

TAVŞANIN MEDULLA SPİNALİS'İNİN TORAKAL
SEGMENTLERİNDEKİ LAMİNASYON BÖLGELERİNİN
IŞIK MİKROSKOBU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ

Dr. Refik SOYLU*
Bio. Raziye SUNGUR**
Dr. Taner ZİYLAN***
Dr. Hasan CÜCE*
Vet. Ahmet SALBACAK****

SUMMARY

In this study, cytoarchitecture in grey matter of thoracal segments of rabbit's spinal cord was studied. Total nine lamination were determined in grey matter according to shape, greatness, Nissl substance and topographic distribution of neurons. Preparations used in this study were stained by Thionin (for Nissl substance) and Luxol fast blue-Cresyl fast violet (for myelin).

ÖZET

Bu çalışmada, tavşanın medulla spinalis'inin torakal segmentlerindeki gri maddenin sitoarkitektürü incelendi. Nöronların şekil, büyüklük, Nissl maddesi miktarı ve topografik yerleşimlerine göre, gri maddede toplam dokuz lamina belirlendi. Bu çalışmada kullanılan preparatlar Thionin (Nissl maddesi için) ve Luxol fast blue - Cresyl fast violet (myelin için) boya ile boyandı.

* : S.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji bilim Dalı Öğretim Üyeleri.

** : Anatomi Bilim Dalı Uzmanı.

*** : S.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Bilim Dalı Öğretim Üyesi.

**** : S.Ü. Tıp Fakültesi Anatomi Bilim Dalı Araştırma Görevlisi.

Bugüne kadar pek çok araştırmacı, medulla spinalis'in gri maddesindeki laminaları belirlemek için çalışmalar yapmışlar ve araştırmacılar bu laminaları belirlemek için çeşitli metodlar kullanmışlardır. Kullanılan bu metodlar, genellikle nöronların şekli, büyüklüğü ve görünüşü gibi sitolojik özellikleri ile bu nöronların gri madde içindeki topografik yerleşimlerine dayanmaktadır.

Cervero ve Iggo'nun bildirdiklerine göre, ilk olarak Rolando (1824) dorsal boynuzda substantia gelatinosa'yı tanımlamış, daha sonra Remak (1838), Stilling (1859), Clarke (1859), Lissauer (1886), Waldeyer (1888) gibi pek çok araştırmacı dorsal boynuz üzerinde çalışmalar yapmışlardır (3).

Ralston, kedi ve maymunun medulla spinalis'lerinin dorsal boynuzları üzerinde ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırmalar yapmıştır. Ralston, dorsal boynuzda nöronların şekil, büyüklük ve organellerinden faydalanarak altı horizontal lamina tespit etmiş ve onları dorsalden ventrale doğru Romen rakamı ile I'den VI'ya kadar işaretlemiştir (11).

Carpenter, ventral boynuzda üç laminasyon bölgesi belirleyerek, büyük nöronlardan oluşan bu laminaları Romen rakamı ile VII, VIII ve IX olarak işaretlemiştir (2).

Bu araştırma ile tavşanın medulla spinalis'inin torakal segmentlerindeki gri maddenin sitoarkitektürü üzerinde çalışılarak, laminasyon bölgelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji - Embriyoloji ve Anatomi kürsülerinin laboratuvarlarında yapılmıştır.

Çalışmada 1 yaşlarında, ağırlıkları 1,5-4 kg arasında değişen toplam 11 adet Yeni Zelanda tipi tavşan deney materyali olarak kullanıldı.

Tavşanlar 0,8 cc/kg pentobarbital verilerek intravenöz yolla anestezi edildi. Tavşanların ventral-median hatları torakal bölümden kesildi ve sternum ayrılarak çıkartıldı. Kalp perikardial keseden çıkartıldı ve 37°C'deki

50 ml % 0,9'luk serum fizyolojik arkus aorta'dan yavaş bir şekilde enjekte edildi. Serum fizyolojik enjeksiyonundan sonra sağ atrium kesildi ve sol ventrikülden 90 sn içerisinde 4 °C'deki 250 ml % 10'luk formalin solüsyonu yavaş olarak enjekte edildi. Böylece medulla spinalis'deki nöronların ölmeden tespit edilmeleri sağlanmış oldu. % 10'luk formalin solüsyonunun enjeksiyonu yaklaşık olarak 10-15 dakikada tamamlandı. Daha sonra tavşanın iç organları dışarı çıkartıldıktan sonra vertebraları kesilerek medulla spinalis'in torakal bölgesi sinir çıkışına göre 12 segmente ayrıldı ve her bir segment % 10'luk formalin solüsyonu bulunduran üzeri işaretlenmiş kavanozlara konularak üç gün tespit için bekletildi. Üçüncü günün sonunda bu segmentler su ile yıkanarak histolojik takibe alındı. Takip işleminin sonunda bu segmentler parafin ile bloklandı. Bu bloklardan mikrotom ile 5-7 mikron kalınlığında transvers kesitler alındı. Alınan bu kesitler Thionin (Nissl cisimcikleri için), Luxol fast blue-Cresyl fast violet (myelin için) boya ile boyandı (7, 9). Boyanan bu kesitler Kanada balsamı ile kapatıldı. Bu şekilde hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile ince lenerek, 100 ASA'lık Kodak filmleri ile Olympus mikroskobunda fotoğrafları çekildi.

