamışlardır. Tran ve ark. (2015) böbrek tümörlerinde büzüşme değerlerini incelemiş, rezeksiyon sonrası elde edilen ölçümler, %10'luk formaldehit ile yapılan tespitin ardından histolojik dokularda elde ettikleri sonuçlar arasında büzüşme farkının ortalama olarak %11,4 olduğunu görmüşlerdir. Ayrıca Tran ve ark. (2015), Docquier ve ark.'nın yaptığı bir çalışmaya istinaden, formalin tespiti sonucunda yer çekimi sebebi ile dokuların genişliğinde artış, yüksekliğinde ise azalma olduğunu bildirmiştir. Schned ve ark. (1996) prostat dokusu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, uzunluk değerlerinde ortalama büzüşme oranını %4,1, histolojik işlemler sonrasında ise %14,5 olarak elde etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ortaya çıkan bulguların Bahar ve ark. (2013)'nin doku uzunluğu üzerinde elde ettikleri büzüşme verilerine yakın olduğu fark edilmiştir. Fakat transversal olarak tespit edilen oranlarla benzerlik göstermemektedir. Bunun, ata ait medulla spinalis'in, tavuk ya da bildircına göre çok büyük ve ağır olması, ayrıca tespit aşamasında dokunun koyulduğu kap ve benzeri yapıların dokuya etkisi sebebiyle gerçekleştiği düşünülmektedir. Nitekim tespit aşamasında yer çekimi etkisinin özellikle transversal çap üzerinde etki ettiğine önceden başka araştırmacılar tarafından değinilmiştir (Tran ve ark., 2015). Tespit işleminin çalışılan doku, kullanılan solüsyon, kullanılan solüsyonun derişimi ve kullanılan solüsyonun dokuyla etkileşim süresi gibi birçok nedenden etkilendiği ve değişik sonuçlar ortaya koyduğu görülmekle birlikte formaldehit ile yapılan tespit işleminin birçok dokuda büzüşmeye neden olduğu anlaşılmıştır.

Schned ve ark. (1996) prostat dokusu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hacim değerinde ortalama büzüşme oranını %12,4 olarak tespit etmişlerdir. Buytaert ve ark. (2014) ise %10 tamponlu formaldehitli beyinlerde farklı boyama yöntemleri ile inceledikleri hacimsel değişiklikleri hesaplamışlardır. Buna göre ortalama olarak fosfotungstik asit ile boyadıkları dokularda %27,3, iyotlu alkol ile boyananlarda %66, potasyum iyodürlü iyot ile boyananlarda %38,8 ve flüoresans mikroskopuna

uygun boyananlarda ise %62,4'lük hacimsel azalma belirlemişlerdir. Gömme işleminin dokuda eş yönlü bir değişime sebep olduğu bilinmektedir. Portiansky ve ark. (2004) medulla spinalis üzerinde gömme işlemi sırasında %13 – 14 dolaylarında büzüşme gerçekleştiğini belirtmiştir. Bahar ve ark. (2013) yaptıkları bir çalışmada atın medulla spinalis'in cervical bölgesinde Archimedes metodu ile hesapladıkları hacim değerini Cavalieri metodu ile karşılaştırmışlar ve %29,3'lük bir büzüşme tespit etmişlerdir. Uzunluk değerlerinde olduğu gibi hacimsel değerlendirmelerin, çalışılan doku, kullanılan solüsyon, kullanılan solüsyonun derişimi ve dokuyla etkileşim süresi gibi değişkenler ile etkilendiği düşünülmektedir. Yapılan bu çalışmada tavuk ve bildircında intumescentia cervicalis'in tespit öncesi ve tespit sonrası kaydedilen hacimsel değerleri, Cavalieri yöntemi ile elde edilen veriler ile karşılaştırılmıştır. Tavukta hesaplanan bu büzüşme katsayıları; tespit uygulanmamış doku ile tespit uygulanmış doku arasında ortalama olarak %39,16, tespit uygulanmış doku, Cavalieri metodu ile hesaplanmış hacim arasında yapılan karşılaştırma sonucu %14,97 olarak bulundu. Tespit edilmemiş doku ile Cavalieri metodu kullanılarak hesaplanmış hacim arasında da %48,29'luk bir küçülme saptandı. Bildircında tespit öncesi ve tespit sonrası hacim değerleri arasında %41,32, tespit sonrası elde edilen hacim ile Cavalieri metodu uygulanarak bulunan hacim değeri arasında %12,41 bir fark olduğu belirlendi. Fikse edilmemiş doku hacmi ile Cavalieri metoduyla hesaplanmış hacim arasında da %48,5'lik bir küçülme ile karşılaşıldı. Bu bulguların Portiansky ve ark. (2004)'nın elde ettikleri büzüşme değerine yakın olduğu, fakat Bahar ve ark. (2013)'nin hesapladığı değerden farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu farklılığın yapılan bu çalışmada tespit öncesi hesaplanan hacim verilerinin de dahil edilmesi sebebiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Dokularda şekillenen değişimler uzunluk, genişlik ya da yükseklik boyutunda olduğu gibi ağırlık ya da hacimsel verilerinde de olabilir. Hem dokuların birbirinden oldukça farklı yapılar ihtiva etmesinden hem de uygulanacak işlemlerin farklılığı sebebiyle karşılaşılan değerler oldukça farklı çıkabilir. Bir çok çalışmada araştırmacılar gerçekleşmiş olan büzüşme ya da şişmeyi düzeltmek adına farklı yöntemler geliştirmiş olup bunlar genellikle düzeltme faktörleri olarak isimlendirilmektedir (Quester ve Schröder, 1997 ve Schned ve ark., 1996). Yapılan bu çalışmada medulla