BULGULAR

Tavşanın, medulla spinalis'inin torakal segmentleri Thionin, Luxol fast blue - Cresyl fast violet boya ları ile boyanarak gri maddede toplam dokuz lamina tespit edildi.

Küçük ve orta boyda, az sitoplazmalı ve iğ şeklinde nöronlardan oluşan lamina I, dorsal boynuzun en uç kısmında ince bir tabaka olarak görüldü. Bu laminadaki nöronların laminaya horizontal (yatay) yönde yerleştikleri belirlendi (Resim: 1).

Substantia gelatinosa olarak da bilinen lamina II'nin lamina I'in altında oldukça kalın ve açık renkli bir band oluşturduğu görüldü. Orta boydaki yuvarlak ve iğ şeklindeki nöronları ile liflerinin laminaya dikey yönde yerleştikleri belirlendi (Resim: 1).

Lamina II'nin altında daha koyu bir bölge olarak seçilen Lamina III'ün yuvarlak ve iç şeklinde nöronlardan oluştuğu, bu nöronların laminaya çapraz olarak yerleştikleri tespit edildi.

Genellikle yuvarlak, üçgen ve yıldız şekilli olan ve dorsal boynuzun eni boyunca uzanan lamina IV nöronlarının, Lamina III'deki nöronlara oranla daha bol sitoplazmaya ve birkaç Nissl cüsumcuğune sahip olduğu görüldü.

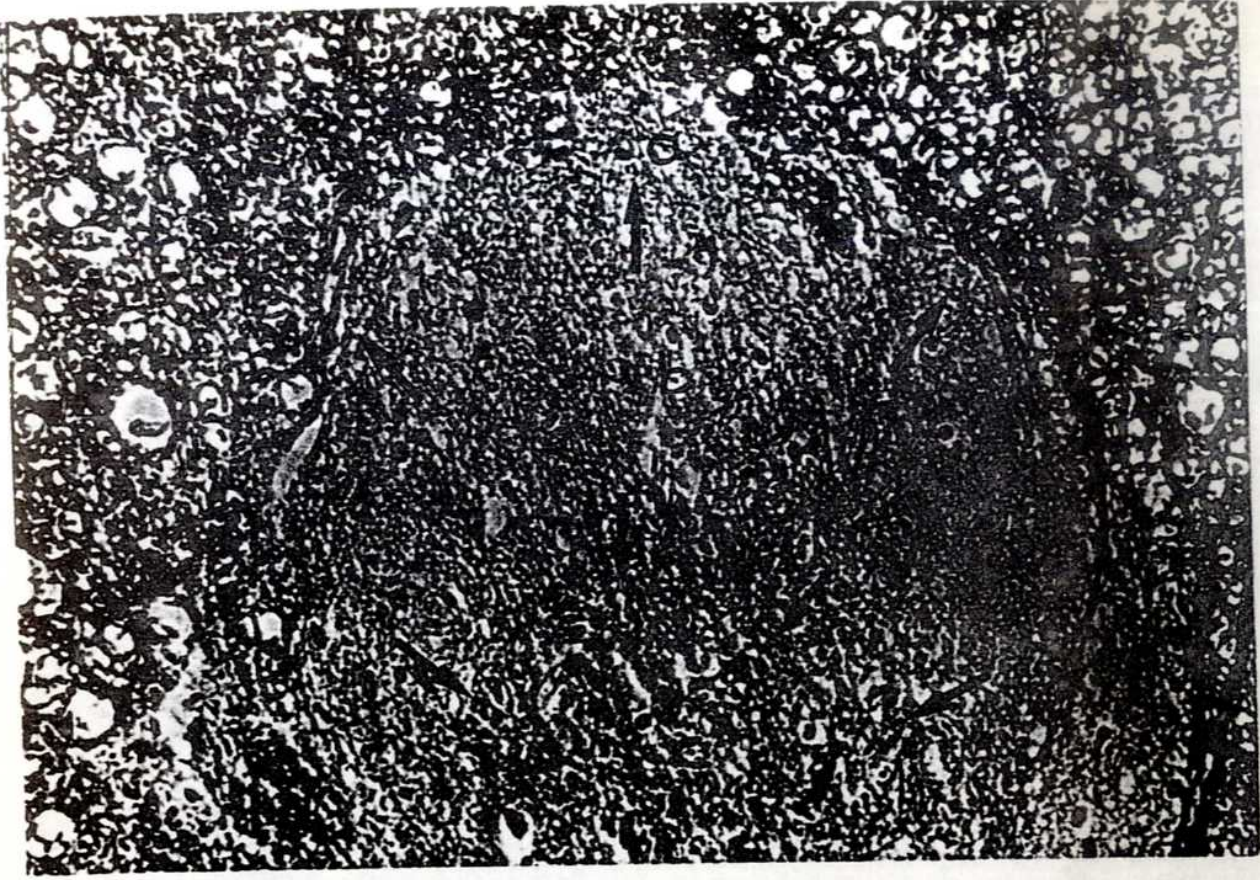
Üçgen ve yıldız şeklinde nöronları olan lamina V'in, ilk üç torakal segment dışındaki diğer segmentlerde dorsal boynuzların tabanında, gri maddenin her iki tarafı boyunca uzandığı, ilk üç torakal segmentte ise dorsal boynuzun boyun kısmında yer aldığı gözlemlendi. Bu lamina nöronlarının bol sitoplazma ve Nissl cisimcikleri kapsadığı da belirlendi (Resim: 2).