spinalis'e ait dokular hiçbir işleme tabi tutulmadan önce ağırlık, uzunluk ve hacim değerleri belirlenmiştir. Tespit işleminin ardından dokularda hesaplanmış olan bu değerler tekrardan ölçülmüştür. İki ölçüm arasında incelenen değişim dokular üzerinde ilk büzüşme değerini ortaya koymuştur. Histolojik doku takip ve boyama işlemleri sonrasında elde edilen kesitlerden dokuya ait hacim verileri Cavalieri metodu ile hesaplanmıştır. Dokuya ait tüm hacim bulguları önceki değerler ile karşılaştırılmış ve elde edilmiş olan ikinci hacimsel büzüşme değeri ortaya konulmuştur. Cavalieri metodu ile hesaplanan substantia alba ve substantia grisea hacim değerleri istenildiğinde önceden elde edilmiş tespit öncesi ve tespit sonrası büzüşme değerleri ile çarpılarak, gerçek hacim verilerine ulaşmanın mümkün olduğu düşünülmektedir. Fakat bu yapının tezin esas amacı olan hacim fraksiyon değerlerinde bir önemi yoktur. Nitekim yüzde yönünden hesap edilen bir oranın çarpmada bir etkisi olmayacaktır. Tran ve ark. (2015) tespit uygulanmamış dokulardan elde ettikleri ölçümleri temel alıp, dokuyu elde etmeden önceki radyografik ölçümlerde, sonrasında uyguladıkları tespit ve histolojik işlemlerin ardından elde ettikleri verilerle karşılaştırarak bir düzeltme değeri ortaya koymuşlardır. Jonmarker ve ark. (2006) tespit işlemi uygulanmamış doku üzerinde aldıkları 1 mm hassaslığındaki ölçümlerini, tespit sonrasında aldıkları ile karşılaştırarak bir düzeltme faktörü uygulamışlardır. Quester ve Schröder (1997) yaptıkları bir çalışmada beyin dokusundan elde ettikleri transversal ve longitudinal düzlemdeki değerleri düzeltme faktörü kullanarak değerlendirmişlerdir. Mayhew ve ark. (1990) beyinde elde ettikleri tespit öncesi ve tespit sonrası değerlerini oranlayarak hacim değerleri üzerinde düzeltme faktörünü uygulamışlardır. Schned ve ark. (1996) tespit öncesi elde ettikleri değerleri farklı aşamalara tabi tuttıkları dokulardan çıkararak yüzde değerleri ile büzüşmeyi belirtmişlerdir. Araştırmacılar düzeltme faktörlerinin oldukça önemli olduğuna değinmişlerdir. Nitekim özellikle kanserli dokularda çalışılmış olan bu durumun, hastaya uygulanacak tedavi işlemlerinin geleceği için önemli olduğu bildirilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Fonksiyonel olarak kanadını kullanan bir kanatlı hayvan ile kullanmayan bir kanatlı hayvan arasında incelenen substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri karşılaştırılmış olup bu iki değerde anlamlı farklılıklar elde edilmiştir.

Cavalieri metodunun medulla spinalis'in bir bölümü olan intumescentia cervicalis bölgesi üzerinde yapılan hacim hesaplamalarında kullanılabilir olduğu görülmüştür.

Bu tür araştırmaların özellikle medulla spinalis'le ilişkilendirilen hastalıkların teşhisine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Sınırlarını makroskobik olarak ayırt edemediğimiz dokularda yapılacak olan histolojik boyama yöntemleri ile beraber kullanılacak olan Cavalieri metodu gibi stereolojik yöntemler sayesinde, dokuların hacimsel bulgularına rahatlıkla erişilebilir olduğu anlaşılmıştır.

Bir dokunun içerisinde belirli bir bölgenin esas dokuda ne kadarlık bir alan ya da hacimsel bölgeye denk geldiği gibi bulguların kolaylıkla stereolojik yöntemlerle elde edilebilir olduğu belirlenmiştir.

Fonksiyonel olarak ön bacağa ya da kanada gidecek olan sinirler için önemli bir merkez olan intumescentia cervicalis bölgesi üzerinde yapılacak çalışmalarda elde edilen verilerin karşılaştırılabilir olacağı ve stereoloji metotlarıyla gelecekte yapılacak çalışmalarda kullanılabilir olduğu düşünülmektedir.

Farklı kanatlı türlerinde, özellikle avcı kuşlarda, *intumescentia cervicalis*'in incelenmesi ve karşılaştırılma yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Intumescentia cervicalis bölgesine ait hacim ve hacim fraksiyon değerlerinin yanı sıra hücre sayılarının da çalışılması faydalı olacaktır.

Stereoloji yöntemlerinin kanatlı hayvanlarda yapılacak olan çalışmalarda daha sıkça kullanılması gerektiği, eski metotlar ile elde edilmiş verilerin, stereolojik yöntemler ile elde edilecek gerçeğe daha yakın değerler ile kıyaslanması gerektiği düşünülmektedir.

ÖZET

Tavuk (*Gallus gallus domesticus*) ve Bildircında (*Coturnix coturnix*) Medulla Spinalis Üzerine Stereolojik Araştırmalar

Kanatlıların sinir sistemi üzerine yapılan kantitatif analizler oldukça önemli yere sahiptir. Çalışmanın esas amacı, uçabilen ve uçamayan iki farklı kanatlıda intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgelerinin hacim fraksiyon değerlerini stereolojik yöntemler ile hesaplamak ve karşılaştırmaktır. Çalışmada, on adet tavuk ve on adet bildircin intumescentia cervicalis bölgesi kullanıldı. Dokular %10'luk tamponlu formalin içerisinde tespit işlemi yapıldıktan sonra, parafine gömülerek 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Sistematik rastgele örnekleme prosedürüne göre seçilen kesitler, cresyl violet boyası ile boyandı. Hacim ve hacim fraksiyon değerleri Cavalieri metodu ile hesaplandı. Elde edilen substantia alba ve substantia grisea hacimlerinin tüm hacme oranları ile elde edilen hacim fraksiyon değerlerinin farklı türler arasındaki farklılığının değerlendirilmesinde student's t test kullanıldı.

Tavuk ve bildircına ait intumescentia cervicalis'in substantia alba hacimleri sırasıyla $190,47 \pm 4,5$ ve $28,61 \pm 1,49$ (ortalama \pm standart sapma (SS) mm^3) olarak hesaplandı. Tavuk ve bildircına ait intumescentia cervicalis'in substantia grisea hacimleri sırasıyla $72,99 \pm 2,4$ ve $15,11 \pm 0,96$ (ortalama \pm SS mm^3) olarak ölçüldü. Tavuk ve bildircında intumescentia cervicalis hacmi ise sırasıyla $263,46 \pm 6,29$ ve $43,72 \pm 2,08$ (ortalama \pm SS mm^3) olarak belirlendi. Tavuğa ait intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri sırasıyla 0,723 ve 0,277 olarak belirlendi ($p < 0.001$). Bildircına ait intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea hacim fraksiyon değerleri sırasıyla 0,654 ve 0,346 olarak belirlendi ($p < 0.001$).

Birisi uçabilen diğeri uçamayan kanatlı hayvanlar olan tavuk ve bildircına ait intumescentia cervicalis'in substantia alba ve substantia grisea bölgeleri hacim fraksiyon değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı. Bunun yanı sıra, hacim hesaplamalarında Cavalieri metodunun tarafsız, hızlı ve efektif bir yaklaşım olduğu belirlendi.