Lamina IV, kordon genişlemelerinde yer aldığı için ilk üç torakal segment dışındaki diğer torakal segmentlerde bu laminaya rastlanmadı. T₄'den T₁₂'ye kadar olan segmentlerde lamina VI'nın yerinde lamina V'in gri maddenin her iki tarafı boyunca uzandığı görüldü.

Lamina VII'nin dorsal ve ventral boynuzların arasında, kanalis sentralis hizasında gri maddenin her iki tarafı boyunca uzandığı ve oldukça geniş, heterojen bir bölgeyi kapladığı görüldü. Bu laminanın; Clarke (nukleus torasikus - nukleus dorsalis), intermediomedial ve intermediolateral olmak üzere üç tip nukleusa sahip olduğu belirlendi. Bunlardan Clarke nukleus'unun dorsal boynuzun tabanında, intermediomedial nukleus'un sentral kanalın lateralinde ve intermediolateral nukleus'un da lateral boynuzlarda yer aldığı görüldü (Resim: 3).

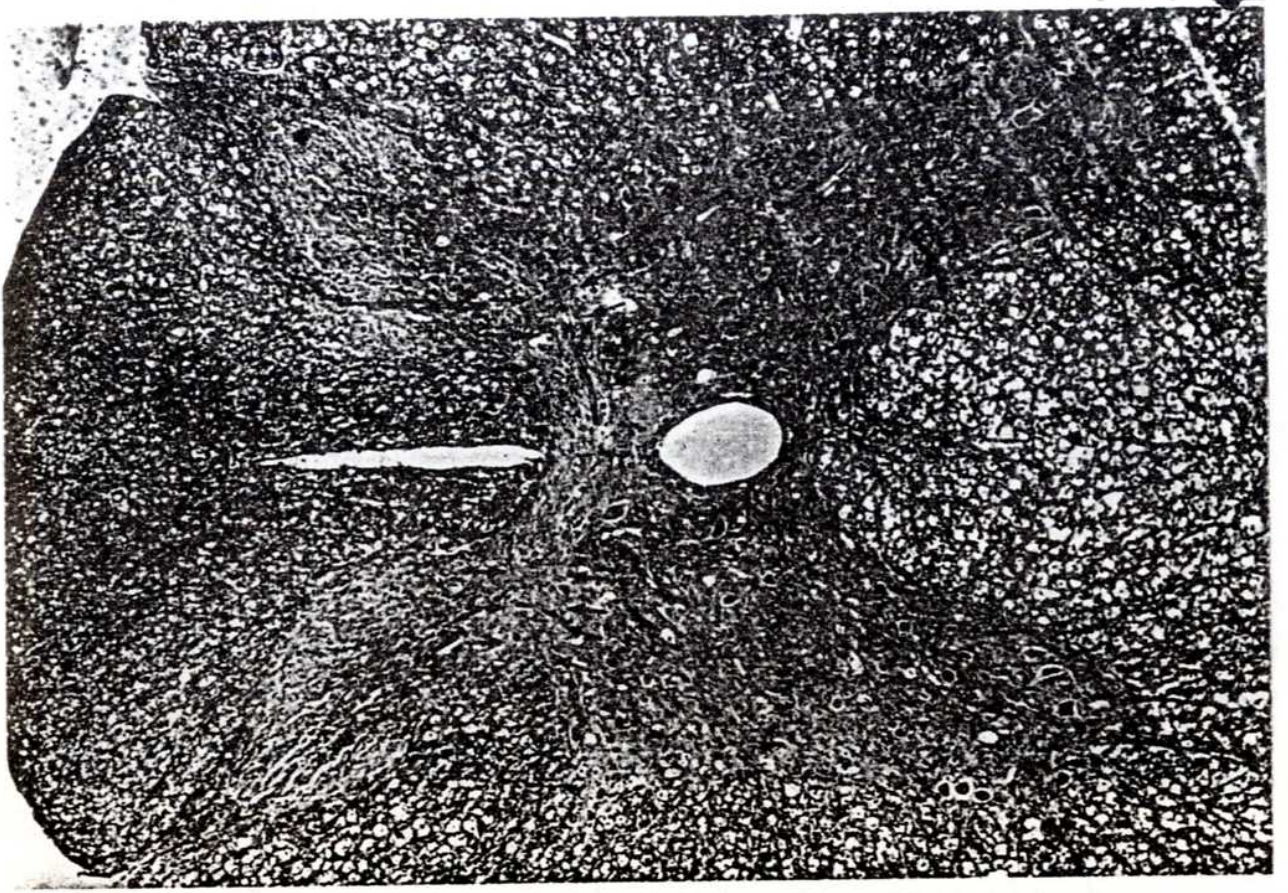
Üçgen ve yıldız şeklinde, bol sitoplazma ve Nissl cisimciğine sahip olan lamina VIII'in ventral boynuzun üst kısmında yer aldığı ve büyük nöronlara sahip olduğu görüldü (Resim: 4).

Ventral boynuzun tabanında, somatik motor nöronlardan meydana gelen lamina IX'un, iri Nissl cisimcikleri kapsayan multipolar tipte nöronlardan meydana geldiği belirlendi. Bu nöronların veziküller tipte nukleuslara ve iri bir nukleolusa sahip oldukları tespit edildi (Resim: 5).

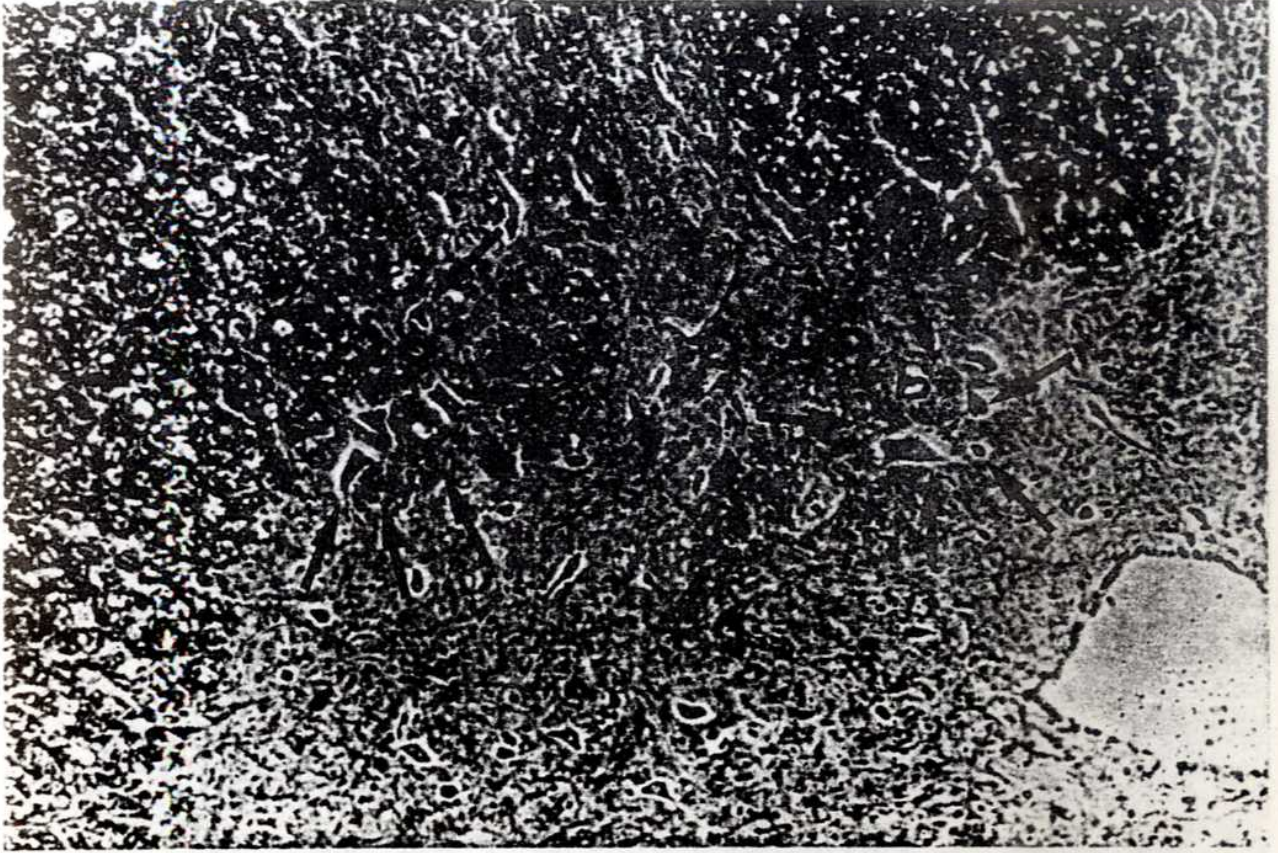


RESİM: 1. Torakal 12 segmentinden alınmış ve Luxol fast blue - Cresyl fast violet ile boyanmış preparatta