Anahtar Sözcükler: Bildircin, Cavalieri, Hacim fraksiyon, Intumescentia cervicalis, Tavuk.

SUMMARY

Stereological Studies on the Spinal Cord of the Chicken (*Gallus gallus domesticus*) and Quail (*Coturnix coturnix*)

Quantitative analysis has an important place in nervous system studies of birds. The main aim of this study was to estimate and compare volume fraction values of grey matter and white matter of cervical enlargement using stereological methods for two different types of birds that one of them can fly and the other one cannot. Ten chicken and ten quail *intumescentia cervicalis* were used for this study. After tissues were fixed in 10% buffered formalin, they were embedded in paraffin and cut into serial sections of 5 μm thickness. Sections were selected according to the systematic random sampling procedure and stained with cresyl-violet staining. Volumes and volume fractions were calculated in accordance with the Cavalieri method. Student's t test was used to evaluate volume fraction differences between two different types.

White matter volumes of the chicken and quail were calculated $190,47 \pm 4,5$ and $28,61 \pm 1,49$ (mean \pm standart deviation (SD) mm^3) respectively. Grey matter volumes of the chicken and quail were calculated $72,99 \pm 2,4$ and $15,11 \pm 0,96$ (mean \pm standart deviation (SD) mm^3) respectively. Cervical enlargement volumes of the chicken and quail were calculated $263,46 \pm 6,29$ and $43,72 \pm 2.08$ (mean \pm standart deviation (SD) mm^3) respectively. The volume fraction values of white matter and grey matter in the *intumescentia cervicalis* of the chicken were 0,723 and 0,277, respectively ($p < 0.001$). The volume fraction values of white matter and grey matter in the *intumescentia cervicalis* of the quail were 0,654 and 0,346, respectively ($p < 0.001$).

There was a significant difference between chicken and quail that one of them can fly and the other one cannot for the volume fraction values of white matter and grey matter of the *intumescentia cervicalis*. On the other hand Cavalieri method was considered as an unbiased, accurate and effective approach for volume estimations.

Keywords: Cavalieri, Cervical Enlargement, Chicken, Quail, Volume Fraction.

KAYNAKLAR

- ACER N, BAYAR B, BASALOGLU H, ÖNER E, BAYAR K, SANKUR S. (2008). Unbiased estimation of the calcaneus volume using the cavalieri principle on computed tomography images. *Ann Anat.* **190**: 452-460.
- AKERS RM, DENBOW DM. (2008). *Anatomy & Physiology of Domestic Animals*. 1st Ed. Blackwell publishing, Ames, Iowa. s.: 203-245.
- ALDERTON D. (1992). The atlas of quail. Erişim: [http://eol.org/pages/914847/hierarchy_entries/24926793/details]. Erişim Tarihi: 18.01.2015.
- AUGHEY E, FRYE FL. (2001). *Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates*. 1st Ed. London, UK. Manson Publishing. Chapter 13.
- AZCOITIA I, FERNANDEZ-SORIANO J, FERNANDEZ-RUIZ B. (1985). Is the avian glycogen body a secretory organ? *J. Hirnforsch.* **26**: 651-657.
- BACHA WJ, BACHA LM. (2000). *Color Atlas of Veterinary Histology*. 2nd Ed. Philadelphia, Pennsylvania. Lippincott Williams & Wilkins. Chapter 9.
- BAHAR S, BOLAT D, SELÇUK ML. (2013). The segmental morphometric properties of the horse cervical spinal cord: a study of cadaver. *The ScientificWorld Journal.* **2013**: 1-9.
- BANCROFT JD, GAMBLE M. (2002). *Theory and practice of histological techniques*. 5th Ed. Edinburgh. Churchill, Livingstone Publishing. Chapter 18.
- BAUMEL JJ. (1975). Aves Nervous System. In: *Sisson's and Grossman's The Anatomy of The Domestic Animals*. Ed.: C. E. Rosenbaum, N. G. Ghoshal, D. Hillmann. 5th Ed. Volume 2. Philadelphia, Saunders. Chapter 69.
- BENZO CA, DE GENNARDO LD, STEARNS SB. (1975). Glycogen metabolism in the developing chick glycogen body: Functional significance of the direct oxidative pathway. *J. Exp. Zool.* **193**: 161-166.
- BLASDALE C, CHARLTON FG, WEATHERHEAD SC, ORMOND P, LAWRENCE CM. (2010). Effect of tissue shrinkage on histological tumour-free margin after excision of basal cell carcinoma. *British Journal of Dermatology.* **162**: 607-610.
- BOLAT D, TIPIRDAMAZ S. (2012). The use of optical fractionator to estimate the total number of ependymal cells of the spinal cord in leghorn. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* **18(1)**: 129-133.

- BOLAT D, BAHAR S, SUR E, SELÇUK M, TIPIRDAMAZ S. (2012). Selective gray and white matter staining of the horse spinal cord. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* **18(2)**: 249-254.
- BOLAT D, BAHAR S, KÜRÜM A, GÜLTİKEN ME. (2013). Ergin atlarda III, IV ve VI. çift kranial sinirlerin transversal kesit alanları ve myelinli akson sayıları. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* **19(3)**: 413-417.
- BOONSTRA H, OOSTERHUIS JW, OOSTERHUIS AM, FLEUREN GJ. (1983). Cervical tissue shrinkage by formaldehyde fixation, parafin wax embedding, section cutting and mounting. *Virchows Arch.* **402**: 195-201.
- BREAZILE JE, KUENZEL WJ. (1993). Systema Nervosum Centrale. In: Handbook of Avian Anatomy: Nomina Anatomica Veterinaria. J. J. Baumel, A. S. King, J. E. Breazile, H. E. Evans, J. C. V. Berge. 2nd Ed. Cambridge, Massachusetts.
- BUYTAERT J, GOYENS J, GREEF DD, AERTS P, DIRCKX J. (2014). Volume shrinkage of bone, brain and muscle tissue in sample preparation for micro-CT and light sheet fluorescence microscopy (LFSM). *Microsc. Microanal.* **20**: 1208-1217.
- CAHILL MM, KETT MM, McCAUSLAND JE, ALCORN D, BERTRAM JF. (1996). Glomerular stereology: Why, what and how to measure glomerular structure. *Nephrology.* **2**: 305 - 313.
- CAN ÖD, ULUPINAR E, ÖZKAY ÜD, YEGİN B, ÖZTÜRK Y. (2012). The effect of simvastatin treatment on behavioral parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. *Behavioural Pharmacology.* **23**: 582-592.
- CANAN S, ŞAHİN B, ÜNAL B, ASLAN H, BİLGİÇ S, KAPLAN S. (2002a). Parçacıkların toplam sayısının hesaplanması için bir metot: Parçalama. *T Klin Tıp Bilimleri.* **22**: 30-46.
- CANAN S, ŞAHİN B, ODACI E, ÜNAL B, ASLAN H, BİLGİÇ S, KAPLAN S. (2002b). Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri Prensipli. *T Klin J Med Sci.* **22**: 7-14.
- CANAN S, BAHADIR A, YILDIRIM Ş, ODACI E, ŞAHİN B, BAŞ O, ÇOLAKOĞLU S, BİLGİÇ S, KAPLAN S. (2004). Stereolojik uygulamalarda kullanılan pratik gereçler ve bilgisayar destekli stereolojik analiz cihazları. *T Klin J Med Sci.* **24**: 672-680.
- CHARLESTON JS, HANSEN KR, THYER AC, CHARLESTON LB, GOUGEON A, SIEBERT JR, SOULES MR, KLEIN NA. (2007). Estimating human ovarian non-growing follicle number: the application of modern stereology techniques to an old problem. *Human Reproduction.* **8**: 2103-2110.
- CORMACK DH. (2001). Essential Histology. 2nd Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Chapter 9.