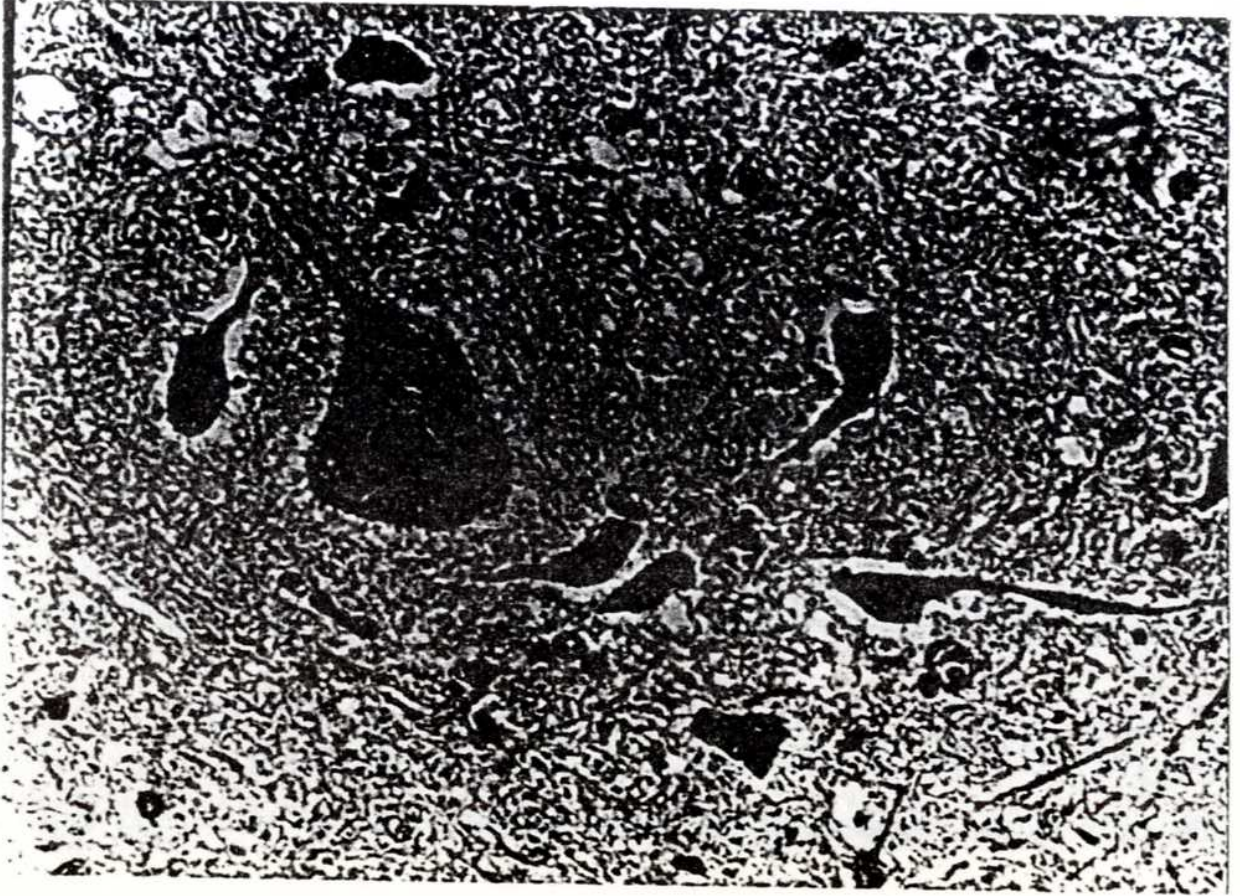
- a- Lamina I'in,
- b- Lamina II'nin,
- c- Lamina III'ün görünüşü (oklarla işaretli); (100 X)



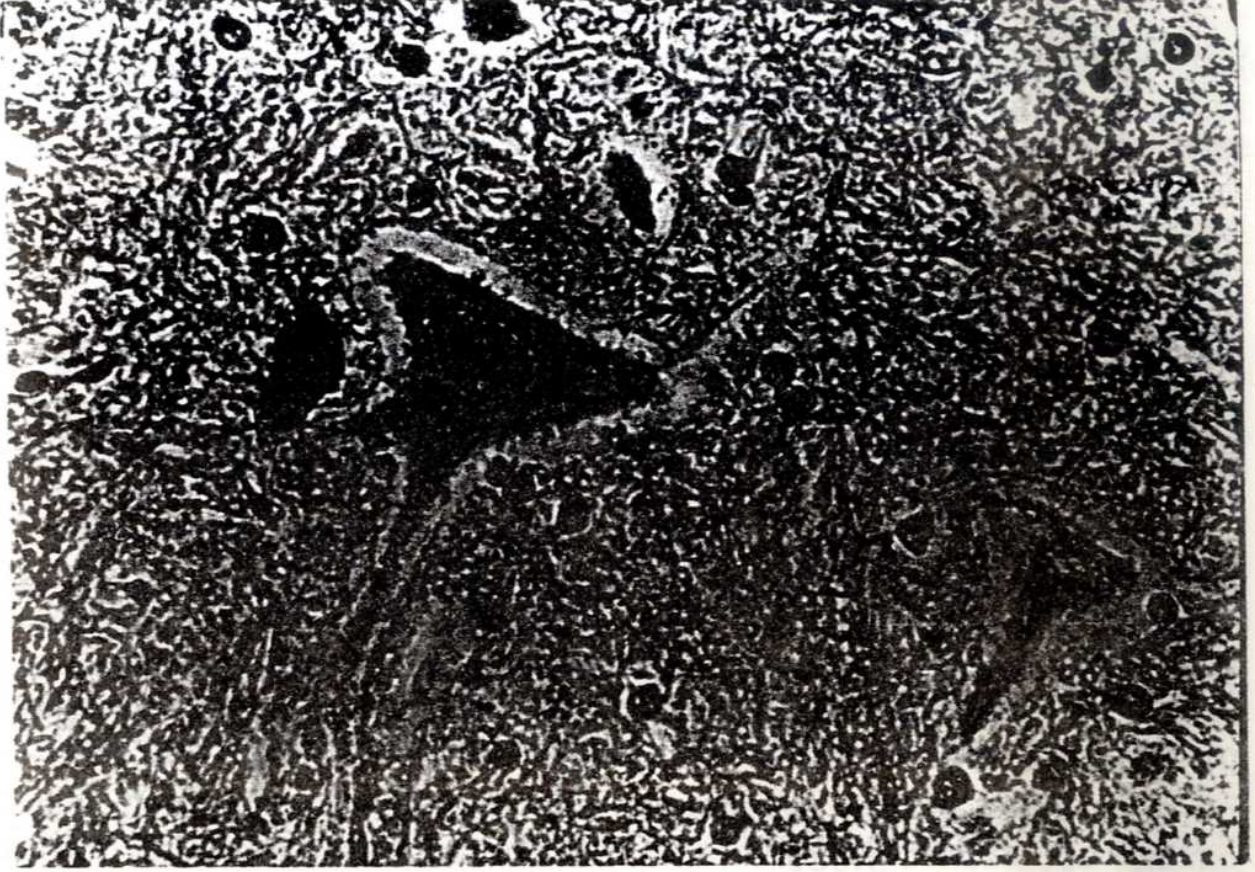
RESİM: 2. Torakal 4 segmentinden alınmış ve Luxol fast blue - Cresyl fast violet ile boyanmış preparatta lamina V'in genel görünümü (oklar arası); (20 X)



RESİM: 3. Torakal 10 segmentinden alınmış ve Luxol fast blue - Cresyl fast violet ile boyanmış preparatta
a- İntermediolateral,
b- Clarke nukleuslarının görünümü (oklarla işaretli); (50 X)



RESİM: 4. Torakal 5 segmentinden alınmış ve Thionin ile boyanmış preparatta, Lamina VIII'in nöronları (200 X)



RESİM: 5. Torakal 1 segmentinden alınmış ve Luxol fast blue - Cresyl fast violet ile boyanmış preparatta lamina IX'un multipolar bir nöronu (200 X)

TARTIŞMA

Bu çalışmada, tavşanın medulla spinalis'inin torakal bölgesindeki gri maddenin laminasyonu üzerinde çalışılarak elde edilen bulgular, daha önce bu konuda çalışmış olan diğer araştırmacıların bulguları ile karşılaştırılmıştır.

Ralston, lamina I'in dorsal boynuzun yüzeyini örten ve kenarları etrafında kıvrılan gri maddenin ince bir tabakası olduğunu bildirerek, bu laminadaki yuvarlak, iğ şeklinde ve orta büyüklükteki nöronların laminaya yatay yönde yerleştiklerini bildirmiştir (12). Gobel de lamina I'in kalınlığının genellikle 50 mikron olduğunu belirtmiştir (5).

Light ve Perl; sıçan, kedi ve maymunun medulla spinalis'lerini horseradish peroksidase (HRP) kullanarak incelemişler ve lamina I'de ince fibrillerin bulunduğunu belirtmişlerdir (8). Schoenen ise, insan üzerindeki çalışmasında, bu laminadaki dendritlerin çoğunlukla yüzeyel olarak yanyana uzandıklarını bildirmiştir (18).

Yapılan bu çalışmada da, lamina I'in dorsal boynuzun uç kısmında ince bir tabaka olarak uzandığı, orta büyüklükte, iğ şeklindeki nöronları ile liflerinin laminaya paralel yönde uzandığı görüldü.

Beal ve Cooper'ın belirttiklerine göre, Lissauer ve Waldeyer, lamina II'deki nöronların Nissl maddesinden fakir olduğunu bildirerek, lamina I ve II'nin ayrı olarak incelenmesi gerektiğini bildirmişlerdir (1).

Ralston, maymunun medulla spinalis'inin dorsal kök aksonları üzerinde elektron mikroskobu ile yaptığı çalışmasında ince liflerin lamina I'den lamina II'ye dağıldığını ve nociceptive (ağrı alıcı) uyarıları taşıyabileceğini belirtmiştir (15).

Yapılan bu çalışmada, lamina II'nin dorsal boynuzun uç kısmında açık renkli kalın bir band şeklinde uzandığı görülerek küçük, iğ şeklinde olan nöronları ile liflerinin laminaya dikey yönde yerleştiği tespit edildi.

Ralston, lamina III'de çok sayıda myelinsiz aksonların bulunduğunu ve bunların myelinli aksonlar tarafından

örtüldüğünü, bu sebeple de lamina III'ün lamina II'den daha koyu görüldüğünü belirtmiştir (14).

Mannen ve Sugiura, lamina III'deki nöronların Golgi boyalı preparatlarında bazı nöronların dendritik dallarının dorsal olarak lamina I ve II'ye ventral olarak da lamina IV ve V'e uzandığını belirtmişlerdir (10).