- CUMMING P, MOLLER M, BENDA K, MINUZZI L, JAKOBSEN S, JENSEN SB, PAKKENBERG B, STARK AK, GRAMSBERGEN JB, ANDREASEN MT, OLSEN AK. (2007). A PET study of effects of chronic 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") on serotonin markers in Göttingen minipig brain. *Synapse*. **61**: 478-487.
- DAVANLOU M, SMITH DF. (2004). Unbiased stereological estimation of different cell types in rat cerebral cortex. *Image Anal Stereol*. **23**: 1-11.
- DEB C, FRANCIS CJR. (1960). Modified romanowsky staining of the spinal cord and the cerebellum. *Proc Nat Inst Sci*. **26**: 189-191.
- DEMİRSOY A. (1992). Yaşam'ın Temel Kuralları. Omurgalılar / Amniyota (Sürüngenler, Kuşlar ve Memeliler). 1. Baskı. Meteksan A.Ş. s.:323-340.
- DİNÇ G, YILMAZ S. (2002). Sinir sistemi (systema nervosum). In: *Evcil Kuşların Anatomisi*. Ed: N. Dursun. Medisan, Ankara. 1. Baskı. Bölüm 6.
- DOBRİN PB. (1996). Effect of histological preparation on the cross-sectional area of arterial rings. *Journal of Surgical Research*. **61**: 413-415.
- DOUARİN NML. (2001). Early neurogenesis in amniote vertebrates. *Int. J. Dev. Biol*. **45**: 373-378.
- DUERSTOCK BS, BAJAJ CL, BORGENS RB. (2003). A comparative study of the quantitative accuracy of three-dimensional reconstructions of spinal cord from serial histological sections. *Journal of Microscopy*. **210**: 138-148.
- DURDUN N. (2008). Veteriner Anatomi III. 7. Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi. s.: 13-23.
- DYCE KM, SACK WO, WENSING CJG. (1987). Textbook of Veterinary Anatomy. 1st Ed. Saunders, Philadelphia. Chapter 8.
- EURELL JAC. (2004). Veterinary Histology. 1st Ed. USA. Teton Newmedia. Chapter 10.
- EVRARD HC, BALTHAZART J. (2002). Localization of oestrogen receptors in the sensory and motor areas of the spinal cord in japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Neuroendocrinology*. **14**: 894-903.
- FORNITO A, YÜCEL M, PATTI J, WOOD SJ, PANTELIS C. (2009). Mapping grey matter reductions in schizophrenia: An anatomical likelihood estimation analysis of voxel-based morphometry studies. *Schizophrenia research*. **108**: 104-113.
- FRANDSON RD, WILKE WL, FAILS AD. (2009). Anatomy and Physiology of Farm Animals. 7th Ed. USA. Wiley – Blackwell. Chapter 9.

- GARCÍA-FINANA M, CRUZ-ORÍVE LM, MACKAY CE, PAKKENBERG B, ROBERTS N. (2003). Comparison of MR imaging against physical sectioning to estimate the volume of human cerebral compartments. *Neuroimage*. **18(2)**: 505-516.
- GARRIGUS WP. (2014). Poultry farming. Erişim: [http://www.britannica.com/EBchecked/topic/1357351/poultry-farming]. Erişim tarihi: 22.01.2015.
- GARTNER LP, HIATT JL. (2007). Color Textbook of Histology. 3rd Ed. Saunders, Elsevier. Chapter 9.
- GAUTIER Z. (2002). Gallus gallus, red jungle fowl. Erişim: [http://animaldiversity.org/accounts/Gallus_gallus]. Erişim tarihi: 24.01.2015.
- GETTY R. (1975). Nervous System. In: Sisson's and Grossman's The Anatomy of The Domestic Animals. Ed.: C. E. Rosenbaum, N. G. Ghoshal, D. Hillmann. 5th Ed. Volume 1. Philadelphia, Saunders. Chapter 13.
- GIORGIO A, WATKINS KE, CHADWICK M, JAMES S, WINMILL L, DOUAUD G, DE STEFANO N, MATTHEWS PM, SMITH SM, JOHANSEN-BERG H, JAMES AC. (2010). Longitudinal changes in grey and white matter during adolescence. *NeuroImage*. **49**: 94-103.
- GUNDERSEN HJG, JENSEN EB. (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*. **147**: 229-263.
- GUNDERSEN HJG, JENSEN EBV, KIEU K, NIELSEN J. (1999). The efficiency of systematic sampling in stereology – reconsidered. *Journal of Microscopy*. **193**: 199-211.
- HASSA O, AŞTI RN. (2003). Embriyoloji. 4. Baskı. Yorum Matbaacılık Sanayi. Ankara. s.: 102-104.
- HAZIROĞLU RM, ORHAN İÖ, YILDIZ D, GÜLTİKEN ME. (2001). Tavuk, ördek ve güvercinde medulla spinalis'in morfolojisi. *Turk J Vet Anim Sci*. **25**: 913-920.
- HEDREEN JC. (1998). What was wrong with the Abercrombie and empirical cell counting methods? A review. *The Anatomical Record*. **250**: 373-380.
- HOWARD CV, REED MG. (2005). Unbiased Stereology. 2nd Ed. Cornwall, UK. Garland Science.
- HSU PK, HUANG HC, HSİEH CC, HSU HS, WU YC, HUANG MH, HSU WH. (2007). Effect of formalin fixation on tumor size determination in stage I non-small cell lung cancer. *The Annals of Thoracic Surgery*. **84(6)**: 1825-9.

- HUSS D, POYNTER G, LANSFORD R. (2008). Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a laboratory animal model. *Lab Animal*. **37(11)**: 513-519.
- JAGALSKA-MAJEWSKA H, WOJCIK S, DZIEWIATKOWSKI J, LUCZYNSKA A, KURLAPSKA R, MORYS J. (2003). Postnatal development of the basolateral complex of rabbit amygdala: a stereological and histochemical study. *J Anat*. **203**: 513-521.
- JOHNSGARD P. (1988). The quails, partridges, and francolins of the world. Erişim: [http://eol.org/pages/914847/hierarchy_entries/24926793/details]. Erişim tarihi: 18.01.2015
- JOHNSON RE, SİGMAN JD, FUNK GF, ROBINSON RA, HOFFMAN HT. (1997). Quantification of surgical margin shrinkage in the oral cavity. *Head Neck*. **19**: 281-286.
- JONMARKER S, VALDMAN A, LİNDBERG A, HELLSTRÖM M, EGEVAD L. (2006). Tissue shrinkage after fixation with formalin injection of prostatectomy specimens. *Virchows Arch*. **449**: 297-301.
- JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J. (2005). Basic Histology: Text & Atlas. 11th Ed. McGraw - Hill Medical. Chapter 9.
- KARSTOFT K, LODRUP AB, DISSING TH, SORENSEN TS, NYENGAARD JR, PEDERSEN M. (2007). Different strategies for MRI measurements of renal cortical volume. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. **26**: 1564-1571.
- KING AS, McLELLAND J. (1984). Birds Their Structure and Function. 2nd Ed. Eastbourne, England. Bailliere Tindall. Chapter 15.
- KO HY, PARK JH, SHİN YB, BAEK SY. (2004). Gross quantitative measurements of spinal cord segments in human. *Spinal Cord*. **42**: 35-40.
- KONIG HE, LIEBICH HG, CERVENY C. (2004). Nervous system (Systema nervosum). In: *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals Textbook and Colour Atlas*. Ed.: H. E. König, H. G. Liebich. 1st Ed. Stuttgart, Schattauer. Chapter 14.
- KRISTIANSEN SL, NYENGAARD JR. (2012). Digital stereology in neuropathology. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. **120**: 327-340.
- KUEHNEL W. (2003). Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy. 4. Baskı. Thieme, Stuttgart, New York. s.: 180-199.
- LAHUNTA AD, GLASS EN, KENT M. (2008). Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology. 3rd Ed. Saunders, Elsevier. Chapter 3.

- LARSEN JO. (1998). Stereology of nerve cross sections. *Journal of Neuroscience Methods*. **85**: 107-118.
- LIN JY, PENG B, YANG ZW, MIN S. (2011). Number of synapses increased in the rat spinal dorsal horn after sciatic nerve transection: A stereological study. *Brain Research Bulletin*. **84**: 430-433.
- LOWDER ML, LI S, CARNELL PH, VITO RP. (2007). Correction of distortion of histologic sections of arteries. *Journal of Biomechanics*. **40**: 445-450.
- LYKKEGAARD K, LYKKESFELDT J, LAURITZEN B, SVENDSEN O. (2008). Morphine reduces spinal c-fos expression dose-dependently during experimental laparotomy in pigs: A combined pharmacokinetic and surgical study. *Research in Veterinary Science*. **84**: 457-464.
- MAYHEW TM, MWAMENGELE GLM, DANTZER V. (1990). Comparative morphometry of the mammalian brain: estimates of cerebral volumes and cortical surface areas obtained from macroscopic slices. *J Anat*. **172**: 191-200.
- MÜHLFELD C, PAPADAKIS T, KRASTEVA G, NYENGAARD JR, HAHN U, KUMMER W. (2010). An unbiased stereological method for efficiently quantifying the innervation of the heart and other organs based on total length estimations. *J Appl Physiol*. **108**: 1402-1409.
- MYERS M, BRITT KL, WREFORD NGM, EBLING FJP, KERR JB. (2004). Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary. *Reproduction*. **127**: 569-580.
- MYERS P, ESPINOSA R, PARR CS, JONES T, HAMMOND GS, DEWEY TA. (2015). *Coturnix coturnix*, common quail. Erişim: [http://animaldiversity.org/accounts/Coturnix_coturnix/classification]. Erişim tarihi: 24.01.2015.
- NICKEL R, SCHUMMER A, SEIFERLE E. (1977). *Anatomy of the Domestic Bird*. 1st Ed. Verlag Paul Parey, Hamburg, Berlin. s.: 127-142.
- NURCOMBE V, WREFORD NG, BERTRAM JF. (1991). The use of the optical disector to estimate the total number of neurons in the developing chick lateral motor column: effects of purified growth factors. *The Anatomical Record*. **231**: 416 – 424.
- NURCOMBE V, WREFORD NG, BERTRAM JF. (2001). Stereological estimation of neuronal number: The optical disector / Cavalieri combination. In: *Neurotrophin Protocols. Methods in Molecular Biology*. Ed.: R.A. Rush. Totowa, NJ. Human Press Inc. p.: 251-268.
- ODACI E, ŞAHİN B, SÖNMEZ OF, KAPLAN S, BAS O, BİLGİÇ S, BEK Y, ERGÜR H. (2003). Rapid estimation of the vertebral body volume: a combination of the cavalieri principle and computed tomography images. *European Journal of Radiology*. **48**: 316 – 326.