Gobel, maymunun medulla spinalis'inin dorsal boyunu üzerinde yaptığı çalışmalarda Rexed ile aynı düşüncüyü paylaşarak substantia gelatinosa'yı lamina II olarak kabul etmiş ve bu tabakayı iç ve dış olmak üzere iki yan bölgeye ayırmıştır. Ancak daha sonra, arkadaşları ile kedinin nukleus kaudalis'inde yaptığı çalışmalarda dış tabakaya lamina II'nin, iç tabakaya ise lamina III'ün karşılık geldiğini belirterek, lamina II ve III'ün birlikte substantia gelatinosa'ya dahil edilmesi gerektiğine karar vermişlerdir (4, 6).

Cervero ve Iggo'nun bildirdiklerine göre, Howland ve arkadaşları, Szentagothai, Sprague ve Ha, Kerr, Wall ve arkadaşları, Beal ve Cooper da Gobel ve arkadaşları gibi lamina II ve III'ü birlikte substantia gelatinosa'ya dahil etmişlerdir (3).

Ralston, lamina III'ün lamina II'den farklı olduğunu belirterek yalnızca lamina II'nin substantia gelatinosaya karşılık geldiğini ve lamina III'ün ayrı bir tabaka halinde incelenmesi gerektiğini bildirmiştir (13). Shriver ve arkadaşları da yine Ralston gibi yalnızca lamina II'nin substantia gelatinosa'ya dahil olduğunu belirtmişlerdir (19).

Yukarıda da belirtildiği gibi bazı araştırmacılar yalnızca lamina II'yi substantia gelatinosa'ya dahil ederken, diğer bazı araştırmacılar da hem lamina II'nin hem de lamina III'ün substantia gelatinosa'ya dahil edilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Yapılan bu çalışmada da lamina III nöronlarının daha büyük oldukları ve lamina yüzeyine çapraz olarak yerleştikleri görülerek, bu laminanın substantia gelatinosa'nın altında ayrı bir tabaka olarak incelenmesinin uygun olacağına karar verildi.

Carpenter'ın bildirdiğine göre Rexed, lamina IV'ün küçük, orta ve büyük çapta olan nöronlardan meydana geldiğini, yuvarlak, üçgen ve yıldız şeklinde olan bu nöronların düzenli dağılmış Nissl maddesi kapsadıklarını belirtmiştir (2).

Yapılan bu çalışmada da, lamina IV'ün dorsal boynuzun eni boyunca uzanan kalın bir band şeklinde olduğu görüldü. Genellikle üçgen ve yuvarlak şeklinde olan bu lamina nöronlarının büyük olanlarında Nissl maddesine rastlandı.

Ralston, Rexed'in de belirttiği gibi lamina V'in dorsal boynuzun boyun kısmında çapraz olarak uzanan kalın bir band şeklinde olduğunu belirterek bu laminanın lateral ağ şeklindeki sınırı ile kolaylıkla tanınabileceğini bildirmiştir (16).

Bu çalışmada, ilk üç torakal segment dışındaki diğer segmentlerde lamina V'in dorsal boynuzların tabanında, gri maddenin her iki tarafı boyunca uzandığı görüldü. Bu lamina nöronlarının genellikle yuvarlak, yıldız ve üçgen şeklinde olduğu ve bol Nissl maddesi kapsadığı belirlendi.

Ralston, maymunun medulla spinalis'inin dorsal boynuzunda yaptığı çalışmalarda lamina VI'nın en iyi şekilde kordon genişlemelerinde görüldüğünü belirterek, lamina IV, V ve VI'nın ince yapısının aynı olduğunu ileri sürerek bu üç laminayı birlikte incelemiştir (17).

Ralston ve diğer araştırmacılar medulla spinalis'i genel olarak inceledikleri için lamina VI'yı dorsal boynuzun tabanında uzanan bir bölge olarak belirlemişlerdir. Ancak bu çalışmada ilk üç torakal segment dışındaki diğer segmentlerde lamina VI tespit edilemedi. Bu segmentlerde lamina VI'nın yerini lamina V'in aldığı görüldü.

Carpenter, zona intermedia olarak da bilinen lamina VII'nin, gri maddenin her iki tarafı boyunca uzandığını belirterek bu laminada; Clarke, intermediomedial ve intermediolateral olmak üzere üç tip karakteristik nukleusun bulunduğunu bildirmiştir (2).

Bu çalışmada da, lamina VII'nin dorsal ve ventral boynuzların arasında bir bölgeyi kapsadığı ve gri maddenin her iki tarafı boyunca uzandığı görüldü. Bol Nissl maddesi kapsayan nöronlardan meydana gelen laminada; Clarke, intermediomedial ve intermediolateral olmak üzere üç tip nukleusun varlığı tespit edildi.

Carpenter, insan medulla spinalis'inin gri maddesi üzerinde yaptığı çalışmalarda, lamina VIII ve IX'un ventral

boynuzda yer aldığını, kordon genişlemelerinin olduğu segmentlerde bu laminaların sadece ventral boynuzun medialinde bir yer kapladıklarını belirtmiştir. Lamina VIII nöronlarının genellikle üçgen ve yıldız şeklinde, lamina IX nöronlarının ise multipolar tipte olduklarını belirterek bu nöronların bol sitoplazma ve iri Nissl cisimciklerine sahip olduklarını bildirmiştir (2).

Yapılan bu çalışmada da, lamina VIII ve IX'un ventral boynuzda yerleştiği ve bu laminalardaki nöronların, bol sitoplazma ile iri Nissl cisimciklerine sahip oldukları belirlendi. Ayrıca üçgen ve yıldız şeklindeki nöronların lamina VIII'de, multipolar tipte nöronların ise lamina IX'da yer aldığı tespit edildi.

SONUÇ

Tavşanın medulla spinalis'inin torakal bölgesinin gri maddesinde yapılan bu çalışmada, ilk üç torakal segmentte nöronların özelliklerine ve yerleşimlerine göre dokuz lamina belirlendi. Diğer torakal segmentlerde ise (T_4 'den T_{12} 'ye kadar) gri maddenin torakal bölgede aşağıya doğru giderek azalmasından dolayı, lamina VI'nın olmadığı görüldü. Bu sebeple de ilk üç torakal segment dışındaki segmentlerde sekiz laminanın bulunduğu belirlendi. Bu laminalardan ilk altısının horizontal olarak dorsal boynuzda uzandığı, lamina VII'nin dorsal ve ventral boynuzların arasında, gri maddenin iki tarafı boyunca uzandığı ve lamina VIII ile IX'un da ventral boynuzda yerleştiği tespit edildi.

KAYNAKLAR

1. BEAL J. A., and COOPER M. H.: The Neurons in the Gelatinous Complex (lamina II and III) of the Monkey (*Macaca mulatta*): A Golgi Study. *J. Comp. Neur.* 179: 89-122, 1978.
2. CARPENTER M. B., and SUTIN J.: *Human Neuroanatomy*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1983.
3. CERVERO F., and Iggo A.: The Substantia Gelatinosa of the Spinal Cord: A Critical Review. *Brain*, 103: 717-772, 1980.
4. GOBEL S.: Golgi studies of the Substantia Gelatinosa in the Spinal Trigeminal Nucleus. *J. Comp. Neur.*, 162: 397-416, 1975.
5. GOBEL, S.: Golgi Studies of the Neurons in Layer I of the Dorsal Horn of the Medulla (Trigeminal Nucleus Caudalis). *J. Comp. Neur.*, 180: 375-394, 1978.
6. GOBEL S.: Golgi Studies of the Neurons in Layer II of the Dorsal Horn of the Medulla (Trigeminal Nucleus Caudalis). *J. Comp. Neur.*, 180: 395-415, 1978.
7. GRIDLEY M. F.: *Laboratuvar el kitabı: Hususi boyama teknikleri*. Çeviren: Osman Nuri AKER. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Patolojik Anatomi Enstitüsü Yayınları, No: 1, Örnek Matbaası, Ankara, 1954.
8. LIGHT A. R., TREVINO D. L. and PERL E. R.: Morphological Features of Functionally Defined Neurons in the Marginal Zone and Substantia Gelatinosa of the Spinal Dorsal Horn. *J. Comp. Neur.*, 186: 151-172, 1979.

9. LILLIE R. D.: Histopathologic Technic and Practical Histochemistry. 3rd edition, Mc Graw-Hill Book Co., New York, 1965.
10. MANNEN H. and SUGIURA Y.: Reconstruction of Neurons of Dorsal Horn Proper Using Golgi-Stained Serial Sections. J. Comp. Neur., 168: 303-312, 1976.
11. RALSTON H. J., III: The Organization of the Substantia Gelatinosa Rolandi in the Cat Lumbosacral Spinal Cord. Z. Zellforsch., 67: 1-23, 1965.
12. RALSTON H. J., III: The Fine Structure of Neurons in the Dorsal Horn of the Cat Spinal Cord. J. Comp. Neur., 132: 275-302, 1968.
13. RALSTON H. J., III: Dorsal Root Projections to Dorsal Horn Neurons in the Cat Spinal Cord. J. Comp. Neur., 132: 303-330, 1968.
14. RALSTON H. J., III: The Fine Structure of Laminae I, II and III of the Macaque Spinal Cord. J. Comp. Neur., 184: 619-642, 1979.
15. RALSTON H. J., III: The Fine Structure of Laminae IV, V and VI of the Macaque Spinal Cord. J. Comp. Neur., 212: 425-434, 1982.
16. RALSTON H. J., III; and RALSTON D. D.: The Distribution of Dorsal Root Axons in Laminae I, II and III of the Macaque Spinal Cord: A Quantitative Electron Microscope Study. J. Comp. Neur., 184: 643-684, 1979.
17. RALSTON H. J., III and RALSTON D. D.: The Distribution of Dorsal Root Axons Laminae IV, V and VI of the Macaque Spinal Cord: A Quantitative Electron Microscope Study. J. Comp. Neur., 212: 435-448, 1982

18. SCHOENEN J.: The Dendritic Organization of the Human Spinal Cord: The Dorsal Horn. *Neuroscience*, Vol. 7, No: 9, 2057-2087, 1982.
19. SHRIVER J. E., STEIN B. M. and CARPENTER M. B.: Central Projections of Spinal Dorsal Roots in the Monkey. I. Cervical and Upper Thoracic Dorsal Roots. *Am. J. Anat.*, 123: 27-74, 1968.