- ODACI E, YILDIRIM Ş, BAHADIR A, CANAN S, ŞAHİN B, BAŞ O, BİLGİÇ S, KAPLAN S. (2004). Yeni stereolojik yöntemlerin olası hata kaynakları ve çözüm yolları. *T Klin J Med Sci*. **24**: 78-87.
- ODACI E, BAHADIR A, YILDIRIM Ş, ŞAHİN B, CANAN S, BAŞ O, BİLGİÇ S, KAPLAN S. (2005). Cavalieri prensibi kullanılarak bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleri üzerinden hacim hesaplanması ve klinik kullanımı. *T Klin J Med Sci*. **25**: 421-428.
- ODACI E, BİLEN H, HACİMÜFTÜOĞLU A, KELEŞ ON, CAN I, BİLİCİ M. (2009). Long-term treatments with low- and high-dose olanzapine change hepatocyte numbers in rats. A stereological and histopathological study. *Archives of Medical Research*. **40**: 139-145.
- ÖZYURT B, KESİCİ H, ALICI SK, YILMAZ S, ODACI E, ASLAN H, RAĞBETLİ MÇ, KAPLAN S. (2011). Prenatal exposure to diclofenac sodium changes the morphology of the male rat cervical spinal cord: A stereological and histopathological study. *Neurotoxicology and Teratology*. **33**: 282 – 287.
- PENG B, LIN JY, SHANG Y, YANG ZW, WANG YP. (2010). Plasticity in the synaptic number associated with neuropathic pain in the rat spinal dorsal horn: A stereological study. *Neuroscience Letters*. **486**: 24-28.
- PESCE C. (1998). Glomerular number and size: Facts and artefacts. *The Anatomical Record*. **251**: 66-71.
- PORTIANSKY EL, BARBEITO CG, GOYA RG, GIMENO EJ, ZUCCOLILLI GO. (2004). Morphometry of cervical segments grey matter in the male rat spinal cord. *Journal of Neuroscience Methods*. **139**: 217-229.
- PRİTT B, TESSİTORE JJ, WEAVER DL, BLASZYK H. (2005). The effect of tissue fixation and processing on breast cancer size. *Human Pathology*. **36**: 756-760.
- QUESTER R, SCHRÖDER R. (1997). The shrinkage of the human brain stem during formalin fixation and embedding in parafin. *Journal of Neuroscience Methods*. **75**: 81-89.
- RAHMANİFAR F, MANSOURİ SH, GHAZİ SR. (2008). Histomorphometric study of the spinal cord segments in the chick and adult male ostrich (*Struthio camelus*). *Iranian Journal of Veterinary Research*. **9(4)**: 336-340.
- RAO GS. (1990). Anatomical studies on the ovine spinal cord. *Anat Anz*. **171(4)**: 261-4.
- RYAN JM, CUSHMAN J, BAİER C. (1997). Organization of forelimb motoneuron pools in two bat species (*Eptesicus fuscus* and *Myotis lucifugus*). *Acta Anatomica*. **158(2)**: 121-129.

- SAĞLAM M, AŞTI RN, ÖZER A. (2006). Genel Histoloji. 6. Baskı. Yorum Matbaacılık Sanayi, Ankara. s.: 282-302.
- SASTRE-GARRIGA J, INGLE GT, CHARD DT, CERCIGNANI M, RAMIO-TORRENTA L, MILLER DH, THOMPSON AJ. (2005). Grey and white matter volume changes in early primary progressive multiple sclerosis: a longitudinal study. *Brain*. **128**: 1454-1460.
- SCHNED AR, WHEELER KJ, HODOROWSKI CA, HEANEY JA, ERNSTOFF MS, AMDUR RJ, HARRIS RD. (1996). Tissue-shrinkage correction factor in the calculation of prostate cancer volume. *The American Journal of Surgical Pathology*. **20(12)**: 1501-1506.
- SCHUMANN CM, AMARAL DG. (2005). Stereological estimation of the number of neurons in the human amygdaloid complex. *The Journal of Comparative Neurology*. **491**: 320-329.
- SHIBATA M, GOTO N, GOTO J, NONAKA N. (2012). Evaluation of the spinal cord white matter. *Okajimas Folia Anat Jpn*. **89(1)**: 23-25.
- SIRIPHORN A, DUNHAM KA, CHOMPOOPONG S, FLOYD C. (2012). Postinjury administration of 17 β -Estradiol induces protection in the gray and white matter with associated functional recovery after cervical spinal cord injury in male rats. *The Journal of Comparative Neurology*. **520**: 2630-2646.
- ŞAHİN B, ASLAN H, ÜNAL B, CANAN S, BİLGİÇ S, KAPLAN S, TÜMKAYA L. (2001). Brain volumes of lamb, rat and bird do not show hemispheric asymmetry: a stereological study. *Image Anal Stereol*. **20**: 9-13.
- ŞAHİN B, ASLAN H, ÜNAL B, CANAN S, ÇOLAKOĞLU S, BİLGİÇ S, KAPLAN S. (2002). Deneysel çalışmalarda kesitlerdeki sayısal yoğunluğun kullanılmasından kaynaklanan hatalar. *T Klin Tıp Bilimleri*. **22**: 25-29.
- ŞAHİN B, EMİRZEOĞLU M, UZUN A, İNCESU L, BEK Y, BİLGİÇ S, KAPLAN S (2003). Unbiased estimation of the liver volume by the cavalieri principle using magnetic resonance images. *European Journal of Radiology*. **47(2)**: 164-170.
- ŞİMŞEK N, BAYRAKTAROĞLU AG, ERGÜN E. (2012). Histoloji Atlası Uygulama Kılavuzu. 1. Baskı. Ed.: L. ERGÜN. Fenomen Yayıncılık, Erzurum. s.: 41-48.
- TANYOLAÇ A. (1999). Özel Histoloji. Yorum Matbaacılık. Ankara. s.: 23-28.
- TRAN T, SUNDARAM CP, BAHLER CD, EBLE JN, GRIGNON DJ, MONN MF, SİMPER, N. B., CHENG, L. (2015). Correcting the shrinkage effects of formalin fixation and tissue processing for renal tumors: toward standardization of pathological reporting of tumor size. *Journal of Cancer*. **6(8)**: 759-766.

- TURGUT M, TUNÇ AT, ASLAN H, YAZICI AC, KAPLAN S. (2007). Effect of pinealectomy on the morphology of the chick cervical spinal cord: A stereological and histopathological study. *Brain research*. **1129**: 166-173.
- ÜNAL, B., ASLAN, H, CANAN S, ŞAHİN B, KAPLAN S. (2002a). Biyolojik ortamlardaki objelerin sayımı yapılırken kullanılan eski (tarafı) metodların önemli hata kaynakları ve çözüm önerileri. *T Klin Tıp Bilimleri*. **22**: 1-6.
- ÜNAL B, CANAN S, ASLAN H, ŞAHİN B, ÇATALOLUK O, KAPLAN S. (2002b). Doku örneklerindeki objelerin sayılarının hesaplanmasında tarafsız stereolojik metodlar: Fiziksel Disektör. *T Klin Tıp Bilimleri*. **22**: 15-24.
- ÜNAL D, AKSAK S, HALICI Z, ŞENGÜL O, POLAT B, ÜNAL B, HALICI M. (2011). Effect of diabetes mellitus on the rat liver during the postmenopausal period. *J Mol Hist*. **42**: 273-287.
- WALLOE S, NISSEN UV, BERG RW, HOUNSGAARD J, PAKKENBERG B. (2011). Stereological estimate of the total number of neurons in spinal segment D9 of the red-eared turtle. *The Journal of Neuroscience*. **31(7)**: 2431-2435.
- WARD TS, ROSEN GD, BARTHELD CSV, (2008). Optical disector counting in cryosections and vibratome sections underestimates particle numbers: effects of tissue quality. *Microsc. Res. Tech*. **71**: 60-68.
- WEST MJ, SLOMIANKA L, GUNDERSEN HJG. (1991). Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *The Anatomical Record*. **231**: 482-497.
- WITGEN BM, GRADY MS, NYENGAARD JR, GUNDERSEN HJG. (2006). A new fractionator principle with varying sampling fractions: exemplified by estimation of synapse number using electron microscopy. *Journal of Microscopy*. **222**: 251-255.
- YILDIRIM A, ÖZTÜRK E. (2012). Japon bildircını rasyonlarında soya küspesi yerine pamuk tohumu küspesi ikamesinin büyüme performansı ve karkas özellikleri üzerine etkisi. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*. **29(2)**: 55-62.
- YILDIZ H, BAHADIR A. (1998). Tavuk, yerli ördek ve güvercinlerde plexus brachialis'in oluşumu ve plexus oluşumuna katılan temel rami ventrales'teki sinir fasciculus'larının sayı, çap, yerleşim ve dağılımlarının makroanatomik ve subgros incelemesi. *Uludağ Ü Vet Fak Der*. **17 (1-3)**: 65-78.

EKLER

Ek-1. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından alınan etik kurul kararı.

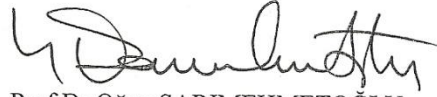
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ :06/03/2013
TOPLANTI NO :2013-6
DOSYA NO :2013-36
KARAR NO :2013-6-45

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Ahmet Çakır'ın yaptığı ve araştırmacı olarak Doç.Dr.Çağdaş Oto, Öğr.Gör.Dr.Okan Ekim, Araş.Gör.Muharrem Ayvalı, Araş.Gör.Caner Bakıcı ve Araş.Gör.Ozan Ahlat'ın katıldığı, "Tavuk (*Gallus gallus domesticus*) ve Bildircin (*Coturnix coturnix*)'da medulla spinalis'in stereolojik yöntemlerle hacim karşılaştırması" başlıklı araştırma projesinin içeriği kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Tavuk, Bildircin
Hayvan Sayısı : 10, 10
Geçerlilik Süresi : 15/03/2013 - 15/03/2015

ASLININ AYNIDIR
06/03/2013



Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU
A.Ü. HADYEK Başkanı



ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı: Caner

Soyadı: BAKICI

Doğum yeri ve tarihi: Ankara – 01.09.1986

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Bekar

Askerlik durumu: Yaptı

İletişim adresi ve telefonu: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Dışkapı Yerleşkesi, 06110, Altındağ/Ankara

II. Eğitimi

Lisans Eğitimi: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Lise Eğitimi: Ankara Atatürk Anadolu Lisesi

Ortaöğretim: Ankara Atatürk Anadolu Lisesi

İlköğretim: Ulubatlı Hasan İlkokulu

Yabancı Dili: İngilizce

III. Ünvanları

2011: Araştırma Görevlisi

2010: Veteriner Hekim

IV. Mesleki Deneyimi

V. Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Anatomi Derneği

VI. Bilimsel İlgi Alanları

Stereoloji

Plastinasyon

MRG

YAYINLARI:

EKİM O, OTO Ç, ALGIN O, BAKICI C. (2013). High resolution 3D magnetic resonance imaging of the visceral organs in chicken (*Gallus domesticus*) by 3 Tesla MR unit and 15-channel transmit coil. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 60(4), 229-233.

EKİM O, İNSAL B ,**BAKICI C** ,HAZIROĞLU RM ,AKGÜN RO (2014). Yılanlarda Soguk Ortam Teknigi ile Tüm Vücut Silikon Plastinasyonu. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2104(1), 9-22.

SÖZLÜ BİLDİRİLERİ:

EKİM O, OTO Ç, KIRALP S, MUTLU EYİSON H, **BAKICI C**. Kısa burunlu yunusta (*Delphinus delphis*) cranium'un bilgisayarlı tomografi ile görüntülenmesi ve 3 boyutlu rekonstrüksiyonu. VII. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 27–29 Ekim 2011. Side- Antalya.

BAKICI C, EKİM O, OTO Ç, ÇAKIR A. Evaluations on the effects of formaldehyde on living beings. VIII. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 25–28 Haziran 2013. İstanbul-Türkiye.

AYVALI M, BAŞ B, **BAKICI C**, EKİM O, HAZIROĞLU R. M. Evaluation of microorganism activity in the cadaver tanks that includes formaldehyde solution. VIII. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 25–28 Haziran 2013. İstanbul-Türkiye.

EKİM O, EKİM B, AYVALI M, **BAKICI C** (2014). Silicone plastination of the laboratory rat with cold temperature technique: Can plastinated specimens be effectual for teaching laboratory animal anatomy?. XXXth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists, 43(1), 41-41. Cluj-Romanya.

EKİM O, HAZIROĞLU RM, ÇAKIR A, ORHAN İÖ, OTO Ç, AYVALI M, **BAKICI C**, AKGÜN RO, İNSAL B. Ankara Üniversitesi Anatomi Müzesi'nin Kuruluş Süreci ve Güncel Faaliyetlerinin Değerlendirilmesi. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015 Elazığ-Türkiye.

POSTER BİLDİRİLERİ:

EKİM O, OTO Ç, **BAKICI C**. Morphometric investigation of the forelimb bones in Bald Ibis (*Geronticus eremita*). International Scientific Conference. 2-3 June 2011. Stara Zagora-Bulgaria.

OTO Ç, YEL M, MUTLU EYİSON H, KIRALP S, **BAKICI C**, KIVANC E. Body morphometry of the short beaked common dolphin (*Delphinus delphis*) on the eastern coast of the turkish black sea. 5th International Conference BALNIMALCON. 19-21 October 2011. Bucharest-Romania.

OTO Ç, EKİM O, **BAKICI C**, AYVALI M. Comparative magnetic resonance imaging of uropygial gland in duck and Denizli rooster. VII. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 27–29 Ekim 2011. Side- Antalya.

EKİM O, CEYLAN A, AYVALI M, **BAKICI C**, OTO Ç. Investigation of pecten oculi in common pheasant (*Phasianus colchicus*) by using stereomicroscopic and histological methods. VII. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 27–29 Ekim 2011. Side- Antalya.

EKİM O, OTO Ç, ALGIN O, **BAKICI C**. High resolution magnetic resonance imaging and 3D reconstruction of the body in rooster. XXIXth Congress of The European Association of Veterinary Anatomists. 25–28 July 2012. Stara Zagora-Bulgaria.

OTO Ç, EKİM O, ALGIN O, **BAKICI C**. High resolution magnetic resonance imaging of the body in ducks. XXIXth Congress of The European Association of Veterinary Anatomists. 25–28 July 2012. Stara Zagora- Bulgaria.

EKİM O, AYVALI M, **BAKICI C**, OTO Ç (2013). Beyin, böbrek ve kalbin soguk ortam tekniğiyle silikon plastinasyonu. 8. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 125-126.

OTO Ç, ALTAN M, BOZKURT MF, **BAKICI C**, AHLAT O, OKOH A, KUTLAY S, HAZIROĞLU R, ERTÜRK Ş. (2014). The Effect of Vitamin D Deficient Diet during Pregnancy on Nephron Endowment in Rat Offspring. American Society of Nephrology, Kidney Week. 11 – 16 Kasım 2014. Philadelphia, United States.

EKİM O, AKGÜN RO, **BAKICI C**, İNSAL B. Silicone plastination of mammalian bones with low-temperature technique: An alternative method for the preservation of osseous structures. International Congress of Anthropological Sciences. 9 – 11 Nisan 2015. Ankara.

EKİM O, İNSAL B, HAZIROĞLU RM, **BAKICI C**, AKGÜN RO. Low-temperature silicone plastination of scaled reptiles. International VETistanbul Group Congress (2015), 630-631.

BAKICI C, EKİM O, AKGÜN RO, İNSAL B, ÇAKIR A. Sinir Dokunun Farklı İmpregnasyon Polimerleri ile Silikon Plastinasyonu: Pigmentasyonun Son Ürünlerdeki Etkilerinin Değerlendirilmesi. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015. Elazığ-Türkiye.

İNSAL B, EKİM O, **BAKICI C**, AKGÜN RO, HAZIROĞLU RM, TUNALI S. Plastinasyon Tekniğinin Medulla Spinalis Üzerindeki Büzüşme Etkisinin Kalitatif ve Kantitatif Yöntemlerle Değerlendirilmesi.. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015 Elazığ-Türkiye.

EKİM O, **BAKICI C**, İNSAL B, AKGÜN RO, BİLGİLİ H, ÇAKIR A. Alternative Methods for Veterinary Orthopaedic Education: Low Temperature Silicone Plastination of Knee Joint. 3rd. Veteriner Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi. 5 – 6 Haziran 2015. Ankara – Turkey.

AKGÜN RO, EKİM O, **BAKICI C**, İNSAL B, AYVALI M, ORHAN İÖ, ATANASOFF A. Veteriner Jinekoloji Eğitiminde Kullanılmak Üzere Dişi Genital Organlarının Silikon Plastinasyon Metodu ile Hazırlanması. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015 Elazığ-Türkiye.

ÖDÜLLER:

EKİM O, **BAKICI C**, İNSAL B, AKGÜN RO, BİLGİLİ H, ÇAKIR A. Alternative Methods for Veterinary Orthopaedic Education: Low Temperature Silicone Plastination of Knee Joint. 3rd. Veteriner Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi. 5 – 6 Haziran 2015. Ankara – Turkey. (Poster Sunum Üçüncülük Ödülü).

AKGÜN RO, EKİM O, **BAKICI C**, İNSAL B, AYVALI M, ORHAN İÖ, ATANASOFF A. Veteriner Jinekoloji Eğitiminde Kullanılmak Üzere Dişi Genital Organlarının Silikon Plastinasyon Metodu ile Hazırlanması. 9. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi. 7 – 10 Eylül 2015 Elazığ-Türkiye. (Poster Sunum Birincilik Ödülü).

VII. Bilimsel Etkinlikleri

Antropoloji, Radyoloji ve Anatomi (ARA2015) Kongresi, Plastinasyon Çalıştayı, 12-13 Kasım 2015 Ankara-Türkiye.

Avrupa Bilim Eğlence Günü, Avrupa Bilim ve Eğlence Günü 2015 Ankara-Türkiye.

14. Ulusal Sinirbilim Kongresi. 26 – 29 Mayıs 2016. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi. Plastinasyon Kursu. Kurs Eğitmeni.

Veteriner Anatomi Müzesi Projesi. (2010) Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi. Proje No: 10A3338006. Proje Araştırmacısı: **BAKICI C**.

Tavuk ve bıldırcında medulla spinalis üzerine stereolojik araştırmalar. (2013) Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi. Proje kodu: 13L3338006. Proje Araştırmacısı: **BAKICI C**.

Ankara Veteriner Anatomi Müzesi Eğitim Projesi. (2015) Tübitak Projesi. TÜBİTAK 4004 Proje No: 115B131. Proje Eğitmeni: **BAKICI C**.

Atabey ve Atak-S Tavuk Irklarında Göğüs Kasları Hacim Oranlarının Mrg ile Stereolojik Açından Değerlendirilmesi. (2015) T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü. Proje No: TAGEM / HAYSÜD /15/06/01/03. Proje Araştırmacısı: **BAKICI C**.

VIII. Diğer Bilgiler

TÖMER, Ankara Üniversitesi, 2006 – 2008

AEGEE – Ankara Organizasyon İç Eğitimi, 2009.

AEGEE – Ankara Dünya Dilleri Proje Grubu – DİLETİŞİM, 2009.

Mülakat Teknikleri – Özgeçmiş Hazırlama, Diksiyon ve Zaman Yönetimi Eğitimi, 2009.

Laparoskopik Cerrahi Veteriner Hekim Temel Eğitimi. Gazi Üni. Tıp Fak. Genel Cerrahi A.D, 2011.

Deney Hayvanları Kullanım Eğitimi ve Sertifikası. Gazi Üni. Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, 2011.

Mikroskopi, Görüntüleme ve Stereoloji Eğitimi. Hacettepe Üniversitesi, 2012.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Proje Geliştirme Topluluğu. 2015 - 2016
Görev: **Danışman**

